

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



**COMPARACIÓN DEL EFECTO IXODICIDA *in vitro* DE
DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ACEITE DE NEEM
(*Azadirachta indica*) SOBRE GARRPATAS *Boophilus sp.*
DE BOVINO**

ANA LUCIA SOTO MÉRIDA

Médica Veterinaria

GUATEMALA, MAYO DE 2014

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



**COMPARACIÓN DEL EFECTO IXODICIDA *in vitro* DE
DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ACEITE DE NEEM
(*Azadirachta indica*) SOBRE GARRAPATAS *Boophilus sp.* DE
BOVINO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ANA LUCIA SOTO MÉRIDA

Al conferírsele el título profesional de

MÉDICA VETERINARIA

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MAYO DE 2014

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:

COMPARACIÓN DEL EFECTO IXODICIDA *in vitro* DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ACEITE DE NEEM (*Azadirachta indica*) SOBRE GARRAPATAS *Boophilus sp.* DE BOVINO

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

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

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

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez
VOCAL V:	Br. Juan René Cifuentes López

ASESORES

MSc. MANUEL EDUARDO RODRÍGUEZ ZEA
M.A. DORA ELENA CHANG CHANG DE JO
M.A. GUSTAVO ENRIQUE TARACENA GIL

ACTO DEDICO A:

A DIOS

Por estar presente en cada momento de mi vida y darme la sabiduría y fortaleza para lograr esta meta.

A LA VIRGEN MARÍA

Quien siempre ha estado a mi lado en todo momento.

A MIS PAPAS

Por su amor, paciencia y ser mi apoyo, en las situaciones buenas y malas de la vida.

AL DR. MARTÍN LÓPEZ

Por ayudarme a recuperar mi vista y así poder cumplir mis sueños en la vida.

A MIS HERMANAS

Paola y Evelyn, por estar conmigo en las buenas y malas.

A MI SOBRINO

Sebastián Fuentes Soto por ser la alegría de la familia.

A MIS ABUELOS

Amanda de Mérida, Mario Mérida (QEPD), Héctor Soto (QEPD) y Mercedes de Soto (QEDP), por ser un ejemplo en la vida, de cómo ser una persona trabajadora y con valores.

A MIS AMIGAS Y AMIGOS

En especial a Idania García, Karla Cruz, Gricelda Apxuaca, Cristina Flores, Ligia Reyes, Miriam López, Ana Suruy, Andrea Polanco, Fabiola Elizondo, Annelisse Pineda, Christian Orellana, por

su apoyo y darme motivación en los momentos difíciles.

A todos los animales que fueron sacrificados para mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por enseñarme que para todo hay un propósito en la vida y permitirme cumplir esta meta.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Por darme la oportunidad de estudiar Medicina Veterinaria y formar parte de esta gloriosa universidad.

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Por ser mi casa de estudios y brindarme las herramientas necesarias para ser una profesional y darme la oportunidad de trabajo.

A MIS PADRES

Por su amor, apoyo incondicional y enseñarme a ser una persona responsable.

A MIS HERMANAS

Por su compañía y cariño.

A MIS AMIGOS

Por su amistad, apoyo y momentos vividos durante nuestro tiempo de estudio.

A MIS CATEDRÁTICOS

Por contribuir en mi formación compartiendo sus conocimientos y experiencias. En especial al M.V. Sergio Veliz, Lic. Zoot. Amilcar Dávila, M.V. Fredy González, M.V. Andrea Portillo,

Lic. Zoot. Hugo Peñate, M.V. Wilson Valdez, M.V. Luis Morales.

A MIS ASESORES DE TESIS:

M.A. Dora Elena Chang, MSc. Manuel Rodríguez Zea y M.A. Gustavo Taracena, por el gran apoyo, paciencia y tiempo que me brindaron, durante todo el proceso de este trabajo.

**A LABORATORIO
DE PARASITOLOGIA**

Al Técnico Victor Canahuí, por su ayuda en la realización práctica de este trabajo.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	2
III.	OBJETIVOS	3
	3.1. Objetivo General	3
	3.2. Objetivos Específicos	3
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
	4.1. Neem	4
	4.1.1 Aspectos botánicos	4
	4.1.2 Historia del Neem	5
	4.1.3 Condiciones para la propagación y desarrollo	6
	4.1.4 Distribución	7
	4.1.5 Aceite de Neem	7
	4.1.5.1. Componentes químicos del aceite de Neem	7
	4.1.5.1.1 Azadiractina	8
	4.1.5.1.2 Meliantriol	10
	4.1.5.1.3 Salannina	11
	4.1.5.1.4 Nimbina y Nimbidina	11
	4.1.5.2. Propiedades y efectos	11
	4.1.5.3. Efecto de las condiciones climáticas sobre el aceite de Neem	14
	4.1.5.4. Otros usos del aceite de Neem	15
	4.1.5.5. Antecedentes del uso de Neem en Garrapatas	15
	4.2. Infestación de Garrapatas	16
	4.2.1 Ciclo biológico y Comportamiento	17
	4.2.1.1. Fase no parasítica	18
	4.2.1.2. Fase de encuentro	19
	4.2.1.3. Fase parasítica	20

4.2.2	Género <i>Boophilus</i>	21
4.2.3	Patogenia	22
4.2.4	Lesiones	23
4.2.5	Epidemiología	24
4.2.6	Longevidad	24
4.2.7	Control	25
4.2.8	Medios Físicos y químicos	26
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	27
5.1.	Materiales	27
5.1.1.	Recursos Humanos	27
5.1.2.	Recursos de Laboratorio.....	27
5.1.3.	Recursos de Campo	28
5.1.4.	Recursos Biológicos	28
5.1.5.	Centros de Referencia	28
5.2.	Metodología	29
5.2.1.	Lugar de Estudio.....	29
5.2.2.	Obtención del Aceite de Neem	29
5.2.3.	Elaboración de las Concentraciones.....	29
5.2.4.	Obtención de las Muestras	30
5.2.5.	Transporte de Muestras.....	30
5.2.6.	Procedimiento del Estudio	31
5.3.	Análisis Estadístico.....	32
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	33
VII.	CONCLUSIONES	35
VIII.	RECOMENDACIONES	36
IX.	RESUMEN	37
	SUMMARY	38
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
XI.	ANEXOS	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1	Garrapatas <i>Boophilus sp.</i> vivas, utilizando diferentes concentraciones de aceite de Neem <i>in vitro</i>	43
Cuadro No. 2	Garrapatas <i>Boophilus sp.</i> muertas, utilizando diferentes concentraciones de aceite de Neem <i>in vitro</i>	44
Cuadro No. 3	Efecto ixodicida <i>in vitro</i> , de las concentraciones de aceite de Neem sobre garrapatas <i>Boophilus sp.</i>	45
Cuadro No. 4	Inhibición de oviposición <i>in vitro</i> , de las diferentes concentraciones de aceite de Neem sobre garrapatas <i>Boophilus sp.</i>	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1	Garrapatas <i>Boophilus sp.</i> muertas, utilizando las diferentes concentraciones de aceite de Neem (<i>Azadirachta indica</i>) <i>in vitro</i>	47
Figura No. 2	Fotografía de rama de árbol de Neem con hojas y frutos	48
Figura No. 3	Fotografía de semillas de Neem puestas a secar al sol	48
Figura No. 4	Fotografía de semillas de Neem oprimidas por prensa Manual	48
Figura No 5	Fotografía de aceite de Neem recolectado	49
Figura No.6	Fotografía de la forma en que fueron colocadas las garrapatas <i>Boophilus sp.</i> adhiriéndolas al masking tape en la caja Petri	49
Figura No. 7	Fotografía de la ovispostura <i>in vitro</i> de garrapatas <i>Boophilus sp</i>	49

I. INTRODUCCIÓN

En el ganado bovino las garrapatas pueden producir anemia, transmitirles enfermedades como piroplasmosis y anaplasmosis. La destrucción tisular producida por los apéndices bucales de las garrapatas, puede ocasionar dolor, cojeras, pérdida de pelo por prurito, miasis subcutánea; trayendo como consecuencia pérdidas económicas al productor, debido a que afecta la ganancia de peso, disminución de la producción láctea y eventualmente ocasionar la muerte del animal.

Actualmente se están buscando nuevas alternativas para el control de íxodidos, ya que los productos químicos, con frecuencia pueden crear resistencia; además presentan residuos en leche y carne, los cuales pueden causar efectos tóxicos cuando el ser humano los consume.

El aceite de Neem (*Azadirachta indica*) es un producto obtenido de las semillas del árbol del mismo nombre, no es tóxico para el hombre o animales homeotermos; además, es biodegradable y no produce resistencia. Posee constituyentes biológicamente activos como los triterpenos, con efectos reconocidos sobre las garrapatas ya que interrumpen o inhiben el desarrollo de huevos y larvas; repele y envenena larvas, adultos; e inhibe a las hembras para ovipositar. (Ramos, R. s.f.)

La presente investigación se realizó, con el fin de encontrar una alternativa natural para el control de las garrapatas que afectan comúnmente a los bovinos; se evaluó el efecto ixodicida por medio de la técnica similar a la de inmersión de adultas de FAO y se determinó que las concentraciones 1% y 1.5% de aceite Neem (*Azadirachta indica*) diluidas en agua, inhiben la oviposición y presentan efecto ixodicida sobre las garrapatas del género *Boophilus*.

II. HIPÓTESIS

El aceite de Neem (*Azadirachta indica*) tiene efecto ixodicida *in vitro* sobre las garrapatas del género *Boophilus* que afectan al ganado bovino.

III. OBJETIVOS

3.1. General

Generar información acerca del uso de aceite de Neem, a diferentes concentraciones como un producto natural ixodicida sobre las garrapatas *Boophilus sp.*

3.2. Específicos

- Determinar qué concentración de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) presenta mayor efecto ixodicida *in vitro* sobre las garrapatas *Boophilus sp.*
- Evaluar el efecto ixodicida del aceite de Neem (*Azadirachta indica*) *in vitro* sobre la inhibición de la oviposición de garrapatas *Boophilus sp.*

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Neem (*Azadirachta indica*)

4.1.1 Aspectos Botánicos

Taxonomía:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Orden: Sapindales

Familia: Meliaceae (Londoño, D. 2006).

Nombre común y científico: Margosa, Árbol del Neem; *Azadirachta indica* A. Juss. (Londoño, D. 2006).

El nombre sánscrito del Neem significa “el que cura todas las dolencias”. Es un árbol de crecimiento rápido, de hoja perenne, que alcanza alturas de hasta 20 metros en condiciones óptimas, con un diámetro medio de la copa de 5 a 10 metros, destacando su sistema radicular por tener una raíz pivotante muy desarrollada. (Anjaria, J et al. 2002; Junquera, P. 2010; Ramos, R s.f.).

La flor mide 10 a 12 cm, es blanca y bisexual. El cáliz contiene 5 sépalos y base cónica. La corola presenta 5 pétalos imbricados, es polipétala con disco ausente. El androceo está compuesto por 10 estambres, forma un tubo estaminal que incluye el ovario. La antera se encuentra insertada. El gineceo es alargado y delgado. El estigma es poco cilíndrico y tiene tres lóbulos. El ovario es sincárpico, 2 óvulos en cada lóculo, con plantación axilar. Las inflorescencias, que se ramifican en tercer grado tienen 150 a 250 flores. (Anjaria J et al. 2002).

Los frutos son drupáceos, oval-oblongos, amarillos purpúreos, de 1 cm de diámetro y normalmente contienen una sola semilla. El fruto tiene una longitud de 2 cm cuando madura, el pericarpio aparece amarillo y de textura rugosa. (Ramos, R s.f.).

La masa de la semilla es de 0.21 g y el 62% de la masa comprende a la almendra. Los componentes principales de la almendra son aceite, fibra cruda y proteínas; mientras que en la cáscara es la fibra cruda. (Romero, C; Vargas, M. 2010).

4.1.2 Historia del Neem

Las primeras indicaciones del uso del Neem como medicamento, se remontan hasta hace 4.500 años. La cultura India Harappa estaba en su pináculo, esta fue una de las grandes civilizaciones del mundo antiguo. Excavaciones hechas en Harappa y Mohenjo- Daro en el oeste y noroeste de la India que se identifican con este periodo, se encontraron algunos preparados terapéuticos incluyendo hojas de Neem, entre las ruinas. (Roja, M; Etcheverry, N. 2003).

El Sarira Sthanam recomendaba que los recién nacidos fueran untados con aceite y hierbas, recostados sobre una sábana de seda u abanicados con una rama de Neem con hojas anchas. Conforme crecía el niño, se le administraban pequeñas dosis de aceite cuando enfermaba y se le bañaba con té de Neem para tratar cortadas, lesiones o varicela. El cepillado diario con ramitas de Neem masticadas ayudaba tanto a niños como adultos a mantener dientes y boca sanas. (Roja, M; Etcheverry, N. 2003).

Además el aceite de Neem alimentaba las lámparas durante las noches. La madera era usada como combustible para la cocina diaria de frijol y granos, los cuales se podían mantener libres de insectos cuando eran embodegados

mediante el agregado de una fina capa de aceite u hojas de Neem(*Azadirachta indica*). (Roja, M; Etcheverry, N. 2003).

El uso del Neem en la medicina veterinaria en la India se remonta a los tiempos de la epopeya Mahabharata (300 aC). Según los estudiosos, dos de los cinco hermanos Pandavas Nakul y Sahadev, quienes practicaban la medicina veterinaria, utilizaban Neem para tratar a los caballos enfermos y heridos así como a los elefantes mediante la aplicación de cataplasmas preparadas a partir de hojas de Neem y el aceite de Neem para la curación de las heridas, durante la batalla de Mahabharata. Antigua literatura sánscrita indica las aplicaciones del Neem en la alimentación animal y en un gran número de recetas y fórmulas para proporcionar cobertura sanitaria a los animales en diversas formas. Diversas preparaciones de Neem fueron estandarizadas en forma de aceites, linimentos, polvos y líquidos. Eruditos ayurvédicos recomendaban el uso de aceite de Neem como antipirético, sedante, antiinflamatorio, analgésico, antihistamínico, antihelmíntico y como acaricida. (Fundación Neem, 2008).

Neem (*Azadirachta indica*) se ha utilizado tradicionalmente para el ganado contra varios insectos, tales como gusanos, moscas de los cuernos y tábanos. Neem es también útil para el control de algunas bacterias de importancia veterinaria y contra los parásitos intestinales en los animales. (Fundación Neem, 2008).

4.1.3 Condiciones para la propagación y desarrollo

El árbol Neem se propaga naturalmente por semillas, que deben limpiarse y no almacenarse demasiado tiempo, pues desciende el porcentaje de germinación. El Neem puede resistir la sequía y años extremadamente secos con precipitaciones de 150 mm. Por otra parte, crece muy rápidamente y hace pocas demandas sobre la fertilidad del suelo. El árbol de Neem, por lo tanto, crece en

una amplia variedad de lugares. (Ramos, R. s.f.; Londoño, D 2006; Fundación Neem, 2008).

A temperaturas, por debajo de 10 °C, es muy difícil que se produzca la fructificación, de este modo las heladas lo matan y si estas son leves no lo dejan fructificar. (Ramos, R. s.f.).

4.1.4 Distribución

Se encuentran distribuidos por el continente africano, Asia, la parte central y sur del continente americano y Oceanía, la mayor parte de ellos al sudeste de Asia y al sur del Sahara. Actualmente en 78 países existen árboles Neem. (Ramos, R. s.f.).

4.1.5 Aceite de Neem

El aceite de Neem tiene un color amarillo oscuro, es muy amargo, tiene un olor entre ajo y azufre, contiene vitamina E y aminoácidos esenciales. Se vuelve sólido a temperaturas inferiores a 23°C. ((Roja, M; Etcheverry, N. 2003; Fundación Neem, 2008).

4.1.5.1. Componentes químicos del aceite de Neem

El Neem contienen terpenoides, compuestos por carbono, hidrógeno y oxígeno; la presencia del oxígeno hace esos compuestos más solubles en agua, metanol o etanol que en hexano, gasolina u otros solventes similares. El más activo es la azadiractina, de la que existen varios tipos que varían desde la azadiractina A a la azadiractina K. (Ramos, R. s.f.).

También se han encontrado los siguientes porcentajes en ácidos grasos: Ácido Oléico - 52.8, Ácido Esteárico - 21.4, Ácido Lineólico - 2.1, y un resto de otros ácidos grasos - 2.3, estos porcentajes varían dependiendo del lugar y tiempo de recolección de las semillas. ((Roja, M; Etcheverry, N. 2003).

Los componentes limonoides (triterpenos) son los más importantes por su actividad y su concentración en el árbol. Estos pertenecen a nueve grupos básicos:

- Azadirona: Se encuentra en el aceite que se extrae de las semillas.
- Amorastaitina: Aparece en las hojas frescas del Neem.
- Vepinina: En el aceite de las semillas.
- Vilasinina: En las hojas del Neem.
- Geduninina: Se encuentra en el aceite de las semillas y de la corteza.
- Nimbina: En las hojas y las semillas.
- Nimbolina. También presente en las semillas.
- Salanina: En las hojas y semillas. (Ramos, R. s.f.).

Nueve limonoides del Neem han demostrado una habilidad para impedir el crecimiento en los insectos, afectando a un número de especies que incluyen algunas de las plagas más mortíferas para la agricultura y la salud humana. Son los componentes azadiractina, salannina, melantriol, y nimbina los más conocidos y por ahora al menos, parecen ser los más significativos. (Ramos, R. s.f.).

4.1.5.1.1 Azadiractina:

Es el principal agente de la planta a la hora de combatir los insectos. Normalmente se encuentra en la semilla en proporciones del 0.1 al 0.9 %. (Ramos, R. s.f.).

La azadiractina es estructuralmente parecida a las ecdisonas (hormonas que se encuentran en los insectos y que controlan el proceso de metamorfosis del insecto desde el estado de larva hasta que llega a ser adulto). Esta materia activa no mata insectos, al menos no inmediatamente, sino que en lugar de ello, destruye su crecimiento y reproducción. (Ramos, R. s.f.).

Reduce la alimentación de muchas especies de plagas de insectos así como de algunos nemátodos. Algunos autores demostraron una reducción en la síntesis de ecdisona al aplicar el principio activo. Otros autores sugieren que la azadiractina interviene en el sistema neuroendocrino para controlar la síntesis de la hormona ecdisona y juvenil. (Ramos, R. s.f.).

No obstante se han mostrado algunas limitaciones sobre todo debido al efecto de los rayos ultravioletas sobre esta sustancia que aceleran su degradación. El efecto residual dura unos cinco días, aunque los efectos juvenoides, es decir sobre el crecimiento, pierden su actividad normalmente después de uno o dos días bajo condiciones de campo. (Ramos, R. s.f.).

Las temperaturas parecen jugar un papel de forma indirecta: temperaturas más altas incrementan el efecto porque los insectos son más activos bajo estas condiciones, y el efecto anticomida es conseguido más rápidamente que a bajas temperaturas. (Ramos, R. s.f.).

La azadiractina controló la chinche del café (*Antestiopsis orbitalis bechuana*) en cuanto a su crecimiento, contra el escarabajo de judía mejicano (*Epilachna viriavestis*) y contra el escarabajo de la patata (*Leptinotarsa decemlineata*). (Ramos, R. s.f.).

La azadiractina parece que actúa bloqueando la producción de ecdisona, de esta forma altera el delicado equilibrio hormonal de los insectos, afectando a su metamorfosis. Produce malformaciones, sin importar el estado del ciclo evolutivo en que se encuentren, afectando su actividad alimenticia, evitando que puedan volar, volviéndolos estériles y mueran rápidamente.(Ramos, R. s.f.).

Estos efectos se producen dependiendo de la especie de insecto, de su estado de desarrollo, del proceso de extracción y de la concentración del preparado. (Ramos, R. s.f.).

Hay que tener en cuenta el efecto que la radiación solar produce sobre su eficacia, lo que se puede evitar si se mezcla el aceite de Neem (*Azadirachta indica*), con aceite de angélica, ricino y cáñamo. (Ramos, R. s.f.).

Algunos efectos reguladores del crecimiento de la azadiractina se entienden por la acción directa de esta sobre la motilidad intestinal en el caso de *Locustidae migratoria*. (Ramos, R. s.f.).

4.1.5.1.2 Meliantriol:

Fue aislado por primera vez por Lavie en 1967. Este compuesto actúa también como inhibidor de la alimentación. Hace posible que en concentrados extremadamente bajos, los insectos cesen de comer. Además también actúa sobre el crecimiento de los insectos y afecta también a nematodos. (Ramos, R. s.f.).

4.1.5.1.3 Salannina:

Compuesto inhibe también, poderosamente la alimentación, pero no influye en los distintos cambios hasta que los insectos no llegan a ser adultos. (Ramos, R. s.f.).

Se probó su poder en laboratorio contra varios tipos de plagas, (langosta migratoria, trepadora roja de California, el escarabajo rayado del pepino, el escarabajo japonés y la mosca doméstica), en todos los casos se demostró su alto poder inhibitor de la alimentación. (Ramos, R. s.f.).

4.1.5.1.4 Nimbina y Nimbidina:

Estos compuestos han demostrado su actividad sobre el Virus X de la Patata, *Vaccinia virus* y sobre el virus de las enfermedades venéreas de las aves. Se produce cuando las semillas de Neem (*Azadirachta indica*) son sometidas a un proceso de extracción con alcohol. (Ramos, R. s.f.).

4.1.5.2 Propiedades y efectos

Las propiedades del Neem vienen basadas en el parecido que presentan sus componentes con las hormonas reales, de tal forma que los cuerpos de los insectos absorben los componentes del Neem como si fueran hormonas reales y estas bloquean su sistema endócrino. El comportamiento profundamente arraigado resultante y las alteraciones de conducta, dejan a los insectos tan confundidos en su cuerpo y cerebro, que no pueden reproducirse y sus poblaciones se reducen mucho. (Ramos, R. s.f.).

Los extractos de Neem afectan cerca de 300 especies de artrópodos: Orthoptera (Chapulines), Blattaria (Cucarachas), Homoptera (pulgones),

Lepidoptera (Mariposas), Diptera (Moscas), Coleoptera (Escarabajos y gorgojos), Himenoptera (Avispas y hormigas), Isoptera (Termitas), Thysanoptera (Trips), Acarina (garrapatas) y Siphonaptera (pulga). Los extractos de Neem son efectivos para proteger plantas de los defoliadores, sin afectar abejas las cuales son benéficas para la polinización. (Aguirre, F. 2008; Junquera, P. 2010).

Los efectos de varios extractos del Neem actúan en diversos insectos de diferentes maneras:

- Destruyendo e inhibiendo el desarrollo de huevos, larvas o crisálidas.
- Bloqueando la metamorfosis de las larvas o ninfas.
- Destruyendo su apareamiento y comunicación sexual.
- Repeliendo a las larvas y adultos.
- Impidiendo a larvas poner huevos.
- Esterilizando adultos.
- Envenenando a larvas y adultos.
- Impidiendo su alimentación.
- Bloqueando la habilidad para deglutir (reduciendo la movilidad intestinal).
- Enviando mayores errores a su metamorfosis en varios períodos de desarrollo del insecto.
- Inhibiendo la formación de quitina (material del que se compone el exoesqueleto del insecto).
- Impide que se realicen las mudas, necesarias para entrar en la siguiente etapa del desarrollo, de tal forma que actúa como regulador de crecimiento del insecto.
- El poder repelente es probablemente el efecto más débil. La actividad anticomida (aunque interesante y valiosa en gran extremo) presenta corta vida y es variable. La más importante cualidad del Neem, es el bloqueo en el proceso de metamorfosis de la larva. (Ramos, R. s.f.).

El Neem no crea ninguna resistencia en los insectos, ya que la mezcla compleja de ingredientes activos, impide que adquieran inmunidad, mientras que los productos químicos sintéticos, que frecuentemente contienen un ingrediente activo, si llegan a ser tolerados por los insectos. (Aguirre, F. 2008).

Existen básicamente tres métodos para extraer el aceite. El primer método usado desde la antigüedad es el extraer aceite mediante presión mecánica, consiste en colocar la semilla en un recipiente para después ejercer presión mediante un tornillo o cualquier forma para aplastar semillas y recolectar el aceite. Pueden extraerse aproximadamente 100–150 ml de aceite de 1kg de semillas de Neem. 30 kg de semillas de Neem producen 6 a 8 kg de aceite. (Roja, M; Etcheverry, N. 2003; Fundación Neem, 2008).

El segundo método utiliza el vapor y altas presiones para extraer el aceite, las semillas son calentadas con vapor para provocar la fluidez del aceite y posteriormente aplastada a alta presión, con este método se obtiene más aceite pero es oscuro y muy oloroso, además de haber perdido muchos de sus ingredientes activos debido al calor del vapor. (Roja, M; Etcheverry, N. 2003).

El tercer método y más moderno de extracción es realizado por medio de solventes, es el más usado ya que prácticamente se obtiene todo el aceite de la semilla, las semillas se muelen y se colocan en un recipiente que contiene algún solvente derivado del petróleo, usualmente hexano (gasolina blanca). El aceite es extraído de la semilla por el solvente, posteriormente la mezcla restante se coloca en un aparato que remueve el solvente dejándonos un aceite bastante claro. (Roja, M; Etcheverry, N. 2003).

El mejor método en la actualidad para obtener un aceite de calidad y que conserve la mayoría de sus ingredientes, es el llamado prensado frío, con este

método el aceite obtenido será más claro y menos oloroso. (Roja, M; Etcheverry, N. 2003).

4.1.5.3. Efecto de las condiciones climáticas sobre el aceite de Neem

El efecto residual de los productos basados en el Neem, se ve en general, reducido en pocos días mayormente alrededor de cinco a siete días. En el caso de los efectos sistémicos y después de la aplicación de altas concentraciones, éstos permanecen algo más. No obstante, esto parece ser suficiente para obtener un buen control de plagas. (Ramos R. s.f.).

El efecto regulador del crecimiento de los insecticidas del Neem, se ve influenciado indirectamente por la temperatura. Bajo condiciones tropicales, con altas temperaturas, la mayoría de los insectos (ninfas y larvas) mueren en pocos días. En climas templados, especialmente en primavera, lleva más tiempo alcanzar esta meta, sobre todo si baja la temperatura y predomina la lluvia. La lluvia en ocasiones puede lavar o arrastrar el material activo antes de que alcance a los insectos objetivos. (Ramos R. s.f.).

El Neem es mucho más efectivo en climas cálidos que en zonas frías, donde la actividad de sus principios se ve muy menguada. (Ramos R. s.f.).

La Azadiractina después de 24 horas expuesto a radiaciones ultravioletas, o después de siete días expuesto a la luz, se producía una degradación del 50 %. Se ha demostrado que después de 200 horas, (aproximadamente 8 días), de continua exposición a las radiaciones ultravioletas, la azadiractina se degrada un 100 %. (Ramos R. s.f.).

4.1.5.4. Otros usos del aceite de Neem

El aceite de Neem se usa en la India para limpiar el tracto uterino de vacas en caso de metritis y endometritis, se recomienda aplicar para tratamiento de infecciones mayores de la piel, como eczema, sarna y úlceras. Presenta buena eficacia como acaricida contra *Sarcoptes scabiei*, el agente causal de la sarna sarcóptica en ovejas. Se puede aplicar como antihelmíntico. (Aguirre, F. 2008; Anjaria, J. et al. 2002).

El aceite de Neem, posee actividad anti-hongos y antisépticas y ha demostrado una potente actividad antibacteriana contra una amplia gama de microorganismos Gram positivos y Gram negativos. También combate la diabetes en perros. (Fundación Neem, 2008).

4.1.5.5. Antecedentes del uso de Neem en Garrapatas

En 1996, John Farries, realizó un estudio sobre el efecto del Aceite de Neem en el ciclo de vida de la garrapata del ganado (*Boophilus microplus*), en Tailandia, utilizando la técnica de paquete de larvas, usando concentraciones de 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% y 1% de aceite de Neem, las cuales fueron realizadas con agua, siendo las más efectivas 0.8% y 1%.

En Nigeria se comprobó la toxicidad del aceite de Neem en larvas de *Amblyomma variegatum*, utilizando la técnica de paquete de larvas, aplicando el aceite de Neem en diferentes concentraciones los cuales fueron realizados con etanol y agua destilada, utilizando las siguientes cantidades de aceite de Neem 0.25 ml, 0.4 ml, 1 ml, 2 ml, 4 ml y 6 ml; siendo más efectivo la cantidad más alta. (Ndumu et al. 1999).

En Etiopía, se realizó un estudio de Toxicidad de aceite de las Semillas Neem contra larvas de *Boophilus decoloratus*, realizando la técnica de paquete de larvas, usando las siguientes cantidades de aceite de Neem 0.2 ml, 0.4 ml, 0.6 ml, 0.8 ml y 1ml; siendo el más efectivo la cantidad de 1 ml de aceite de Neem. (Choudhury 2009).

4.2. INFESTACIÓN DE GARRAPATAS

Las garrapatas son ectoparásitos de mamíferos, aves domésticas, animales silvestres y el hombre. Clínicamente se caracterizan por la presencia de garrapatas sobre la piel de diferentes partes del cuerpo y por la transmisión de importantes enfermedades causadas por virus, bacterias, protozoarios, rickettsias, etc. La transmisión se realiza por el suelo, los estados evolutivos son huevo, larva, ninfa y adulto, el desarrollo puede ocurrir en uno, dos o tres huéspedes. (Quiroz, H. 1990).

Estos ácaros macroscópicos, se encuentran en dos familias *Ixodidae* y *Argasidae*. Las de *Ixodidae* se caracterizan por presentar un escudo quitinoso y el capítulo se encuentra en posición anterior en todos los estados evolutivos. (Quiroz, H. 1990).

En las garrapatas de familia *Ixodidae*, el dimorfismo sexual es manifiesto, en el macho el escudo cubre completamente el dorso, mientras que en la hembra no lo cubre. El escudo en las hembras repletas de sangre aparece como una pequeña placa en la porción anterior. Las áreas porosas están presentes en la base del capítulo de las hembras y ausente en la base del capítulo de los machos. El capítulo es siempre anterior y visible dorsalmente. Los estigmas respiratorios están localizados en la parte posterior de la coxa IV. (Quiroz, H. 1990).

Los estados de desarrollo de las garrapatas de la familia *Ixodidae* se caracterizan porque las larvas poseen tres pares de patas. Las ninfas poseen cuatro pares de patas pero carecen de abertura genital y la base del capítulo no tiene área porosa en las hembras. Los adultos tienen poro genital, el escudo del macho y de la hembra son típicos y la base del capítulo de las hembras tiene áreas porosas. (Quiroz, H. 1990).

4.2.1. Ciclo biológico y Comportamiento

Las garrapatas tiene cuatro estados evolutivos en su ciclo vital: huevo, larva hexápoda, ninfa octápoda y adultos. La transformación entre un estado y otro requiere de una o más mudas. (Quiroz, H. 1990).

El desarrollo de las garrapatas ocurre en uno, dos o tres huéspedes por lo que se denominan garrapatas de 1, 2 ó 3 huéspedes. (Quiroz, H. 1990).

Las garrapatas de un 1 huésped dependen de un solo hospedero para el desarrollo de larva, ninfa y adulto, como *B. microplus*. (Quiroz, H. 1990).

Las garrapatas de 2 huéspedes, atacan al huésped en estado de larva, se alimentan, mudan y se transforman en ninfa; se alimenta hasta estar repleta, se deja caer del huésped, muda en el suelo y el adulto sube a un segundo huésped en donde se alimenta, como las garrapatas *Rhipicephalus*. (Quiroz, H. 1990).

En las garrapatas de 3 huéspedes, la larva se alimenta en un primer huésped, cae al suelo y muda al estado de ninfa, ataca a un segundo huésped, se alimenta hasta estar repleta, se deja caer al suelo y muda; finalmente, el adulto se sube a un tercer huésped en donde se alimenta nuevamente para aparearse, tal como especímenes de los géneros *Amblyomma* e *Ixodes*. (Quiroz, H. 1990).

Para que las garrapatas logren su desarrollo, es necesario que cursen por tres fases: No parasítica, de encuentro y parasítica. (Rodríguez, R. et al. 2006).

4.2.1.1. Fase no parasítica:

Es la llamada de vida libre y comprende desde que la garrapata hembra repleta se desprende de su hospedero, hasta la aparición de las larvas en la vegetación. Esta fase se divide en cinco períodos: preoviposición, oviposición, postoviposición, incubación y eclosión. (Rodríguez, R. et al. 2006).

- Preoviposición: Comprende desde el desprendimiento de la garrapata repleta del hospedero hasta la postura del primer huevo. La garrapata *B. microplus* experimenta repleción final lo cual principalmente sucede durante la noche y se desprende al comienzo de la mañana. Al caer la garrapata al suelo busca lugares sombreados y protegidos, para poder iniciar el proceso de oviposición. (Rodríguez, R. et al. 2006).
- Oviposición: Es el tiempo considerado desde que se inicia la puesta de los primeros huevos hasta los últimos. En condiciones favorables la postura tarda dos días, pero en climas fríos se prolonga por semanas o meses. (Rodríguez, R. et al. 2006; Quiroz, H. 1990).
- Postoviposición: Es el período desde que la garrapata repleta pone el último huevo hasta su muerte. Los huevos al ser puestos son cubiertos por una sustancia que los protege de la deshidratación y los mantiene unidos formando racimo. (Rodríguez, R. et al. 2006; Quiroz, H. 1990).
- Incubación: Comprende desde que se inicia la oviposición hasta la emergencia de las larvas, pudiéndose ver afectado por factores ambientales como son la humedad, temperatura, influyendo

decisivamente en la evolución del embrión. Este período varía de 2 semanas a 7 meses. (Rodríguez, R. et al. 2006; Quiroz, H. 1990).

- **Eclosión:** Durante este período la larva emerge del huevo, los mejores porcentajes de eclosión se obtienen en temporadas que tiene una temperatura óptima de 25-35 °C. El porcentaje de eclosión de *B. microplus* es superior al 80%. (Rodríguez, R. et al. 2006).

4.2.1.2. Fase de encuentro:

Se define como el proceso de transferencia de las larvas desde la vegetación al hospedero y está influenciada por variables básicas como la distribución, longevidad, ritmos de actividad de las larvas, la estructura y densidad de bovinos y aspectos relacionados con su comportamiento en el pastizal. El encuentro de hospedero comprende dos períodos, pasivo y búsqueda. (Rodríguez, R. et al. 2006).

- **Período pasivo:** Corresponde al primer estímulo posterior a la eclosión de las larvas, requiriéndose de un período para que dichas larvas adquieran viabilidad necesaria para resistir los efectos del ambiente. (Rodríguez, R. et al. 2006).
- **Períodos de búsqueda:** Es el tiempo que transcurre durante el período pasivo y el encuentro del hospedero; en este período las larvas utilizan su capacidad de sobrevivencia para resistir los efectos del medio ambiente. (Rodríguez, R. et al. 2006).

Este período es uno de los más críticos en la vida de las garrapatas ya que necesitan encontrar un hospedero adecuado, nutrirse y completar su ciclo; además cuentan únicamente con sus reservas

resistir períodos prolongados de inanición. (Rodríguez, R. et al. 2006).

Por otra parte, es importante mencionar aspectos de comportamiento y fisiológicos de las larvas que les permite detectar movimientos de cuerpos en la cercanía cuando se encuentran en las partes superiores de los pastos agrupadas en grandes cantidades, los cuales hacen que estas incrementen su actividad cuando son estimulados por el desprendimiento de bióxido de carbono de la piel de los animales, adoptando una posición particular al sostenerse en sus dos patas posteriores extendiendo el par anterior, para tratar de adherirse al posible hospedero. La temperatura tiene una relación inversa con la duración de la sobrevivencia larval, es decir a medida que la temperatura aumenta, la duración de dicha fase disminuye. (Rodríguez, R. et al. 2006).

4.2.1.3. Fase parasítica:

Es el período que completa al ciclo biológico de la garrapata desarrollándose una serie de eventos patológicos sobre el hospedero que conllevan a las pérdidas directas e indirectas ocasionadas por la presencia de estados de larvas, ninfas y adultos. (Rodríguez, R. et al. 2006).

Para poder implantarse requiere superar algunas barreras del hospedero como el tipo de pelo, la espesura de éste, la capilarización, densidad de glándulas sudoríparas y sebáceas, le ofrecen resistencia, asimismo, la posibilidad de ser alcanzadas durante el proceso de acicalamiento. (Rodríguez, R. et al. 2006).

La cópula puede realizarse sobre el huésped o fuera de éste, durante o después de la repleción alimenticia; por ejemplo en *Argasidae* la cópula se realiza después de que los adultos han dejado al huésped, en tanto que en *Ixodidae*

ocurre sobre el huésped, después de la cual la hembra parece engordar más rápidamente. (Quiroz, H. 1990).

4.2.2 Género *Boophilus*

Los palpos son muy cortos y están anillados dorsal y lateralmente. La base del capítulo es hexagonal con vista dorsal, tienen ojos inornados y sin festones. Las placas estigmáticas son redondas u ovals. Los machos tienen placas adanales y accesorias. El surco anal no se distingue o está ausente en la hembra y es tenue en el macho. Las estructuras caudales en el macho pueden o no estar presentes. (Quiroz, H. 1990).

Las hembras de *Boophilus microplus* se caracterizan por tener los espolones interno y externo de la coxa I anchos, redondeados y tan anchos como largos. Los espolones externos de la coxa II y III son anchos, redondeados y tan anchos como largos, la coxa IV tiene un espolón externo muy pequeño. (Quiroz, H. 1990).

La hembra de *Boophilus annulatus* no tiene espolón interno en la coxa I, el espolón externo es ancho, redondeado y tan ancho como largo. Las coxas II, III y IV no tienen espolón externo. (Quiroz, H. 1990).

La garrapata del género *Boophilus*, presenta un ciclo de vida que se caracteriza por la ubicación de un solo hospedero. La fase parasítica (larva, ninfa y adulta) ocurre sobre el mismo hospedero. Los machos y las hembras copulan, y la hembra queda grávida para desprenderse y caer al suelo e iniciar las fases no parasítica y de encuentro. En general esta etapa del ciclo biológico dura aproximadamente de 19 a 21 días en condiciones óptimas. (Rodríguez, R. et al. 2006).

La cronología evolutiva de *Boophilus annulatus* de un huésped, es la siguiente: En el período de preoviposición es de 2 a 66 días, el período de oviposición es de 6 a 70 días (una hembra pone más o menos 4,500 huevos), el período de incubación de los huevos es de 19 a 202 días, la alimentación de la larva y la muda de ésta es de 5 a 16 días, la alimentación de la ninfa y muda es de 5 a 18 días, la repleción alimenticia de la hembra es de 4 a 14 días y la supervivencia de la larva en ayuno puede ser de 246 días. (Quiroz, H. 1990).

La cronología evolutiva de *Boophilus microplus*; es de un huésped y esta constituida por: el período de preoviposición de 2 a 39 días, período de oviposición de 4 a 44 días (Una hembra pone más o menos 4,400 huevos), el período de incubación de los huevos es de 14 a 146 días, la alimentación de la larva y su muda es de 7 a 12 días, la alimentación de la ninfa y muda es de 5 a 17 días, la alimentación de la hembra adulta de 5 a 23 días y la supervivencia de la larva en ayuno es de 240 días o más. (Quiroz, H. 1990).

4.2.3 Patogenia:

Las garrapatas son parásitos obligatorios y que requieren para su desarrollo de fluidos y sangre de sus huéspedes. El daño que causan las garrapatas se puede analizar desde dos puntos de vista; el daño directo o sea la suma de la acción traumática al perforar la piel con sus partes bucales y la acción expoliatriz al sustraer líquidos tisulares y sangre. (Quiroz, H. 1990).

La mayoría de las garrapatas tiene predilección por ciertos sitios del huésped, algunas prefieren las porciones con piel delgada perineal, crural interna, la espalda y otras. (Quiroz, H. 1990).

Las garrapatas se fijan al huésped y cortan la piel con el par de quelíceros e insertan el hipostoma en la herida. El tiempo durante el cual se alimenta de sangre

varía según la especie y de acuerdo también con el estado evolutivo; las hembras de las garrapatas duras se alimentan hasta el último día en que están fijadas, al quedar repletas de sangre. La mayoría de las hembras de las garrapatas *Ixodidae* se alimentan en el huésped durante 7 a 12 días y en ciertas condiciones más, pero nunca menos de 5 días. Las larvas y las ninfas de estas garrapatas duras se alimentan pero no llegan a la repleción de las hembras, al nutrirse en forma intermitente, cambiando de lugar y, por tanto, causan más daño a la piel con sus picaduras. (Quiroz, H. 1990).

Además de la acción expoliatriz, las garrapatas ejercen acción tóxica y antigénica, a través de las secreciones salivales; la saliva inyectada en la herida aparentemente ayuda a penetrar el hipostoma en la piel del huésped y contribuye a prevenir la coagulación de la sangre, facilitando la ingestión de ésta. (Quiroz, H. 1990).

La piroplasmosis o Babesiosis bovina es transmitida por *Boophilus annulatus* y *B. microplus* en América. (Quiroz, H. 1990).

Anaplasma marginale, agente causal de la anaplasmosis en los bovinos, es transmitido por *Boophilus microplus*. (Quiroz, H. 1990).

4.2.4 Lesiones:

En las diversas especies de *Boophilus*, cada hembra en estado adulto es capaz de consumir entre 0.3 y 0.5 ml de sangre por 24 horas; cada huésped puede albergar varios miles, por lo que hay una pérdida de varios mililitros por día, llegando a ser esto nocivo y aún mortal en algunos casos. (Quiroz, H. 1990).

4.2.5 Epidemiología:

Las especies *Boophilus annulatus* y *Boophilus microplus* debido al hecho de ser transmisoras de *babesia bigemina* y *B. bovis* son consideradas como las garrapatas de mayor importancia económica para el ganado vacuno en México, Centro y Sudamérica y Australia. (Quiroz, H. 1990).

La distribución geográfica de las garrapatas obedece a varios factores, algunos de los más importantes son temperatura, humedad, tipo de suelo y vegetación. (Quiroz, H. 1990).

Desde el punto de vista epidemiológico las garrapatas tienen un papel importante debido a su capacidad para transmitir diferentes agentes causales de enfermedades. (Quiroz, H. 1990).

4.2.6 Longevidad:

Muchas especies son capaces de sobrevivir durante períodos prolongados sin alimentarse de sangre; las ninfas sobreviven más que las larvas y los adultos viven más que las ninfas. La longevidad está estrechamente relacionada con la temperatura y la humedad; la mayoría las garrapatas detienen su desarrollo durante los meses de invierno, por ejemplo *Boophilus annulatus*. Hay considerable variación en la longevidad de *B. annulatus*, dependiendo de la estación del año. (Quiroz, H. 1990).

Como se indicó anteriormente, la humedad es muy importante para la longevidad de las garrapatas duras; su ausencia es altamente destructiva; por otra parte el exceso de humedad también es perjudicial ya que el crecimiento de hongos (Géneros: *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillum*, *Rhizopus*, *Fusarium* y *Metharhizium*) sobre las garrapatas también es dañino. (Quiroz, H. 1990).

Las garrapatas de *Boophilus microplus* se alimentan lentamente, requieren varios días para alcanzar un tercio de su volumen y luego en pocas horas completan su repleción para caer, posiblemente sean un mecanismo de adaptación para evitar ser aplastadas por el huésped o ser atacadas por aves depredadoras, como las garzas y algunos otros pájaros garrapateros. (Quiroz, H. 1990).

Además, las razas de ganado europeo (*Bos taurus*) son más susceptibles en tanto que las razas cebuinas (*Bos indicus*) y sus cruzas con ganado europeo son menos susceptibles, debido principalmente a la capacidad de los cebuinos para desarrollar un mayor grado de inmunidad. (Quiroz, H. 1990).

Se ha considerado también el papel que tienen en la dispersión de garrapatas, el transporte de forrajes, las corrientes de agua y el mismo viento, pueden arrastrar a las larvas en el pasto y llevarlas a otros sitios lejanos. (Quiroz, H. 1990).

4.2.7 Control:

Las garrapatas se controlan de varias maneras; por medio de parásitos y depredadores, o modificando el medio, utilizando medios físicos y químicos. (Quiroz, H. 1990).

Los depredadores de las garrapatas en condiciones naturales tienen un papel en la regulación de la población. Los bovinos destruyen garrapatas por aplastamiento, al rascarse contra diferentes objetos. Algunas aves actúan como depredadores tales como la garza garrapatera que desde África se ha extendido a otras partes del mundo. Parece ser que algunos de los depredadores más activos son las hormigas de los géneros *Iridomyrmex*, *Asphaenogaster*, *Pheidole* y la

Solenopsis geminata. Estas hormigas atacan a las garrapatas adultas repletas de sangre, pero no a las larvas ni a los huevos. (Quiroz, H. 1990).

Los hongos entomopatógenos de los géneros *Beauveira*, *Paecilomyces*, *Verticillum*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Metarhizium* han demostrado poseer buena eficacia para el control de las garrapatas. (Rodríguez, R. et al. 2006).

4.2.8 Medios Físicos y químicos:

Las modificaciones del medio que cambien las condiciones de temperatura y humedad pueden llegar a ser desfavorables para las garrapatas. Existen dos formas de destrucción directa de garrapatas en el suelo, una es por medio del fuego y la otra forma es por medio de ixodicidas químicos. (Quiroz, H. 1990).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales

5.1.1 Recursos Humanos

- Estudiante tesista
- Asesores de trabajo de graduación.
- Propietario de la explotación ganadera.
- Personal del Centro de Investigación de Etnoveterinaria y Terapias Alternativas CIETA.
- Personal técnico de Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia USAC

5.1.2 Recursos de Laboratorio

- 1 Litro de etanol al 25%
- 1 Litro de agua destilada
- Cinta adhesiva.
- Pinzas.
- Lapicero.
- 4 cajas Petri de vidrio.
- Prensa manual.
- Bolsas plásticas.
- 4 Beakers de 50 ml.
- Rollo de papel toalla.
- 4 coladores.
- Estereoscopio.
- Masking tape de ½ pulgada.

- Incubadora.
- Homogenizador magnético de platina metálica.
- 4 Probetas de 100 ml.
- Cuaderno de apuntes.
- Computadora.

5.1.3 Recursos de Campo

- 1 Frasco de 100 ml con rosca.
- Lazos.
- Vehículo.
- Combustible.
- Hielera.
- Hielo.

5.1.4 Recursos Biológicos

- Garrapatas del género *Boophilus*.
- 1 kg de semilla de Neem (*Azadirachta indica*).

5.1.5 Centros de Referencia

- Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- CIETA: Centro de Investigación de Etnoveterinaria y Terapias Alternativas, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia USAC.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Laboratorio FARMAYA

5.2. Metodología

5.2.1. Lugar del Estudio

Se realizó un muestreo por conveniencia, obteniendo suficientes garrapatas de todos los bovinos de una explotación situada en el municipio de Palín, Escuintla, donde se seleccionaron 120 especímenes que fueron sujetas a estudio en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.2.2. Obtención del Aceite de Neem

Se extrajo el aceite de Neem mediante presión mecánica, la cual consistió en colocar las semillas en 2 bolsas plásticas para después ejercer compresión mediante una prensa manual, la cual cuenta en sus bordes con paletas plásticas, para evitar la rotura de las bolsas con el fin de oprimir las semillas y recolectar el aceite.

5.2.3. Elaboración de las Concentraciones

Solución Madre:

Se preparó una concentración al 50 %, agregando 20 ml de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) en 20 ml de etanol al 25%, el cual se usó como solvente entre el aceite y el agua.

Concentración al 1.5%:

Se preparó esta concentración agregando 0.6 ml de la solución madre en 19.4 ml de agua destilada.

Concentración al 1 %:

Se preparó esta concentración agregando 0.4 ml de la solución madre en 19.6 ml de agua destilada.

Concentración al 0.8 %:

Se preparó esta concentración agregando 0.32 ml de la solución madre en 19.68 ml de agua destilada.

5.2.4. Obtención de las Muestras

Se realizaron 3 visitas a la explotación bovina, con un intervalo de 8 días, recolectando un aproximado de 60 garrapatas en cada una. De las garrapatas que se obtuvieron por cada visita, se seleccionó las que cumplían con las especificaciones en tamaño y sin lesiones, para un total de 40 garrapatas *Boophilus sp.*, hembras repletas de sangre (engurgitadas) para hacer grupos homogéneos y trabajarlas al día siguiente en el Laboratorio. Obteniéndose al final una muestra total de 120 garrapatas.

Se recolectaron las garrapatas por la mañana, con la ayuda de una pinza, tomando cada una contra pelo, obteniéndolas de forma completa, incluyendo el aparato bucal. Se introdujeron las garrapatas en un frasco y se almacenaron en una hielera con hielo.

5.2.5. Transporte de Muestras

Se transportaron las muestras hacia el Laboratorio de Parasitología de la FMVZ dentro de la hielera, conservando la cadena fría.

5.2.6. Procedimiento del Estudio

Para detectar la eficacia de las 3 concentraciones de aceite de Neem (*Azadirachta indica*), como garrapaticida, se utilizó la técnica similar a la de inmersión de adultas de FAO (1999).

Se distribuyeron las 40 garrapatas de forma aleatoria, en 3 tratamientos y un grupo control. (10 garrapatas para cada grupo)

Se colocó 20 ml de cada concentración de Neem en un beaker y en el grupo control 20 ml de agua, los cuales fueron identificados según el tratamiento a utilizar.

Se sumergieron 10 garrapatas repletas en cada uno de los beakers de acuerdo con el grupo al que pertenecían (tratamientos y control). Se colocó cada beaker en una platina magnética para ser agitado por 30 minutos, transcurrido este tiempo con la ayuda de un colador se extrajeron las garrapatas y con la ayuda de papel toalla, se eliminó el exceso de líquido. Este procedimiento se realizó 2 veces más con un intervalo de 8 días.

Al tener las garrapatas listas, se utilizó una caja Petri por cada uno de los tratamientos y control. Con la ayuda de cinta adhesiva se colocaron las garrapatas dorsalmente en posición alterna para facilitar la posición del poro de puesta en ambos sentidos.

Las cajas Petri con cada tratamiento y el control, se incubaron a 25-30 °C y con 80 a 90% de humedad, por 15 días. En el día 7 se realizó el conteo del número de garrapatas muertas y las que ovipositaron y se continuó observando diariamente las cajas Petri, en incubación, hasta el día 15.

5.3. Análisis Estadístico

La unidad experimental fue la garrapata de la especie *Boophilus sp.*

Las variables del estudio son oviposición y mortalidad, sin embargo al evaluar la mortalidad se está evaluando la oviposición, por lo que se realizó la prueba de la diferencia entre las proporciones de dos muestras.

Así mismo, se elaboró cuadros y gráficas con la información.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Al determinar el efecto ixodicida de las tres concentraciones del aceite de Neem *in vitro* sobre las garrapatas *Boophilus sp*, se obtuvo un 100% de mortalidad en las concentraciones al 1% y 1.5%, mientras se obtuvo un 83.33% en la concentración al 0.8%. (TABLA No.3).

En cuanto al efecto sobre la inhibición de la oviposición de las tres concentraciones del aceite de Neem *in vitro* sobre las garrapatas *Boophilus sp*, se determinó que en las concentraciones 1% y 1.5% inhibió totalmente la oviposición, mientras que en la concentración al 0.8% fue de un 83.33%. (TABLA No. 4)

Por medio de la prueba de la diferencia entre las proporciones de dos muestras, se comprobó que no hay diferencia significativa (0.88), sobre el efecto ixodicida e inhibición de oviposición, al aplicar aceite de Neem al 0.8% y 1.5 % sobre las garrapatas *Boophilus sp*,. Este resultado fue exactamente igual al comparar el aceite de Neem al 0.8% y 1%. (GRÁFICA No.1, TABLA No. 3, TABLA No.4)

Al comparar el aceite de Neem al 1.5 % con el grupo control se determinó que hubo diferencia significativa (5.02) en el efecto ixodicida y la inhibición de la oviposición. El mismo resultado se obtuvo al equiparar el aceite de Neem al 1% y el grupo control. (GRÁFICA No.1).

Se evaluó el grupo del aceite de Neem al 0.8% y el grupo control, utilizando la prueba de la diferencia entre las proporciones de dos muestras, demostrando que sí hubo diferencia significativa (4.55), debido a que el número de garrapatas muertas y que ovipositaron es menor en el grupo donde se aplicó el aceite de Neem al 0.8% comparado con el grupo control en el que se aplicó solamente agua destilada. (GRÁFICA No.1).

En los resultados obtenidos en el presente estudio, se observó una similitud con estudios realizados en otros países, donde se reporta una mortalidad del 100% utilizando concentraciones de aceite de Neem al 1% y al 100%. (Choudhury, M.K. 2009; Farries, J. 1996)

Al comparar la cantidad y el tamaño de los huevos ovipositados por las garrapatas, se determinó que en el grupo tratado con aceite de Neem al 0.8% fueron más pequeños y en menor cantidad. Este resultado coincide con lo reportado por John Farries en su estudio sobre el efecto del aceite de Neem en el ciclo de vida de la garrapata (*Boophilus microplus*) del ganado, donde menciona que los huevos de las garrapatas tratadas eran más pequeños y más pálidos que los de las garrapatas no tratadas. Además menciona que de las garrapatas tratadas que ovipositaron se obtuvieron larvas pálidas y con menor movilidad que las no tratadas. (Farries, J. 1996)

Los resultados obtenidos tanto en la mortalidad como en el efecto sobre la inhibición de la oviposición *in vitro* en las garrapatas *Boophilus sp*, nos da la pauta de que el uso de aceite de Neem *in vivo* en nuestro país puede ser una alternativa viable como garrapaticida natural, de fácil preparación y acceso en algunas áreas del país, considerando que hay menor posibilidad de adquirir resistencia por la presencia de varios ingredientes activos de éste, a diferencia de los ixodicidas químicos. (Aguirre, F. 2008)

VII. CONCLUSIONES

- El aceite de Neem (*Azadirachta indica*) presentó el 100% de efecto ixodicida *in vitro* sobre las garrapatas *Boophilus sp.* en las concentraciones de 1% y 1.5%, y 83.33% en la concentración al 0.8%.
- El aceite de Neem (*Azadirachta indica*) inhibió el 100% la oviposición *in vitro* sobre garrapatas *Boophilus sp.* en las concentraciones de 1% y 1.5%, y un 83.33% en la concentración de 0.8%; obteniéndose en esta última, una oviposición menor en comparación con el grupo control.

VIII. RECOMENDACIONES

- Evaluar el aceite de Neem (*Azadirachta indica*) al 1% y 1.5% *in vivo* en bovinos para determinar el efecto ixodicida de éste a nivel de campo.
- Evaluar las mismas concentraciones de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) en ectoparásitos, como otros géneros de garrapatas de bovinos y otras especies animales, para determinar la mortalidad e inhibición de la ovipostura en ellos.

IX. RESUMEN

El aceite de Neem es un producto obtenido de las semillas del árbol del mismo nombre. Posee constituyentes biológicamente activos como los triterpenoides, con efectos reconocidos sobre las garrapatas tales como la interrupción o inhibición del desarrollo de huevos y larvas, repele a las hembras para ovipositar, envenena a las larvas y adultos.

Se extrajo el aceite mediante presión mecánica de las semillas y se elaboró una solución madre de aceite de Neem con etanol al 25%. Posteriormente se realizaron concentraciones al 1.5%, 1% y 0.8% diluidas en agua.

Se recolectaron garrapatas *Boophilus* seleccionando un total de 120 hembras, las cuales se distribuyeron en 4 grupos en forma aleatoria, 10 garrapatas para cada tratamiento, con 3 repeticiones cada uno.

Se realizó el procedimiento similar a la técnica inmersión de adultas, obteniendo un 100% de efecto ixodicida y en la inhibición de la oviposición al utilizar el aceite de Neem al 1% y 1.5 %. En la concentración al 0.8% se obtuvo el 83.33% de efectividad en las mismas variables.

SUMMARY

Neem oil is a product obtained from the seeds of the tree of the same name. It has biologically active constituents like triterpenoids, with recognized effects on ticks as interruption or inhibiting the growing of eggs and larvae, it repels females to lay eggs, it poison to larvae and adults.

The oil was taken by mechanical pressure from seeds and a mother Neem oil with 25% ethanol solution was prepared. Then concentrations of 1.5%, 1% and 0.8 % diluted in water were done.

Boophilus ticks were selected to reach a total of 120 females, which were divided into 4 groups randomly 10 ticks for each treatment, with 3 replicates every one.

A similarly procedure to the immersion technique adult was done, obtaining a 100% acaricide effect and in inhibiting oviposition using Neem oil 1% and 1.5 % . With this procedure 0.8% concentration was obtained 83.33 % effective on the same variables.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguirre, F. 2008. El Neem en la salud animal y en el control de plagas. Revista sobre Desarrollo Sustentable "Vinculando" (en línea). Consultado 10 abr. 2010. Disponible en http://vinculando.org/articulos/el_neem_en_la_salud_animal_y_en_el_control_de_plagas.html
2. Anjaria, J. et al. 2002. Ethnovet Heritage Indian Ethoveterinary Medicine an Overview. *Azadirachta indica* A. Juss. Pathik Enterprise. India. P. 221.
3. Choudhury, MK. 2009. Toxicity of neem seed oil against the larvae of *Boophilus decoloratus*, a one-host tick in cattle. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 7(5): 562-563 (en línea). Consultado 12 mayo 2010. Disponible en http://www.ijpsonline.com/printarticle.asp?issn=0250-474X;year=2009;volume=71;issue=5;spage=562;epage=563;aulast_t=Choudhury
4. Farries, F. 1996. Aceite de Neem en la garrapata del ganado (en línea). Consultado 10 abr. 2010. Disponible en [http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:rj9gN03uGGoJ:doi.wiley.com/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199909\)13:6%253C532::AID-PTR492%253E3.0.+aceite+de+neem+%2B+garrapaticida&hl=es&gl=gt&pid=bl&srcid=ADGEESibUhP89X3ue66AfdQQG0hTzOXwjiuDAiEhWR6mgfQ94NgfUKQMSw8MF5HxLly6vbWhNTVh9Wif2HJ_JWtOQ9Ia3UsdjW1WG02CwZAhf9FUhwOE3tDbldhHSCQC0dI9XMyrkGEL&sig=AHIEtbRjLYeo3tU1t-3EJvDBSDTKOcwCA](http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:rj9gN03uGGoJ:doi.wiley.com/10.1002/(SICI)1099-1573(199909)13:6%253C532::AID-PTR492%253E3.0.+aceite+de+neem+%2B+garrapaticida&hl=es&gl=gt&pid=bl&srcid=ADGEESibUhP89X3ue66AfdQQG0hTzOXwjiuDAiEhWR6mgfQ94NgfUKQMSw8MF5HxLly6vbWhNTVh9Wif2HJ_JWtOQ9Ia3UsdjW1WG02CwZAhf9FUhwOE3tDbldhHSCQC0dI9XMyrkGEL&sig=AHIEtbRjLYeo3tU1t-3EJvDBSDTKOcwCA)
5. Fundación Neem. 2008. Neem (en línea). Consultado 17 abr. 2010. Disponible en <http://translate.google.com.gt/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.neemfoundation.org/&ei=a0X8S6zDCoH6lwewkfEB&sa=X&oi=tra>

[nslate&ct=result&resnum=13&ved=0CFgQ7gEwDA&prev=/search%3F%3Dneem%26hl%3Des%26rlz%3D1W1ACAW_es%26prmd%3Div](#)

6. Junquera, P. 2010. Plantas Garrapaticidas, Mosquicidas, Sarnicidas, Piojicidas, Pulguicidas Y Repelentes para El Ganado. (en línea). Consultado 10 abr. 2010. Disponible en http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com_content&task=view&id=382&Itemid=460
7. Londoño, D. 2006. Manejo integrado de Plagas, Insecticidas Botánicos. (en línea). Consultado 15 abr. 2010. Disponible en <http://www.coopcoffees.com/for-producers/documentation/agriculture/insecticidas-botanicos.pdf>
8. Ndumu, P. et al.1999. Toxicity of Neem Seed Oil (*Azadirachtaindica*) against the larvae of *Amblyommavariegatuma* Three-Host Tick in Cattle. (en línea). Consultado 12 mayo 2010. Disponible en: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199909\)13:6%3C532::AID-PTR492%3E3.0.CO;2-C/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-1573(199909)13:6%3C532::AID-PTR492%3E3.0.CO;2-C/abstract)
9. Quiroz, H. 1990. Parasitología. Infestación por Garrapatas. 4 ed. México. Limusa. p. 768-797.
10. Ramos, R. s.f. Aceite de Neem un insecticida ecológico para la agricultura. (en línea). Consultado 6 abr. 2010. Disponible en <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/Neem/neem01.htm>
11. Rodríguez, R. et al. 2006. Manual Técnico para el Control de Garrapatas en el Ganado Bovino (en línea). Consultado 4 mayo 2010. Disponible en <http://www.veterinaria.uady.mx/cuerpos/SALUD-ANIMAL/doctos/Manual.pdf>

12. Roja, M; Etcheverry, N. 2003. Neem, la Planta Asombrosa. Tlahui-Medic. No. 18, II/2004 (en línea). Consultado 10 abr. 2010. Disponible en <http://www.tlahui.com/medic/medic18/neem.htm>
13. Romero, C; Vargas, M. 2010. Extracción del aceite de la semilla de Neem (*Azadirachta indica*). (en línea). Consultado 6 abr. 2010. Disponible en http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-20762005000400007&lng=es&nrm=Iso
14. Wayne, D. 2007. Bioestadística, Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. 4 ed. México. Limusa Wiley. p. 164.

XI. ANEXOS

Cuadro No. 1 Resultados de garrapatas *Boophilus sp* vivas, utilizando las diferentes concentraciones de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) *in vitro*.

Se utilizaron 4 tratamientos con 3 repeticiones cada uno y 10 unidades experimentales por repetición, haciendo un total de 30 por tratamiento. Cada repetición se realizó en fechas diferentes como lo especifica el cuadro.

Fecha de Inmersión	Fecha de Lectura	No. de Garrapatas estudiadas	Aceite de Neem al 1.5%	Aceite de Neem al 1%	Aceite de Neem al 0.8%	Control
02/05/2012	18/05/2012	40	0	0	2	4
08/05/2012	24/05/2012	40	0	0	3	8
16/05/2012	01/06/2012	40	0	0	0	7
Total		120	0	0	5	19

Cuadro No. 2 Resultados de garrapatas *Boophilus sp* muertas, utilizando las diferentes concentraciones de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) *in vitro*.

Se utilizaron 4 tratamientos con 3 repeticiones cada uno y 10 unidades experimentales por repetición, haciendo un total de 30 por tratamiento. Cada repetición se realizó en fechas diferentes como lo especifica el cuadro.

Fecha de Inmersión	Fecha de Lectura	No. de Garrapatas estudiadas	Aceite de Neem al 1.5%	Aceite de Neem al 1%	Aceite de Neem al 0.8%	Control
02/05/2012	18/05/2012	40	10	10	8	6
08/05/2012	24/05/2012	40	10	10	7	2
16/05/2012	01/06/2012	40	10	10	10	3
Total		120	30	30	25	11

Cuadro No. 3 Resultados del efecto ixodicida *in vitro*, de las diferentes concentraciones de Aceite de Neem (*Azadirachta indica*) sobre garrapatas *Boophilus sp.*, utilizando el método de inmersión de adultas.

Tratamiento	Total de Garrapatas estudiadas	Cantidad de Garrapatas Vivas	Cantidad de Garrapatas Muertas	Porcentaje de Garrapatas Vivas	Porcentaje de Garrapatas Muertas
Aceite de Neem al 1.5%	30	0	30	0%	100%
Aceite de Neem al 1%	30	0	30	0%	100%
Aceite de Neem al 0.8%	30	5	25	16.66%	83.33%
Control	30	19	11	63.33%	36.66%

Cuadro No. 4 Resultados de inhibición de oviposición *in vitro*, de las diferentes concentraciones de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) sobre garrapatas *Boophilus sp.*, utilizando el método de inmersión de adultas.

Tratamiento	Total de Garrapatas Estudiadas	Cantidad de Garrapatas que no Ovipositaron	Cantidad de Garrapatas que Ovipositaron	Porcentaje de Garrapatas no Ovipositaron	Porcentaje de Garrapatas que Ovipositaron
Aceite de Neem al 1.5%	30	30	0	100%	0%
Aceite de Neem al 1%	30	30	0	100%	0%
Aceite de Neem al 0.8%	30	25	5	83.33%	16.66%
Control	30	11	19	36.66%	63.33%

Figura No. 1

Garrapatas *Boophilus sp* muertas, utilizando las diferentes concentraciones de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) *in vitro*.

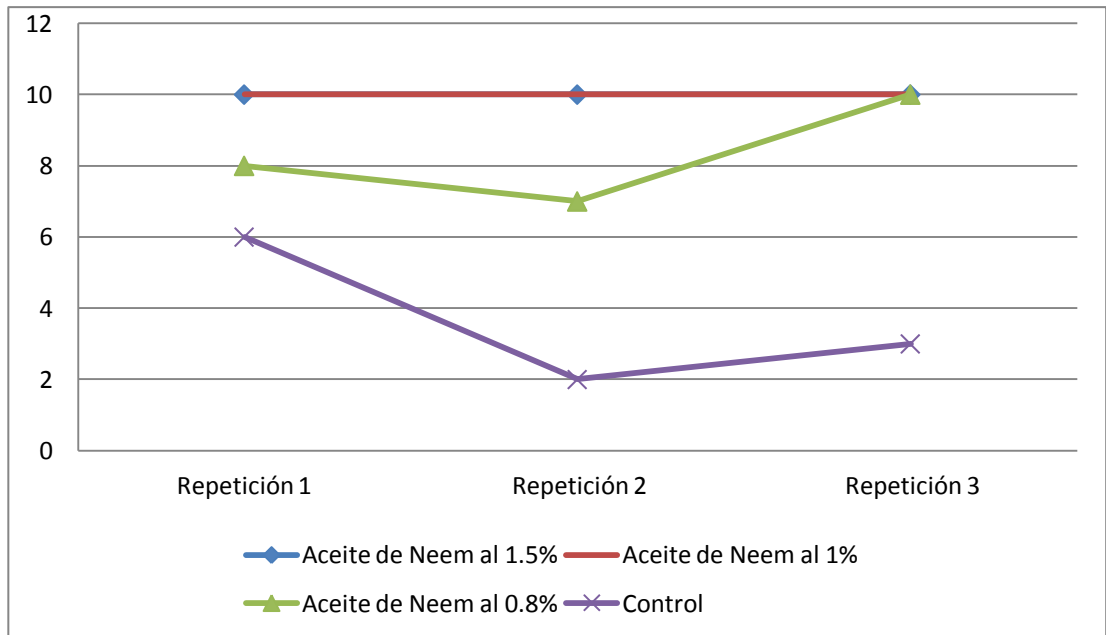




Figura No. 2 Fotografía de rama de árbol de Neem con hojas y frutos.



Figura No. 3 Fotografía de semillas de Neem puestas a secar al sol.



Figura No. 4 Fotografía de semillas de Neem oprimidas por prensa manual.

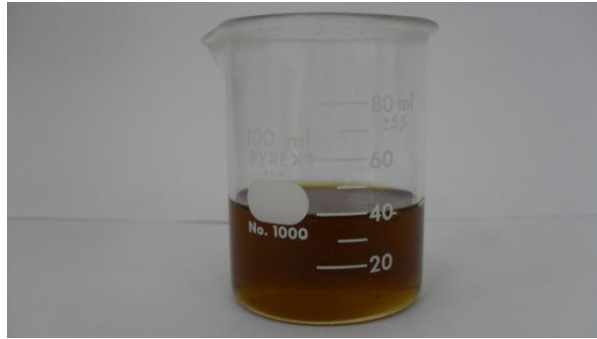


Figura No 5 Fotografía de aceite de Neem recolectado.



Figura No.6 Fotografía de la forma en que fueron colocadas las garrapatas *Boophilus sp.* adhiriéndolas al masking tape en la caja de Petri.



Figura No. 7 Fotografía de la ovispostura *in vitro* de garrapatas *Boophilus sp.*

FORMULACIÓN DE CONCENTRACIONES

CI= Concentración inicial.

CF= Concentración final.

VI= Volumen inicial.

VF= Volumen final.

Solución Madre:

CI: 100%

VI: X

CF: 50%

VF: 40 ml

Fórmula: $CI \cdot VI = CF \cdot VF$

$$100 \cdot X = 50 \cdot 40$$

$$\frac{50 \cdot 40}{100} : 20 \text{ ml}$$

$$100$$

Se utilizaron 20 ml de aceite de Neem 100% y 20 ml de etanol (25%), para formar el volumen final de 40 ml.

Concentración al 1.5%

CI: 50%

VI: X

CF: 1.5%

VF: 20 ml

Fórmula: $CI \cdot VI = CF \cdot VF$

$$50 \cdot X = 1.5 \cdot 20$$

$$\frac{1.5 \times 20}{50} = 0.6 \text{ ml}$$

50

Se utilizaron 0.6 ml de solución de aceite de Neem diluido en etanol (25%) al 50 % con 19.4 ml de agua destilada, para formar el volumen final de 20 ml.

Concentración al 1%

CI: 50%

VI: X

CF: 1%

VF: 20 ml

Fórmula: $CI \cdot VI = CF \cdot VF$

$$50 \times ? = 1 \times 20$$

$$\frac{1 \times 20}{50} = 0.4 \text{ ml}$$

50

Se utilizaron 0.4 ml de solución de aceite de Neem diluido en etanol (25%) al 50 % con 19.6 ml de agua destilada, para formar el volumen final de 20 ml.

Concentración al 0.8%

CI: 50%

VI: X

CF: 0.8%

VF: 20 ml

Fórmula: $CI \cdot VI = CF \cdot VF$

$$50 \times ? = 0.8 \times 20$$

$$\frac{0.8 \times 20}{50} = 0.32 \text{ ml}$$

50

Se utilizaron 0.32 ml de solución de aceite de Neem diluido en etanol (25%) al 50% con 19.68 ml de agua destilada, para formar el volumen final de 20 ml.