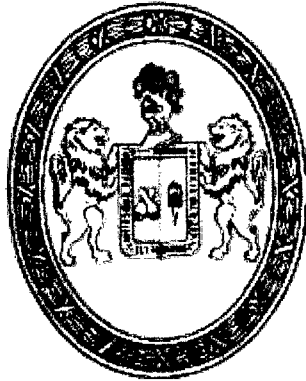


**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



TESIS

**ACTIVIDAD GARRAPATICIDA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DEL FRUTO DE NEEM (*Azadirachta indica*) Y RIZOMA DEL HELECHO MACHO (*Dryopteris filix mas*) *in vitro* FRENTE A *Rhipicephalus microplus*.**

PRESENTADO POR:

Yurik Flora PINEDA ALBORNOZ

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICO VETERINARIO

HUÁNUCO, PERÚ

2015

## **DEDICATORIA**

**A Dios por darme fortaleza y mantener siempre en mí la Fé Para salir de las dificultades.**

**A Mis Padres por creer en mí, por brindarme su apoyo incondicional Y darme la oportunidad de salir adelante a través del estudio profesional.**

**A mis amigos y a todas las personas que me rodean que tienen mi afecto y que de una u otra manera me apoyaron.**

**Por estas y muchas otras cosas gracias a todos los que hicieron posible este triunfo.**

## **AGRADECIMIENTO**

Doy gracias a Dios por dotarme de perseverancia, paciencia y sabiduría.

A la Universidad Nacional "Hermilio Valdizán" por haberme permitido ser parte de ella, en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que, por medio de tantas personas que me formaron y apoyaron durante estos años.

Gracias, M.V.Z Alcides Cotacallapa Vilca por su valiosa asesoría por brindarme consejos oportunos su gran interés y su apoyo en le ejecución, que siempre estuvo presente para apoyarme en cualquier momento para la organización de dicho trabajo

Al Mg. Marce Pérez Saavedra colaboración y apoyo para la realización de esta tesis.

A quienes formaron parte del comité tutorial y jurado que me fue asignado: Mg. Práxedes Cubas Bazán, Mg. Rosel Apeastegui Livaque y Mv. Anselmo Canches Gonzales, por su tiempo e interés que siempre mostraron.

Al Dr. Manuel Sandoval, por su apoyo en realización de los extractos.

A todos quienes me dieron un consejo o apoyaron en el camino de este objetivo, que me permitió aligerar este estudio.

**ACTIVIDAD GARRAPATICIDA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DEL FRUTO DE NEEM (*Azadirachta indica*) Y RIZOMA DEL HELECHO MACHO (*Dryopteris filix mas*) *in vitro* FRENTE A *Rhipicephalus microplus*.**

**Yurik flora PINEDA ALBORNOZ**

**RESUMEN**

El objetivo del trabajo fue determinar si el extracto etanólico del fruto de Neem (*Azadirachta indica*) y rizoma de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*) tiene efecto garrapaticida (*Rhipicephalus microplus*) *in vitro*, el estudio es de tipo aplicado y o experimental, se trabajó con garrapatas adultas y extracto de Neem con niveles de tratamiento 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% y rizoma de Helecho Macho con niveles de tratamiento 0%, 10%, 20%, 30%, 40% y 50%, obtenido ambos mediante maceración etanólica y extracto en Rota Vapor. El resultado obtenido del extracto etanólico del fruto de Neem (*Azadirachta indica*) tuvo efecto garrapaticida, con los niveles de tratamientos V (50%), VI (60%), VII (60%), VIII (70%), IX (80%), X (80%) y XI (90%); mientras que el rizoma de helecho macho (*Dryopteris filix mas*) tuvo efecto garrapaticida con los niveles de tratamientos V (60%) y VI (100%) *in vitro* en garrapatas adultas, al comparar resultado de ambos grupos se obtuvo el resultado de prueba 1.19 ( $p \geq 0.01$ ) para el extracto etanolico den fruto del Neem y prueba de confiabilidad 0.99 ( $p \geq 0.01$ ) para el extracto del rizoma del helecho macho por lo tanto se afirma la hipótesis de investigación. En consecuencia, se concluye que el extracto de rizoma de Helecho Macho tiene mayor efectividad a una menor concentración que el extracto de Neem.

**Palabras claves:** Extracto, Neem, Helecho Macho.

## Abstract:

ACTIVITY GARRAPATICIDA OF THE EXTRACTS ETANÓLICO OF THE FRUIT DE NEEM (*Azadirachta indica*) AND RHIZOME OF THE MALE FERN (*Dryopteris filix mas*) in vitro IN FRONT OF *Rhipicephalus microplus*.

## SUMMARY

The objective of this work was to determine if the extracts etanólico of the fruit of Neem (*Azadirachta indica*) and rhizome of Male Fern (*Dryopteris filix mas*) they have effect garrapaticida (*Rhipicephalus microplus*) in vitro, the study is of applied type, I study experimental that one worked with mature ticks and extract of Neem with levels of treatment 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100% and rhizome of Male Fern with levels of treatment 0%, 10%, 20%, 30%, 40% and 50%, obtained both by means of maceration etanólica and extract in Broken Vapor. As results it was achieved that the extract etanólico of the fruit of Neem (*Azadirachta indica*) he/she had effect garrapaticida, with the levels of treatments V (50%), VI (60%), VII (60%), VIII (70%), IX (80%), X (80%) and XI (90%) and the extract of rhizome of male fern (*Dryopteris filix mas*) he/she had effect garrapaticida with the levels of treatments V (60%) and I SAW (100%) in vitro in mature ticks. For such an effect the test result was obtained 1.19 ( $p \geq 0.01$ ) for the extract etanolico they give fruit of the Neem and test of dependability 0.99 ( $p \geq 0.01$ ) for the extract of the rhizome of the male fern the investigation hypothesis is affirmed therefore. In consequence, you concludes that the extract of rhizome of Male Fern has bigger effectiveness to a smaller concentration that the extract of Neem.

Key words: Extract, Neem, Male Fern.

## CONTENIDO

	Pág.
Resumen.....	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1 Lugar de ejecución.....	22
3.2 Ubicación Geografía.....	22
3.3 Materiales.....	23
3.3.1 Materiales biológicos.....	23
3.3.2 Materiales de campo.....	23
3.3.3 Materiales de laboratorio.....	23
3.4 Metodología.....	24
3.5 Análisis De Datos Estadísticos.....	27
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
V. COLCLUSIONES.....	38
VI. RECOMENDACIONES.....	39
VII. BIBLIOGRAFICA.....	40
ANEXOS.....	48

## LISTA DE CUADROS

### EN EL TEXTO

CUADRO	Pág.
1. Tolerancia del Neem a factores climáticos y suelo. ....	7
2. Número, porcentaje y promedio de garrapatas muertas y vivas con los diferentes tratamientos del extracto etanólico del fruto del Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ) observadas en 24 horas.....	28
3. Numero de garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) muertas tratadas con las diferentes concentraciones (0% - 100%) del extracto etanólico de Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ), observado durante 24 horas con intervalos de 2 horas.....	30
4. Promedio de la distancia recorrida por las garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) tratadas con el extracto etanólico de Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ) en las distintas concentraciones (0% - 100%), observado durante 24 horas, con intervalo de 2 horas.....	31
5. Número, porcentaje y promedio de garrapatas muertas y vivas con los diferentes tratamientos del extracto etanólico de Helecho Macho ( <i>Dryopteris filix mas</i> ) observadas en 24 horas.....	33
6. Número de garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) muertas tratadas con los diferentes niveles de tratamiento (0% - 50%) del extracto etanólico de Helecho Macho ( <i>Dryopteris filix mas</i> ), observado durante 24 horas con intervalos de 2 horas.....	35
7. Promedio de la distancia recorrida por las garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) tratadas con el extracto etanólico de Helecho Macho ( <i>Dryopteris filix mas</i> ) en las distintas concentraciones (0% - 50%), observado durante 24 horas, con intervalo de 2 horas por 10 minutos.....	36

## En el anexo

### **CUADRO**

Pág.

- |   |    |
|---|----|
| 8. Análisis de varianza de las concentraciones del extracto etanólico de Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ).....            | 49 |
| 9. Análisis de varianza de las concentraciones del extracto etanólico de Helecho macho ( <i>Dryopteris filix mas</i> )..... | 49 |

## **LISTA DE GRAFICOS**

### EN EL TEXTO

- |  |    |
|--|----|
| 1. Numero de garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) muertas tratadas con las diferentes concentraciones (0% - 100%) del extracto etanólico de Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ).....   | 29 |
| 2. Promedios de la distancia recorrida por las garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) tratadas con el extracto etanólico de Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ) en los diferentes niveles de tratamiento.....                      | 32 |
| 3. Número de garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) muertas tratadas con las diferentes niveles de tratamiento (10% - 50%) del extracto etanólico de Helecho Macho ( <i>Dryopteris filix mas</i> ).....                           | 34 |
| 4. Promedios generales de la distancia recorrida por las garrapatas ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) tratadas con el extracto etanolico de Helecho Macho ( <i>Dryopteris filix mas</i> ) en los diferentes niveles de tratamiento..... | 37 |



## LISTA DE FIGURAS

### EN EL ANEXO

<b>Figura</b>	<b>Pág.</b>
1. Fotografías del árbol de Neem con sus frutos.....	50
2. Fotografía del fruto del árbol de Neem deshidratadas bajo sombra.....	50
3. Fotografía del helecho macho .....	51
4. Fotografías tomadas durante el proceso de secado del fruto de Neem y rizoma del Helecho Macho.....	51
5. Fotografía deshidratada y triturada del fruto del Neem y rizoma del Helecho Macho.....	52
6. Fotografía tomada adicionando el solvente etanol al 70%.....	52
7. Fotografía de la maceración del fruto del Neem y rizoma del Helecho Macho.....	53
8. Fotografía tomada después del filtrado de las diferentes muestras: primero Siendo del fruto del Neem, segundo del rizoma del Helecho Macho en el laboratorio del CIPNA-UNAS.....	53
9. Fotografía del rota vapor modelo R-3 recuperando el solvente.....	54
10. Fotografía colocando el extracto concentrado a la estufa para su secado....	54
11. Fotografías del extracto etanólico del Neem y el extracto etanólico del Helecho Macho respectivamente sellados para su conservación.....	55
12. Fotografía de vacuno con garrapatas a nivel de la ubre y en pliegues al rededor de la vulva.....	55
13. Fotografía de garrapatas recolectadas.....	56
14. Fotografías de los diferentes tratamientos de extracto etanólico del fruto de Neem y el extracto etanólico del rizoma del helecho macho.....	56
15. Fotografía de los diferente tratamientos del extracto etanolico del fruto de neem observadas durante 10 minutos.....	57

16. Fotografía de los diferente tratamientos del extracto etanolico del rizoma del helecho macho observadas durante 10 minutos.....	57
17. Fotografía de los diferente tratamientos del extracto etanolico del rizoma del helecho macho observadas durante 10 minutos con pérdida de movimiento y muertos.....	58
18. Fotografía del grupo control observado durante diez minutos.....	58

## I. INTRODUCCION

Las enfermedades transmitidas por las garrapatas del genero *Rhipicephalus microplus* representan uno de los principales problemas que afectan a la ganadería bovina, es el ectoparásito que causa las mayores pérdidas económicas. La garrapata *R. microplus* es el vector de la *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*. Estas enfermedades son endémicas en las zonas tropicales y subtropicales siendo su vector la garrapata *R. microplus* que tiene un ciclo biológico de un hospedero siendo en ocasiones un complejo de estas enfermedades. La *Babesia bovis* es la especie más patógena que *Babesia bigemina*, y son los agentes causales de la babesiosis bovina; y el *Anaplasma marginale* es el agente causal de la anaplasmosis bovina (GARCIA et al, 2010).

Cuando un ganado está altamente infestado las garrapatas pueden estar en todo el cuerpo. Siendo los principales lugares de selección por estas el cuello, pecho, base de la cola, abdomen, entrepierna, testículos, base de la ubre y orejas que las pieles son dañadas debido a altas infestaciones las garrapatas lo cual reduce el valor que en ocasiones no son comercializadas (GARCIA et al, 2010).

La necesidad de métodos de control de garrapatas más seguros, menos agresivos al hombre y al medio ambiente, ha estimulado la búsqueda de nuevos garrapaticida a partir de extractos vegetales, que de forma aislada o en combinación, retrasen el desarrollo de resistencia o reduzcan el problema de los residuos por su característica biodegradable(Santos et al, 2006;.. Albuquerque et al, 2007).El desarrollo de plaguicidas "orgánicos" o "biológicos" obtenidos preferiblemente desde recursos autóctonos y que muestren una mejor relación costo-eficacia, es una alternativa a los productos hoy día utilizado (ISEA y otros, 2013).

El uso frecuente de ixodicidas ha conducido al rapido desarrollo de la resistencia a la garrapata (Kuz y Kemp 1994), lo que el control es actualmente obstaculizado por el

pequeño número de moléculas eficaces disponibles en el mercado (Jonsson y Piper, 2007). El uso de extractos de varias plantas se está estudiando porque son potencialmente menos tóxicos para los animales y son más seguros para el medio ambiente (SANTOS et al, 2006; ALBUQUERQUE et al, 2007).

La planta *Azadirachta indica* A. Juss es una de las más estudiadas por su amplia actividad biosida, en particular para artrópodos. Por considerarse fuente de garrapaticida biodegradables, la actividad garrapaticida de sus extractos obtenidos, sobre todo de hojas y semillas, ha sido investigada de modo insistente; sin embargo, la información potencialmente útil continúa estando dispersa, variable desde el punto de vista metodológico o de su eficacia, y no pocas veces contradictoria.

Por otro lado, se menciona que el Helecho Macho tiene propiedades antiparasitarias, pero aún no hay estudios en el que se demuestre que esta propiedad sea efectiva contra garrapatas. Conociendo la problemática de encontrar nuevas sustancias garrapaticida, y siendo el Perú un país con una diversidad botánica muy amplia, el objetivo en esta investigación fue; determinar el efecto garrapaticida de los extractos etanólico del fruto de Neem (*Azadirachta indica*) y rizoma de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*) *in vitro* frente a *Rhipicephalus microplus*.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ANTECEDENTES

Debido a que el árbol de Neem es un árbol nativo de la India y recientemente se ha introducido en el país, se cuenta con poca investigación acerca de sus propiedades, actualmente se sabe que el árbol se reproduce en varios lugares del país, sin embargo, son árboles que están sembrados de manera silvestre o como árboles ornamentales y en su mayoría en pequeñas cantidades, no existen grandes plantaciones.

La azaridactina (del grupo de los tetranortriterpenoides conocidos como limonoides), es uno de los 2 principios biosidas más estudiados y de mayor concentración en el árbol de Neem. La semilla contiene las concentraciones más altas de azaridactina a partir de los 3 a 4 años de edad un árbol produce alrededor de 50 kg al año, lo que da una idea de su potencial como fuente de sustancias biosidas. La azaridactina se considera un Fito tóxico de amplio espectro, de bajo efecto residual, sin toxicidad para los seres humanos y el medio ambiente (GUERRA y otros, 2005; FORTI y otros, 2010).

El árbol de Neem (*Azadirachta indica*), de origen asiático, contiene alrededor de 135 compuestos descritos que puede tener la acción contra los artrópodos, incluyendo los limonoides (tetranortriterpenoides), denominados globalmente como azadiractina (LIU et al., 2005), soportes (MORDUE Y NISBET., 2000; BISWAS et al, 2002; Neves, 2004).

Los frutos de esta planta contienen las cantidades más altas de azadiractina su concentración puede llegar a 40% en el aceite extraído (ABDEL-SHAFY Y ZAYED, 2002). Azadiractina se ha demostrado que tiene efecto inhibitorio sobre la vitelogenina durante la ovogénesis de los artrópodos (JONSSON Y PIPER, 2007).

Los experimentos llevados a cabo con el Neem han mostrado ciertas propiedades acaricidas de sus extractos (KALAKUMAR et al., 2000; BENAVIDES et al., 2001; SRIVASTAVA et al., 2008), pero se tiene poca información sobre la composición de los extractos utilizados y las dosis necesarias para el control eficaz de las garrapatas, entre otros aspectos (JONSSON Y PIPER., 2007).

El contenido de los componentes con actividad biosida varía de acuerdo a la variedad genética y al estado de madurez del árbol del Neem, se concentra en las semillas de los frutos inmaduros y puede ser extraído fácilmente con solventes orgánicos (HERMEL et al., 1987; JOHNSON et al., 1996).

El poder insecticida de la azadiractina se ha confirmado en 500 especies de insectos plagas y su baja toxicidad en campo para vertebrados e insectos benéficos (parasitoides, abejas y depredadores) ha sido remarcada (SCHMUTTERER y SINGH 2002; MORGAN et al., 2009). La azadiractina y los otros limonoides de las semillas de Neem inhiben la enzima que cataliza el último paso del proceso que convierte a la ecdisona en la hormona activa 20-hydroxyecdysone (MITCHELL et al., 1997).

Entre sus efectos se destacan la inhibición del apareamiento y comunicación sexual, impedimento de la ovoposición y eclosión de huevos, esterilidad en adultos, bloqueo de los pasos de mudas necesarias para entrar a la siguiente etapa del desarrollo, efecto anti-alimentario y el bloqueo de la síntesis de quitina (KOOLMAN et al., 1998; MORDUE et al., 2005).

### **2.1.2 *Azadirachta indica***

El árbol Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) de la familia Meliaceae, nativo del Subcontinente Indo-Pakistani, ha probado tener muchas propiedades farmacológicas y dar beneficios para la agricultura y el desarrollo rural en los países en desarrollo; en la actualidad, es investigado ampliamente como una fuente natural de sustancias insecticidas (SAXENA et al., 1980a y b, 1988), (Fig. 1).

### 2.1.3 Clasificación taxonómica

Bailey (1977) describe taxonómicamente a esta planta como sigue:

- **Reino** :Eucaria
- **División** :Embriófitas
- **Subdivisión** : Angiospermas
- **Clase** : Dicotiledóneas
- **Orden** : Geraniales
- **Familia** :Meliaceae
- **Género** : *Azadirachta*
- **Especie** : *indica*
- **Sinonimia** :*Meliaazadirachta* L. y *Weliaindica* A. Juss.
- **Nombres comunes**: Neem, Nim, Neemb, Neemba, Margosa, Veppa (N.R.C. 1992)

### 2.1.4 Descripción botánica

TROUP (citado por RADWANSKI 1977a) y SCHMUTTERER (1990), lo describen como un árbol de tamaño pequeño a grande, de 12 a 25 m de altura; siempre verde, de tronco recto; corteza moderadamente gruesa, estriada longitudinal y oblicuamente; de color gris oscuro externamente y pardo rojizo internamente. El tallo rojo, fuerte y duradero. Las ramas esparcidas ampliamente y en forma de Gopaoval, Los tallos de las ramas de 2 a 5 metros forman una corona unida, densa, redonda y en forma ovalada. Tiene abundante follaje todas las temporadas del año, pero en condiciones severas se deshoja casi completamente.

Las hojas lisas, alternas imparipinadas. Cuando alcanza su completo crecimiento llegan a tener una longitud de 40 cm. Pecíolos (7 a 17), delgados, de 8 cm de longitud, ovales, lanceolados, delgados en el ápice e irregulares en la base, la parte media es tan amplia como su base. Con folíolos alternos u opuestos, son más o menos ásperos y con bordes dentados, suaves y verde oscuros.

Las flores del Neem son bisexuales su coloración es blanca o crema; están dispuestas en racimos de hasta 25 cm de longitud. Las inflorescencias, que se ramifican en tercer grado tienen de 150 a 250 flores. Cada flor mide de 5 a 6 milímetros de longitud y de 8 a 11 milímetros de ancho. Estas tienen la característica de producir un aroma como el de la miel y es por eso que atraen muchas abejas. La miel de las flores de Neem es muy popular ya que no contiene rastro alguno de Azadirachtina.

El fruto es una drupa pequeña, indehiscente, en forma de nuececilla que mide de 1.4 a 2.4 cm de largo, El color del pericarpio varía, es de color verde claro durante su desarrollo, tornándose progresivamente hasta amarillo y de textura rugosa en la madurez. La fruta madura es pulposa y posee un epicarpio delgado, el mesocarpio es blanco amarillento, fibroso y sabe dulce, pero es desagradable al gusto. El endocarpio es blanco, duro y almacena una semilla elongada con una corteza de color castaño (RAMOS, C. et al., 2004)

La semilla es una ex-albúmina con germinación epigea; La semilla que contiene el fruto es de forma alargada, con tamaño variable y de color blanco cuando está seca. Cada semilla está compuesta de una coraza y una almendra, cada almendra pesa alrededor de la mitad de la semilla en su totalidad. “La almendra es usada comúnmente para el control de plagas ya que esta posee la mayor cantidad de Azadirachtina producida por el árbol, la cual funciona como pesticida natural. (I.R.R.I. 1982; SAXENA et al., 1983), dependiendo de varios factores ambientales como la precipitación y las condiciones del suelo (SCHMUTTERER et al., 1990).

### **2.1.5 Hábitat**

El árbol del Neem habita en zonas desde subhúmedas hasta semiáridas, en suelos con buen drenaje y puede ser susceptible a las heladas en sus etapas jóvenes de crecimiento (AHMED Y GRAINGE 1986). El Neem de crecimiento robusto, puede ser establecido sin riego en las regiones cálido-áridas del mundo, con precipitaciones anuales de 500 mm o menos (RADWANSKI y WICKENS, 1981), con temperatura a la



sombra de hasta 50°C (RADWANSKI, 1977a). Puede crecer en suelos pobres, profundos, pedregosos o arenosos, donde los cultivos tienen bajos rendimientos, aunque sean fertilizados; sus extensas raíces tienen la capacidad fisiológica para extraer nutrientes de suelos pobres altamente lixiviados; bajo condiciones de plantación, los nutrientes se integran al suelo por la caída de las hojas y ramas, llegando a ser aprovechado por los cultivos con pocas raíces. No se desarrolla bien en suelos con problemas de drenaje y susceptibles de inundaciones (RADWANSKI y WICKENS, 1981).

### 2.1.6 Requerimientos climáticos

El Neem se adapta a un extenso rango de climas y condiciones de suelos, es por ello que se dice que este árbol crece casi en cualquier lugar, en las regiones tropicales, tropicales húmedas, subtropicales y áridas, (STONEY et al., 2010).

CUADRO 1. Tolerancia del Neem a factores climáticos y suelo, (STONEY et al 2010).

Límites	Intervalo	Límites inferiores	Óptimo	Límites superiores
Lluvia (mm)	< 300	500 - 800	1800	2000 – 2500
Temperatura (°C)	4	10 - 20	27	40 - 49
Arcilla (%)	< 25	25 - 45	> 45	> 70
Arena (%)	< 50	50 - 75	> 75	> 85

### 2.1.7 Distribución geográfica y diseminación a otros países

Al Neem se le encuentra comúnmente en los bosques de arbustos de la zona árida de Birmania y, en forma silvestre en las montañas de Siwalik; así como en cualquier parte de la India, en los bosques de la región de Carnatic y en el sur de Deccan, en la ribera del río Guadavari (RADWANSKI, 1977a).

Siendo una planta nativa subtropical, también se le encuentra en el sur este de Asia, Pakistán, Ceylan, Malasia, Indonesia, Japón, Sri Lanka, Tailandia y en las regiones

tropicales de Australia y Africa; en varias islas del Pacífico sur como son: Filipinas, Nueva Guinea, Fiji, Papua, Mauricio (PRADHAN y JOTWANI 1968; JOTWANI y SRIVASTAVA, 1983; HEYDE et al., 1985; JACOBSON, 1986; SAXENA, 1989)

El Neem fue introducido al occidente de África probablemente a principios del siglo xx; primero a Ghana y después a Nigeria y a otros países; principalmente en regiones con lluvias deficientes de Guinea, Sudán y zonas ecológicas de Sahel, donde existen varias plantaciones proveyendo necesidades de combustible y madera. En Sokoto, provincia de Nigeria, su introducción se le ha aclamado como "la bendición más grande del siglo" (RADWANSKI y WICKENS ;1981)

En América fue introducido recientemente a los Estados Unidos Americanos, en Sudamérica (Argentina, Brasil, Chile y Ecuador), en Centroamérica (Nicaragua Honduras), el Caribe (Haití, Antigua, Surinam, Islas Vírgenes, Cuba y Puerto Rico) y ahora en México (LEWIS y ELVIN-LEWIS, 1983; JACOBSON 1986; LEOS y SALAZAR, 1990; DREYER y HELLPAP, 1992).

### **2.1.8 Sustancias químicas en la planta**

La azaridactina (del grupo de los tetranortriterpenoides conocidos como limonoides), es uno de los 2 principios biosidas más estudiados y de mayor concentración en el árbol de Neem. La semilla contiene las concentraciones más altas de azaridactina. A partir de los 3-4 años de edad un árbol produce alrededor de 50 kg al año, lo que da una idea de su potencial como fuente de sustancias biosidas. La azaridactina se considera un Fito tóxico de amplio espectro, de bajo efecto residual, sin toxicidad para los seres humanos y el medio ambiente (FORT et al, 2010)(GUERRA et al, 2005).

Se han aislado aproximadamente otros 24 principios activos con actividad biológica sobre artrópodos. En las semillas se han identificado además salanina, meliantriol, neembina, neemocinolida e isoneemocinolida, con probable actividad antihelmíntica, de inhibición del crecimiento y de la ovoposición. La diversidad de principios activos reduce la aparición de resistencia, por ello varios investigadores señalan la necesidad de información precisa sobre los principios químicos contenidos en los extractos de

Neem, su mecanismo de acción y eficacia en el control de garrapatas (GUERRA, y otros, 2005; VALENTE et al, 2007).

Existen muchos más compuestos activos en el árbol del Neem:

**Hojas:** Se pueden aislar varias moléculas como un flavonoide polifenólico llamado quercetina, un  $\beta$ -sitosterol, el nimbosterol, nimбина y otros liminoides, como la nimocinolida e isonimocinolida. También se han aislado un grupo de alcanos de entre 14 y 31 carbonos, aminoácidos y ácidos grasos.

**Flores:** de las flores se extrae un aceite que contiene sesquiterpenos, nimbosterol y numerosos flavonoides entre los que destacan la melicitrina. Las flores producen una cera compuesta por una mezcla compleja de ácidos grasos (araquídico, esteárico, palmítico, oleico y linoléico), (OÑATE, R. J.; QUINTERO, L. A., 2008).

**Corteza:** la corteza y madera del árbol del Neem son también fuente de numerosos principios activos: nimбина, nimbidina, nimbinina, nimbosterol, margosina, nimbineno y algunos diterpenos como la nimbinona, nimboquina, nimbidiol y nimbona (OÑATE, R. J.; QUINTERO, L. A., 2008).

**Semillas:** sin duda el elemento más interesante en la bioquímica del Neem son las semillas, por su riqueza en lípidos y la presencia de moléculas con una intensa actividad biológica. "El hueso de la drupa contiene una o dos semillas y de ellas se obtiene un aceite compuesto de ácido oleico (50 – 60%), palmítico (13 – 15%), esteárico (14 – 19%), linoléico (8 – 16%) y araquídico (1 – 3%), composiciones que varían según el método de extracción, así como varios metabolitos secundarios de gran actividad" (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, (N.R.C.). 1992).

### **2.1.9 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 fuera hormonas reales y estas bloquean su sistema endocrino (IVAR et al, 2014).

- Destruyendo e inhibiendo desarrollo de larvas o crisálidas
- Bloqueando la metamorfosis de las larvas o ninfas.
- Destruyendo su apareamiento y comunicación sexual.
- Repeliendo a las larvas y adultos
- Esterilizando adultos
- Envenenando a larvas y adultos
- Impidiendo su alimentación.
- Bloqueando la habilidad para tragar (reduciendo la movilidad intestinal).
- Enviando mayores errores a su metamorfosis e varios periodos de desarrollo del insecto.
- Inhibiendo la formación de quitina (material del que se compone el esqueleto del insecto, impidiendo la realización de las mudas.

## **2.2 Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*)**

Otros nombres: Dentabrón, falguera, helecho, helecho macho, lafaleita, portaestandartes.

### **2.2.1 Taxonomía**

- Reino : Eucaria
- División : Pteridophyta
- Clases : Pteridopsida
- Orden : Polypodiales
- Familia : *Dryopteridaceae*.
- Género : *Dryopteris*
- Especie : *Dryopteris filix mas*

Los helechos están clasificados entre las plantas criptógamas vasculares (plantas sin flores). Existen más de 7 mil especies que habitan zonas boscosas abiertas en suelo rico en humus, pero también en cierta medida en brezales y claros sombreados de bosques. El rizoma del helecho macho es extenso, de hasta 30 cm de largo y a menudo

ramificado. Tiene raíces fibrosas de 1 – 2mm de grosor. El tallo está rodeado de escamas angulares de hojas caducas. La roseta de hojas forma un embudo, las hojas están arrolladas al principio y luego se abren en frondas verde pálidas de hasta 1 m de largo cada fronda se divide en hojas alternas cada vez más pequeñas hacia el ápice. El rizoma y los peciolos están cubiertos de pequeñas escamas parduscas. En verano, se desarrolla pequeñas vesículas de un verde claro en el envés de los foliolos (grupos de estructuras con esporas) (THOMSON, 1981).

### **2.2.2 Partes de la planta de uso médico: El rizoma.**

Propiedades: Existen diferentes campos de acción en esta planta; unos aceptados por la medicina tradicional y otros solo por la popular. Estos son algunos de los beneficios que podemos encontrar con el uso de esta planta.

### **2.2.3 Principios activos del helecho macho:**

- Oleorresina (6,5-15%).
- Fracción esencial o etérea, que posee trazas de ácidos grasos libres, que potencian la acción de la filicina.

### **2.2.4 Efecto Del Helecho Macho:**

Puede provocar gastroenteritis, hematuria y broncoespasmos.

La toxicidad del helecho macho es muy alta, oscilando lo dosis letal del extracto etéreo entre 0,3-3 g/Kg, según la especie del animal y la vía de administración.

## **2.3 Garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.**

son ectoparásitos de hábitos hematófagos para la mayoría de los vertebrados terrestres y que constituyen uno de los parásitos de mayor importancia económica para las explotaciones bovinas, en virtud de sus efectos patógenos y acciones como: disminución en la producción de carne o leche, deterioro de pieles, debilitamiento de

los animales, retardo en el crecimiento en los jóvenes, baja conversión de alimentos en carne o leche y dificultad en la adaptación de razas especializadas (CASANOVA y MORA, 1984; OSORIO, 1977).

### 2.3.1 Taxonomía

- Phylum: arthropoda
- Clase: Arachnida
- Orden: Acarina
- Suborden: Ixodoidea
- Familia: Ixodidae
- Subfamilia: Rhipicephalinae
- Género: Rhipicephalus
- Especie: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus.* (BARKER Y MURRELL 2008)

Las garrapatas pertenecientes a la familia Ixodidae se conoce como garrapatas duras o garrapatas verdaderas debido a la presencia de un escudo rígido de quitina, localizado en la superficie dorsal del macho y sobre la parte anterior de las hembras (ICCTTD 2004 a).

Las herramientas moleculares han permitido grandes avances en el entendimiento de las relaciones filogenéticas de las garrapatas. Recientemente entre las nuevas relaciones filogenéticas establecidas, se destaca la del genero *Boophilus* han sido reclasificados en el subgénero del genero *Rhipicephalus*, por ser este último parafiletico con respecto al primero; por lo tanto las especies de garrapatas que pertenecían al género *Boophilus* han sido reclasificadas recientemente como un subgénero del genero *Rhipicephalus* por tener evidencias moleculares, citogenéticas, morfológicas, biogeográficas y de interacción con los huéspedes (BEATI, L. KEIRANS J. 2001).

### **2.3.2 Distribución Geográfica.**

La garrapata del vacuno se encuentra en casi todas las regiones ganaderas del mundo ubicadas en zonas templadas, sub tropicales y tropicales.

Esta garrapata es originaria de Asia (PAL Y WHARTON, 1974) y se ha extendido a las principales zonas de cría de vacuno, como América del sur y Austria a través del comercio de vacuno.

En África se cree que fue introducida en Madagascar con la importación de ganado y posteriormente al sur y sur este del continente (Sudáfrica, Zambia, Malawi, Tanzania y Kenia) (WALKER y col. 2003).

En el continente americano esta garrapata está presente en el norte de Uruguay y Argentina, parte de Brasil, Colombia, Perú y en algunos países de América central (ICTTD 2004 b).

### **2.3.3 Morfología**

Tanto los machos como las hembras tienen el cuerpo en forma de saco, globoso o aplanado, dependiendo de que los ejemplares se hallen alimentados o en ayunos. El tamaño corporal al igual, que la forma también varía mucho (2-8mm a 1-2cm) según el estado fisiológico de los ejemplares (alimentados o en ayunos).

Como es propio en el extremo anterior del cuerpo tiene el capítulo o gnatosoma es una pieza más o menos aislados del resto del cuerpo (ideosoma) con los apéndices bucales en el extremo (quelíceros, pedipalpos y la formación de sus coxas, el hipostoma). El gnatosoma lleva un par de palpos con cuatro segmentos que son simples órganos sensoriales que ayudan a encontrar a su hospedador (ENCINAS et al., 1999)

Durante la toma de sangre se apartan a los lados, no interviniendo en la perforación de los tejidos. En las hembras, en la base del capítulo por la cara dorsal, se hallan las denominadas áreas porosas, que contienen la abertura de unas glándulas cuya secreción interviene en la impermeabilización de los huevos. (ENCINAS et al., 1999)

Se caracterizan por tener el abdomen y cefalotórax fusionados, por lo tanto las regiones corporales están compuestas por el prosoma que es el aparato bucal y el idiosoma formado por el cuerpo y los cuatro pares de patas (SOULSBY et al 1897).

El prosoma junto con el cuello forma el capítulo, localizado en la parte terminal anterior del cuerpo, se caracteriza por ser corto y ancho, con márgenes laterales redondeadas (HAGEN y KOPP., 1999)

Las hembras tienen grupos de poros en pares denominadas áreas porosas localizadas en la porción dorsal de la base del capítulo; estas áreas producen y liberan antioxidantes que inhiben la degradación de los compuestos en las secreciones del órgano del gene (BAUTISTA et al., 2006).

La cabeza de la garrapata tiene una sustancia quitinosa que le permite proteger su sistema nervioso a su vez está compuesto por dos órganos llamados quelíceros, localizados en el dorso del capítulo. Cada quelíceros tiene dos artejos, el medial que es el más largo, puede moverse en forma lateral, mientras que en el externo es más pequeño, reside en una cavidad del dígito medial y se mueve con este. Ambos tienen denticulos afilados los cuales rasgan la piel del hospedero e introducen un órgano de succión llamado hipostoma, estructura prominente localizado en la parte ventral del capítulo, la cual contiene filas de dientes curvos (HAGEN y KOPP 1999).

Además al lado del hipostoma se sitúan dos apéndices o palpos que actúan como soporte para adherirse al hospedero. Esto están conformados por varios segmentos en el último se encuentra el órgano palpal, por medio del cual la garrapata detecta las zonas más delgadas de la piel y donde existe mayor irrigación sanguínea (parra, 1999). Conforme el hipostoma se inserta los palpos se mantienen fuera de la lesión y se sitúan a los lados de la piel del hospedador. Las secreciones salivales contienen anticoagulantes y otros componentes activos que promueven el desarrollo de lesiones. La gran cantidad de fluidos salivales que se produce es la avenida principal para la transmisión de la enfermedad (RICHAR WALL y DAVID SHEARER., 2001).



Los cuatro pares de patas se articulan con el cuerpo mediante una estructura muy resistente denominada coxa. Cada pata está dividido en seis segmentos, coxa, trocánter, fémur, tibia, tarso y metatarso. La coxa esta insertada en forma vertical al cuerpo y permite una rotación limitada; los otros segmentos se flexionan de tal manera que cada pata puede ser doblada contra la superficie ventral o extendida para caminar (HAGEN y KOPP., 1999).

La garrapata en su estado de larva posee tres pares de patas, mientras que en estado de ninfa y adulto posee cuatro pares de patas. Un par de garras y una almohadilla está presente en cada tarso. Un elemento sensorial conocido como “órgano de haller” se encuentra en la superficie dorsal del tarso del primer de par de patas del ectoparásito, este órgano recibe estímulo de forma vibratorio (vibración que reciben del ganado cuando se mueve), (HAGEN y col., 1999; BAUTISTA et al., 2006).

El cuerpo de la garrapata varía de forma y tamaño en machos y hembra. El dorso de los machos está recubierto totalmente por un escudo formado por quitina. El dorso de las hembras larvas y ninfa están solo recubiertas por un escudo de quitina en la parte anterior, lo que les permite crecer y agrandarse lo suficiente para contener hasta dos centímetros cúbicos de sangre (LÓPEZ et al., 1980). En la región dorsal se localizan un par de ojos, uno a cada lado del escudo, los cuales son imperfectos y se cree que solo perciben luz y movimiento, estas garrapatas carecen de festones y ornamentación (PARRA et al., 1999) (SOULSBY et al 1897).

Las hembras de este género carecen de orificio anal y el macho lo presenta muy tenue. El orificio genital se sitúa en la línea media del cuerpo, es el que da la diferenciación sexual. El dimorfismo sexual es muy pronunciado, la hembra es de mayor tamaño que el macho (SOULSBY et al 1897).

#### **2.3.4 Ciclo biológico**

Es una garrapata de un sólo huésped que preferentemente son los bovinos, pero también puede llegar a infestar a equino (LABRUNA et al, 2001) ovinos, caprinos y venados (GEORGE et al., 1990). SOLÍS et al., (1993), POPHAM y GARRIS (1991) y

NÚÑEZ et al., (1982) Dividen el ciclo biológico en dos fases: una fase no parasítica o de vida libre, que inicia desde el desprendimiento de la teleogina (garrapata adulta ingurgitado) hasta la aparición de las larvas en la vegetación; otra fase parasítica o de vida parasitaria, que comienzan una vez que las larvas infestan al hospedero y terminan con el desprendimiento de las teleoginas.

El tiempo que tardan en alimentarse los ejemplares es de unos 3-5 días en el caso de las formas juveniles y de 7-12 días en el caso de los adultos, aunque estos tiempos pueden sufrir variaciones importantes según el grado de sensibilización de los animales. (ENCINAS et al., 1999)

Muestran las mayores adaptaciones a la vida parasitaria. Los tres estadios de desarrollo se alimentan sobre el mismo hospedador, sobre el que asimismo realizan las mudas, siendo este abandonado solamente por la hembra repleta de sangre. La puesta de huevos y el nacimiento de la larva tienen lugar en el suelo. La fase parasitaria se prolonga durante unos 21 días (NORMAN et al 1978).

vida libre o fase no parasítica (NÚÑEZ et al. 1982) comprende; Protoquia o pre-ovoposición tiene una duración en verano de 2 a 4 días mientras que en invierno se amplía hasta 90 a 97 días; ovoposición durante un periodo de 11 a 70 días (SOLÍS et al., 1993) puede completarse entre los 5 a 17 días en condiciones favorables de temperatura 21°C – 36°C con temperatura menores a 10°C las teleoginas suspenden la ovoposición (PARRA et al., 1999); metatoquia varía de 2 a 5 días (NÚÑEZ et al., 1982); incubación, es el estado más susceptible a los factores ambientales (NÚÑEZ et al., 1982) menciona un promedio de 15 días en verano máximo 51 días en invierno, bajo condiciones de laboratorio menciona un promedio de 24 días (CEN et al., 1998); eclosión bajo condiciones controladas de laboratorio es superior al 80% (NÚÑEZ et al. 1982); vida larvaria libre, es el tiempo que ocurre desde la eclosión larval hasta el encuentro del hospedero (CASTELLANOS et al., 1993). Se ha observado en los meses húmedos ocurre una mayor viabilidad larvaria comparado los meses secos varía desde 22 días hasta 240 días (SOLÍS et al., 1993).

Fase parasítica (NUÑEZ et al., 1982) comprende: etapa larval en la cual la mayoría se fijan en minutos y más de 90% comienzan a alimentarse las primeras 24 h; etapa ninfa se produce alrededor de 5 días pos infestación al final de esta etapa del dimorfismo sexual es evidente; etapa adulto donde cada macho surge desde el día 13 puede fertilizar 18 hembras y permanecer en el hospedero hasta 48 días posterior a la muda mide 2 – 2.5mm (DAVEY et al., 1986). La hembra adulta emerge de su estado metaninfal a los 11 días pos infestación a partir del día 16 al 18 el crecimiento es rápido cinco veces su peso alcanzando su tamaño de 7–13 mm de largo, 4- 8 mm de ancho. El proceso que completa el ciclo de desarrollo de la garrapata lo constituye la fase parasítica con un promedio de 21 días (NUÑEZ et al., 1982)

Las garrapatas en el subgénero *Boophilus* pueden completar su ciclo de vida en un plazo de 3 a 4 semanas; esta característica puede causar una gran carga de garrapatas en los animales (ANEEMAL, 2007).

### **2.3.5 Fijacion Y Toma De Sangre.**

Tras la entrada en contacto con los hospedadores, cada especie (y fase evolutiva) tiende a fijarse en una determinada region corporal, generalmente en la cabeza , cullo, dorso o region ingunal. Se desconoce la base molecular de semejantes tropismos.

La perforacion de la piel la realizan con el segmento distal dentado de los queliceros ; según algunos autores en el proceso intervienen tambien enzimas segregadas por las glandulas salivales. A medida que los quelicaros rasgan la piel, el hipostomo se introduce en la misma. La profundidad a la que penetran en la piel los apendices bucales varia según la longirud de esos apendices. En las especies en los que son cortos(brevirostrata) parece ser (al menos en boophilus) que los de ninguna fase evolutiva llegan a atravesar la lamina basal de la union dermo epidermina.

La rotura de los capilares aun no esta claro si se debe solo a la accion de los quelicaros o si en ella intervienen tambien componentes liticos de la saliva. En el extremo de los apendices bucales tipicamente se desarrolla un abceso conocido como cavidad de alimentacion, desde la que los paracitos succionan la sangre y exudados tisulares. El

diametro de la cavidad es de 1-1.5mm, aunque varia mucho según la fase evolutiva implicada (menor en el caso de las larvas y ninfas que en el caso de los adultos) y grado de sensibilizacion de los animales (ENCINAS et al., 1999).

La alimentacion de los paracitos tienen lugar en dos fases una de alimentacion lenta, en la que su peso en ayunas solo se incrementa unas diez veces; otra de alimentacion rapida, en la que en las ultimas 12-24 horas de su permanencia sobre los hospedadores incrementan su peso alrededor de otras diez veces. Se desconoce como extraen los apendices bucales una ves finalizada la alimentacion.

### **2.3.6 Respuesta del hospedador.**

La saliva de las garrapatas contiene moléculas farmacológicamente muy activas, que tiene como destino la neutralizacion de los mecanismos hemostaticos de los hospedadores y los de su sistema defensivo (ENCINAS et al., 1999).

Las moléculas presentes en la saliva condicionan en gran medida el tipo de respuesta, tipo en el que también influyen otros posibles factores como es por ejemplo la profundidad a la que son inoculadas esas moléculas. A su vez el tipo de respuesta está condicionado también por las particularidades de los sistemas hemostaticos y defensivos de cada especie de hospedador y por la constitucion genética (sistema MHC) de los individuos que la componen (ENCINAS et al., 1999).

Existen algunas particularidades de la respuesta de estas la más notoria es el número elevado de basófilos (y según algunos autores también de mastocitos) presentes en el infiltrado celular que se origina alrededor de los apendices bucales en el punto de fijación (como consecuencia del traumatismo o la acción de la saliva, etc). La presencia de estas células es notorio en un primer contacto a partir de las 48h postfijación al menos en cobayas, el 90% de todas las células. En rumiantes en los pocos sistemas estudiados hasta la fecha, su número nunca alcanza unos valores tan elevados, siendo normalmente superados por neutrófilos y macrófagos. Mastocitos y basófilos son células que desempeñan un papel central en la inflamación y en las reacciones alérgicas de hipersensibilidad inmediata. En relación con las infestaciones por

garrapatas no se conoce todavía la relación de citocinas mediadores responsables de su abundancia en los infiltrados (ENCINAS et al., 1999).

En relación con las acciones nocivas de los componentes salivales, cabe señalar las derivadas de su acción inmunodepresoras; esta acción ha sido propuesta por algunos autores como la responsable de la reactivación de diversos tipos de infecciones latentes durante las épocas de gran abundancia de garrapatas:

- ✓ La pérdida de sangre como consecuencia de la alimentación de los parásitos. Las garrapatas someten a la sangre que ingieren a un proceso de concentración, eliminando agua de la misma que devuelven al hospedador. Se calculado que cada hembra de las especies de gran tamaño pueden exfoliar hasta 2-4g de sangre lo que explica las anemias agudas que frecuentemente se observan en animales con infestaciones intensas (ENCINAS et al., 1999).
- ✓ La transmisión de enfermedades donde las garrapatas actúan como vectores de virus, bacterias y protozoos

### **2.3.7 Localización y hospedero**

Se caracteriza por la presencia de garrapatas sobre la piel de diferentes partes del cuerpo (Quiroz y Rojas, 1990).

Según Geoffrey (1994), el sitio preferido por las garrapatas del género *Boophilus* son la cara, cuello, papada y costados del cuerpo.

El hospedero primario es el ganado vacuno, pero también se ha encontrado en caballos, ovejas, cabras (Soulsby, 1987) y siervos (Soulsby, 1987 y El manual Merk de veterinaria, 1993); rara vez parasita al hombre (Goldsmith, 1995).

### **2.3.8 Métodos de control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

La primera estrategia es el método de control químico está basado en el uso de sustancias químicas o ixodicidas ha sido entre los años la estrategia de control más utilizado (LOPEZ et al., 2005). Las familias de ixodicidas que más se han empleado

han sido los órgano clorados, órgano fosforados, piretroides amidinas, fenilpirazolonas y lactonas macrocíclicas (ROSARIO, HERNÁNDEZ, RICAR WALL Y DAVID SHEARER; 2001).

La segunda estrategia son alternativas de control no químico dentro de las cuales tenemos: razas de bovinos resistentes (NORVAL et al., 1996; SOLOMON y KAAYA 1996), manejo de pastizales mediante la introducción de especies forrajeras que disminuyan la carga de larvas en el pastizal (BENAVIDES et al., 2000) entre otros *Brachiaria brizantha*, *Melinis minutiflora* y *Stylozanthe ssp* (SUTHERST et al., 1978). Uso de plantas con efecto ixodicida (DE FREITAS y SOUZA., 2007; TEDONKENG et al., 2005), el uso de extractos de plantas es una alternativa potencial para el control de garrapatas ya que produce altos niveles de mortalidad y reduce la eficiencia reproductiva (ROSADO et al., 2009, AGUILAR ET AL., 2008b), uso de vacunas una producida en Australia (TickGARD) y la otra en Cuba (GAVAC) (JONSSON y MATSCHOSS., 1998) ( HEEPER T., LUCIUS R., GOTTSTEIN B., 2006)

Ectoparasiticidas reguladoras de crecimiento (IGRs) de los insectos interfieren con diferentes etapas del crecimiento y desarrollo de los artrópodos, actuando principalmente durante el desarrollo embrionario, larvario y ninfal e interrumpiendo la metamorfosis y reproducción. Por lo tanto los IGRs no matan directamente los artrópodos lo que requieren más tiempo que los insecticidas convencionales para reducir la población de ectoparásitos. Al actuar sobre un proceso específico de los insectos, tiene un elevado grado de selectividad entre insectos y vertebrados. Los IGRs pueden dividirse en tres categorías: hormonas juveniles (metopreno, fenoxicarb), inhibidores de la síntesis de quitina (benzoilfenilureas; evita la producción de microfibrillas de quitina) y otros (RICAR WALL y DAVID SHEARER., 2001).

### **2.3.9 Importancia Sanitaria Y Económica**

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es la especie de garrapata con mayor importancia en el mundo para la producción ganadera en las zonas tropicales y subtropicales, ocasiona fuertes limitaciones al desarrollo de la ganadería de carne y leche. Esta garrapata produce pérdidas físicas directas como disminución en la ganancia de peso,

daño en los cueros, mortalidad, menor producción láctea, costos por control (garrapaticidas, mano de obra, infraestructura de bañaderos).

Estos daños se pueden clasificar en tres categorías:

- **Daños directos:** los animales de abastos se ven molestados por las picaduras de las garrapatas y el prurito resultante lo que influye negativamente en su crecimiento y productividad. Los procesos inflamatorios y las cicatrices disminuyen la calidad del cuero. Las infestaciones masivas son causa de anemia en caso de animales jóvenes.
- **Daños secundarios:** el prurito originado por la picadura hace que los animales se rasquen y se frotan contra objetos lo que aumenta el riesgo de infección. Estas heridas atraen a moscas (Muscidae, Calliphoridae), lo que hace que en las infestaciones masivas de garrapatas, las miasis sean frecuentes.

Transmisión de agentes causantes de enfermedades: más de cinco agentes causantes de enfermedades desde virus hasta protozoos, pueden ser transmitidos por las garrapatas al hombre y a los animales. A lo largo de su ciclo evolutivo, las garrapatas transmiten muchos patógenos de forma transestadial y transovarial (HEEPER T., LUCIUS R., GOTTSTEIN B., 2006)

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en la Región de Huánuco, cuya ubicación es la siguiente:

#### Ubicación Geografía

<b>Departamento</b>	: Huánuco
<b>Provincia</b>	: Huánuco
<b>Distrito</b>	: Pillkomarca
<b>Altitud</b>	: 1,898 m.s.n.m.
<b>Latitud sur</b>	: 09° 55' 37"
<b>Longitud oeste</b>	: 76° 14' 25"
<b>Temperatura</b>	: 13° a 29° C
<b>Humedad relativa</b>	: 60%
<b>Clima</b>	: subtropical
<b>Precipitación anual:</b>	>1000/año

(Instituto Nacional De Estadística E Informática, 2015)

La obtención del extracto etanolico del fruto de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) y el rizoma del helecho macho (*Dryopteris filix mas*) se realizó en el Centro de Investigación de Plantas Naturales de la Amazonia (CIPNA) – de la Universidad Nacional Agraria la Selva (UNAS); ubicada en el Distrito de RUPA-RUPA, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco.

La ejecución del experimento se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Hermilo Valdizán – UNHEVAL, en el Laboratorio



de Microbiología. Ubicada en el Distrito de Pillco Marca, Provincia Huánuco, Departamento de Huánuco.

### **3.3 MATERIALES**

#### **3.3.1 Materiales biológicos**

- Fruto maduro de árbol Neem ( *Azadirachta indica* ) (3 kg)
- Rizoma del Helecho Macho ( *Dryopteris filix mas*) (1 kg)

#### **3.3.2 Materiales de campo**

- Bolsas de color negro
- Balde plástico /10 L
- Balde plástico /5L
- Plumón indeleble
- Atomizador de capacidad 5 mL.
- Cubeta de plástico para la recolección de la garrapata
- Esponja cubrir del fondo de la cubeta.

#### **3.3.3 Materiales de laboratorio**

- Placas Petri
- Jeringa / 3 ml
- Guantes
- Mascarillas
- Pinzas romas
- Aguja punta roma
- Papel aluminio
- Tela algodón
- Frascos de vidrio
- Guardapolvo
- Regla de 30cm.

### **3.3.4 Solventes**

- Alcohol 70%
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio

### **3.3.5 Equipos.**

- Rota vapor R-3
- Estufa
- Platos de aluminio
- Balanza digital
- Estereoscopio
- cámara fotográfica canon
- Horno de Pasteur

## **3.4 METODOLOGÍA**

### **3.4.1 Recolección de las plantas**

1. La recolección del fruto maduro del Neem se acopió en el Distrito de Rumisapa, Provincia de Ica y Departamento de San Martín ( Fig 1.)
2. La recolección del rizoma de Helecho Macho se realizó en el caserío de Expedición, Distrito Chinchao, Provincia de Huánuco y Departamento de Huánuco (Fig 2.)

### **3.4.2 Obtención de extracto**

Para la obtención del extracto etanólico se considerara las recomendaciones de (GONZALEZ et al., 2004).

Maceración:

Para la obtención de los extractos etanólicos por éste método se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Recolección del fruto del árbol de Neem se realizó en el distrito de Rumisapa 9 kilómetros de la ciudad de Tarapoto - San Martín, y la recolección del rizoma del Helecho Macho se recolectó del caserío de Expedición (Fig 3.).
2. Pre tratamiento: Limpieza y secado de la muestra.  
Obtenido los frutos del Neem y Helecho Macho fueron deshidratados por 7 días bajo sombra y posteriormente se llevó al horno de Pasteur por 12 h a 40°C (Fig 4.).
3. Reducción de tamaño: se tomó la muestra seca y se trituró (Fig 5.)
4. Extracción: se pesó en gramos una cantidad de material y se depositó en los recipientes dispuestos para tal fin, se adicionó el solvente etanol hasta cubrir completamente el material vegetal, se agitó y tapó (Fig 6.)
5. Reposo: se dejó reposar por un período de 10 días, agitando esporádicamente el contenido (Fig 7)
6. Obtención del extracto: se filtró el producto, se recuperó el solvente con ayuda de un Rota Vapor R-3, posteriormente el extracto concentrado se colocó a la estufa a una temperatura de 65 °C por 12 horas para su secado (Fig 8, 9)
7. Se envasó los extractos etanólicos de Neem y del helecho macho para ser conservados en un ambiente fresco, seco y evitando la luz directa (KUKLINSKI, 2003) (Fig 12.).

### **3.4.3 Recolección de las garrapatas**

Las garrapatas de los vacunos infestados se recolectaron en Camal Municipal de Huánuco, que provenían de la selva (Fig 13). Para tal propósito, se pasó suavemente la mano sobre el animal, una vez detectada la garrapata se procederá a girarla y tirarla suavemente en contrapelo hasta desprenderla. Posteriormente se colocaron en envases de plástico cuyo fondo fue cubierto con una esponja para conservar la

humedad y evitar que las garrapatas se lesionaran, luego se llevaron al laboratorio de microbiología de la FMVZ, donde fueron lavadas con una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% para prevenir contaminación bacteriana y fúngica; se eliminaron aquellas que presentaron mutilaciones o malformaciones (RODRIGUEZ y otros, 2010) y finalmente se procedió a su identificación como *Rhipicephalus microplus* utilizando las claves taxonómicas recopiladas por RUEDISUELI & MANSCHIP (2006). Las garrapatas se clasificaron según su tamaño, descartando las ninfas y larvas. Una vez clasificadas, fueron divididas en grupos de diez y ubicadas en cajas de Petri a temperatura ambiente.

### 3.4.4 Evaluación de la actividad garrapaticida

1. Se usó el diseño de investigación de post prueba única y grupo de control (BERMUDEZ, y otros, 2000).

$RG_1$	$X_1$	$O_1$
$RG_2$	$X_2$	$O_2$
$RG_3$	—	$O_3$

Dónde:

$RG_1$ = Grupo tratamiento uno

$RG_2$ = Grupo tratamiento dos

$RG_3$ = Grupo control

$X_1$ = tratamiento con extracto de *Azadirachta indica*

$X_2$ = tratamiento con extracto de *Dryopteris filix mas*

$O_1$ = medición del grupo tratamiento uno

$O_2$ = medición del grupo tratamiento dos

$O_3$ = medición del grupo control

2. La exposición de las garrapatas a los extractos, se hizo mediante, la prueba de inmersión de adultas. Para esto, se usó 16 cajas de Petri, colocándolas en éstas una fina capa de algodón y se vertió 5 ml de agua destilada para el grupo control tratamiento I ( 0% ) y a los tratamientos II-0.5 g (10%), III-1g (20%), IV-1.5g (30%), V-2g (40%), VI-2.5g (50%), VII-3g (60%), VIII-3.5g (70%), IX-4g

(80%), X-4.5g (90%), XI-5g (100%); del extractos etanólico del fruto de Neem (*Azadirachta indica*); grupo control tratamiento I (0%) y los tratamientos II-0.5g (10%), III-1g (20%), IV-1.5g (30%), V-2g (40%), VI-2.5g (50%) del extractos etanólico del rizoma de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*). Luego se colocaron las garrapatas (n=10), las cuales se sumergieron completamente con la ayuda de una aguja punta roma, para evitar daño en la cutícula. Posteriormente las cajas se taparon y se rotularon, indicando el nombre del extracto, la dilución y hora de exposición. Inicialmente, se evaluó el efecto de cada extracto. La mortalidad de las garrapatas se evaluó cada 2 h, por 24 h, post-aplicación del extracto, momento en el cual, se consideraron como garrapatas muertas, aquellas que no mostraban movimiento durante la observación por 10 minutos (Fig. 14, 15).

### 3.5 ANÁLISIS DE DATOS ESTADÍSTICOS.

Para el análisis de los datos se utilizó los porcentajes, la estadística descriptiva (media, desviación estándar) y la estadística inferencial, para lo cual se utilizó el Diseño Completamente al Azar cuyo modelo matemático se detalla a continuación:

Además se tuvo en cuenta el análisis multivariado mediante el ANOVA y para la fuente de variación significativa ( $p \leq 0.01$ ), y el contraste de promedios se realizó mediante la prueba de TUKEY.

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = variable respuesta.

$\mu$  = media general.

$t_i$  = efecto del  $i$  – ésimo tratamiento.

$\epsilon_{ij}$  = error experimental.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 1. Efecto garrapaticida del extracto etanólico del fruto maduro del Neem (*Azadirachta indica*)

De los resultados obtenidos del extracto etanólico del Neem *in vitro* se muestra en el cuadro 2, la mayor efectividad se encontró al 90% (9/10) con el tratamiento XI (5g), 80% (8/10) con los tratamientos X (4.5g) y IX (4g) respectivamente, 70% (7/10) con el tratamiento VIII (3.5g) y 60% (6/10) con los tratamientos VII (3g) y VI (2.5g) respectivamente. La efectividad de los tratamientos V, VI, VII, VIII, IX, X y XI estadísticamente son iguales comparadas con la Prueba de Tukey.

**CUADRO 2. Número, porcentaje y promedio de garrapatas muertas y vivas con los diferentes tratamientos del extracto etanólico del fruto del Neem (*Azadirachta indica*) observadas en 24 horas.**

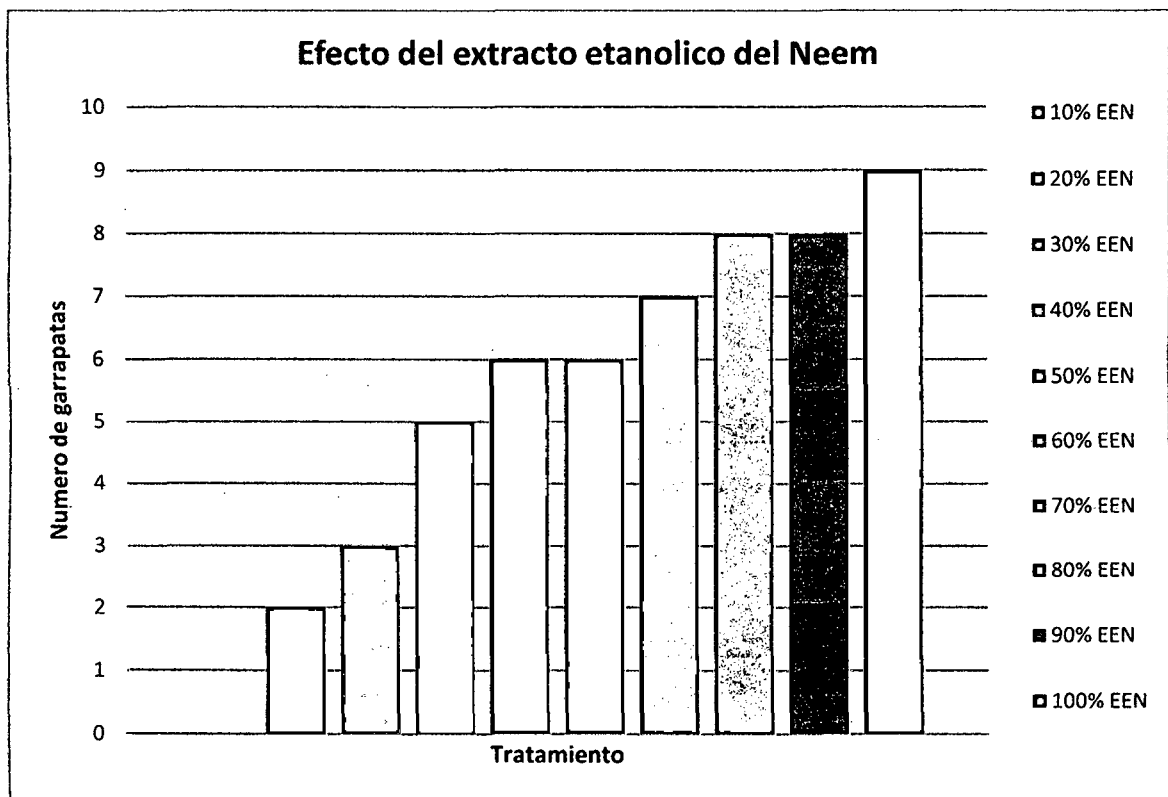
	TRATAMIENTO										
	I (0g)	II (0.5g)	III (1g)	IV (1.5g)	V (2g)	VI (2.5g)	VII (3g)	VIII (3.5g)	IX (4g)	X (4.5g)	XI (5g)
Σ	10	10	14	16	20	22	22	24	26	26	28
%	00	00	20	30	50	60	60	70	80	80	90
Ŷ	1	1	1.4	1.6	2 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Símbolos iguales estadísticamente son iguales ( $p \leq 0.01$ ).

Al respecto nuestros resultados difiere al mencionado por Gaitán et al. (1994) donde ha obtenido resultados de eficacia del 60% en experimento *in vitro* con solución acuosa de harina de Neem al 2.3%. Por otra parte, en el presente estudio se observó que con los tratamientos VII (60%), VIII (70%), IX (80%), X (80%) y XI (90%) se obtuvieron eficacias mayores. El grado de efectividad probablemente se

debe a una amplia diversidad de principios activos (limonoides, una subclase de terpenoides) que reduce la aparición de resistencia tal como manifiesta GUERRA y otros (2005) y VALENTE et al. (2007). Y además, ISEA et al. (2013) manifiesta que los principales factores que determinan la eficacia acaricida del extracto son el tiempo de exposición, la concentración del extracto y la susceptibilidad de la especie del ácaro.

Mencionan en México donde cosecharon semilla de Neem de plantas de edad de 13 años, realizaron el proyecto en hembras repletas in vitro a concentraciones de 100%, 50%, 25% y 12.5% por 72 h obteniendo como resultado con extracto etanolico al 100% mortalidad de 100%, con extracto oleoso al 12.5% en 24h teniendo una mortalidad de 100%.



**GRÁFICO 1.** Número de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) muertas tratadas con las diferentes concentraciones (0% - 100%) del extracto etanólico de Neem (*Azadirachta indica*).

En el Cuadro 3, se aprecia que la muerte de garrapatas inicia desde las 6 horas hasta las 24 horas post aplicación, sin embargo, la mayor frecuencia de muerte se dio entre las 12 horas hasta 22 horas post aplicación del extracto etanólico de Neem.

**CUADRO 3. Número de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) muertas tratadas con las diferentes concentraciones (0% - 100%) del extracto etanólico de Neem (*Azadirachta indica*), observado durante 24 horas con intervalos de 2 horas.**

TIEMPO (horas)	TRATAMIENTOS										
	I 0g	II 0.5g	III 1g	IV 1.5g	V 2g	VI 2.5g	VII 3g	VIII 3.5g	IX 4g	X 4.5g	XI 5g
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	3
14	-	-	-	-	-	-	2	6	5	4	-
16	-	-	-	-	1	4	2	-	-	-	-
18	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	3
20	-	-	-	-	2	2	1	-	-	-	1
22	-	-	1	2	2	-	1	1	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
<b>TOTAL</b>	-	-	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>9</b>

T I (Control) : 0% (0g) de extracto etanólico de Neem.

T II (Experimental) : 10% (0.5g) de extracto etanólico de Neem.

T III (Experimental) : 20% (1g) de extracto etanólico de Neem.

T IV (Experimental) : 30% (1.5g) de extracto etanólico de Neem.

T V (Experimental) : 40% (2g) de extracto etanólico de Neem.

T VI (Experimental) : 50% (2.5g) de extracto etanólico de Neem.

T VII (Experimental) : 60% (3g) de extracto etanólico de Neem.

T VIII (Experimental) : 70% (3.5g) de extracto etanólico de Neem.

T IX (Experimental) : 80% (4g) de extracto etanólico de Neem.

T X (Experimental) : 90% (4.5g) de extracto etanólico de Neem.

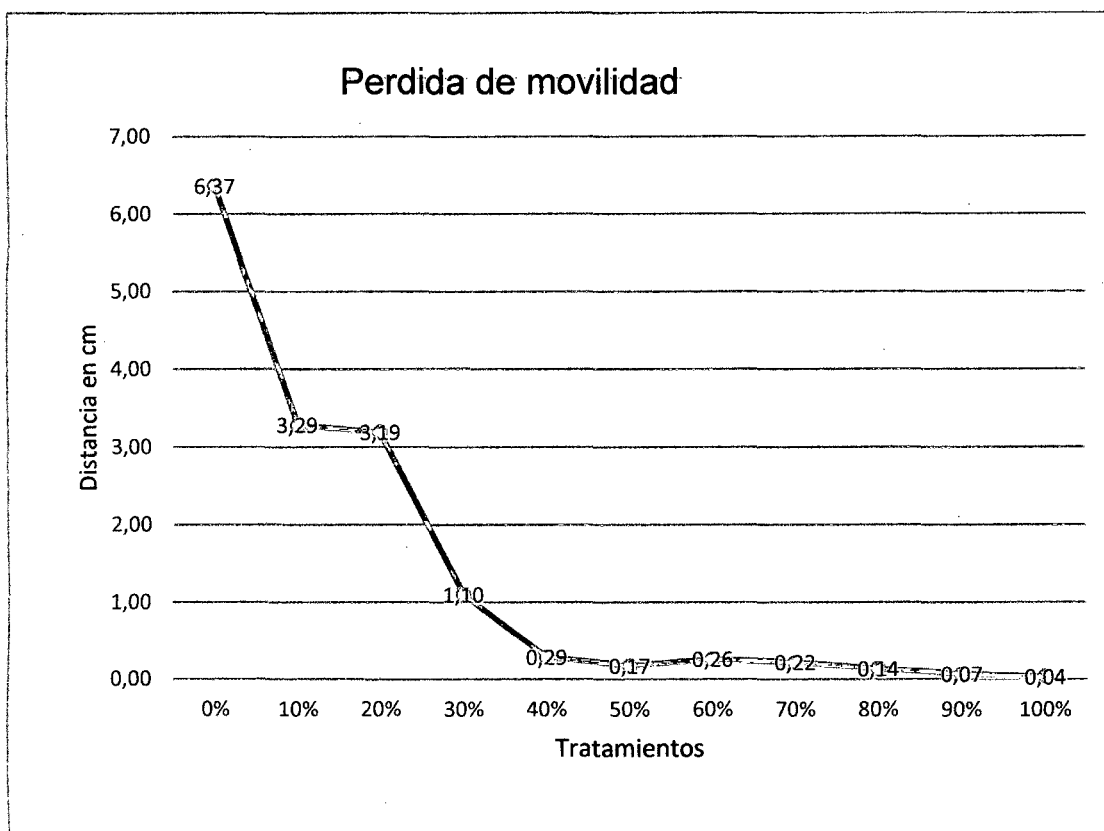
T XI (Experimental) : 100% (5g) de extracto etanólico de Neem



El promedio general de la distancia (cm) recorrida por las garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) tratadas con el extracto etanólico de Neem (*Azadirachta indica*) en respuesta a aplicación de los diferentes niveles tratamientos (0% - 100%) y observado durante 24 horas, con intervalo de 2 horas por 10 minutos por tratamiento fue de: 6,36 cm, 3,28 cm, 3,19 cm, 1,10 cm, 0,28 cm, 0,17 cm, 0,26 cm, 0,22 cm, 0,13 cm, 0,07 cm, y 0,03 cm para los tratamientos I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X y XI respectivamente (Cuadro 4).

**CUADRO 4. Promedio de la distancia (cm) recorrida por las garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) tratadas con el extracto etanolico de Neem (*Azadirachta indica*) en las distintas concentraciones (0% - 100%), observado durante 24 horas, con intervalo de 2 horas por 10 minutos.**

TIEMPO (HORAS)	TRATAMIENTOS										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Promedio 2	11.52	7.98	8.91	4	1.46	0.21	0.88	0.77	0.69	0.36	0.23
Promedio 4	9.6	3.53	5.72	4.32	0.88	0.13	1.4	0.7	0.65	0.27	0.2
Promedio 6	13.28	5.73	4.72	2.24	0.71	1.61	0.86	0.6	0.16	0.23	-
Promedio 8	6.5	3.63	4.76	2.03	-	-	-	0.54	-	-	-
Promedio 10	5.48	3.34	6.46	0.55	-	-	-	-	0.15	-	-
Promedio 12	4.35	3.64	3.84	-	-	-	-	-	-	-	-
Promedio 14	4.1	1.25	2.38	-	-	-	-	-	-	-	-
Promedio 16	4.44	2.43	0.12	0.02	-	-	-	-	-	-	-
Promedio 18	4.63	1.52	0.25	-	-	0.02	-	-	-	-	-
Promedio 20	3.31	2.15	-	0.09	0.41	0.12	-	-	-	-	-
Promedio 22	4.52	2.72	0.79	-	-	-	0.02	0.03	-	-	-
Promedio 24	4.65	1.52	0.35	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Promedio general</b>	<b>6.36cm</b>	<b>3.28cm</b>	<b>3.19cm</b>	<b>10cm</b>	<b>0.28cm</b>	<b>0.17cm</b>	<b>0.26cm</b>	<b>0.22cm</b>	<b>0.13cm</b>	<b>0.07cm</b>	<b>0.03cm</b>



**GRAFICO 2. Promedios de la distancia (cm) recorrida por las garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) tratadas con el extracto etanólico de Neem (*Azadirachta indica*) en los diferentes niveles de tratamiento.**

- T I** (Control) : 0% (0g) de extracto etanólico de Neem.
- T II** (Experimental) : 10% (0.5g) de extracto etanólico de Neem.
- T III** (Experimental) : 20% (1g) de extracto etanólico de Neem.
- T IV** (Experimental) : 30% (1.5g) de extracto etanólico de Neem.
- T V** (Experimental) : 40% (2g) de extracto etanólico de Neem.
- T VI** (Experimental) : 50% (2.5g) de extracto etanólico de Neem.
- T VII** (Experimental) : 60% (3g) de extracto etanólico de Neem.
- T VIII** (Experimental) : 70% (3.5g) de extracto etanólico de Neem.
- T IX** (Experimental) : 80% (4g) de extracto etanólico de Neem.
- T X** (Experimental) : 90% (4.5g) de extracto etanólico de Neem.
- T XI** (Experimental) : 100% (5g) de extracto etanólico de Neem.

## 2. Efecto garrapaticida del extracto etanólico del rizoma de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*)

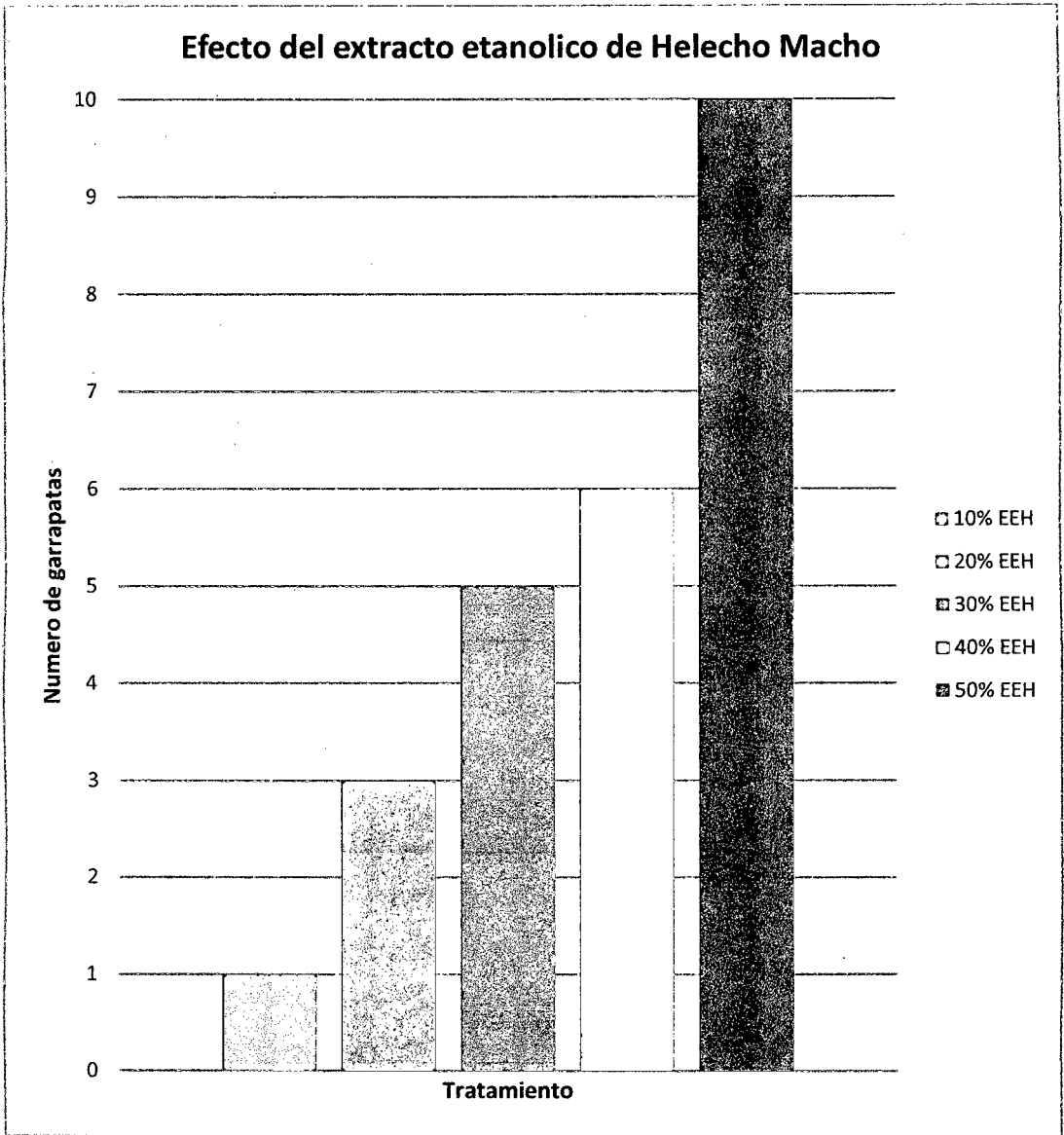
Los resultados de la efectividad garrapaticida en los adultos con el extracto etanólico del rizoma de helecho macho *in vitro* se muestra en el Cuadro 5, la mayor efectividad fue de 100% (10/10) con el tratamiento VI (2.5g), 60% (6/10) con el tratamiento V (2g). La efectividad de los tratamientos VI, V y IV, estadísticamente son iguales comparadas con la Prueba de Tukey.

**Cuadro 5. Número, porcentaje y promedio de garrapatas muertas y vivas con los diferentes tratamientos del extracto etanólico de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*) observadas en 24 horas.**

	TRATAMIENTO					
	I (0g)	II (0.5g)	III (1g)	IV (1.5g)	V (2g)	VI (2.5g)
$\Sigma$	10	12	16	20	22	30
%	00	10	30	50	60	100
X	1	1.2	1.6	2 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Símbolos iguales estadísticamente son iguales ( $p \leq 0.01$ ).

Se trabajó con varios niveles de tratamiento de extracto de rizoma de helecho macho y se observó que la mortalidad se incrementó al aumentarse la concentración del extracto. Sin embargo, no hay información disponible en el que el extracto del rizoma de helecho macho haya sido probado como garrapaticida, en cuyo caso los resultados obtenidos en este estudio demuestran que el rizoma de helecho macho tendría mejor efecto garrapaticida que el fruto del Neem.



**GRAFICO 3. Número de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) muertas tratadas con las diferentes niveles de tratamiento (0% - 50%) del extracto etanólico de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*)**

En el Cuadro 6, se aprecia que la muerte de garrapatas inicia desde las 8 horas hasta las 24 horas post aplicación, sin embargo, la mayor frecuencia de muerte se dio entre las 12 horas hasta 22 horas post aplicación del extracto etanólico de rizoma de helecho macho.

**CUADRO 6. Número de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) muertas tratadas con los diferentes niveles de tratamiento (0% - 50%) del extracto etanólico de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*), observado durante 24 horas con intervalos de 2 horas.**

TIEMPO (HORAS)	TRATAMIENTOS					
	I (0g)	II (0.5g)	III (1g)	IV (1.5g)	V (2g)	VI (2.5g)
2	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	1	1
10	-	-	-	-	-	3
12	-	-	-	-	3	3
14	-	-	-	-	1	1
16	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	1	-	-
20	-	1	1	1	-	-
22	-	-	2	1	1	2
24	-	-	-	2	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>10</b>

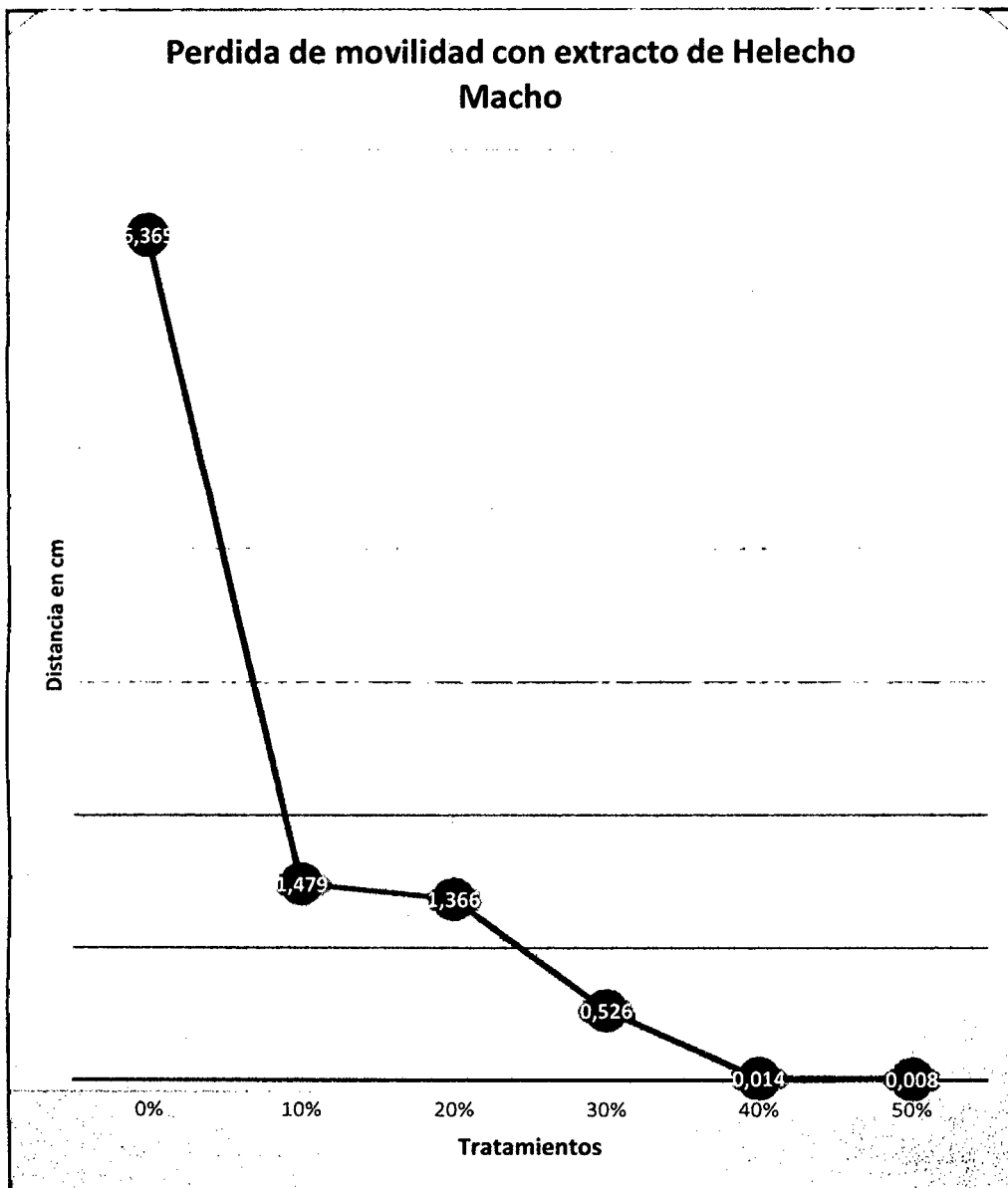
- T I (Control) : 0% (0g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T II (Experimental) : 10% (0.5g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T III (Experimental) : 20% (1g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T IV (Experimental) : 30% (1.5g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T V (Experimental) : 40% (2g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T VI (Experimental) : 50% (2.5g) de extracto etanólico de Helecho Macho.

El promedio general de la distancia (cm) recorrida por las garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) tratadas con el extracto etanólico de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*) en respuesta a aplicación de los diferentes niveles tratamientos (0% - 50%) y observado durante 24 horas, con intervalo de 2 horas por 10 minutos por tratamiento fue de: 6.36 cm, 1.47 cm, 1.36 cm, 0.53 cm, 0.014 cm, 0.008 cm para los tratamientos I, II, III, IV, V y VI respectivamente (Cuadro 7).

**Cuadro 7. Promedio de la distancia (cm) recorrida por las garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) tratadas con el extracto etanólico de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*) en las distintas concentraciones (0% - 50%), observado durante 24 horas, con intervalo de 2 horas.**

TIEMPO (HORAS)	TRATAMIENTO					
	I (0g)	II (0.5g)	III (1g)	IV (1.5g)	V (2g)	VI (2.5g)
Promedio 2	11.52	3.25	5.28	1.66	-	0.08
Promedio 4	9.6	3.94	5.4	1.64	-	-
Promedio 6	13.28	5.24	1.25	2.78	-	-
Promedio 8	6.5	1.73	3.03	0.25	-	-
Promedio 10	5.48	1.21	1.2	-	0.14	-
Promedio 12	4.35	0.38	0.15	-	-	-
Promedio 14	4.1	0.52	0.2	-	-	-
Promedio 16	4.44	0.57	-	-	-	-
Promedio 18	4.63	0.63	-	-	-	-
Promedio 20	3.31	0.42	-	-	-	-
Promedio 22	4.52	-	-	-	-	-
Promedio 24	4.65	-	-	-	-	-
<b>Promedio general</b>	<b>6.365cm</b>	<b>1.479cm</b>	<b>1.366cm</b>	<b>0.526cm</b>	<b>0.014cm</b>	<b>0.008cm</b>

- T I (Control) : 0% (0g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T II (Experimental) : 10% (0.5g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T III (Experimental) : 20% (1g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T IV (Experimental) : 30% (1.5g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T V (Experimental) : 40% (2g) de extracto etanólico de Helecho Macho.  
T VI (Experimental) : 50% (2.5g) de extracto etanólico de Helecho Macho.



**GRAFICO 4.** Promedios generales de la distancia recorrida por las garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) tratadas con el extracto etanolico de Helecho Macho (*Dryopteris filix mas*) en los diferentes niveles de tratamiento.

## V. CONCLUSIONES

Ejecutada la investigación se arribó a las siguientes conclusiones:

El extracto etanólico del fruto de Neem (*Azadirachta indica*) tuvo efecto garrapaticida, con los niveles de tratamientos V (2g), VI (2.5g), VII (3g), VIII (3.5g), IX (4g), X (4.5g) y XI (5g) *in vitro* en garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) adultas.

El extracto etanólico del rizoma de helecho macho (*Dryopteris filix mas*) tuvo efecto garrapaticidas con los niveles de tratamientos IV (1.5g), V (2g), VI (2.5g) y *in vitro* en garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) adultas.



## VI. RECOMENDACIONES

1. Es necesario establecer nuevas alternativas para el control de garrapatas ya que es evidente la resistencia de *Rhipicephalus microplus* a diferentes productos ixodicidas haciéndose aún más difícil el control de estos ectoparásitos.
2. Realizar investigaciones en las que se determine, si la edad del árbol del Neem interviene en la efectividad del extracto del fruto.
3. Generar proyectos de investigación donde no solo se logre corroborar la existencia de un problema sino también se busque socializar con el productor los diferentes resultados obtenidos y acompañarlo en el desarrollo de manera eficaz, sostenible y rentable dando una solución benéfica para el productor el consumidor y el medio ambiente.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

AHMED, A. and M. GRAINGE. 1986. potential of the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) for pest control and rural development. *Econ. Bot.* 40(2):201-209.

ALARCON MONTOÑO, G., ALBORNOZ SOLIS, Y. M., & PRADO JUSCAMAITA, J. I. (2009). *Metodología de la investigación científica en salud*. Pillco Marca, Huánuco, Perú: Universidad Nacional Hermilio Valdizan.

BAILEY, L.H. 1977. *Manual of Cultivated Plants*. Mc Millan Publishing Co., Inc. New York. pp. 612-613.

BARKER S, MARRELL A., 2008. Systematics and evolution of with a list of valid genus and species names. In: Bowman A, Nuttal P, editors. *Ticks: biology, disease and control*. Cambridge University Press. P. 1-39.

BEATI, L. Keirans J. 2001. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *The Journal of Parasitology*. Vol. 87, N° 1 February 2001. Pág. 32-48.

BERENGUER RIVAS, C. A., ALFONSO CASTILLO, A., SALAS MARTINEZ, H., PUENTE ZAPATA, E., BETANCOURT HERNANDEZ, J., & MORA TASSE, Y. (2013). Toxicidad aguda oral de *Azadirachta indica* (Arbol de Neem). *Revista cubana de plantas medicinales*, 18(3).

CASANOVA, P.; V. MORA. 1984. *Manual sobre garrapatas*. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas. Venezuela.

CEN. AGUILAR J.F., R.I RODRIGUEZ. VIVAS, J.L. DOMINGUEZ. ALPIZAR Y G.G WAGNER (1998). Studies on the effect infection by *Babesia sp* on oviposition of *Boophilus microplus* engorged females naturally infected in the Mexican tropics. *Veterinary parasitology*, 78; 253-257.

- DAWSON, B., & TRAPP, R. g. (2005). *Bioestadística médica* (Cuarta ed.). Mexico: El manual moderno.
- DENARDI, S. E., BECHARA, G. H., OLIVEIRA, P. R., & CAMARGO MATHIAS, M. I. (2010). Azadirachtaindica A. Juss (neem) induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. *Experimento parasitológico*, 126(4), 462-470.
- DREYER, M and C. HELLPAP. 1992. Neem: a promising natural insecticide for small scale vegetable production in tropical and subtropical countries. *Plant Res. Dev.*, 36:7-18.
- ENCINAS G. A., OLEAGA P. A Y PEREZ S. R. *paracitologia veterinaria* (1999) Mc Grau Hill- Interamericana De España S.A.V 9° Edicion Pg. 420.
- ESTRADA, A. P., & JONGEJAN, F. (1999). Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Exp. Appl. Acarol*, 23, págs. 685-715.
- EVANS, D. E., MARTINS, J. R., & GUGLIELMONE, A. A. (2000). A Review of the ticks (Acarina: Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution- 1. The state of Rio Grande doSul, southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 95, págs. 453-470.
- FORTI, S., DA SILVA, N., NEVES, E., ALVES, L., PEIXOTO, D., & DOS SANTOS, J. (2010). Ação de extracto e óleo de neem no controle de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) Acari: Ixodidae em laboratório. *Rev. Brasileira Parasitol Vet.*, 19(1), 44 - 48.
- GAITAN E. L., 1994. Efectividad de la solución acuosa de harina de semilla de Neem (*Azadirachta indica*) y de paraíso (*Melea azadarach*) como garrapaticida. Esteli, nicatagua. Tesis Escuela De Agricultura Y Ganadería De Esteli Francisco L, Espinoza P.
- GALLARDO, J., & MORALES, J. (1999). *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo negativo. *Bioagro*, 11(3), 77 - 87.

- GONZALEZ VILLA, A. A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del amazonas*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- GUERRA, J., CORRALES, J., SOTO, L., MORENO, J., RODRIGUEZ, J., & GASTELUM, M. (2005). Dairy cattle tick (*Boophilus microplus*) control with *Azadirachta indica* A. Juss. *ISHA*, 1, 248 - 251.
- HERNANDEZ SAMPIERI, R., FERNANDEZ COLLADO, C., & BAPTISTA LUCIO, P. (2007). *Metodología de la investigación* (Cuarta ed.). México: Ultra.
- HEEPER T., LUCIUS R., GOTTSTEIN B., (2006) *Parasitología General Con Principios De Inmunología, Diagnostico Y Lucha Antiparasitaria* Editorial Acribia S. A Zaragoza España) Pg. 175.
- HEYDE, V.D. J., R.C. SAXENA and H.S. SCHMUTTERER. 1983. Neem oil and neem extracts as potential insecticides for control of hemipterous rice pests. Proc. 2ni Int. Neem Conf., Rauschholzhausen, pp. 377-390.
- INDIAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE (I.A.R.I.). 1983. Neem in agriculture: I chemistry of neem bitter principles. Res. Bull. 40: 15 p.
- INSTITUTE FOR INTERNATIONAL COOPERATION IN ANEEMAL BIOLOGICS (I.I.C.A.B.). (2007). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Garrapata del ganado del sur, garrapata del ganado bovino*.
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE (I.R.R.I.). 1982. Neem tree may be source of safe insecticides. The IRRI Reporter, 2/82. 4 p.
- ISEA FERNANDEZ, G. A., RODRIGUEZ RODRIGUEZ, I. E., & HERNANDEZ PAZ, A. J. (2013). Actividad garrapaticida de *Azadirachta indica* A. Juss. (neem). *Rev Cubana PlantMed*, 18(2).
- IVAR A. MURAT ALCOVA (2014) *Temas agropecuarios*; biblioteca nacional del peru n°2014-09868 ISBN: 978-612-00-1652-7, Ediciones Nova Print S.A.C.

- JACOBSON, M. 1982. Plants, insects, and man- their interrelationships. *Bcon. Bot.*, 36 (3): 346-354.
- JACOBSON, M. 1986. The Neem Tree: Natural resistance par Excellence. In\*. Natural Resistance of Plants to Pest: Roles of Allelochemicals, Green, M.B. and Hedin, P.A., Eds., Als Symposium Series No. 296. American Chemical Society; Washington, D.C. pp. 220-232.
- JONSSON, N.N., MATSCHOSS, A.L. 1998. Actitudes and practices of queensland dairy farmers to the control of the cattle tick, *Boophilusmicroplus*. *Aust. Vet.* 76(11). 746- 751.
- KUKLINSKI, C. (2003). *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen vegetal*. Barcelona: Omega S.A.
- KAAYA , G.P. Mwangi en ouna, EA 1996 prospectos for biological of livestock ticks, (*Rhipicephalusmicroplus*)an *amblyomavariegata*umusin the entomogenus *fungi beauveriabassiana an metarhiziumanisopliae j. enve*. *Pathal*.63. 15 – 20.
- LABRUNA , M.B; KERBER, E C , FERREIRA, F. FACHINI H L DE WOLL, T.D GENNARI, M A 2001 risk factors to tick infestation and their ocurrence of horses in the state of sao Paulo brasil. *Vet. Parasitol* 47, 1 – 14.
- LEOS-MARTÍNEZ, J. y R. SALAZAR-SAÉNZ. 1990. Importación y diseminación del árbol insecticida neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en México. En: Memorias del II Simposio Nacional sobre Substancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Sociedad Mexicana de Entomología, XXV Cong. Nal. Entom. Oaxaca, Oax., pp. 106-127.
- LEWIS, W.H. and M.P.F. ELVIN-LEWIS. 1983. Neem (*Azadirachta indica*) cultivated in Haiti. *Econ. Bot.*, 37(1):69-70.
- LOPEZ, G., 1980 claves para identificación de garrapatas. Control de garrapatas: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), J.A., 171p.
- MASS HORNA, W., & CAMPANERA REIG, M. (2011). *Arboles medicinales. Iquitos*.

- MUÑOZ, F. (1996). *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y proceso*. Madrid: Mundi prensa.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, (N.R.C.). 1992. *Neem: A Tree For solving Global Problems*. National Academy Press, Washington, D.C. 137 p.
- NICOLLETTI, M., Maccioni, O., Coccioletti, T., Mariani, S., Vitali, F. 2012. *Neem tree (Azadirachta indica A Juss) as source of bioinsecticides*. Department of Environmental Biology- Universidad Sapienza of Roma. *Insecticides-Advances in Integrated Pest Management*. Roma, Italia, 1-19.
- OÑATE, R. J.; QUINTERO, L. A. *Caracterización fisicoquímica de los extractos de la semilla del árbol de Neem (Azadirachta Indica) en el Departamento del Cesar*. Trabajo de graduación de Ing. Agroindustrial. Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad Popular del Cesar. Colombia, 2008. p. 35
- OSORIO, J. 1977. *Organización de un Centro de Identificación de Garrapatas*. Conferencia dictada en II Curso sobre campaña nacional de control e identificación de garrapatas. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Maracay.
- PAL, R. and WHARTON, R.H., 1974. *Control of medical and veterinary importance*. Plenum press, New York.
- PRADHAN, P.K. and M. JOTWANI. 1968. *Neem as an insect deterrent*. *Chemical Age of India*, 19 (9):756-760.
- QUIROZ R., H. 1995 *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. Editorial Limusa. Mexico
- RADWANSKI, S. 1977a. *Neem Tree.1: commercial potential, characteristics and distribution*. *World Crops and Livestock*, 29:62-66.
- RADWANSKI, S. 1977b. *Neem Tree.2: uses and potential uses*. *World Crops and Livestock*, 29:111-113.

RADWANSKI, S. 1977c. Neem Tree.3: further uses and potential uses. *World Crops and Livestock*, 29-30:167-168.

RADWANSKI, S. and G.E. WICKENS. 1981. Vegetative fallows and potential value of neem tree *Azadirachta indica* in the tropics. *Econ. Botany*, 35(4):398-414.

RAMOS, C., et al. "Variación en contenido de azadiractina en frutos de margosa durante su desarrollo" en línea. Artículo Científico: *Revista Fitotecnia Mexicana*, Septiembre 2004. vol.

RICHAR WALL Y DAVID SHEARER. (2001). *VETERINARY Ectoparasites: biology, pathology and control* 2° edición. Blackwell publishing Ltd 9600 Garsington Road Oxford OX4 2DQ, UK.

RODRIGUES S., A., RODRIGUEZ M., C., & CRUZ C., A. (2010). Efecto ixodicida de los extractos etanolicos de algunas plantas sobre garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista MVZ Cordoba*, 15(3)

SAXENA, B.P., O. KOUL and K. TIKKU. 1976. Non-toxic protectant against the stored grain insect pests. *Bull, of Grain Tech.*, 14 (3):190-1S3.

SAXENA, B.P., K. TIKKU, C.K. ATAL and O. KOUL. 1986. Insect antifertility and antifeedantallelochemicals in *Adhatodavasica*. *Insect Sci. Applic.*, 7(4):489-493.

SAXENA, R.C. 1983. Naturally Occurring Pesticides and Their Potential. In: *Chemistry and World Food Supplies: The New Frontiers*. CHEMRAWN II, Manila, Philippines, Pergamon Press, Oxford, New York, N.Y., pp. 143-161.

SAXENA, R.C. 1987a. Antifeedants in tropical pest management. *Insect Sci. Applic.*, 7 (4-6):731-736.

SAXENA, R.C. 1987b. Neem seed oil- a potential antifeedant against insect pests of rice. In R. Greenhalgh and T.R. Roberts (eds.): *Pesticide Science and Biotechnology*. Int. Union of Pure and Appl. Chem., pp. 139-144.

SAXENA, R.C. 1989. Insecticides from neem. Entomology Department, Int. Rice Res. Inst., Manila, Philippines. American Chemical Society, pp. 111-135.

- SAXENA, R.C. and M.E.M. BONCODIN. 1988a. Effect of neem seed bitters (NSB) on green leafhopper (GLH) survival and rice tungro virus (RTV) transmission. *Int. Rice Res. Newsletter, I.R.R.N.*, 13(1):25-26.
- SAXENA, R.C. and M.E.M. BONCODIN. 1988b. Effect of neem seed bitters (NSB) on green leafhopper (GLH) feeding. *Int. Rice Res. Newsletter, I.R.R.N.*, 13(1):27-28.
- SAXENA, R.C., and R.S. YADAV. 1986. A preliminary laboratory evaluation of an extracts of leaves of *Delonix regia* Raf. as a disruptor of insect growth and development. *Trop. Pest. Manag.*, 32(1):53-59.
- SAXENA, R.C., and Z.R. KHAN. 1985a. Effect of neem oil on survival of *Nilaparvatalugens* (Homoptera:Delphacidae) and on grassy stunt and ragged stunt virus transmission. *J. Econ. Entomol*78:647-651.
- SAXENA, R.C., and Z.R. KHAN. 1985b. Electronically recorder disturbances in feeding behavior of *Nephotettix virescens* (Homoptera:Cicadellidae) on neem oil-treated rice plants. *J. Econ. Entomol.*, 78:222-226.
- SAXENA, R.C., G. JILANI and A. ABDUL KAREEM. 1988. Effects of Neem on Stored Grain Insects. In: M. Jacobson (ed.). *Focus on Phytochemical Pesticides, Vol. 1: The Neem Tree*. CRC Press, Boca Raton, Fla, USA., pp. 97-111.
- SAXENA, R.C., G.P. WALDBAUER, N.J. Liquido and B.C. Puma. 1980b. Effects of neem seed oil on the rice leaf folder, *Cnaphalocrocismedinalis*. In: *Natural Pesticides from the Neem Tree (Azadirachta indica A. Juss)*. Proc. 1<sup>st</sup> Int. Neem Conf., W. Germany, pp. 189-204.
- SAXENA, R.C., H.D. JUSTO Jr. and B. EPINO. 1984. Evaluation and utilization of neem cake against the rice brown planthopper, *Nilaparvatalugens* (Homoptera:Delphacidae). *J. Econ. Entomol.*, 77:502-507.
- SAXENA, R.C., N.J. Liquido and H.D. Justo. 1980a. Neem seed oil, a potential antifeedant for the control of the rice brown planthopper, *Nilaparvatalugens*. In: *Natural Pesticides from the Neem Tree Azadirachta indica A. Juss*. Proc. 1<sup>st</sup> Int. Neem Conf., W. Germany, pp. 171-188.



SOUSA, L. A. D.; SOARES, S. F.; PIRES, H. B.; FERRI, P. H.; BORGES, L. M. F. 2008. Avaliação da eficácia de extractos oleosos de frutos verdes e maduros de *Azadirachta indica* sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae).

SOLOMON, G. YGP. KAAYA (1996) comparison of resistance in three breeds of cattle against african ixodid ticks. Experimental & Applied Acarology, 20(4):223-230.

SOULSBY, E.J.L 1897. Parasitologia y enfermedades parasitarias en los animales domesticos. Editorial Interamericana S.A. Mexico D.F.

SCHMUTTERER, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. In-. Annu. Rev. Entomol., 35:271-297.

STONEY, Carol. *Azadirachta indica* - Neem, a versatile tree for the tropics and subtropics: a quick guide to multipurpose trees from around the world en línea. Hoja Informativa FACT 1997-05. Morrilton, Arkansas: Forest, Farm, and Community Tree Network, Winrock International. Septiembre, 1997. [www.winrock.org/forestry/factnet.htm](http://www.winrock.org/forestry/factnet.htm). Consulta: mayo de 2010.

THOMSON, W. A., 1981. Guia practica ilustrada de las plantas medicinales. España: Editorial BLUME.

The International Consortium On Ticks-Borne Diseases (ICTTD) 2004 b. ticks of veterinary and medical importance: latin America. (<http://www.icctd.nl>).

VALENTE, M., BARRANCO, A., & SELLAIVE VILLARROEL, A. (2007). Eficácia do extrato aquoso de *Azadirachta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria Zootecnia, 59(5), 1341 - 1343.

WALL, R., & SHEARER, D. (2010). Ectoparasitologia veterinaria: biología, patología y control. Zaragoza, España: Acribia S.A.

WASHINGTON INTERNATIONAL CENTER (W.X.C.) 1985. International exchange news. Neem: the pesticides tree, Vol. 30 (1). p. 5, 9 y 10.

# **ANEXOS**

**CUADRO 8. Análisis de varianza de las concentraciones del extracto etanólico de Neem (*Azadirachta indica*).**

<b>F.V</b>	<b>G.L</b>	<b>S.C</b>	<b>C.M</b>	<b>F.c</b>	<b>F.t</b>
<b>Tratamiento</b>	10	41.16	4.12	5.97	2.5**
<b>Error</b>	99	68.8	0.69		
<b>total</b>	109	109.96			

\*\* indica que hay diferencia significativa ( $p \leq 0.01$ ).

**CUADRO 9. Análisis de varianza de las concentraciones del extracto etanólico de helecho macho (*Dryopteris filix mas*).**

<b>F.V</b>	<b>G.L</b>	<b>S.C</b>	<b>C.M</b>	<b>F.c</b>	<b>F.t</b>
<b>Tratamiento</b>	5	26.73	5.35	9.07	3.43**
<b>Error</b>	54	31.6	0.59		
<b>total</b>	59	58.33			

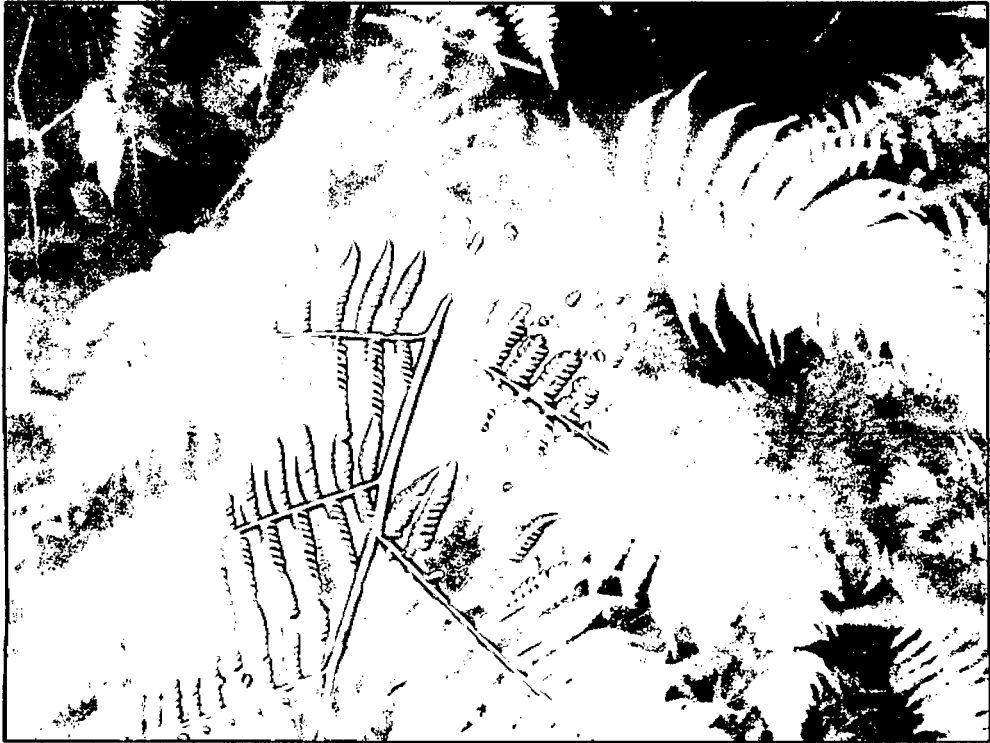
\*\* indica que hay diferencia significativa ( $p \leq 0.01$ ).



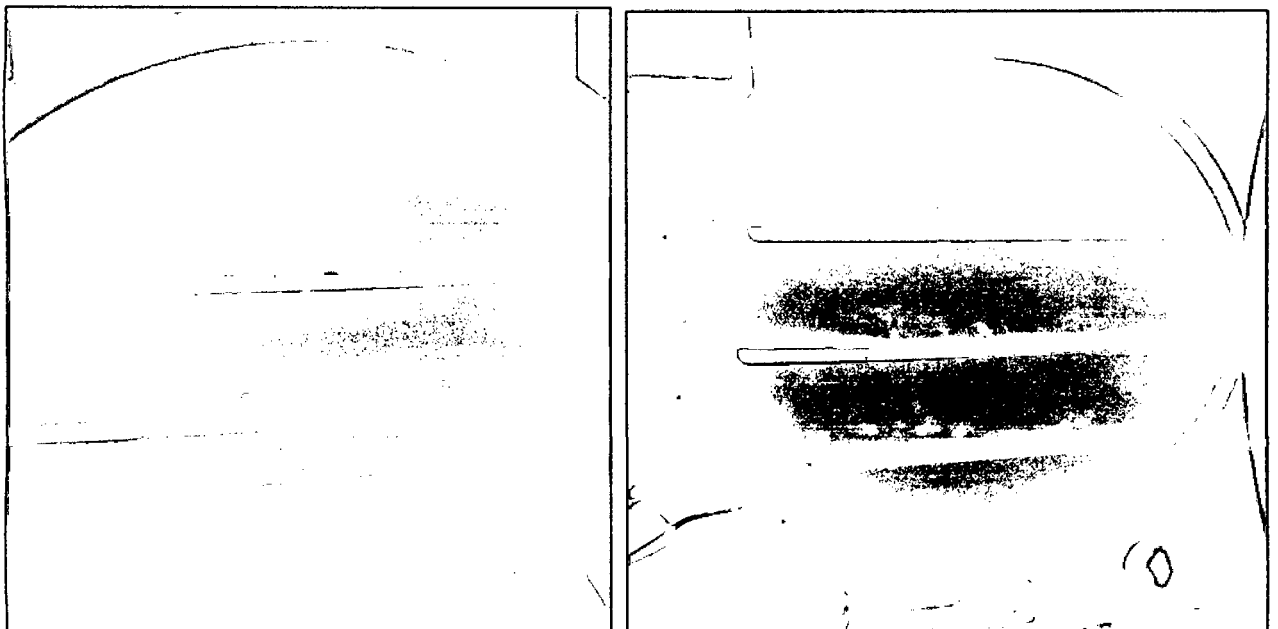
**FIGURA 1. Fotografías del árbol de Neem con sus frutos.**



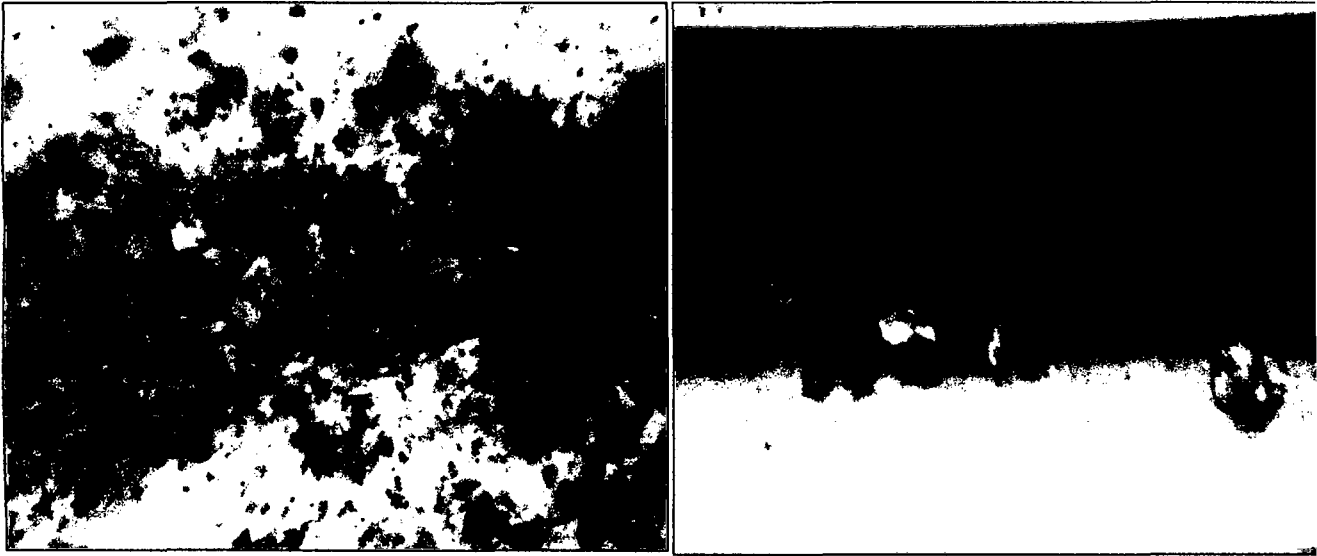
**FIGURA 2. Fotografía del fruto del árbol de Neem deshidratadas bajo sombra.**



**FIGURA 3. Fotografía del helecho macho**



**FIGURA 4. Fotografías tomadas durante el proceso de secado del fruto de Neem y rizoma del Helecho Macho.**



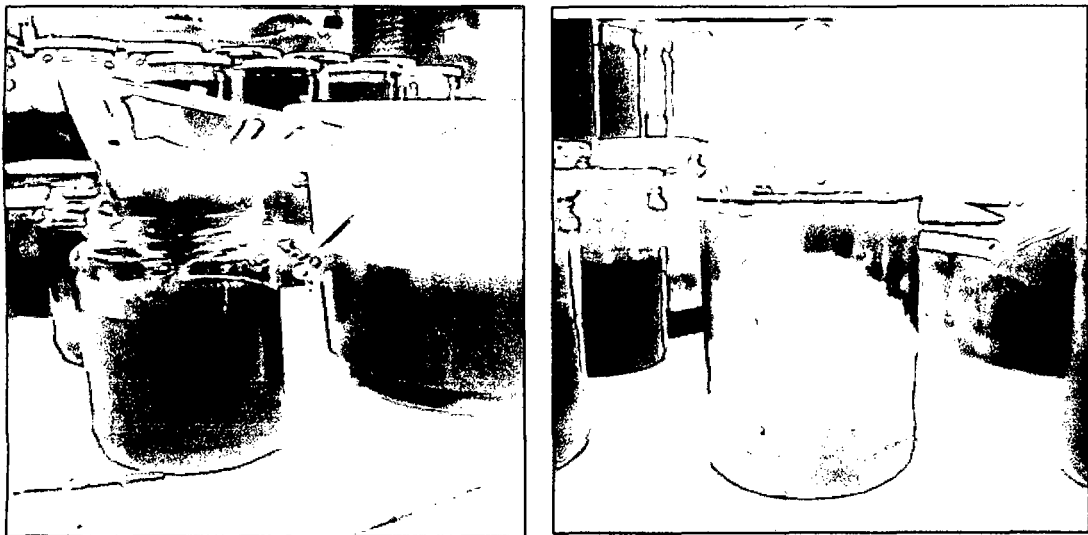
**FIGURA 5. Fotografía deshidratada y triturada del fruto del Neem y rizoma del Helecho Macho.**



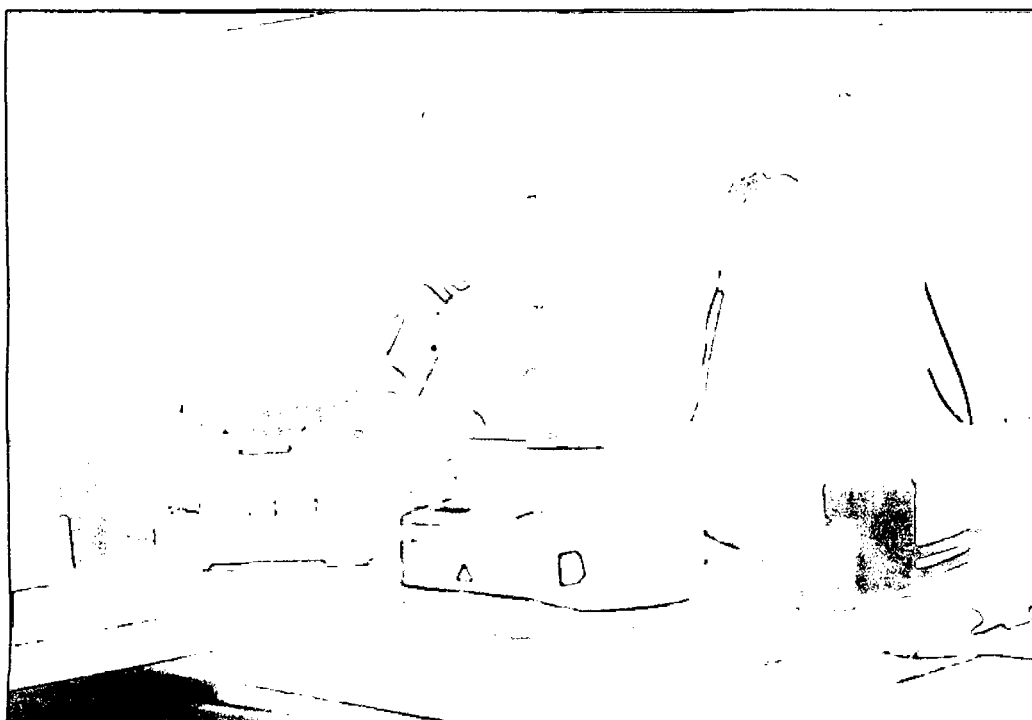
**FIGURA 6. Fotografía tomada adicionando el solvente etanol al 70%**



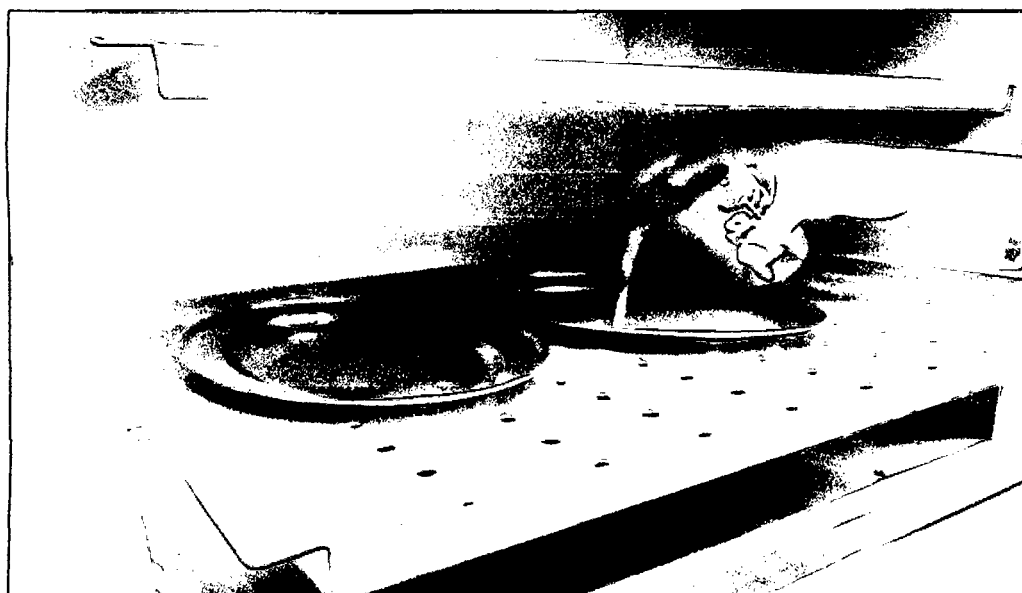
**FIGURA 7. Fotografía de la maceración del fruto del Neem y rizoma del Helecho Macho.**



**FIGURA 8. Fotografía tomada después del filtrado de las diferentes muestras: primero siendo del fruto del Neem, segundo del rizoma del Helecho Macho en el laboratorio del CIPNA- UNAS.**



**FIGURA 9. Fotografía del rota vapor modelo R-3 recuperando el solvente.**



**FIGURA 10. Fotografía colocando el extracto concentrado a la estufa para su Secado.**





**FIGURA 11. Fotografías del extracto etanólico del Neem y el extracto etanólico del helecho macho respectivamente sellados para su conservación.**



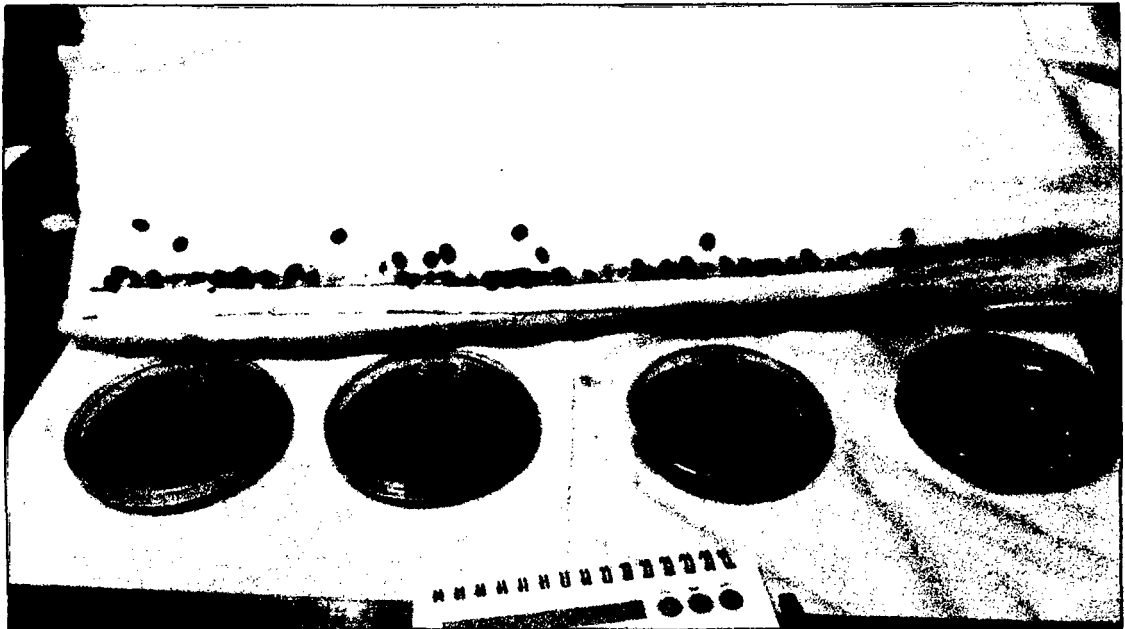
**FIGURA 12. Fotografía de vacuno con garrapatas a nivel de la ubre y en pliegues alrededor de la vulva.**



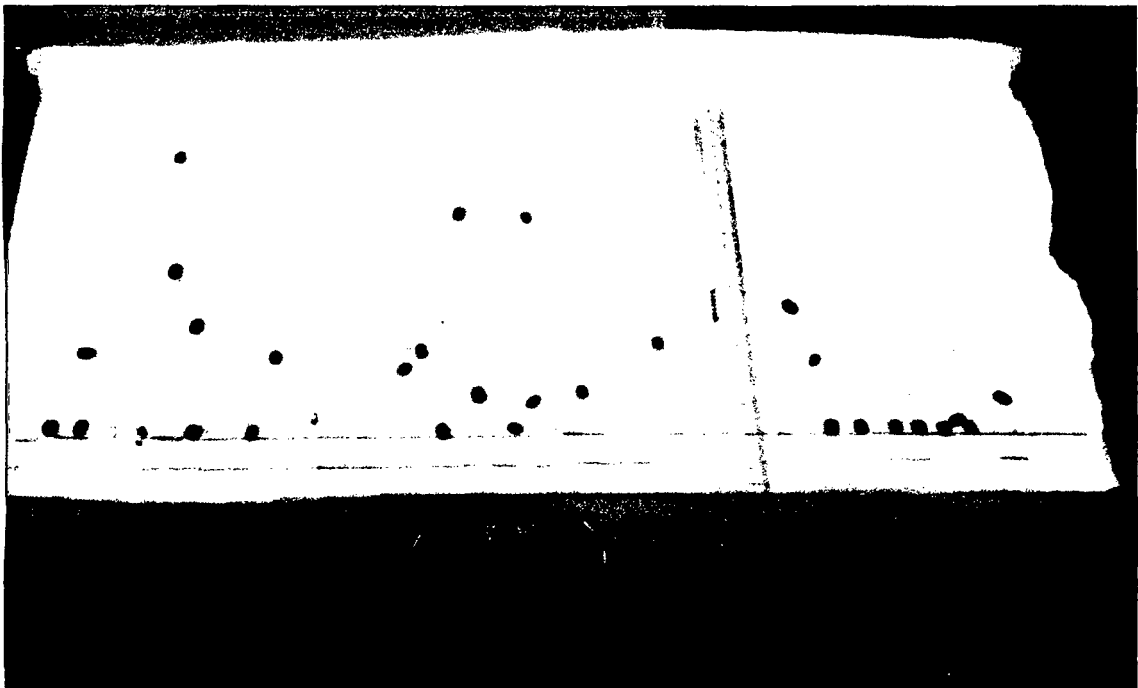
**FIGURA 13. Fotografía de garrapatas recolectadas.**



**FIGURA 14. Fotografías de los diferentes tratamientos de extracto etanólico del fruto de Neem y el extracto etanólico del rizoma del helecho macho.**



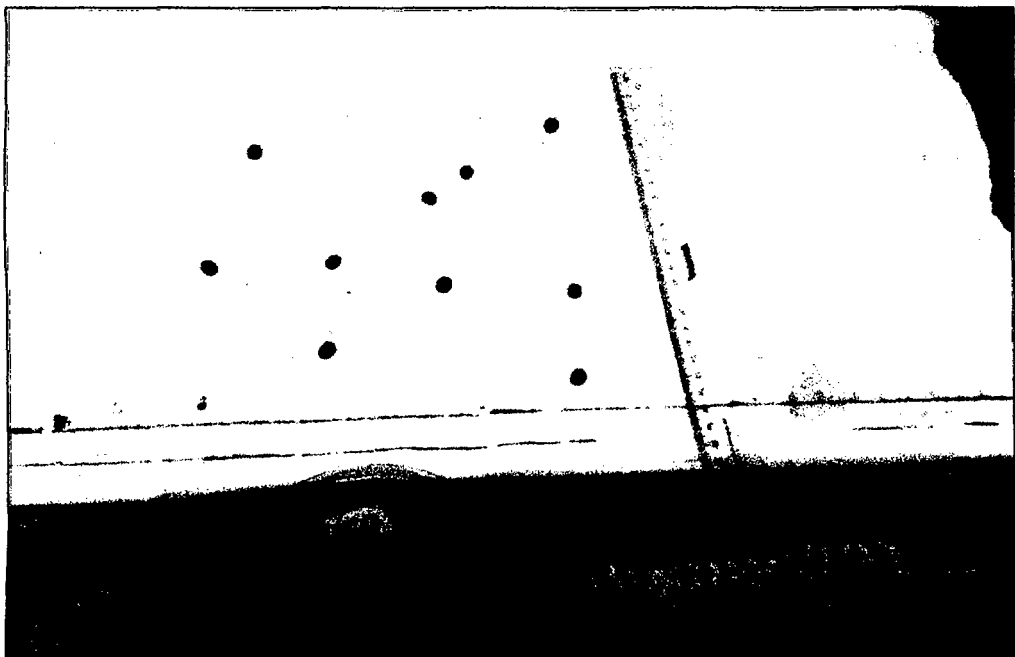
**FIGURA 15.** Fotografía de los diferente tratamientos del extracto etanolico del fruto de Neem observadas durante 10 minutos.



**FIGURA 16.** Fotografía de los diferente tratamientos del extracto etanolico del rizoma del helecho macho observadas durante 10 minutos.



**FIGURA 17.** Fotografía de los diferente tratamientos del extracto etanolico del rizoma del helecho macho observadas durante 10 minutos con pérdida de movimiento y muertos.



**FIGURA 18.** Fotografía del grupo control observado durante diez minutos.

## **NOTA BIBLIOGRÁFICA**

### **DATOS PERSONALES**

Apellido Paterno : Pineda.

Apellido Materno : Albornoz.

Nombres : Yurik Flora.

Fecha de Nacimiento : Huánuco, 13 de julio de 1989.

### **EDUCACIÓN**

Primaria : E.P.M 0494 – TOCACHE- SAN MARTIN  
(1995 – 2000).

Secundaria : I.E.P.S.M N° 0413 – TOCACHE- SAN MARTIN  
(2001- 2005).

Superior : Universidad Nacional “Hermilio Valdizán”.  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.  
EAP. Medicina Veterinaria.

Grado obtenido : Bachiller en Medicina Veterinara; 2013.



## ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En la ciudad de Huánuco, Cayhuayna - Distrito de Pillco Marca, a los Dieciocho días del mes de noviembre del 2015, siendo las 12:20 pm horas, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos se reunieron en el Auditorio de la Facultad, los Miembros integrantes del Jurado examinador para proceder a la Evaluación de Sustentación de la Tesis Titulada: "**ACTIVIDAD GARRAPATICIDA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DEL FRUTO DE NEEM (Azadirachta indica) Y RIZOMA DEL HELECHO MACHO (Dryopteris filix mas) in vitro FRENTE A Rhipicephalus microplus**", de la Bachiller **Yurik Flora, PINEDA ALBORNOZ**, para **OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**, estando integrado por los siguientes miembros:

- Mg. Práxedes Cubas Bazán (PRESIDENTE)
- Mg. Rosel Apaestegui Livaque (SECRETARIO)
- MV. Anselmo Canches Gonzales (VOCAL)

Finalizado el acto de sustentación, los miembros del Jurado procedieron a la calificación, cuyo resultado fue Aprobado, con la nota de Dieciséis (16), con el calificativo de: Buena.

Con lo que se dio por finalizado el proceso de Evaluación de Sustentación de Tesis. Siendo a horas 1:30 pm, en fe de la cual firmamos.

Mg. Práxedes Cubas Bazán  
**PRESIDENTE**

Mg. Rosel Apaestegui Livaque  
**SECRETARIO**

MV. Anselmo Canches Gonzales  
**VOCAL**