



UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO DE MANABÍ”

ULEAM

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIA

CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIO

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE
INGENIERO AGROPECUARIO**

TEMA:

**“EXTRACTO DE LA SEMILLAS DE NEEM (*Azadirachta indica*) Y
MAMEY (*Mammea americana*) EN EL CONTROL DE
GARRAPATAS (*Rhipicephalus boophilus microplus*) (*In Vitro*)
EN BOVINOS.**

AUTOR:

CARVAJAL CHUNGA LUIS SEGUNDO

TUTOR:

ING: CHURCHILL AVEIGA VILLACÍS Mg. SC

MANTA- ECUADOR

2020

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

“EXTRACTO DE LA SEMILLAS DE NEEM (*Azadirachta indica*) Y MAMEY (*Mammea americana*) EN EL CONTROL DE GARRAPATAS (*Rhipicephalus boophilus microplus*) (*In Vitro*) EN BOVINOS., del egresado CARVAJAL CHUNGA LUIS SEGUNDO luego de haber sido analizado por los señores tribunal de grado, en cumplimiento de lo que establece la ley se da por aprobado la sustentación, acción que le hace acreedores al título de ingeniero agropecuario.

Ing. Churchill Aveiga Villacís

Tutor

MIEMBROS DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

Dr. Ramón Molina Basurto, Mg.Sc

Ing. Xavier Alonzo Salcedo , Mg.Sc

Ing. Francisco Cañarte, Garcia, Mg.Sc

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Ing. Churchill Aveiga Villacis Mg. Sc. certifica haber tutorado la tesis **“EXTRACTO DE LA SEMILLAS DE NEEM (*Azadirachta indica*) Y MAMEY (*Mammea americana*) EN EL CONTROL DE GARRAPATAS (*Rhipicephalus boophilus microplus*) (*In Vitro*) EN BOVINOS** ,que ha sido desarrollado por, Carvajal Chunga Luis Segundo egresado de la carrera de ingeniería agropecuaria, previó a la obtención de título de ingeniero agropecuario, de acuerdo al reglamento para la obtención de la tesis de grado del tercer nivel, de la universidad laica Eloy Alfaro de Manabí

Tutor

Ing. Churchill Aveiga Villacis, Mg. Sc.

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo Luis Segundo Carvajal Chunga con responsabilidad de los hechos, ideas y doctrinas expuestos en la presente tesis, estudiante de la carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Facultad de Ciencias Agropecuaria de la Universidad laica Eloy Alfaro de Manabí

Carvajal Chunga Luis

CI:131488753-8

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios primeramente por iluminar mi camino de vida y llevarme a la consecución de este logro importante.

A mis padres Segundo Carvajal y María Chunga gracias por haberme formado y hecho la persona que soy, quiénes me están apoyando en cada paso que doy, dándome sus cariños, sus consejos, sus motivaciones, su confianza.

A mi novia Cristina Zambrano por ser un pilar fundamental en la ejecución de esta investigación con apoyo incondicional en todo momento.

A mis hermanas Carmen y Aracely quienes están hay cuando las necesito, quienes me han apoyado en las decisiones que he tomado en mi camino y me motivan cada día de seguir adelante.

A mi tutor de tesis Ing. Churchill Aveiga, por el tiempo dedicación y paciencia, por los conocimientos compartidos durante el trabajo investigativo, le deseo mis mayores éxitos y que sigan compartiendo sus conocimientos a los estudiantes.

Al Dr. Ramón Molina quedo muy agradecido con usted por haberme apoyado de seguir adelante, y por compartir sus conocimientos en cada paso realizado durante nuestro trabajo investigativo.

A mis compañeros, kleber Barcia, Roberth Catagua, Paola Alarcón, Sully López, gracias a ellos por su ayuda incondicional y apoyo constante durante los años de estudios.

A la Facultad Ciencias Agropecuarias y a los docentes que a lo largo de mi carrera aportaron con sus conocimientos para mi formación profesional, a mis compañeros y amigos por la colaboración de estos años de estudios.

Carvajal Chunga Luis

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación con la mayor gratitud: a mis Padres Segundo Carvajal y María Chunga, que siempre me apoyaron a lo largo de mi carrera estudiantil con esfuerzo y sacrificio hicieron posible la realización de esta tesis y terminar mi carrera profesional.

A Dios por permitirme cumplir mis objetivos profesionales y brindarme fuerza necesaria para culminar esta investigación.

A mi novia Cristina Zambrano, por estar siempre conmigo en todo momento, por ser mi apoyo incondicional y motivación a seguir adelante día a día.

Carvajal Chunga Luis

ÍNDICE

| | |
|---|------|
| APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR | II |
| CERTIFICACIÓN DEL TUTOR | III |
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA | IV |
| AGRADECIMIENTO | V |
| DEDICATORIA | VI |
| ÍNDICE DE TABLAS | X |
| ÍNDICE DE FIGURAS | XI |
| RESUMEN | XII |
| SUMMARY | XIII |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Características generales de las garrapatas | 2 |
| 1.1.1. Clasificación Taxonómica | 2 |
| 1.2. Distribución de la Garrapata | 2 |
| 1.3. Ciclo biológico de la Garrapata | 3 |
| 1.3.1. Fase no parasítica | 4 |
| 1.4. Garrapaticida | 5 |
| 1.4.1. Amitraz | 5 |
| 1.5. Neem | 7 |
| 1.5.1. Descripción Botánica | 7 |
| 1.5.2. Taxonomía del neem | 7 |
| 1.5.3. Toxicidad del Neem | 8 |
| 1.5.4. Componentes químicos del aceite de Neem | 8 |
| 1.5.5. Propiedades y Efectos | 8 |
| 1.6. Mamea americana | 9 |
| 1.6.1. Origen | 9 |
| 1.6.2. Propiedades y Composición | 9 |
| 1.6.3. Clasificación Botánica | 9 |
| 1.6.5. Método de extracción de extractos | 10 |
| 1.6.6. Toxicidad del aceite de la semilla de Mamea americana | 11 |
| 1.7. Planteamiento del problema | 12 |
| 1.8. Justificación | 13 |
| II. HIPÓTESIS | 14 |
| 2.1. Hipótesis general | 14 |
| 2.2. Hipótesis específicas | 14 |
| III. OBJETIVOS | 15 |

| | |
|---|----|
| 3.1. Objetivo general | 15 |
| 3.2. Objetivo específicos | 15 |
| IV. VARIABLES..... | 16 |
| 4.1. Variable Independiente | 16 |
| 4.2. Variable Dependiente | 16 |
| V. METODOLOGÍA..... | 17 |
| 5.1. Ubicación del Ensayo | 17 |
| 5.2. ENFOQUE, MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN | 17 |
| 5.2.1. Enfoque | 17 |
| 5.2.2. Modalidad..... | 17 |
| 5.2.3. Tipo de Investigación | 18 |
| 5.3. Diseño Experimental..... | 18 |
| 5.3.1. Factores de estudio | 18 |
| 5.3.2. Tratamientos Experimentales..... | 19 |
| 5.3.3. Tratamientos..... | 19 |
| 5.3.4. Características de las unidades experimentales | 19 |
| 5.3.5. Esquema de análisis de varianza..... | 20 |
| 5.4. El proceso que se llevó a cabo es el siguiente: | 20 |
| 5.5. procedimientos de analisis | 22 |
| 5.5.1. Procedimiento previo para la preparación de las unidades muestrales | 22 |
| 5.6. Procedimiento para la determinación de la dosis eficaz del extracto de neem y mamey en la muestra de <i>Rhipicephalus boophilus microplus</i> en bovino <i>in vitro</i> | 22 |
| 5.7. Procedimiento para la comparación de eficacia entre la aplicación de extracto de semilla de Neem y semillas de Mamey y tratamiento químico y testigo absoluto en <i>Rhipicephalus boophilus microplus</i> en bovinos | 23 |
| 5.8. Manejo de muestras de garrapatas en laboratorio | 23 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 24 |
| VII. DISCUSIÓN | 31 |
| VIII. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES..... | 33 |
| 8.1. Conclusiones | 33 |
| 8.2. Recomendaciones..... | 34 |
| IX. BIBLIOGRAFÍA | 35 |
| X. ANEXOS | 41 |
| Anexo 1: Preparación de insumos para la preparación de los extractos | 41 |
| Anexo 2: Extracción de los extractos de las semillas de mamey y Neem en el laboratorio | 42 |
| Anexo 3: Proceso de la preparación de las disoluciones para la aplicación de las dosis en el laboratorio | 43 |

| | |
|---|-----------|
| Anexos 4: Recolecta de garrapatas (<i>Rhipicephalus boophilus microplus</i>) en bovinos | 43 |
| Anexos 5: Aplicación de las muestras Y proceso de ubicación de las muestras en cada caja Petri | 44 |
| Anexos 6: Proceso de la observación de los tratamientos..... | 44 |
| Anexos 7: Observación de las muestras en la incubadora..... | 45 |
| Anexos 8: Mortalidad de las garrapatas | 45 |
| Anexos 9: Observación de huevos en los tratamientos..... | 45 |

ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO

PÁGINA

| | | |
|---|--|----|
| 1 | Mortalidad de <i>Rhipicephalus boophilus microplus</i> a las 120 horas de la Aplicación. | 37 |
| 2 | Mortalidad de <i>Rhipicephalus boophilus microplus</i> a las 144 horas de la aplicación. | 38 |
| 3 | Mortalidad de <i>Rhipicephalus boophilus microplus</i> a las 168 horas de la aplicación. | 40 |
| 4 | Mortalidad de <i>Rhipicephalus boophilus microplus</i> a las 192 horas de la aplicación. | 41 |
| 5 | Promedio de mortalidad de las tres dosis aplicadas en mamey y neem | 43 |

ÍNDICE DE FIGURAS CONTENIDO

PÁGINA

| | | |
|---|--|----|
| 1 | Porcentaje de mortalidad de las garrapatas a las 120 horas de la aplicación. | 38 |
| 2 | Porcentaje de mortalidad de garrapatas a las 144 horas de la aplicación del producto | 39 |
| 3 | Porcentaje de mortalidad de garrapatas a las 168 horas de la aplicación | 41 |
| 4 | Porcentaje de mortalidad de las garrapatas a las 192 horas de la aplicación | 42 |

RESUMEN

La presente investigación se realizó *In vitro* en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, el objetivo fue Evaluar el efecto de los extractos vegetales de la semilla de Neem(*Azadirachta indica*)y Mamey(*Mammea americana*) en el control de garrapatas(*Rhipicephalus boophilus microplus*)*In vitro* en bovinos, teniendo en cuenta clasificación taxonómica de las garrapatas y el tiempo de efecto de los extractos, se utilizaron 96 garrapatas de la especie *Rhipicephalus boophilus microplus* en estadio adulto, de las cuales estuvieron distribuidas en ocho tratamientos, doce garrapatas por cada tratamiento, con tres dosis de cada extracto 50ml,100ml,150ml con una repetición, un tratamiento químico(Amitraz 20.8%),y un testigo absoluto.

La semilla de mamey se dejó secar al sol por un periodo de 15 días, posteriormente se la procedió a moler en molinos mecánicos, mientras el neem se dejó secar al sol por 8 días y se procedió a moler en molinos mecánicos, en la extracción de los extractos se utilizó un solvente cloroformo y metanol en relación 2:1., donde se preparó 250ml de solvente y 20 gr de semilla, además la aplicación fue con extracto puro con sus respectivas dosificaciones.

El Mamey (*Mammea americana*), obtuvo los mejores resultados en la mortalidad de garrapatas, con extracto de concentración de 100ml obtuvo un promedio de 100%, a las 144 horas de aplicación; mientras que en dosis de 50 ml y 150 ml se obtuvo como resultado de mortalidad de garrapatas de un 100% hasta las 168 horas de la aplicación. En la inhibición de la oviposición un 70% garrapatas adultas.

El Neem (*Azadirachta indica*), obtuvo bajo resultados en la mortalidad de garrapata, con extracto de concentraciones de 50ml, a las 192 horas de aplicación con un promedio de 83.33%, mientras que en dosis de 100ml y 150ml se obtuvo como resultado de mortalidad de un 100% hasta las 192 horas de observación, inhibición de la oviposición del 100%.

El control químico que se utilizo fue el amitraz 20.8% con la dosis comercial de 1ml/ litro de agua para la aplicación, cuyo resultado obtenido fue de un 91.67% de mortalidad de las garrapatas adultas a las 192 horas de la aplicación.

SUMMARY

In this research work, the in vitro evaluation of the plant extracts obtained manually in the laboratory of the faculty of agricultural sciences of the lay university Eloy Alfaro de Manabí for the control of ticks in bovines was carried out, aimed to Evaluate the effect of plant extracts of Neem (*Azadirachta indica*) and Mamey (*Mammea americana*) seeds on tick control (*Rhipicephalus Boophilus microplus*) in vitro in cattle, taking into account taxonomic classification of ticks and the effect time of In the extracts, 96 ticks of the species *Rhipicephalus Boophilus microplus* were used in adult stage, of which they were distributed in eight treatments, each treatment consisted of having twelve ticks per experimental unit, which were distributed in two extracts with three dosages each, one chemical control (Amitraz 20.8%), a natural control.

The mamey was allowed to dry the seed in the sun for 15 days, then it was ground in mechanical mills, while the neem was allowed to dry in the sun for 8 days and was ground in mechanical mills, already in the extraction a solvent was used Chloroform and methanol in 2:1 ratio for the extraction 250ml of chloroform was prepared and 20gr of seeds for the solutions pure extract was prepared.

Two species were evaluated; Mamey (*Mammea americana*), Neem (*Azadirachta indica*) with the same doses 50ml,100ml,150ml. The best results were obtained with mamey (*Mammea americana*), with a mortality of adult ticks of 1.00%, with extract with a concentration of 100ml, In the inhibition of oviposition 70%.

The Neem (*Azadirachta indica*), tube under results in the mortality of adult ticks with 81%, with extracts of concentration of 50ml and 60%, with extracts of concentration of 100ml, in concentration of 150ml we obtained as 100% tick mortality result being the most effective dose, 100% oviposition inhibition

The chemical control amitraz 20.8% with extracts of resulted in 91.67% mortality of adult ticks at 192 hours after application.

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería hoy día en el Ecuador ocupa unos de los aspectos más importantes en nuestro territorio, ha sido tradicionalmente un sector clave para la economía nacional, y por ello, a través de los años, se ha puesto interés en mejorar los procesos dentro de la industria. Este sector aporta alrededor del 7,59% del PIB del país, por eso se deben tomar acciones y prácticas responsables para que siga siendo una industria sostenible, la mayor parte de las explotaciones ganaderas se encuentran en la Costa con un porcentaje del 70% mientras que el 30% lo componen la Sierra y Amazonía, Arismendi, L., (2015).

Manabí es la provincia con mayor uso del suelo en producción ganadera, es la mayor productora de ganado bovino, por extensión, la zona norte de Manabí posee el 72% de la producción ganadera en la provincia, en donde Chone es el Cantón con mayor producción de ganado bovino, con mayor número de reses, con unas 260.000 cabezas de ganado, Barrerá, V. *et al.*, (2017).

Uno de los principales parásitos que afecta a la actividad ganadera hoy en día es la garrapata, cuyos daños son devastadores; por su acción hematófagas, por lo que ,al chupar gran cantidad de sangre de sus hospedadores, ocasionan anemia, disminución del desarrollo corporal, producción de láctea, producción de carne, bajó rendimiento en el trabajo, bajó índice de fertilidad y predisposición a enfermedades infecciosas o por su acción expoliatriz, abren puertas de entrada para agentes infecciosos, debido a su papel de vectores transmisores de microorganismos,Pérez O *et al.*,(2012).

Rhipicephalus microplus es considerada la garrapata más importante del ganado bovino, esta se la puede encontrar en diferentes huéspedes de diferentes especies animales, se han adaptado a la mayoría de nichos terrestres, su especialización en alimentarse de sangre de mamíferos, aves, Castró *et al.*, (2012).

1.1. Características generales de las Garrapatas

Según nos menciona Solís, C., (2011), las garrapatas ocasionan grandes pérdidas económicas en la ganadería, por las mermas directas en los rendimientos y por transmisión de otras enfermedades, se diferencian de otras por la composición del abdomen fusionado con el cefalotórax, de manera que las regiones corporales son el prosoma que el aparato bucal y el idiosoma formando el cuerpo y los cuatros pares de patas.

De acuerdo a Chañarte, O., (2015), nos menciona que las garrapatas responden exclusivamente a una combinación adecuada de temperatura, humedad, horas e intensidad de luz, cuándo esta combinación aparece las garrapatas se desarrollan más rápidamente y su mortalidad en menor cantidad.

1.1.1. Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica de la garrapata de acuerdo a Navarrete et al. (2014) es la siguiente:

| | |
|----------------------|---|
| Reino | Animalia |
| Phylum | Artrópoda |
| Subphylum | Chelicerata |
| Clase | Arácnida |
| Subclase | Acaria |
| Orden | Parasitiformes |
| Suborden | Ixodida |
| Súper familia | Ixodoidea |
| Familia | Argasidae, Ixodidae |
| Genero | Dermacentor, Rhipicephalus, Aponomma, Boophilux, Ixodes |

1.2. Distribución de la Garrapata

Según Pérez *et al.*, (2006) menciona que la distribución de la garrapata que afecta tanto al ganado bovino, mediante análisis de los factores climáticos tales

como temperatura, humedad, precipitación mensual y anual, que bajo estadística definen un hábitad adecuado para las garrapatas.

De acuerdo a Ortiz., (2017) menciona una amplia distribución de garrapatas en el mundo se atribuye al desplazamiento de hospedadores, el hombre ha sido participe en su diseminación debido a fenómenos como la trashumancia y globalización, cambios de hábitat y climáticos, factores que influyen directa o indirectamente al hombre, todo esto sumado al calentamiento global, que actualmente estaría facilitando, al menos, a algunos de estos cambios.

1.3. Ciclo biológico de la Garrapata

El ciclo biológico de *Boophilus microplus* es de un solo hospedero donde los tres estadios parasitarios (larva, ninfa, adulto) se alimentan, mudan y copulan, tiene presencia en regiones tropicales y sub tropicales, atacan a los bovinos. Está especie tiende a predominar en pastos desbrozados con pocos arbustos o malezas, machos y hembras son relativamente pequeñas de 3-5 mm y en hembras repletas alcanzan 1,2 cm, Horowitz R., (2011).

Según Pérez, O., (2015) nos menciona que las garrapatas tienen cuatro estados evolutivos en su ciclo vital que son: huevo, la larva o pinolillo, la ninfa y el adulto. El desarrollo de las garrapatas ocurre en 1,2,3 hospederos por lo que se denominan garrapatas de 1,2 o 3 hospederos.

De acuerdo con Núñez *et al.* (2012) las garrapatas tienen cuatro estados evolutivos en su ciclo vital, que son: Huevo, Larva, Ninfa y Adulto.

-Huevo: La cantidad de huevos depende de las especies de garrapatas, una garrapata puede poner de 150 a 2000 huevos, los huevos recién puesto son de color amarillo o café en la medida que va avanzando la incubación se van tornando café, el tiempo de incubación puede ser de 16 a 202 días, esto determina los factores de temperatura y humedad.

-Larva: De la eclosión del huevo sale una larva este se agrupa en el lugar en donde eclosionaron para darse mutua protección contra la desecación, sus posibilidades de encontrar un huésped, se caracteriza por tener solamente seis patas y en esta fase no es posible hacer la diferencia sexual, las larvas trepan en postes o sobre la hierba para aguardar que pase un huésped para poder parasitarlo.

-Ninfa: Este estadio presenta cuatros pares de patas y tiple hilera dentaria en el hipostoma, al final de esta etapa, el dimorfismo sexual es evidente, las ninfas después de alimentarse permanecen en el hospedero y cambian anatómicamente a adultos.

-Adulto: Son fácilmente de diferenciar en el sexo, por el macho está completamente cubierto por un escudo dorsal, la hembra también tiene escudo, pero parcialmente, el macho copula con la hembra o más y después muere, la hembra fertilizada cae al suelo para poner los huevos, al final de la postura muere.

De acuerdo a castellano., (2013) la fase de vida no parasítica se clasifica en cinco periodos

1.3.1. FASE NO PARASÍTICA.

Es 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: a) Preoviposición, b) Oviposición, c) Postoviposición, d) Incubación y e) Eclosión.

1.3.1.1. Preoviposición

Comprende desde el desprendimiento de la garrapata repleta del hospedero hasta la postura del primer huevo. Al caer la garrapata al suelo busca lugares sombreados y protegidos, para poder iniciar el proceso de ovoposición, el cual

tiene una duración en verano de 2-4 días mientras que en invierno se amplía hasta 90-94 días.

1.3.1.2. Oviposición

Es el tiempo que transcurre desde el desove del primer huevo hasta el último, esta fase se desarrolla durante un período de 11-70 días.

1.3.1.3. Postoviposición.

Es el periodo desde que la garrapata repleta pone el ultimo huevo hasta su muerte, esté periodo varia de 2-5 días y son muy raros los especímenes que rebasan los ochos días.

1.3.1.4. Incubaciones

Es el período desde que inicia la ovoposición hasta la eclosión de las larvas; éste, es el estado del ciclo biológico más susceptible a los factores ambientales debido a que condiciones de temperatura y humedad pueden acortarlo o alargarlo, promedio de incubación de 15 días en verano y un máximo de 51 días en invierno.

1.3.1.5. Eclosiones

Durante este período la larva emerge del huevo, una eclosión tarda de 2 a 20 semanas, los mejores porcentajes de eclosión se obtienen en temporadas que tienen una temperatura óptima de 25-35 °C y una humedad relativa del 95%.

1.4. GARRAPATICIDA

1.4.1. AMITRAZ

De acuerdo a Duran, O., (2015) nos menciona que el amitraz pertenece al grupo de las amidas, por su actividad insecticida-acaricida se lo utiliza para el

tratamiento de erradicación de garrapata en ganado (bovino, ovino, porcino), de las aves y de los perros.

Amitraz se absorbe poco a través de la piel, cerca de un 10% de la dosis administrada, viaja por sangre hasta llegar al hígado dónde se metaboliza rápidamente, en ovinos ya no es detectable en plasma, en equino sin embargo se metaboliza más lentamente y 90 minutos tras el tratamiento permanece detectable en plasma Estrada, P., (2013).

Podemos mencionar que en bovinos el Amitraz 20.8%, se usa exclusivamente en baños de aspersión en dilución de 1 ml/cada litro de agua. Para una bomba de 20 litros, utilizar 20 ml del producto, cantidad para bañar 4-5 animales adultos Solis., (2011).

1.4.2. Síntomas de intoxicación con amitraz Generales:

De acuerdo a Bolaños, P., (2015) nos menciona que la intoxicación por amitraz puede ocurrir por vía oral, transdérmica y respiratoria, con dosis tóxica que oscila entre 89.2 mg/kg y 163 mg/kg (13-15). tras la exposición, los síntomas aparecen con rapidez, entre 30 y 120 minutos.

Entre los síntomas de intoxicación con amitraz tenemos los siguientes: hiperglucemia, hipotermia, poliurias gastrointestinales: inapetencia, vómito, dolores abdominales, reducción de la motilidad intestinal. Sistema nervioso central: sedación, depresión, temblores, agitación. Sistema circulatorio: hipotensión, bradicardia, que pueden desembocar en taquicardia e hiperventilación.

1.4.2.1. El mecanismo de acción del amitraz

Según Rivas., (2013) nos menciona que es de tipo neurotóxico, actúa fundamentalmente como inhibidor de los receptores octopaminérgicos, conduciendo a una inhibición neurológica fisiológica.

1.5. NEEM

1.5.1. Descripción Botánica

Domínguez, F. *et al.* (2015) señalan que el neem es un árbol de rápido crecimiento, de tamaño mediano y recto, puede alcanzar entre 10 y 15 de altura y de 30 a 80 cm de diámetro generalmente se encuentra siempre verde, excepto durante un periodo de extrema sequía.

El árbol de neem presenta hoja de forma aserrada y de alrededor de 7 a 10 cm de largo y ancho de 3 a 4 cm, cuando son jóvenes son de color rojo cobrizo, al madurar cambian a verde oscuro, las hojas se agrupan en foliolos de 35 cm de largo presenta 7 pares.

Según Soto, A. (2013) nos define que la flor mide 10 a 12 cm, es blanca y bisexual. El cáliz contiene 5 sépalos, la corola presenta 5 pétalos imbricados. El androceo está compuesto por 10 estambres, forma un tubo estaminal que incluye el ovario. El gineceo es alargado y delgado. El estigma es poco cilíndrico y tiene tres lóbulos. El ovario es sincárpico, 2 óvulos en cada lóculo.

1.5.2. TAXONOMÍA DEL NEEM

De acuerdo a Márquez, M (2017)

Reino: Plantae

Sub-Reino: Viridaeplantae

División: Magnoliophyta

Clase: Equisetopsida

Sub-Clase: Magnoliidae

Súper-Orden: Rosanae

Orden: Sapindales

Familia: Meliaceae

Especie: *Índica*

1.5.3. Toxicidad del Neem

Según Rivas, C, *et al.* (2013) realizaron un estudio para evaluar la acción tóxica de la *Azadirachta indica* durante 28 días, administrando una dosis de 1000 mg/kg por vía oral, donde evaluaron signos clínicos y el peso corporal de los animales en estudio.

1.5.4. Componentes químicos del aceite de Neem

El Neem contiene terpenoides, compuestos por carbono, hidrogeno y oxigeno; la presencia del oxígeno hace esos compuestos más saludables en aguas, metanol o etanol que en hexano, gasolina u otros solventes similares (Ramos, R. s.f.).

El mismo autor los menciona que los componentes del árbol de neem básicos entre estos tenemos:

- **Azadirona:** Se encuentra en el aceite que se extrae de las semillas.
- **Amorastaitina:** Aparece en las hojas frescas del Neem
- **Geduninina:** Se encuentra en el aceite de las semillas y de la corteza (Ramos, R. s.f.).

1.5.5. 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 endocrino Aguirre, F., (2010).

El mismo autor nos menciona que los efectos de varios extractos del Neem actúan en diversos insectos de diferentes maneras:

- ✓ Destruyendo e inhibiendo el desarrollo de huevos, larvas o crisálidas.
- ✓ Destruyendo su apareamiento y comunicación sexual.
- ✓ Impidiendo su alimentación.
- ✓ Bloqueando la habilidad para deglutir (reduciendo la movilidad intestinal).

1.6. Mammea americana

1.6.1. Origen

Según Barrios, A, 2015 nos menciona que el mamey es nativo de las Antillas y del norte de América del Sur, fue registrado cerca de Darién, Panamá, en 1514, y en 1529 se incluyó por Oviedo en su revisión de los frutos del Nuevo Mundo.

1.6.2. Propiedades y Composición

El mamey cuenta con propiedades medicinales tanto de uso interno como externo; internamente sirve para el cuidado de la piel, tratar gastritis, diarrea y bronquitis, la composición porcentual promedio del fruto es de 62% de pulpa, 20% de semilla y 18% de cascara Córdova., (2015).

El mismo autor nos menciona que entre las características nutricionales del mamey encontramos las siguientes:

- ✓ El mamey aporta 134 calorías por 100gr siendo una fruta con bastantes carbohidratos.
- ✓ Contiene fibra y vitaminas de complejo B: tiamina y niacina.
- ✓ Aporta minerales como el calcio, magnesio y potasio

1.6.3. Clasificación Botánica

1.6.3.1. Taxonomía

De acuerdo a Ramírez., (2015).

Reino: Plantae

División: Angiospermae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Clusiaceae

Género: Mammea

Especie: M. americana

1.6.4. Descripción botánica

Según nos menciona Ramírez, A., (2015), que el árbol de mamey cuenta con altura media de 20m, llegando hasta 25m, con una copa amplia, densa y regular. El follaje es verde oscuro, tronco recto y vertical que puede alcanzar un metro de diámetro.

Para García., (2012), nos menciona que el árbol de mamey crece de mejor manera en climas de húmedos a muy húmedos, con regímenes de precipitación con 1,500mm/año o más, no tolera las heladas, prefiere suelos profundos bien drenados, con buena fertilidad, pero puede adaptarse a suelos arenoso y limosos.

El árbol presenta hojas gruesas y de textura coriácea, con el haz de color verde oscuro y el envés más pálido. Son opuestas, simple, de forma elíptica; alcanzan de 15 a 25 cm de longitud y 5 a 10 cm de ancho, están orientadas hacia arriba. Ramillas con látex amarillento.

Según Castro., (2012), nos menciona que sus flores son vistosas y fragantes, de color blanco; aparecen solitarias o en racimos de dos o tres unidades, miden 2 a 2.5 cm de diámetro.

1.6.5. Método de extracción de extractos

Según Córdova., (2015) los métodos de extracción son los siguientes:

Extracción mecánica: Esta técnica permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugos, se puede realizar por expresión, la cual consiste en ejercer una presión sobre el material vegetal.

- **Extracción con solventes:** Consiste en poner contacto la parte de la planta que contiene el principio activo, que es la droga medicinal con un disolvente que es capaz de solubilizar los principios activos.

- **Extracción por disolventes de aceite de semillas oleaginosas:** En el sistema de extracción por disolventes se puede partir de las semillas oleaginosas o de la torta proteínica obtenida por el sistema:
 - ✓ Limpieza y descascarillado
 - ✓ Troceado y triturado
 - ✓ Acondicionado
 - ✓ Molido
 - ✓ Extracción
 - ✓ Evaporación
 - ✓ Envasado
 - ✓ Solvente
 - ✓ Condensación 20 de extracción mecánica, ya que aún contiene un 11-15% de aceite que se puede reducir del 2-4%(Viteri y Cedeño, 2009).

1.6.6. Toxicidad del aceite de la semilla de Mammea americana

El ingrediente toxico de la semilla de mamey, tiene acción de contacto e ingestión sobre los insectos, y además posee cualidad repelente, nematicida y acaricida. Este ingrediente activo se conoce como "mameina" (4n-propil-5,7-dihidroxil), sustancia parecida en composición y efecto a las piretrinas, encontradose en un 0.19%en base al peso de la semilla Wilcaso., (2014).

1.7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La importancia que tienen los parásitos externos en la crianzas del ganado bovino como son las garrapatas que causan serios problemas de enfermedades debido a la alimentación no solo se debe a la acción patógena directa derivada de su alimentación de sangre y a la capacidad de transmitir por medio de su saliva numerosos patógenos, en nuestro país existe un alto porcentaje 80% de garrapatas que acarrear grandes problemas en la transmisión de enfermedades, desequilibrio en la economía y el gran impacto por los químicos empleados para su control, Barriga, R.,(2013).

Dentro de las explotaciones dedicadas a la producción de bovinos en el trópico, unos de los mayores problemas que afecta la producción es la alta presencia de garrapatas (*Boophilus microplus*), por efectos directos e indirectos que estas producen, las garrapatas *boophilus microplus* se alimenta del animal por un periodo de tres semanas, pasa por los estadios larva, Ninfa y adulto, en las últimas 24 horas aumenta su tamaño más de cinco veces se llena de sangre, se desprende y cae al suelo, donde busca un sitio adecuado para desovar Bustillos *et al.*,(2015).

Para Castillo *et al.*, (2016), el impacto de *Boophilus microplus* en la salud bovina está dado por su papel como vector de hemoparasitos causantes de enfermedades como: Babesiosis, Anaplasmosis, además responsable de severas pérdidas económicas en la producción de leche, ganancia de peso y daños a las pieles por la acción traumática de las picaduras.

Para el control de la garrapata (*boophilus microplus*) se ha hecho uso de insecticidas que han sido efectivos, entre los cuales mencionamos, el uso de diversas sustancias como principal el arsenicales, organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides sintéticos (flumetrina), y fenilpirazoles (fipronil); así como los análogos de la hormona juvenil (metopreno y fenoxicarb) y los inhibidores de la síntesis de quitina, como el fluazurón, la cromatina, Rodríguez *et al.*, (2010).

1.8. JUSTIFICACIÓN

Las garrapatas hoy en día provocan grandes daños directo a sus hospedadores, y son las vías de transmisión de patógenos que causan grave enfermedades a personas y animales, además debe sortear la presión de la respuesta inmune que resulta de alimentarse en todos los estadios sobre un solo hospedador, un parasitismo exitoso requiere de un mecanismo de evasión que perdure entre 21 a 24 días, en la zona cálida de Manabí ha hecho que sea un problema por el daño del umbral económico, los costos de producción cada vez más elevados ya que algunos ganaderos tienen un alto número de cabezas de reces que deben vacunar contra la garrapata, Leiva., (2009).

El propósito principal de control de las parasitosis externas en los animales, es reducir o prevenir perdidas en la producción ganadera para el suministro de alimentos a la sociedad. Otros aspectos incluyen, lo relacionado a la salud pública y animal, debido a que muchas especies de artrópodos son vectores de organismos patógenos, que puede ocasionar algunas zoonosis, Soberanes y Ortiz., (2015).

Para poder remplazar estos productos que venden hoy en el mercado existen estudios de Neem que se identifica como *Azadirachta indica* y también *mamey americano*, el presente estudio deberá proveer información acerca de la posible aplicación de baños con el uso de extractos, mediante el procesamiento de su semilla, para la extracción de aceite, para el control de ectoparásitos en vitro.

Se deben buscar nuevas alternativas para controlar las infestaciones de *boophilus microplus*, es por esto que la presente investigación tiene la necesidad de combatir la presencia de garrapatas en bovinos con productos naturales de la “Extracción de la semilla de Neem (*Azadirachta indica*) y semilla de Mamey (*Mammea americana*) para el control de (*Rhipicephalus boophilus microplus*) en bovinos *In vitro*.

II. HIPÓTESIS

2.1. HIPÓTESIS GENERAL

¿El extracto de semilla de Neem (*Azadirachta indica*) es eficaz en el control de *Rhipicephalus boophilus microplus* *In vitro*?

¿El extracto de Mamey (*Mammea americana*) es eficaz en el control de *Rhipicephalus boophilus microplus* *In vitro*?

2.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- ✓ Diferencias en la eficacia entre el extracto de Neem y Mamey en el control en el control de *Rhipicephalus boophilus microplus* *In vitro*.
- ✓ Diferencia económica en la extracción de los extractos de Neem y Mamey *In vitro*.

III. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de los extractos vegetales de las semillas de Neem (*Azadirachta indica*) y Mamey (*Mammea americana*) sobre el control de garrapatas (*Rhipicephalus boophilus microplus*) *In vitro* en bovinos.

3.2. OBJETIVO ESPECIFICOS

- ✓ Evaluar la eficacia de los tratamientos en el estadio de vida adulta de la garrapata en el control de (*Rhipicephalus boophilus microplus*) *In vitro*.
- ✓ Identificar la dosis óptima de los extractos de las semillas de Neem (*Azadirachta indica*) y Mamey (*Mammea americana*) en el control de (*Rhipicephalus boophilus microplus*) *In vitro*.
- ✓ Comparar los extractos de Neem (*Azadirachta indica*) y Mamey (*Mammea americana*) con la relación al producto químico (Amitraz 20.8%) y con su respectivo testigo absoluto en el control de la garrapata (*Rhipicephalus boophilus microplus*) *In vitro*.

IV. VARIABLES

4.1. Variable Independiente

- ❖ Eficacia de los extractos vegetales

4.2. Variable Dependiente

- ❖ Control frente a *Rhipicephalus boophilus microplus* *In vitro*.
- ❖ Valoración y tiempo de efecto de los extractos en *Rhipicephalus boophilus microplus* en sus respectivos estadios.
- ❖ Eficacia de los extractos en relación con el tratamiento químico y con el testigo absoluto.

V. METODOLOGÍA

5.1. Ubicación del Ensayo

El presente trabajo de investigación se lo llevó a cabo en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí en el laboratorio químico de la Facultad de Ciencias Agropecuaria ubicada en el cantón Manta, provincia de Manabí con sus coordenadas -0.951517, -80.745646.



Fuente: google maps 2019

Las muestras de las garrapatas se recolectaron en el cantón Olmedo provincia de Manabí en la hacienda la Primavera de Ángel Mieles con coordenadas 1.19173,-80.05424. La temperatura que se recolectó la garrapata fue a 30°C y humedad relativa de 80 a 90%.

5.2. ENFOQUE, MODALIDAD Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

5.2.1. Enfoque

La presente investigación fue de enfoque cuantitativo y cualitativo debido a observación y aplicación de los extractos vegetales de Neem y mamey para el control de garrapatas *In vitro*.

5.2.2. Modalidad

La modalidad de la investigación fue netamente *In vitro* para la extracción de los aceites y también visualizar el tratamiento de mayor eficacia dentro de la investigación.

5.2.3. Tipo de Investigación

La investigación fue de carácter experimental *In vitro* para la observación del comportamiento de las garrapatas aplicando aceites vegetales de las semillas de Neem y mamey. Se destaca también que es de carácter comparativo.

5.3. Diseño Experimental

El tipo de diseño que se utilizó fue un BCA diseño de bloques completo al azar con arreglo bifactorial, con 8 tratamientos, un testigo natural y un tratamiento químico como el amitraz, se utilizaron 96 garrapatas de la especie *Rhipicephalus boophilus microplus* en estadios adulto, los datos se analizaron con el programa INFOSAT, mediante análisis de varianza no paramétrica por método Kruskal Wallis al 0,05%.

5.3.1. Factores de estudio

El experimento tuvo como factores de estudio:

- a. Extracto vegetales de neem y mamey
- b. Dosis de aplicación de los extractos de neem y mamey

FACTOR A: Extractos Vegetales

A1. Neem

A2. Mamey

FACTOR B: Dosis de aplicación de extracto de neem y mamey

B1. 50ml

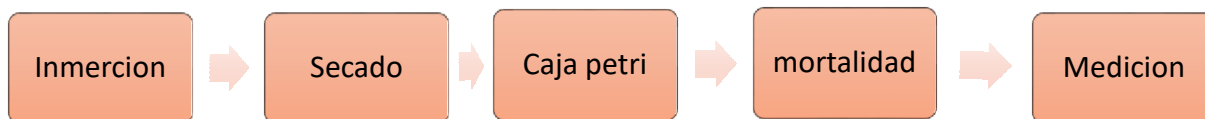
B2. 100ml

B3. 150ml

Tratamiento químico (AMITRAZ)

Testigo absoluto

5.3.2. Tratamientos Experimentales



5.3.3. TRATAMIENTOS

De la combinación de los factores en estudio resultaron los siguientes tratamientos:

| TRATAMIENTOS | CÓDIGO | DESCRIPCIÓN | UNIDAD DE ESTUDIOS |
|--------------|--------------|--|--------------------|
| 1 | A1 B1 | Aplicación de 50ml de extracto de aceite de neem | 12 garrapatas |
| 2 | A1 B2 | Aplicación de 100ml de extracto de aceite de neem | 12 garrapatas |
| 3 | A1 B3 | Aplicación de 150ml de extracto de aceite de neem | 12 garrapatas |
| 4 | A2 B1 | Aplicación de 50ml de extracto de aceite de mamey | 12 garrapatas |
| 5 | A2 B2 | Aplicación de 100ml de extracto de aceite de mamey | 12 garrapatas |
| 6 | A2 B3 | Aplicación de 150ml de extracto de aceite de mamey | 12 garrapatas |
| 7 | | Tratamiento químico (AMITRAZ 20.8%) | 12 garrapatas |
| 8 | | Testigo absoluto | 12 garrapatas |

Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

5.3.4. Características de las unidades experimentales

En lo que respecta a la unidad experimental estuvo conformada por 12 caja Petri, de la cual en cada caja Petri estaba ubicada una garrapata, las mismas que se aplicó los extractos correspondientes (50ml,100ml,150ml de extracto de Neem y 50 ml,100 ml,150 ml de extracto de semilla de mamey) manifestando que hubo un tratamiento químico y testigo absoluto.

5.3.5. Esquema de análisis de varianza

ADEVA

| F.de.V | G.L |
|---------------------|------------|
| Total | 95 |
| Tratamiento | 7 |
| Error experimental | 88 |
| Factor a | 1 |
| Factor b | 2 |
| Interacción A X B | 2 |
| Tratamiento químico | 1 |
| Testigo absoluto | 1 |

Elaborado por: Luis Carvajal.,(2020).

5.4. El proceso que se llevó a cabo es el siguiente:

Toma de muestra de las semillas

- **Neem**

1. Primeramente, se realizó la recolección de la semilla de Neem, no deben estar ni muy maduras ni muy verdes.
2. Deshidratación de la semilla en la estufa del laboratorio a 50 °C por 72 horas.
3. Secado bajo al sol de la semilla de Neem por 8 días.
4. Procedemos a la Molienda de la semilla en molinos mecánicos.
5. Secado de la semilla molida por 8 días.

- **Mamey**

1. Recolección de semillas no deben estar ni muy seca ni muy verdes.

2. Secado al sol de la semilla por 15 días.
3. Rallado de la semilla en rayos mecánicos.
4. Molienda de las semillas en molinos mecánicos.
5. Secado de la semilla al sol por 4 días.

Obtención de los extractos

- Neem

1. Pesamos 20 gr de semilla molida en un recipiente de vidrio sobre una balanza.
2. Mezcla de los solventes, en este caso fue cloroformo y metanol eso se mezcla en 2-1 (2 cloroformo y 1 de metanol).
3. Colocación de los 250ml de cloroformo y metanol en el recipiente donde está ubicado los 20gr de semillas molida.
4. Procedemos con un agitador a revolver la mezcla de los extractos
5. Maceración previa por 24 horas.
6. Procedemos al proceso de filtrado.
7. Colocación del extracto en una estufa a 50 °C a hervir durante 1 horas luego se la retira, se deja enfriar y se la cierne en un colador.
8. Colocación en el rota vapor donde se pone a evaporar por 40 a 60 minutos, a una temperatura de 80 a 90 °C para que se evapore el solvente.

- Mamey

1. Pesamos los 20gr de la semilla molida en un recipiente de vidrio sobre una balanza.
2. Mezcla de los solventes a utilizar, en este caso son cloroformo y metanol eso se mezcla en 2-1 (2 cloroformo y 1 de metanol).
3. Colocación de los 350ml de cloroformo y metanol en el recipiente donde está ubicado los 20gr de semillas molida.
4. Procedemos con un agitador a revolver la mezcla.
5. Maceración previa por 24 horas en frasco de vidrio.
6. Proceso de filtrado.
7. Colocación del extracto en una estufa a 50 °C a hervir durante 2 horas, se deja enfriar y se la cierne en un colador.

8. Colocación de la muestra en el rota vapor por 40 a 60 minutos a una temperatura de 80 a 90 °C para que se evapore el solvente.

5.5. PROCEDIMIENTOS DE ANALISIS

5.5.1. Procedimiento previo para la preparación de las unidades muestrales

- ✓ Toma de muestra del material biológico (*R. boophilus microplus*).
- ✓ Extractos.
- ✓ Dilución de los extractos.
- ✓ Descripción de las unidades experimentales.
- ✓ Manejo de las muestras en el laboratorio.

5.6. Procedimiento para la determinación de la dosis eficaz del extracto de neem y mamey en la muestra de *Rhipicephalus boophilus microplus* en bovino *in vitro*

Interviene la variable independiente “Extracción de aceite vegetal de *Azadirachta indica* y *Mamey americana*” en relación a la variable dependiente que representa “Control frente a *Rhipicephalus boophilus microplus*” en bovinos *in vitro*.

Se utilizaron 12 unidades muestrales para la aplicación de cada una de las dosificaciones del extracto de la semilla de neem y mamey (50ml, 100ml, 150ml) que en porcentaje equivale a 0.25%, 0,50 %y 0,75% respectivamente. Luego de la aplicación del día 0, todos los días se realizaron las observaciones *In vitro* con un monitoreo de eficacia de cada uno de los tratamientos aplicados, por 8 días.

5.7. Procedimiento para la comparación de eficacia entre la aplicación de extracto de semilla de Neem y semillas de Mamey y tratamiento químico y testigo absoluto en *Rhipicephalus boophilus microplus* en bovinos

Se realizó la comparación de dosis de eficacia entre la aplicación del extracto de la semilla de Neem y la aplicación del extracto de la semilla de Mamey, teniendo como elemento de referencia al testigo absoluto y un tratamiento químico (AMITRAZ) con su dosis comercial y al testigo absoluto que no se le aplicó nada.

5.8. Manejo de muestras de garrapatas en laboratorio

Las muestras recolectadas fueron estudiadas las características externas, aparato bucal, dorso, cara ventral y extremidades para confirmar el género *R. boophilus*, con ayuda de un contador de colonias, todas las garrapatas recolectadas fueron separadas por el peso y tamaño luego se sometieron a baño con agua destilada para prevenir que éstas tuvieran alguna impureza y posteriormente se las secó con un papel toalla, se logró preparar las concentraciones de cada extracto con su respectiva dosis, y se sumergió cada 12 garrapatas en un recipiente de vidrio por un tiempo de prueba de inmersión por 5 minutos; posteriormente se secaron las garrapatas con el papel toalla y se colocó una garrapata por cada caja Petri para su respectiva observación. Luego se procedió a ubicarla en una incubación con una temperatura de 28 °C y humedad relativa de 80 a 90%, para evaluar el efecto de los extractos, mortalidad o si había oviposición, esto por un lapso de ocho días.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla:1 Mortalidad de *Rhipicephalus boophilus microplus* a las 120 horas de la aplicación.

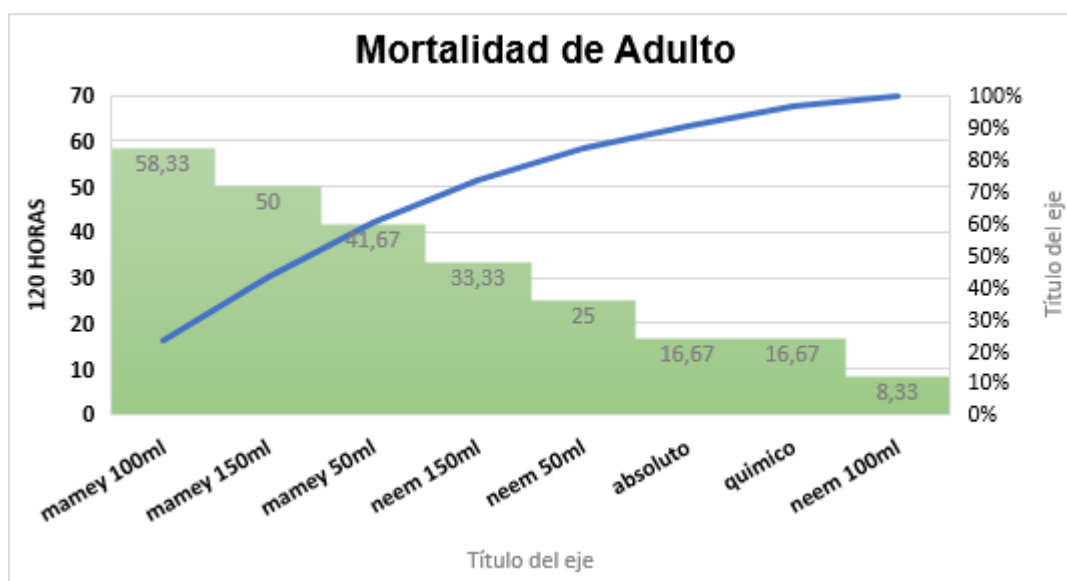
| Interacción | % de Mortalidad |
|---------------------|------------------------|
| Neem 50ml | 25.00 ab |
| Neem 100ml | 8.33 b |
| Neem 150ml | 33.33ab |
| Mamey 50ml | 41.67 ab |
| Mamey100ml | 58.33 ab |
| Mamey 150ml | 50.00 ab |
| Amitraz 20.8% 1ml/L | 16.67 ab |
| Testigo Absoluto | 16.67 b |
| P | 0.4686 |
| H | 4.92 |
| Extracto | |
| Neem | 22.22 |
| Mamey | 50.00 |
| P | 0.99 ^{ns} |
| Dosis | |
| 50 ml | 33.33 |
| 100 ml | 33.33 |
| 150 ml | 41.67 |
| P | 0.99 ^{ns} |

Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

De acuerdo al análisis de varianza no paramétrico se utilizó el método Kruskal Wallis al 0,05% para la variable porcentaje de mortalidad de las garrapatas adultas a las 120 horas de la aplicación de los tratamientos, existe diferencias estadísticas en la interacción entre los factores en estudio; mientras que para los extractos y las dosis no se encontraron diferencia (Tabla 1).

La mayor mortalidad de adultos la obtuvieron los tratamientos formados por mamey en sus tres dosis (50, 100 y 150ml) con un promedio de 41.67,58.33 y 50.00%, respectivamente; y además Neem 150ml y 50ml con 33.33 y 25.00%, que estadísticamente comparten el mismo rango (ab). El tratamiento químico y el testigo absoluto con un promedio de 16.67%, respectivamente; el promedio más bajo la obtuvo el tratamiento de neem en dosis de 100ml con un 8.33%;(Figura 1).

Fig.1. Porcentaje de mortalidad de garrapatas adultas a las 120 horas de la aplicación.



Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

Tabla:2 Mortalidad de *Rhipicephalus boophilus microplus* a las 144 horas de la aplicación.

| Interacción | % de Mortalidad |
|---------------------|--------------------|
| Neem 50ml | 25.00 b |
| Neem 100ml | 33.33 ab |
| Neem 150ml | 50.00 ab |
| Mamey 50ml | 50.00 ab |
| Mamey 100ml | 100.00 a |
| Mamey 150ml | 58.33 ab |
| Amitraz 20.8% 1ml/L | 41.67 ab |
| Testigo Absoluto | 25.00 b |
| p | 0.5290 |
| H | 3.55 |
| Extracto | |
| Neem | 36.11 |
| Mamey | 79.16 |
| p | 0.99 ^{ns} |
| Dosis | |
| 50 ml | 33.33 |
| 100 ml | 66.67 |
| 150 ml | 54.16 |
| p | 0.99 ^{ns} |

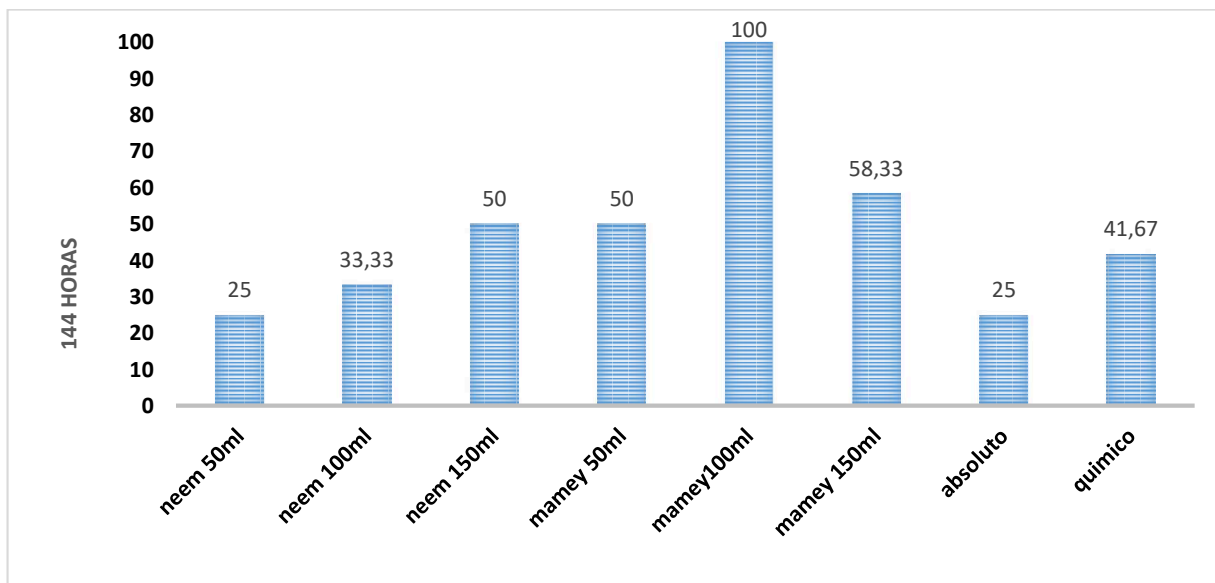
Elaborado por: Luis Carvajal., (2020)

De acuerdo al análisis de varianza no paramétrico se utilizó el método Kruskal Wallis al 0,05% para la variable porcentaje de mortalidad de las garrapatas adultas a las 144 horas de la aplicación de los tratamientos, existen diferencias

estadísticas en la interacción entre los factores en estudio; mientras que para los extractos y la dosis no se encontraron diferencia (Tabla 2).

La mayor mortalidad de adultos la obtuvieron los tratamientos formados por mamey en dosis (100,150ml) con un promedio de 100% y 58.33% respectivamente; y además neem en, 100 y 150ml con promedios de 33.33 y 50%, respectivamente; que estadísticamente son iguales, compartiendo el mismo rango (ab). Mientras el mamey en dosis de 50ml alcanzó un promedio de 50%, por encima del químico y absoluto; los promedios más bajos lo obtuvieron los tratamientos formados por neem en dosis de 50ml, y testigo absoluto con un promedio de 25% respectivamente; que estadísticamente comparten el mismo rango (b) (Figura 2).

Fig.2. Porcentaje de mortalidad de garrapatas a las 144 horas de la aplicación del producto



Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

Tabla:3 Mortalidad de *Rhipicephalus boophilus microplus* a las 168 horas de la aplicación.

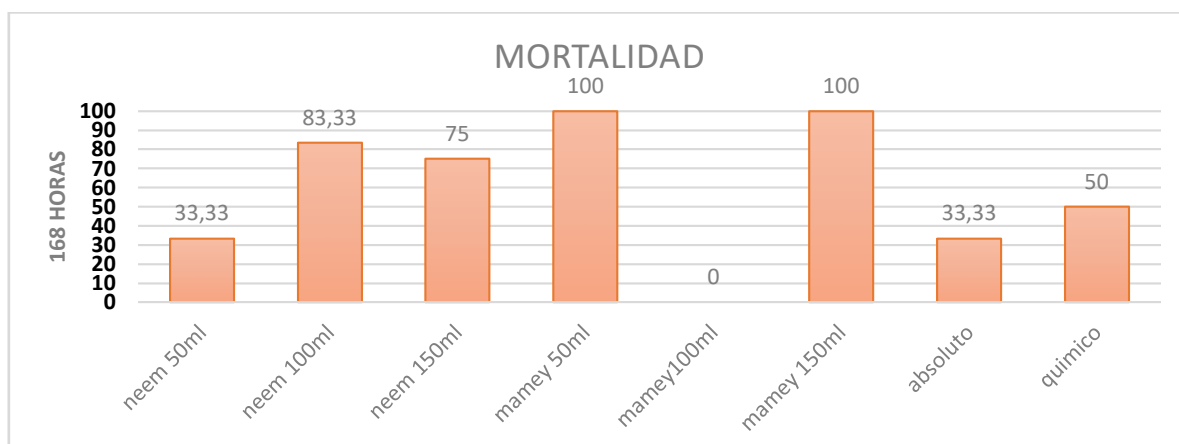
| Interacción | % de Mortalidad |
|---------------------|------------------------|
| Neem 50ml | 33.33 b |
| Neem 100ml | 83.33 ab |
| Neem 150ml | 75.00 ab |
| Mamey 50ml | 100.00 a |
| Mamey 100ml | 0 |
| Mamey 150ml | 100.00 a |
| Amitraz 20.8% 1ml/L | 50.00 ab |
| Testigo absoluto | 33.33 b |
| p | 0.2370 |
| H | 6.92 |
| Extracto | |
| Neem | 63.88 |
| Mamey | 100.00 |
| p | 0.99 ^{ns} |
| Dosis | |
| 50 ml | 66.67 |
| 100 ml | 91.67 |
| 150 ml | 83.33 |
| p | 0.99 ^{ns} |

Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

De acuerdo al análisis de varianza no paramétrica se utilizó el método Kruskal Wallis al 0,05% para la variable porcentaje de mortalidad de las garrapatas adultas a las 168 horas de la aplicación de los tratamientos, existen diferencias estadísticas en la interacción entre los factores en estudio; mientras que para los extractos y las dosis no se encontraron diferencias (Tabla 3).

La mayor mortalidad de adulto la obtuvieron los tratamientos formados por mamey en dosis de (50, y 150ml) mostrando un promedio estadísticamente de un 100% de mortalidad, y además Neem en 100 y 150ml obtuvieron un promedio de 83.33% y 75.00% de mortalidad ,que estadísticamente comparten el mismo rango(ab).respectivamente; mientras el tratamiento químico mostró un 50,00%;los que presentaron los promedios más bajo fueron el extracto de Neem en dosis de 50ml y el testigo absoluto con un promedio de 33.33% respectivamente; que estadísticamente comparten el mismo rango b(Figura 3).

Figura.3. Porcentaje de mortalidad de garrapatas adulta a las 168 horas de la aplicación.



Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

Tabla:4 Mortalidad de *Rhipicephalus boophilus microplus* a las 192 horas de la aplicación.

| Interacción | % de Mortalidad |
|---------------------|--------------------|
| Neem 50ml | 83.33ab |
| Neem 100ml | 100.00a |
| Neem 150ml | 100.00a |
| Mamey 50ml | 00.00 |
| Mamey 100ml | 00.00 |
| Mamey 150ml | 00.00 |
| Amitraz 20.8% 1ml/L | 91.67ab |
| Testigo Absoluto | 75,00 b |
| p | 0,6848 |
| H | 2.96 |
| Extracto | |
| Neem | 94.44 |
| Mamey | 100.00 |
| p | 0.99 ^{ns} |
| Dosis | |
| 50 ml | 94.44. |
| 100 ml | 100.00 |
| 150 ml | 100.00 |
| p | 0.99 ^{ns} |

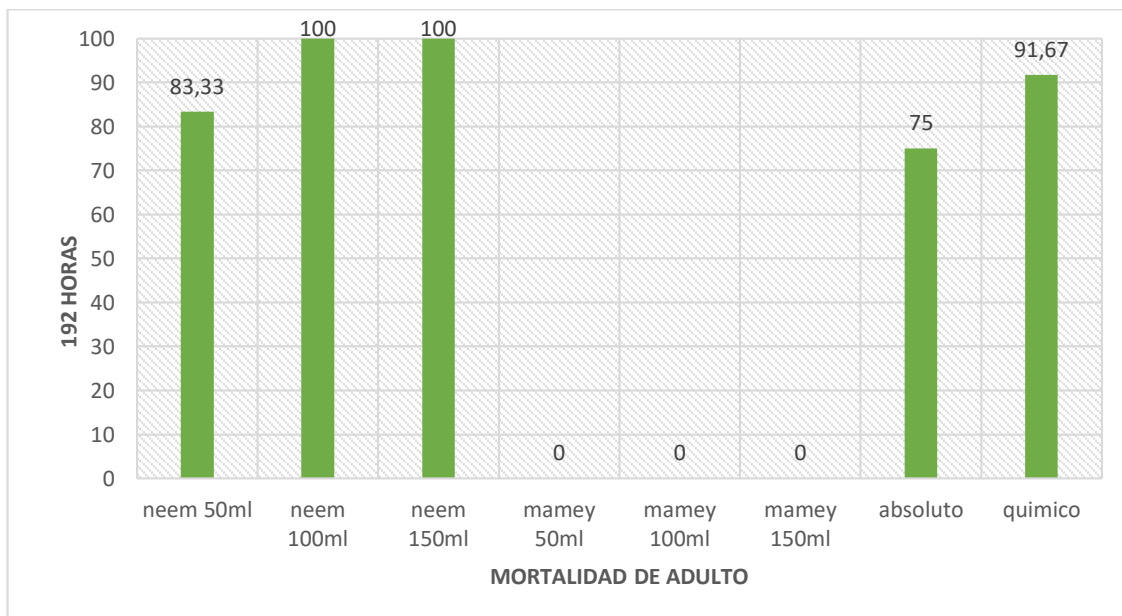
Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

De acuerdo al análisis de varianza no paramétrica se utilizó el método Kruskal Wallis al 0,05% para la variable porcentaje de mortalidad de las garrapatas adultas a las 192 horas de la aplicación de los tratamientos, existen diferencias

estadísticas en la interacción entre los factores en estudio; mientras que para los extractos y las dosis no se encontraron diferencias (Tabla 4).

La de mayor mortalidad de adulto la obtuvieron los tratamientos de Neem en dosis de 100 y 150ml obtuvieron 100% respectivamente; que estadísticamente comparten el mismo rango(a). el tratamiento químico alcanza 91,67%; mientras que para el neem en dosis de 50ml alcanza un promedio de 83,33%; además el testigo absoluto con 75% respectivamente (Figura 4).

Fig.4 Porcentaje de mortalidad de las garrapatas a las 192 horas de la aplicación



Elaborado por: Luis Carvajal., (2020).

Tabla 5: Promedio de mortalidad de las tres dosis aplicadas en mamey y neem

| Dosis | Mortalidad de garrapatas Promedio general | |
|-------|--|--------|
| | mamey | neem |
| 50cc | 100% | 83.33% |
| 100cc | 100% | 100% |
| 150cc | 100% | 100% |

Elaborado por :Luis Carvajal.,(2020)

En esta tabla muestra que las tres dosis aplicada del extracto de mamey, alcanzo un valor numérico 100% de mortalidad hasta las 168 horas de la aplicación;mientras que para los extractos de neem su dosis de mayor eficaz fue la de 100 y 150ml con un valor numerico de 100% de mortalidad respectivamente,a las 192 horas de la aplicación ,ademas neem en 50ml alcanzo un valor numerico de 83% de mortalidad hasta las 192 horas.

VII. DISCUSIÓN

El extracto de mamey tuvo un alto porcentaje de 100% de mortalidad respectivamente en dosis de (100 ml) a las 144 horas de observación, datos que coinciden con la investigación expuesta por Aguilar (2015) donde indica que, en un ensayo *In vitro* con semillas de Mamey, para el control de garrapatas en bovinos, mostró un promedio de mortalidad de 92.74% en la utilización del producto en dosis de 100 ml a las 144 horas.

Manzano., (2015), demostró que las concentraciones de 50% y 75% de semilla de Mamey a las 144 horas, fueron las más efectivas para el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus* del ganado bovino *In vitro* con un promedio de 91.67%.

Zapata., (2013) en su estudio sobre el control de garrapatas *In vitro* con extracto de mamey (*Mammea americana*), obtiene resultados superiores al 90 % en dosis de 100ml, y 70% en dosis de 50 ml a las 144 horas tanto sobre la reducción de la ovoposición como en la reducción de la eclosión.

La eficacia del extracto de Neem tuvo como resultado que las dosis de mayor rendimiento en la mortalidad de las garrapatas fueron la de 100 y 150 ml, teniendo como promedio un 100%, a las 192 horas; además Neem en 50 ml obtuvo un promedio de 83.33% de mortalidad hasta las 192 horas de observaciones ;esta experiencia toma concordancia con lo expresado por Soto.,(2013) en un ensayo *In vitro* demostró que la mortalidad con la semilla de Neem en dosis de 150 ml fue del 90% a las 192 horas, y en dosis de 100ml, a las 192 horas la mortalidad fue del 92,4%.en 50ml fue de 85% a las 192 horas.

Además, Ramírez., (2012), mediante un ensayo *in vitro* demostró que el Neem superó las expectativas para el control de garrapatas en bovinos ya que presento un 99% de mortalidad a las 192 horas en dosis de 100ml.

El Amitraz tuvo eficacia para el control de garrapatas ya que el promedio numérico fue un 91.67% de mortalidad hasta las 192 horas de observación, esta experiencia toma concordancia con lo expresado por Castillo *et al.* (2017) acerca de los resultados obtenidos mediante un ensayo *in vitro* nos indican que el porcentaje de mortalidad de garrapatas en dosis de 1ml de producto por un litro de agua, a las 192 horas fue 94.33% de mortalidad.

El testigo absoluto tuvo como resultado un bajo porcentaje de mortalidad de 75.00% a las 192 horas de observación, esto concuerda con lo que señala Velázquez *et al.* (2011) donde menciona que la mortalidad del testigo fue del 65 %, a las 192 horas.

VIII. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

8.1. CONCLUSIONES

- Se pudo evidenciar que la mortalidad de garrapatas adultas comenzó a partir de las 120 horas de la aplicación los resultados fueron; el extracto de mamey (*Mammea americana*) en dosis de 100 ml con un promedio de 58.33%, la dosis de 150 alcanzó un promedio de 50%; la dosis de 50 ml presentó un promedio de 41.67% y además Neem 150 ml alcanzó un 33.33% de mortalidad, en dosis de 50ml y 100ml alcanzó un promedio de 25.00% y 8.33%; los promedios más bajos a las 120 horas la obtuvieron el testigo absoluto y el tratamiento químico con un promedio de 16.67% respectivamente.
- Se evidencio que la dosificación más efectiva se registró en el extracto de mamey (*Mammea americana*) en dosis de 100 ml; a las 144 horas de la aplicación donde presentó una marcada eficacia In vitro dejando como resultado 100% de mortalidad de las garrapatas.
- La eficacia del extracto de mamey determino que la dosis de mayor rendimiento en la mortalidad de las garrapatas fue la de 100ml donde se pudo determinar que a las 144 horas de la aplicación alcanzo un 100% de mortalidad de garrapata, además la dosis de 50ml y 150ml alcanzó una eficacia de 100% de mortalidad, pero a las 168 horas de aplicación.
- La eficacia del extracto de Neem determino que las dosis de mayor rendimiento en la mortalidad de las garrapatas fueron la de 100 y 150 ml, teniendo como promedio un 100%, a las 192 horas, a diferencia de la dosis de 50 ml que obtuvo un promedio de 83.33% de mortalidad hasta las 192 horas de observaciones.
- El tratamiento químico evidenció un promedio de 91.67% a las 192 horas, superando al extracto de neem en dosis de 50ml.

8.2. RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos In vitro de todos los extractos, con énfasis en el extracto del fruto de mamey (*Mammea americana*) para comprobar la efectividad y toxicidad del producto ya que presenta un 100% de mortalidad en garrapatas adultas.
- Se recomienda al extracto de mamey como uso alternativo en el control de garrapata después de realizado la aplicación en vitro.
- Buscar nuevas alternativas de extracción para reducir los costos de obtención de los extractos.
- Continuar con estudios In vitro para identificar otras plantas y diferentes estructuras, para ser evaluadas como control de las garrapatas.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Arizmendi A. 2015. *La Garrapata en el Ecuador y Descripción y fundamento de los análisis del aceite: Universidad de las Américas*. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mepi/gutierrez_a_ba/pendiceA.pdf
- Aguilar, R. 2015. *Neem (Azadirachta indica) Especie forestal materia prima para la industria artesanal de las comunidades agrícolas rurales del bosque tropical seco: caso provincia santa Elena – Ecuador*. Vol. 22. P 5
- Barrera, R. D; Viteri, K; Cedeño, E; Ruiz, O; Peralta, 2017. *Efecto del extracto de hoja de neem (Azadirachta indica) Y Garrapata en el ecuador y control de garrapatas y pulgas en perros. Universidad agraria del ecuador*. Tesis de maestría. Guayaquil, Ecuador. P 28.
- Barriga, R; Quiñones, A; Fragoso, S. 2013. *Importancia de la garrapata y Enfermedades de importancia económica en producción animal*. Distrito Federal, MX. Revista científica. p 571-592.
- Barrios, T. (2015). Fruta mamey. Obtenido de apartado de Agricultura del sitio Web SabeloTodo.Org: disponible en: <http://www.sabelotodo.org/agricultura/frutales/mameyampliado.html>
- Bolaños, R. (2015). *Enfermedades transmitidas por garrapatas*. Disponible en: http://www.allpetsec.com/index.php?option=com_content&view=article&id=96:enfermedades-transmitidas-porgarrapatas&catid=5:blogs&Itemid=26
- Bustillos, R; Carrillo, J; Jacho, G; Enríquez, S; Rodríguez, R. 2015. *Comportamiento Poblacional de la Garrapata Rhipicephalus (Boophilus) microplus en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador*. San Miguel de los Bancos-Pichincha, EC. Revista Tecnológica ESPOL. Vol. 28. p 69 – 77.

- Castillo, C; Pinedo, R; Rodríguez, L; Chávez, A. 2017. *Evaluación de Tres Formulaciones Comerciales de Aplicación Pour-on Bajo Condiciones de Campo y su Efecto in vitro en el Control de Boophilus microplus (Acari: Ixodidae) en Bovinos de Ceja de Selva*. Lima, PE. Revista de Investigación Veterinaria. Vol. 27. P 145-147.
- Castro, I. 2012. *Rhiphicephalus microplus*. Tesis. Med. Veterinario. USAC. Guatemala, GT. p 47.
- Castellanos, MK. 2013. *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
- Córdova, I; Torres, R; Anaya, M; Flores, R; Salvador, M. 2015. *Propiedades y composición del Azadirachta indica a. juss para el combate de insectos plaga*. Universidad autónoma de Chiapas. México. Vol. 3. P 71.
- Chañarte, O 2015. *Introducción a la garrapata*. Revista de Investigación Veterinaria. Vol. 15. P 125-117. disponible en: [https://www.ecured.cu/Orden_Ixodida_\(Garrapatas\)](https://www.ecured.cu/Orden_Ixodida_(Garrapatas))
- Duran. P y Romero, H. (2015). *Amitraz y control de Rhiphicephalus (Bophilus) microplus en México*. En H. Quiroz-Romero, J. A. F. Ibarra-Velarde, & M. E. López-Arellano, *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos (págs. 477-504)*. México: Compact Disc.
- Domínguez, F. y MSc. Dehese G. (2015). *Definición del neem y extracción y caracterización del aceite fijo de los frutos de Oenocarpus bayahua (Tungurahua)*. Revista Far, 37(3). Departamento Tecnología y Control de Medicamentos, Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Politécnica Salesiana de Ecuador. Recuperado 09 de abril, 2011 de disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol37_s_03/r_taller_b.pdf

Estrada.P.2015.AMITRAZ. Universidad autónoma de México. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. En (línea). Consultado el 26 de abril del 2015. Disponible en: <https://es.slideshare.net/clasesdefarmacologia/amitraz-20923475>

Econtenda, S. 2013. *Diversidad, distribución y aceite de neem en México. Programa de Acreditación de Médicos Veterinarios Zootecnistas. Campaña contra la garrapata. Normas y procedimientos.* México. SAGARPA. p 30-33.

Fundación Neem. 2008. *Neem (en línea).* Consultado 17 abr. 2018. Disponible en: <http://translate.google.com.gt/translatehl=es&sl=en&u=ht>

García, Z. (2012). *Garrapatas que afectan al ganado bovino y enfermedades que transmite en México. Obtenido de biblioteca virtual del Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias:* <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/3281/Garrapatasqueafectanalganadobovinoyenfermedades.pdf?sequence=1>

Horowitz R; Virkel, A; Imperiale, F; Pis, A; Lanusse, C. 2011. *CICLO BIOLOGICO DE LA GARRAPATA.* McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, Es. p 545-558.

Leiva, D; Cabeza, S; Cecaes, E; Reyes, M; Fermín, O. 2009. *Evaluación de la garrapata. (En línea).* Consultado, 20 de feb. 2019. Formato PDF. Disponible en: www.parasitaria.org/journal/download/pdf/id/6

Madrid, V., Y Madrid, C. (2011). *Proceso de extracción mecánica de aceite de semillas oleaginosas. Nuevo Manual de Industrias Alimentarias.* España: AMV, tercera edición.

Manzano, P; Orellana, T; Catagua, D; Viteri, K; Cedeño, E; Ruiz, O; Peralta, E.

2013. *Ciclo Biológico de la Garrapata Ecuador*. 2012, vol. 4, n°.1, p.1. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/10931/articulos-rumiantes-archivo/danos-producidos-por-las-garrapatas-y-metodos-de-control-del-parasito-pdf>

Márquez, O; *Taxonomía del neem Y Determinación de la efectividad del uso de tres tipos de bioinsecticida a base de neem (Azadirachta indica) en el control del pulgón verde*. Título de ingeniero agropecuario. Universidad Mayor de San Andrés. Las Paz- Bolivia. Pág. 12

Navarrete, L; Rodríguez, E; Valle, Vargas, M; Romero, L. 2014. *clasificación taxonómica de garrapatas (ixodidae) en el Salvador*. (En línea). SV. Consultado, 20 de feb. 2019. Formato pdf. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/5989/2/catalogo%20de%20garrapatas%20.pdf>

Núñez, J; Muños, C; Moltedo, H. 2012. *Boophilus microplus la garrapata común del ganado vacuno*. Buenos Aires, Argentina. Ed. Hemisferio Sur. p 159.

Pérez, E. R; González, C; Mosquera; 2012. *Introducción a la garrapata: Una alternativa a tener en cuenta*. Cuba. Vol. 16. P 51.

Ramírez, C. (2015). *MAMEY (Mammea americana. L)*. (s.l). Recuperado 18 agosto, 2018 en: <http://www.unalmed.edu.co/~crsequed/MAMEY.htm>

Ramírez, M. (2012). *Evaluación del rendimiento de extracción y caracterización del aceite fijo de café tostado tipo genuino antigua obtenida por el proceso de prensado*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería. Guatemala.

Ramos, C; Vargas, M. 2010. *Extracción del aceite de la semilla de Neem (Azadirachta indica)*. (En línea). Consultado 25 feb. 2019. Disponible en: http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-207620pdf

Rivas, C; Kinabo, L y Mckellar, Q. 2013. *Toxicidad del neem* Vol. 13. p 432 - 435.

Roja, M; Etcheverry, N. 2003. *Neem, la Planta Asombrosa*. *Tlahui-Medic*. No. 18, III/2004 (en línea). Consultado 25 feb. 2019. Disponible en: <http://www.tlahui.com/medic/medic18/neem.htm>

Solís, C y Hernández, O. (2011). *Evolución química de la resistencia de garrapatas*. Memorias del Curso-Taller, diagnóstico de resistencia a ixodicidas en garrapatas *Boophilus microplus*, 23-30.

Soto, L; Ortiz, J. 2013. *Definición de neem en el control de plagas de insectos en cultivos económicos*. La Habana (cuba). Vol. 37, P 41-45.

Soberanes, N y Ortiz, M. 2015. *Programas de Control Integral de Parásitos Con Énfasis en la Garrapata del Bovino *Rhiphicephalus (Boophilus) microplus* en el Noreste de México*. (En línea). MX. Consultado, 20 de febrero 2019. Disponible en: <http://bmeditores.mx/programas-control-integral-parasitos/>.

Viteri, K., & Cedeño, E. (2009). *Estudio del comportamiento de la pulpa congelada y del aceite de semillas obtenido de dos variedades diferentes de mamey *Colocarpum mammosum* y *Mammea americana**. Obtenido de repositorio digital de la Escuela Superior Politécnica del Litoral: Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/45455989>

Wilcaso, T. (2014). *Toxicidad de aceite de la semilla de mamey y Estudio de un garrapaticida orgánico a base de mameina (semilla de *pouteria sapota*) para combatir la babesiosis bovina*. Obtenido de repositorio digital de la Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8079/1/BCIEQ0059%20Wilcaso%20Cando%20Tatiana%20Vanessa.pdf>

Zapata, R; Zapata, R; González, C; Mosquera, I; Usuga, I; Polanco, D; Marín, A. 2013. *Actividad antihelmíntica in vitro de extractos oleosos de azadirachta indica y extractos acuosos de nicotiana tabacum sobre nematodos gastrointestinales de cabras*. Colombia. Vol. 26. P 1-12.

X. ANEXOS

ANEXO 1: Preparación de insumos para la preparación de los extractos



Secado de las semillas de
Neem



Molienda de las semillas de
Neem en molinos mecánicos



semillas recolectadas de
mamey



Rayado de la semilla de
mamey



Secado de la semilla rayada de mamey

Anexos 2: Extracción de los extractos de las semillas de mamey y Neem en el laboratorio



Colocación de 20gr de la semilla



Colocación de 350ml de cloroformo+ metanol.



Luego se procede a preparar las muestras



Proceso de mezclada de la muestra



Proceso de filtrado del extracto



Proceso de la hervida de los extractos

Anexo 3: Proceso de la preparación de las disoluciones para la aplicación de las dosis en el laboratorio



Preparación de las disoluciones con sus respectivas dosis para la aplicación de los tratamientos

Anexos 4: Recolecta de garrapatas *Rhipicephalus boophilus* microplus) en bovinos



Recolecta de las muestras de las garrapatas



Garrapatas recolectadas

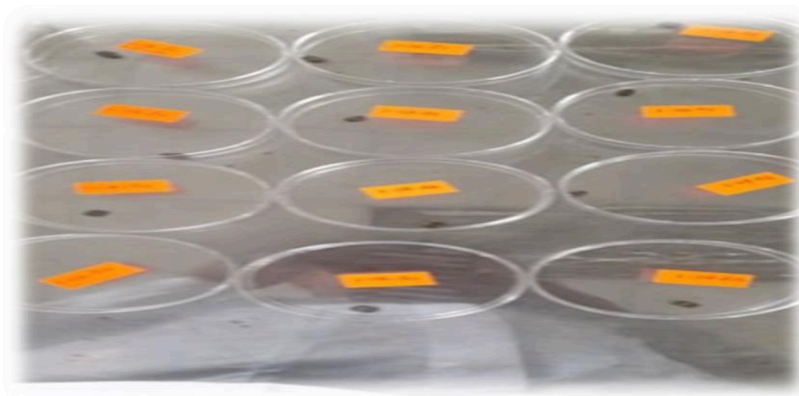


Selección y separación de las garrapatas

Anexos 5: Aplicación de las muestras Y proceso de ubicación de las muestras en cada caja Petri



Anexos 6: Proceso de la observación de los tratamientos



Tratamientos



Observación de las garrapatas en el contador de colonias

Anexos 7: Observación de las muestras en la incubadora



Incubadora utilizada en un ambiente controlado a una temperatura de 28°C y con la humedad relativa de 80°-90°.

Anexos 8: Mortalidad de las garrapatas



Anexos 9: Observación de huevos en los tratamientos



Observación de huevos



Masa de huevo de los tratamientos