

# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ

#### CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

# INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA

**MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN** 

#### TEMA:

EXTRACTO DE HOJAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICA PARA COMBATIR GARRAPATAS DE BOVINOS

#### **AUTORES:**

BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO

**TUTOR:** 

Q.F. JOHNNY DANIEL BRAVO LOOR, PhD

**CALCETA, JULIO DEL 2023** 

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO con cédula de ciudadanía 1316338746 y GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO con cédula de ciudadanía 1317443891, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: EXTRACTO DE HOJAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICA PARA COMBATIR GARRAPATAS DE BOVINOS, es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el oso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.

BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO CC.131633874-6

GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO CC.131744389-1

# **AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN**

BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO con cédula de ciudadanía 1316338746 y GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO con cédula de ciudadanía 1317443891, autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: EXTRACTO DE HOJAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICA PARA COMBATIR GARRAPATAS DE BOVINOS, cuyo contenido, ideas y criterio son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.

BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO CC.131633874-6

GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO CC.131744389-1

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Q.F. JOHNNY DANIEL BRAVO LOOR, PhD, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: EXTRACTO DE HOJAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICA PARA COMBATIR GARRAPATAS DE BOVINOS, que ha sido desarrollado por BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO y GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO, previo a la obtención del título de Médica Veterinaria de acuerdo al REGLAMENTO DE UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Q.F. JOHNNY DANIEL BRAVO LOOR, PhD CC. 1303147340 TUTOR

.

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos APROBADO el Trabajo de Integración Curricular titulado: EXTRACTO DE HOJAS DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) COMO ALTERNATIVA ECOLÓGICA PARA COMBATIR GARRAPATAS DE BOVINOS, que ha sido desarrollado por BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO y GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO, previo a la obtención del título de Médica Veterinaria, de acuerdo al REGLAMENTO DE UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. CARLOS LARREA IZURIETA, MG CC. 0603029190

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

M.V. KAROLINA LÓPEZ RAUSCHENBERG.MG. CC. 1308698016 MIEMBRO DEL TRIBUNAL M.V.Z. MAURO GUILLEN MENDOZA, MG. CC. 1305280305 MIEMBRO DEL TRIBUNAL

#### **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darme la oportunidad y fortaleza para culminar mi carrera, ya que con su ayuda logre superar todas las dificultades, obstáculos para poder cumplir cada uno de mis objetivos fijados con constancia y motivación en el transcurso de cada semestre.

A mis padres Diana Guerrero y Hinginio Bravo por su apoyo incondicional e incansable durante todos mis años de estudio y formación profesional. Siempre luchando para que no me hiciera falta nada y llenándome de mucho amor y buenos valores.

A mi familia cuyos consejos y apoyo constante me incentivaron a culminar con éxito mis estudios. Han estado pendiente de mí y han creído en que si puedo cumplir las metas que me propongo.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López por haberse convertido en mi segundo hogar, por abrirme las puertas y poder formarme como profesional.

A mi tutor el Q.F. Johnny Daniel Bravo Loor, PhD, por todo su potencial y apoyo brindado durante mi desarrollo del trabajo de Integración Curricular. También a los profesores de la carrera de Medicina Veterinaria que a partir de su experiencia y conocimiento me fueron de gran ayuda en el trayecto de esta etapa universitaria.

A mi gran amiga y compañera de tesis Gema Raquel Bravo por todo el compromiso y dedicación, dado para culminar un proyecto más de nuestras vidas.

A mis amigas y amigos por las palabras de aliento en momentos de desesperación y frustración, por apoyarme, a seguir adelante y cumplir mis objetivos.

**BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO** 

#### **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, doy gracias a Dios por la vida, por permitirme gozar de salud y brindarme fortalezas para seguir luchando por esta meta anhelada, al arcángel Jofiel a quien me encomendé para que me brinde sabiduría, ganas de superarme y fuerzas para no dejarme vencer por los obstáculos y dificultades.

A mi madre Moncerrate Bermeo Bravo y a mi padre Tulio Bravo Navia por su infinito apoyo emocional y económico, por las enseñanzas y valores impartidos, por confiar en mis habilidades y aptitudes, por ser mi inspiración y el motor que me impulsa a seguir adelante para conquistar mis sueños y esperanzas.

A mis queridos hermanos, amigos y compañeros por creer en mí, e incentivarme a concluir mis estudios y por convertir mi vida universitaria como la mejor etapa de mi vida.

A mi gran amiga y compañera Betty Bravo Guerrero, por estar siempre presente, por sus palabras de aliento, compromiso, dedicación y siempre sacarme sonrisas durante esta larga travesía y aventura.

Por último y no menos importante a la ESPAM MFL y todos los que conforman parte de ella, quienes me dieron la oportunidad de estudiar la carrera que siempre anhelé. A mi tutor Q.F. Johnny Daniel Bravo Loor, PhD, por su paciencia y constancia, por estar dispuesto a orientarnos durante el proceso de este trabajo de investigación, a mis queridos docentes por compartir sus conocimientos de manera profesional e invaluable, por sus enseñanzas, dedicación, apoyo y amistad.

GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO

#### **DEDICATORIA**

A Dios por darme fuerzas para vencer los obstáculos y ser mi guía espiritual en mi vida, brindarme salud y permitirme cumplir cada meta planteada, bendiciéndome día a día con conocimientos y personas que colaboran con mi crecimiento personal.

A mis padres por todo el apoyo brindado, en este proceso de aprendizaje por sus consejos, amor y motivación durante este tiempo de formación profesional.

A toda mi familia en especial a mis primos por su apoyo constante y palabras de motivaciones que me permitieron cumplir con cada uno de los objetivos que me he planteado en la vida. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

**BETTY JERITZA BRAVO GUERRERO** 

#### **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de investigación a mi Padre Celestial Jehová, por su mano de fidelidad, por ser mi guía, mi refugio, y fortaleza para continuar en este proceso de obtener uno de mis anhelos más deseados.

A mi ángel que me cuida desde el cielo, mi abuelita Tris (+) por alentarme al recordar cómo se alegraba por cada logro de la escuela y colegio, gracias por ser mi inspiración y por lo que ahora soy.

A mis padres Tulio Bravo y Moncerrate Bermeo, quienes, con sus consejos, paciencia y esfuerzo me han permitido cumplir un sueño más, gracias por su apoyo, motivación y comprensión, reconozco y agradezco su lucha y entrega, su dedicación y amor incondicional.

A mis hermanos Stefany y Tulio por su cariño y apoyo incondicional durante todo este trayecto, por estar presentes en todo momento y ayudarme en mis momentos de desesperación. A mi sobrino Isaías por sacarme sonrisas y estar orgulloso de que tiene una tía veterinaria, fue mi motivo para no rendirme.

GEMA RAQUEL BRAVO BERMEO

# **CONTENIDO GENERAL**

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	V
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	viii
CONTENIDO GENERAL	х
CONTENIDO DE TABLAS	xiv
CONTENIDO DE FIGURAS	xv
CONTENIIDO DE FÓRMULAS	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	3
1.3. OBJETIVOS GENERAL	4
1.3.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS	4
1.4. HIPÓTESIS, PREMISAS Y/O IDEAS A DEFENDER	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. ASPECTOS GENERALES DEL PIÑÓN (Jatropha curcas)	5
2.1.1. ORIGEN DEL PIÑÓN	5
2.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL PIÑON (Jatropha curcas)	5
2.2. APLICACIONES BIOLÓGICAS DE Jatropha curcas	8
2.2.1. CONTROL DE PLAGAS	8
2.2.2. BIORREMEDIACIÓN	8
2.3. BENEFICIOS MEDICINALES DE LA HOJA Y LATEX DEL PIÑÓN	8

2.4. PROPIEDADES QUIMICAS DE LAS HOJAS DE Jatropha curcas	9
2.5. METODOS DE EXTRACCIÓN DE LAS HOJAS DEL PIÑÓN	10
2.5.1. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO	10
2.6. GARRAPATAS QUE MÁS AFECTAN A LA PRODUCCIÓN BOVINA	11
2.7. CICLO DE VIDA DE LAS GARRAPATAS	11
2.7.1. HUEVO	12
2.7.2. LARVA	12
2.7.3. NINFA	13
2.7.4. ADULTAS	13
2.8. PRINCIPALES GÉNEROS DE GARRAPATAS EN BOVINOS	14
2.8.1. GÉNERO <i>Amblyomma</i>	14
2.8.2. GÉNERO Dermacentor	14
2.8.3. GÉNERO Rhipicephalus	14
2.9. IMPACTO ECONÓMICO A CAUSA DE LAS GARRAPATAS	15
2.10. EFECTOS NOCIVOS DEL USO DE ACARICIDAS SINTÉNTICOS	15
2.10.1. RESISTENCIA	16
2.10.2. CONSECUENCIAS ECOLOGICAS	16
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	18
3.1. UBICACIÓN	18
3.2. DURACIÓN	18
3.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS	18
3.3.1. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN	19
3.3.2. MÉTODOS HIPOTÉTICO- DEDUCTIVO	19
3.4. TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN	19
3.4.1.TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN	19
3.4.2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS FISICO-QUIMICO	20
3.5. FACTOR DE ESTUDIO	20

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL	20
3.7. VARIABLES A MEDIR	20
3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE	20
3.7.2. VARIABLES DEPENDENTES	20
3.7.2.1. FÍSICO - QUÍMICOS	20
3.7.2.2. EFECTO ACARICIDA <i>IN VITRO</i>	20
3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO	21
3.8.1. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	21
3.8.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.	21
3.8.3. ADICIÓN DE EMULSIONANTE GOMA ARÁBIGA	22
3.8.4. CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO DE HOJAS	22
3.8.4.1. Ph	22
3.8.4.2. DENSIDAD	22
3.8.4.3. ÍNDICE DE REFRACCIÓN	23
3.8.4.4. PORCENTAJE DE ÁCIDO OLEICO	23
3.8.4.5. CONCENTRACIÓN DE FENOLES	24
3.8.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA <i>IN VITRO</i> DE LAS	
CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO	25
3.8.5.1. DENTIFICACIÓN Y EXTRACIÓN DE GARRAPATAS EN BOVINOS	25
3.8.5.2. APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS Y REPETICIONES	25
3.8.6. ESTUDIO PRELIMINAR IN VIVO	26
3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL	26
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1. DETERMINACIÓN DE TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN DE	
FENOLES EN EL EXCTRACTO DE Jatropha curcas	28

4.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	
DEL EXTRACTO	29
4.3. EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE	
PIÑÓN (Jatropha curcas) EN LAS GARRAPATAS DEL GANADO BOVINO	30
4.3.1 MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS <i>IN VITRO</i>	
A LAS 24 HORAS.	30
4.3.2. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS <i>IN VITRO</i>	
A LAS 48 HORAS	31
4.3.3. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATA <i>IN VITRO</i>	
A LAS 72 HORAS	32
4.3.4. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATA <i>IN VITRO</i> A	
LAS 96 HORAS	33
4.4. ESTUDIO PRELIMINAR IN VIVO DEL EXTRACTO DE HOJA Jatropha	1
curcas AL 4.24% DE CONCENTRACIÓN	34
4.4.1. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS	
EVALUADAS POR HORAS	34
CAPÍTULO V. Conclusiones y recomendaciones	36
5.1. CONCLUSIONES	36
5.2. RECOMENDACIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXOS	44

# **CONTENIDO DE TABLAS**

Tabla 1. Metabolitos aislados de las hojas de Jatropha curcas	10
Tabla 2. Condiciones climáticas de Calceta	18
Tabla 3. Esquema ADEVA	27
Tabla 4. Caracterización de extracto de las hojas del piñón	30
Tabla 5. Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 24 horas	31
Tabla 6. Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 48 horas	32
Tabla 7. Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 72 horas	33
Tabla 8. Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 96 horas	34
<b>Tabla 9.</b> Estudio preliminar <i>in vivo</i> de mortalidad y supervivencia de	
garrapatas evaluadas por horas	35

# **CONTENIDO DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Curva de calibración para determinar fenoles en el extracto de <i>Jatropha curcas</i>	28
CONTENIDO DE FÓRMULA	
Fórmula 1. Densidad	23
Fórmula 2. Diseño experimental	26

#### RESUMEN

El presente estudio tiene como finalidad evaluar el efecto acaricida del extracto de hojas de piñón (Jatropha curcas) mediante ensayos in vitro en una prueba de inmersión en cajas de Petri a una población de 320 garrapatas adultas, con un total de tres tratamientos más testigo con cuatro repeticiones, distribuidos de la siguiente manera:T0: Amitraz al 20.8%; T1: Extracto de J. curcas al 4.1 %; T2: Extracto al 4.24 %; T3: Extracto al 4.3 % de concentración, que fueron evaluadas en un rango de 24, 48, 72 y 96 horas, además, se realizó un estudio preliminar in vivo con el mejor tratamiento. Las variables a estudiar fueron: caracterización del extracto (pH. densidad, índice de refracción, acidez y concentración de fenoles), mortalidad y supervivencia de las garrapatas. Para las variables con normalidad se empleó un diseño completamente aleatorizado con prueba de Tukey al 5% de probabilidad y para las variables que no cumplen con los supuestos se utilizó el test de Kruskal-Wallys y separación de pares, donde se evidenció que el T2 (20,00  $\pm$  0,00) destacó significativamente entre los tratamientos, demostrando mayor efectividad acaricida in vitro a las 96 horas evaluadas, mientras que, el T0 (1,75 ± 0,50) y T1 (2,25 ± 0,50) obtuvieron los mayores valores de supervivencia, el estudio in vivo aplicado con el T2 demostró que la mayor mortalidad de garrapatas se obtuvo a las 96 horas (249,67 ±112,96), validándose el potencial uso del extracto de hojas del piñón como alternativa ecológica para combatir garrapatas de bovinos.

#### PALABRAS CLAVE

Ectoparásitos, ecológico, extracto acuoso, resistencia, acaricida.

#### **ABSTRACT**

The purpose of this study is to evaluate the acaricidal effect of the extract of pinyon leaves (Jatropha curcas) through in vitro tests in an immersion test in Petri dishes on a population of 320 adult ticks, with a total of three treatments plus control with four repetitions, distributed as follows: T0: Amitraz at 20.8%; T1: Extract of J. curcas at 4.1%; T2: Extract at 4.24%; T3: Extract at 4.3% concentration, which were evaluated in a range of 24, 48, 72 and 96 hours, in addition, a preliminary in vivo study was carried out with the best treatment. The variables to be studied were: characterization of the extract (pH, density, refractive index, acidity and concentration of phenols), mortality and survival of ticks. For the variables with normality, a completely randomized design was used with a Tukey test at 5% probability and for the variables that do not meet the assumptions, the Kruskal-Wallys test and pairwise separation were used, where it was evidenced that T2 ( 20.00 ± 0.00) stood out significantly among the treatments, demonstrating greater in vitro acaricidal effectiveness at 96 hours evaluated, while T0 (1.75  $\pm$  0.50) and T1  $(2.25 \pm 0.50)$  obtained the highest survival values, the *in vivo* study applied with T2 showed that the highest tick mortality was obtained at 96 hours (249,67 ±112,96), validating the potential use of the extract of pine nut leaves as an ecological alternative to combat bovine ticks.

#### **KEY WORDS**

Ectoparasites, ecological aqueous extract, resistance, acaricide.

# **CAPÍTULO I. ANTECEDENTES**

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Polanco y Ríos (2016) manifiestan que, la producción ganadera a nivel global se ha visto limitada por la presencia de garrapatas siendo uno de los mayores problemas sanitarios a nivel de ganadería por ello, son consideradas como uno de los factores sanitarios más importantes que limita la ganadería en el trópico. Al respecto Benavides *et al.* (2017) indican que, son las especies de mayor impacto económico y productivo que generan al sector pecuario de diversos países de América tropical, entre ellas se encuentra, *Boophilus microplus* conocida como la garrapata común del ganado.

Echeverry y Osorio (2015), como fueron citados en Vargas *et al* (2019), difieren que, las pérdidas están relacionadas con su capacidad vectorial, permanencia del ectoparasitismo y por ser un reservorio de patógenos como los géneros *Babesia* y *Anaplasma*. En Ecuador las pérdidas económicas que causan las garrapatas se ven visualizadas en la disminución de la ganancia de peso, problemas dermatológicos, anemia, reducción en la producción de carne y leche, del mismo modo que presentan un gran problema en el área de salud pública ya que es culpable de zoonosis, generando transmisiones de bacterias, rickettsias, virus y protozoarios a varias especies animales, así como también a humanos (Ulloa y Ramones, 2021).

Benavides *et al.* (2017) manifiestan que, "los ectoparásitos han desarrollado resistencia a los acaricidas, los cambios del clima que favorecen las poblaciones de vectores, enfermedad, deterioro del ambiente, como consecuencia de las actividades humanas, conforman un panorama preocupante que, a su vez, representa un reto para la investigación".

Por otro lado, Bavera (2016) afirma que, el uso irresponsable de garrapaticidas en bovinos, genera residuos nocivos en la carne y leche. De acuerdo con Schleske *et al.* (2012) en el ganado bovino, para el control de ácaros, se han utilizado diferentes productos químicos denominados *ixodicida*, no obstante, su mal uso ha provocado que estos parásitos desarrollen mecanismos de sobrevivencia, y que con el paso

del tiempo adquieran resistencia debido a la selección genética. Por otro lado, Rodríguez *et al.* (2022) han reportado que el uso indiscriminado de acaricidas presenta un impacto ambiental negativo ya que se ha demostrado que disminuye la diversidad y abundancia de las poblaciones de insectos benéficos.

Asela et al. (2014) mencionan que, la contaminación ambiental por plaguicidas está dada principalmente por residuos descargados y dispuestos en el suelo, el agua y por derrames accidentales, la unión de estos factores provoca su distribución en la naturaleza, por lo tanto, los restos de estos químicos se dispersan en el ambiente y se convierten en contaminantes para los sistemas biótico y abiótico amenazando su estabilidad y representando un peligro de salud pública.

Sánchez et al. (2020) indican que, existen plantas que son potencialmente útiles pero que se encuentran escasamente estudiadas y utilizadas, situación que dificulta en gran medida su posible cultivo y uso, este es el caso de la Jatropha curcas, comúnmente conocida como piñón. En nuestro país "se encuentran ampliamente distribuidas en la costa, amazonía y región insular" (Cañarte et al., 2017). En la provincia de Manabí se la ha utilizado para fines tradicionales como cercas vivas, biocombustible y jabones; sin embargo, no se han aprovechado sus principios activos en la medicina veterinaria (Cañarte et al., 2017).

Con estos antecedentes surge la siguiente pregunta:

¿El extracto de la hoja de piñón (*Jatropha curcas*) tiene efectos acaricidas en el control de garrapatas del ganado bovino?

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

El control de ectoparásitos de importancia veterinaria depende en gran medida del uso de productos químicos, por ello es fundamental obtener una gama de compuestos con diferentes modos de acción que permita la rotación de estos productos y de esta forma ayudar a gestionar los problemas de la resistencia a los acaricidas, del mismo modo que disminuya problemas como residuos, contaminación ambiental y alto costo (Sanis *et al.*, 2012).

Los productos naturales utilizados antes de la llegada de los productos químicos, vuelven a ser demandados por ser ecológicos, en la actualidad se afirma el retorno a las fórmulas orgánicas-naturales y de esta manera conseguir a partir de extractos vegetales insecticidas ecológicos con fórmulas que controlen y eliminen de manera eficaz determinados ectoparásitos (Asela *et al.*, 2014).

Pabón y Hernández (2012) manifiestan que, al ser *Jatropha curcas* citado como una especie vegetal promisoria, con utilidad en el control de plagas a partir del uso de sus principios activos obtenidos de diferentes partes de la planta, sus compuestos permiten controlar de manera eficiente hongos, parásitos y otros organismos, aunado a esto, es importante destacar que esta planta es muy común en nuestro entorno y se la utiliza como cerramiento de terrenos. Saetae y Worapot (2011), citados por Pabón y Hernández (2012), reportaron que, los extractos obtenidos de las semillas, las hojas y el aceite de semilla de *J. curcas* tienen propiedades molusquicidas, insecticidas y fungicidas.

Este estudio tiene relevancia porque permitirá conocer si el extracto de la hoja de Jatropha curcas (piñón) tiene efectos acaricidas en el control de garrapatas del ganado bovino. De otra parte, es importante mencionar que la investigación contribuirá adquirir nuevos conocimientos al descubrir alternativas ecológicas, basadas en plantas que sustituya los productos químicos y del mismo modo garantice una buena eficacia, baja toxicidad y consecuencias residuales, un impacto ambiental reducido y control de resistencia en las ganaderías bovinas.

#### 1.3. OBJETIVOS

#### 1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del extracto de las hojas de piñón (*Jatropha curcas*) como alternativa ecológica para combatir garrapatas en bovinos.

#### 1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar los parámetros físico-químicos del extracto obtenido de las hojas de *Jatropha curcas*.

Determinar mediante ensayos *in vitro* el efecto garrapaticida de tres concentraciones del extracto de las hojas de piñón (*Jatropha curcas*).

Analizar mediante un estudio preliminar *in vivo* el efecto acaricida de la concentración del extracto que mayor porcentaje de mortalidad presentó.

# 1.4. HIPÓTESIS, PREMISAS Y/O IDEAS A DEFENDER

El extracto de las hojas de piñón (*Jatropha curcas*) tiene efectos acaricidas en el control de garrapatas del ganado bovino.

# CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

# 2.1. ASPECTOS GENERALES DEL PIÑÓN (Jatropha curcas)

De acuerdo a lo encontrado por Sánchez *et al.* (2020) dan a conocer que, *Jatropha curcas L*, comúnmente llamada piñón, es una especie de planta multipropósito con un sinnúmero de propiedades y un gran potencial que posee una serie de características que le otorgan especial importancia desde el punto de vista biológico, agronómico, medicinal, económico y ambiental; entre las particularidades más destacadas se encuentra el hecho de ser una planta resistente a las sequías y por poseer semillas con alto contenido de aceite y proteínas.

## 2.1.1. ORIGEN DEL PIÑÓN

Según Sánchez *et al.* (2020) manifiestan que, el piñón es un árbol pequeño originario de México y de Centro América, el cual se lo ha sembrado en el continente africano en varios países como, Madagascar, Ghana, Suazilandia, Zambia, entre otros, extendiéndose de la misma manera hacia países del continente asiático como China, India, Indonesia, Tailandia, Vietnam, con la finalidad de convertir el aceite extraído de sus semillas en biodiesel; por otro lado, con el mismo propósito, varios países de América entre ellos Brasil, México, Argentina, Colombia, República Dominicana, Ecuador, Perú y demás países, han incursionado en la siembra del piñón.

# 2.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL PIÑON (Jatropha curcas)

Desde la posición de Guerrero (2019), el piñón es una planta caducifolia; es decir que pierde sus hojas durante una parte del año bajo condiciones de estrés, además se caracteriza por ser un árbol pequeño y perenne que puede crecer hasta 6 metros de altura, con comportamiento sexual monoico (que en una misma planta contiene flores masculinas y femeninas), cuyo período productivo se extiende de 45 a 50 años y se desarrolla normalmente en suelos áridos y responde bien a suelos con pH de 5 a 7.

Por otro lado, Sánchez *et al.* (2020), mencionan que, sus épocas de plantación son todo el año (preferiblemente en estaciones húmedas; en cuanto al desarrollo de la planta, anualmente se obtienen alrededor de 10 Kg de frutos por planta, de los

cuales, 4 Kg pertenecen a la semilla, la corteza es de color gris y presenta escamas delgadas de color verdoso ceniciento, el diseño de la planta puede variar desde un tallo principal con escasas ramas, hasta un tallo desde la base muy ramificado, con más de un metro de largo; el tronco, las ramas y el peciolo de las hojas poseen un exudado translúcido (látex) de color blanco y de textura pegajosa.

#### **HOJAS**

En particular sobre este tema para Echeverría *et al.* (2015) el árbol de *J. curcas* es de hoja simples alternas caducas, en las plantaciones se observan solo las ramas, el haz es verde oscuro, el envés verde claro, normalmente se forman con 3 a 7 lóbulos acuminados, poco profundos y grandes con peciolos largos de 10 a 15 cm.

Las hojas caducas se encuentran esparcidas y alternadas, son largas en forma de palmas con tres a cinco lóbulos recortados en ángulos obtusos, terminadas en puntas agudas; son verdes, pálidas brillantes, glabras o desprovistas de pelos, las nervaduras son blanquecinas, resaltadas o salientes en su fase interior de la lámina foliar (Echeverría *et al.*, 2015).

#### **INFLORESCENCIAS**

En los hallazgos encontrados por Sánchez *et al.* (2020) se ha establecido que, generalmente las flores son unisexuales y de color verde amarillentas, además, el tipo de inflorescencia es un dicasio terminal de 10 a 25 cm de largo; en ciertos casos existen inflorescencias de un sólo sexo, no obstante, en la mayoría de veces los dos sexos se localizan en las mismas a diferencia de otras partes de la planta, las flores son pentámeras, con pétalos fusionados y sépalos enteros y basalmente 5–6 mm de largo, hirsutos por dentro, verdosos o blanco amarillento, anteras 1–1.6 mm de largo; ovario glabro por otro lado, su floración se produce durante la temporada de lluvias y se pueden presentar hasta dos picos de floración.

#### **FRUTO**

Con base en Sánchez *et al.* (2020) el fruto es una cápsula ovoide, color verdoso amarillento y carnoso (pulpa), al madurar o secarse presenta una tonalidad castaño oscuro posteriormente, con los extremos achatados de 3 a 4 centímetros de largo y de 2.5 a 3 cm de diámetro; al principio el fruto es carnoso, pero cuando se seca es dehiscente (se abre para que salga la semilla) y trilocular (dividido en tres

partes), con una semilla en cada cavidad. Al respecto Echeverría et al. (2015) difieren que, el desarrollo del fruto necesita 90 días desde la floración hasta que madure la semilla, aunado a esto, se encuentra constituido por un pericarpio o cáscara resistente, lechosa encerrando 1, 2 o 3 semillas por una membrana divisoria que corresponde a una sutura exterior de la cápsula.

#### SEMILLAS

Sánchez et al. (2020) dan a conocer que, las semillas son elípticas, de 16 a 20 mm de largo, 10 a 12 mm de ancho y unos 8 a 10 mm de espesor son de color negro y lisas en fresco y agrietadas cuando se secan. Por otro lado, Echeverría et al. (2015), postula que, las semillas contienen distintos componentes tóxicos (ésteres de forbol, curcin, inhibidores de tripsina, lectinas y fatitos) y no son comestibles.

#### **TALLO**

Echeverría et al. (2015) consideran que, el tallo crece con discontinuidad morfológica en cada incremento, la corteza es fina como papel de coloración verde amarillenta, pálido y casi liso, con desprendimientos en tiras horizontales, corteza interna blanca con rayas rojas, exuda una savia amarillenta y sabor astringente, cada rama termina en una inflorescencia y no hay uniformidad en el crecimiento de los tallos, el tronco está dividido desde la base, en ramas largas, con numerosas cicatrices producidas por la caída de las hojas en la estación seca, las cuales resurgen luego de las primeras lluvias.

#### RAÍZ

Como lo hace notar Echeverría et al. (2015), la planta de piñón posee raíces cortas y poco ramificadas, normalmente cuando las plántulas proceden de semilla se forman cinco raíces, una central y cuatro periféricas; la raíz procedente de semilla, desarrolla cinco raíces, una pivotante y cuatro periféricas, posteriormente se desarrollan las raíces secundarias. Al referirse a este aspecto Vinueza (2018) da a conocer que, las raíces del piñón contribuyen a su desarrollo, aunque su reproducción ha sido por semilla.

# 2.2. APLICACIONES BIOLÓGICAS DE Jatropha curcas

#### 2.2.1. CONTROL DE PLAGAS

Domingo *et al.* (2015) mencionan que, a nivel biológico las hojas de piñón se utilizan ampliamente en el control de plagas, por sus propiedades como insecticidas y fungicidas, en especial a un metabolito denominado "curcina" una proteína de interés antiviral y antifúngica producida por esta misma especie.

Cañarte *et al.* (2017) ratifican que, el control biológico de ácaros, proporcionados por organismos nativos, es una excelente alternativa al control químico, siendo considerado incluso un servicio ambiental para productores carentes de recursos económicos. Por otro lado, los resultados referidos por Idrees *et al.* (2021) afirman que, las hojas de extracto de agua de *J. curcas* mostraron propiedades insecticidas y fumigantes que se utilizan contra las chinches en las casas.

#### 2.2.2. BIORREMEDIACIÓN

Tariq y Ashraf (2016), citados por Casteblanco (2018) plantean que, las especies vegetales ideales para la fitoextracción son aquellas que poseen la capacidad de acumular y tolerar altas concentraciones de metales en el tejido cosechable y esto es posible ya que ellas tienen el poder de eliminar contaminantes que persisten en el medio ambiente a través de diversos mecanismos como la fitofiltración, fitoestabilización. Al respecto Pabón y Hernández (2012) dan a conocer que, *Jatropha curcas* ha sido utilizada en procesos de fitorremediación de suelos contaminados y ofrece una alternativa de recuperación del suelo por lo que la convierte en una opción rentable y viable con el medio ambiente.

# 2.3. BENEFICIOS MEDICINALES DE LA HOJA Y LÁTEX DEL PIÑÓN

Con referencia a Gallardo *et al* (2019), en las diferentes especies del género *Jatropha* se han evidenciado usos medicinales, en especial en el tratamiento de infecciones de la piel, enfermedades de transmisión sexual, ictericia y fiebre, no obstante, en los hallazgos encontrados por los mismos autores se ha revelado que, en las hojas de *J. curcas* se han identificado metabolitos como *apigenina*, *vitexina e isovitexina*, que pueden ser utilizados contra la malaria, el reumatismo y los

dolores musculares. El látex se utiliza como desinfectante en las infecciones bucales y se ha establecido que contiene compuestos con propiedades anticancerígenas como *jatrophina*, *jatrofano*, *y curcaina*, del mismo modo se ha utilizado para promover la curación de heridas, úlceras (Gallardo *et al.*, 2019).

# 2.4. PROPIEDADES QUÍMICAS DE LAS HOJAS DE Jatropha curcas

Idrees et al. (2021) ratifican que, *J. curcas* contiene varios compuestos bioactivos fitoquímicos, taninos, fitoesterol, glucósidos, compuestos fenólicos, flavonoides, sapogeninas y esteroides. En particular sobre este tema, de acuerdo a los resultados obtenidos por Sanis *et al.* (2012) revelan que, varios fitoquímicos, en particular, las flavonas tienen el potencial de interactuar con el receptor de estrógeno de vertebrados como agonistas o antagonistas; comprobaron que algunas de las flavonas como la luteolina, la quercetina, la apigenina y la crisina inhiben la expresión génica mediada por la ecdisona en una línea celular sensible a la ecdisoma además, la apigenina inhibe la expresión y la actividad de la isoenzima del citocromo P450 de mamíferos e insectos.

Sanis *et al.* (2012), reportaron que, las flavonas, apigeninas (apigenina 7-O-β-D-neohesperidosido, apigenina 7-O-β-D-galactosido), orientina, vitexina, vicenina II y la biflavona di-C-β-Dglucopiranósido-metileno-biapigenina de las hojas de *J. curcas*, la eficacia de un extracto de las hojas de *Jatropha curcas* para inhibir la eclosión de los huevos puestos por garrapatas tratadas y podría atribuirse a la presencia de la flavona y apigenina que puede causar una disminución en el nivel de ecdisteroide activo al inhibir la enzima P450.

Esto podría atribuirse a la disminución de los niveles de ecdisteroides que conducen a una menor incorporación de ecdisteroides libres en los óvulos o a la interferencia con la absorción de la proteína de yema de huevo modificada, ya que la vitelina en los ovocitos es importante para la maduración y el desarrollo de los óvulos; por lo tanto, el extracto de las hojas de *J. curcas* a bajas concentraciones puede inhibir significativamente la eclosión de los huevos puestos y puede considerarse como una posible alternativa para el control de garrapatas (Sanis *et al.*, 2012).

**Tabla 1.** Metabolitos aislados de las hojas del Jatropha curcas.

ESTRUCTURAS	COMPUESTOS
	Flavonoides: apigenina, vitexina, isovitexina
	Diterpenos: heudolotinona
HOJAS	Esteroles: estigmasterol, estigmast-5-en-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diol, estigmast-5-en-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol, colest-5-en-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol, campesterol, $\beta$ -sitosterol, 7-ceto- $\beta$ -sitosterol, $\beta$ -D-glucósido
	Triterpenos: α-amirina, 1-triacontanol y el dímero
LÁTEX	Peptidos: curcaciclina A y B
	Enzimas: curcaína
	Alcaloides: jatrofina, jatrofano

Fuente. Datos tomados de Pabón y Hernández (2012).

## 2.5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE LAS HOJAS DEL PIÑÓN

Al referirse sobre este aspecto Campo *et al.* (2018) mencionan que, las técnicas de extracción utilizados para los compuestos vegetales son destilación, extracción con disolvente (maceración, la digestión, la infusión, decocción, percolación y extracción continua en caliente), compresión fría, y no convencionales, métodos a saber, la extracción con fluidos supercríticos, (turbo) de extracción de torbellino, extracción por la energía eléctrica y la extracción asistida por Ultrasonido (US). De acuerdo a lo encontrado por Noguera (2020) al profundizar este tema, indica que, la extracción sólido-líquido, también conocida como lixiviación, es una operación unitaria que permite extraer o separar componentes solubles de sólidos con ayuda de un disolvente.

#### 2.5.1. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO

Campo et al. (2018) manifiestan que, en los últimos tiempos, se ha reverenciado que la técnica de extracción más eficaz y susceptible, es la extracción asistida por US; que reduce los tiempos de extracción, el consumo de disolvente orgánico, reduce, el uso de disolventes tóxicos, energía y costos lo cual permite el desarrollo de técnicas combinadas en las que se destacan la extracción asistida por US,

destilación asistida por US, entre otras. Al referirse en este aspecto Chacón et al. (2018) mencionan que, en la actualidad existen dos métodos de extracción de aceite: mediante solventes y por prensado dentro de los solventes de mayor uso en este proceso destaca el hexano.

Como mencionan Saavedra *et al.* (2018), "el ultrasonido ha permitido la reducción del tiempo de proceso sino también de separación, esta técnica es la más económica y tiene los requerimientos instrumentales más bajos entre las últimas técnicas de extracción desarrolladas y la combinación de métodos tradicionales de extracción de aceite y el método emergente usando ultrasonido".

# 2.6. GARRAPATAS QUE MÁS AFECTAN A LA PRODUCCIÓN BOVINA

Guglielmone et al. (2014), citados por Rodríguez et al. (2021) indican que, las garrapatas son ácaros macroscópicos, ectoparásitos, hematófagos obligados que infestan animales domésticos y silvestres, existen más de 900 nombres científicos válidos de géneros y especies distribuidas en dos familias: *Ixodidae* (garrapatas duras) y *Argasidae* (garrapatas blandas). Las *Ixodidae* solamente presentan un estadio de ninfa mientras que las *Argasidae* tienen dos o más, a nivel mundial, la familia *Argasidae* parasitan una amplia variedad de hospedadores y transmiten diversos agentes patógenos (protozoos, bacterias, rickettsias y virus) al ganado (Tolulope et al.,2018).

Al meditar sobre este particular Sepúlveda *et al.* (2017) citados por Vargas *et al.* (2019) consideran que, su presencia en la ganadería refleja pérdidas económicas que en el contexto mundial se registran entre 2000 a 3000 millones de dólares, *Rhipicephalus microplus* es uno de los principales obstáculos en la producción ganadera en regiones tropicales y subtropicales; no obstante, se estima que es responsable de pérdidas económicas anuales de aproximadamente 2,5 billones de dólares en el mundo.

#### 2.7. CICLO DE VIDA DE LAS GARRAPATAS

Diyes y Rajakaruna (2017) citados por Rodríguez et al. (2021) sostienen que, el ciclo biológico de las garrapatas dispone de cuatro fases de desarrollo: huevo,

larva, ninfa y adulta, por otro lado, la puesta de huevos se realiza en el pasto, áreas de vegetación, el suelo, hendiduras o grietas, dependiendo de la especie de garrapata pueden llegar a poner hasta 1000 huevos, los huevos son rojizos café y depositados en grupos.

En consonancia Polanco y Ríos (2016) dan a conocer que, los estadíos en fase larvaria se diferencian de las fases ninfa y adulta por que las garrapatas poseen sólo tres pares de patas, en los demás estadíos tienen cuatro pares de patas, adicionalmente a estos estadíos, presentan dos fases intermedias de desarrollo conocidas como fases mutantes, la cual se caracteriza por el desprendimiento de la piel exterior o cutícula (muda) de la larva en su paso a ninfa y de la ninfa en su paso a adulto; ambos eventos ocurren después de alimentarse de sangre del hospedador.

#### 2.7.1. HUEVO

El ciclo de vida de las garrapatas se inicia con la eclosión del huevo ovipositado por la hembra grávida en un sitio húmedo y protegido, del cual emerge la larva, la cual permanece resguardada en el sitio donde emergió para evitar la desecación y después de una semana aproximadamente, busca un hospedador del cual alimentarse (Rodríguez *et al.*, 2022)

Polanco y Ríos (2016) al referirse en este aspecto sostienen que, para ello, utilizan sus órganos sensoriales que son estimulados por olores, dióxido de carbono, luz, corrientes de aire, humedad y calor que indican la presencia del hospedador, al que acecha en las partes altas de la vegetación o se une a él de forma activa, cazándolo.

#### 2.7.2. LARVA

Los argumentos expuestos por Rodríguez *et al.* (2022) indican que, la larva migra hacia la vegetación y alcanza su primer hospedador para alimentarse de sangre durante algunos días, aunado a esto, las larvas se desprenden del hospedador y cae al suelo para realizar su primera muda (proceso biológico que sufre la garrapata para transformarse en otra fase de desarrollo).

Por otro lado, Polanco y Ríos (2016) manifiestan que, en las garrapatas de dos y tres hospedadores, dependiendo de la temperatura y la humedad, les puede tomar desde cinco días a varias semanas; también puede mudar a ninfa sobre el primer hospedador en garrapatas de dos hospedadores y luego dejarse caer; las larvas de garrapatas de un hospedador, permanecen en él después de alimentarse y mudan después de un corto periodo de tiempo.

#### 2.7.3. NINFA

Teniendo en cuenta a Polanco y Ríos (2016), las ninfas desarrolladas después de la muda de la larva, tienen sus mismas características, excepto que pueden vivir por más tiempo, al respecto, las especies de garrapatas de uno y de dos hospedadores, la ninfa se alimenta de sangre del hospedador y muda sobre él en un corto periodo de tiempo, mientras que, en las garrapatas de tres hospedadores, la ninfa cae al suelo, donde puede mudar dentro de las próximas dos semanas o después de varios meses.

#### **2.7.4. ADULTAS**

Desde la posición de Rodríguez *et al.* (2022) dan a conocer que, esta fase de desarrollo posee una duración de dos a tres semanas para transformarse en adulto, en este estado se presenta la diferenciación sexual de las garrapatas (machos y hembras) por otro lado, los adultos buscan un tercer hospedador para alimentarse de sangre y después copular.

El comportamiento de las garrapatas adultas que mudan en el suelo en el estado de ninfa (tres hospedadores), es similar a sus estados larvales y ninfales y solo se diferencia de estos porque pueden permanecer por períodos largos de tiempo sin alimentarse (Polanco y Ríos, 2016). Al respecto Rodríguez *et al.* (2022) corroboran que, la cópula de las garrapatas se da sobre el hospedador, después de lo cual la hembra se repleta de sangre y cae a la vegetación, donde busca un lugar húmedo y protegido en el cual poner sus huevos, después de esto la garrapata hembra muere, el macho vive unos días más sobre el hospedador y después muere.

La duración de este ciclo depende de la adaptación de las especies de garrapatas duras a la temperatura, la humedad y la disponibilidad de hospedadores por lo general viven más de dos años y regularmente menos de uno (Polanco y Ríos, 2016).

## 2.8. PRINCIPALES GÉNEROS DE GARRAPATAS EN BOVINOS

# 2.8.1. GÉNERO Amblyomma

Camilo *et al.* (2010) citados por Navarrete *et al.* (2014) indican que, este tipo de garrapatas son destacadas como multicolores, las cuales se caracterizan por escoger el calor y los parajes cubiertos con abundante vegetación, no demasiadas secas y tierras baja, suelen alojarse en áreas como axilas, mama y genitales del hospedador, normalmente son transmisoras de enfermedades como la *hidropericarditis rickettsiana*.

#### 2.8.2. GÉNERO Dermacentor

Junquera (2013), citado por Navarrete et al. (2014) indican que, se conocen al menos treinta especies del género dermacentor, entre las cuales se destaca Dermacentor dissimilis y Dermacentor nitens (Anocentor nitens) estas especies son de particularidades grandes, las hembras pueden medir de 1.5 a 2 cm de tamaño; estos ácaros presentan diversas características como, la base del capítulo cuadrangular, es más ancha que larga, los palpos son cortos y gruesos, sus ojos son pequeños y circulares, las extremidades poseen un color de fondo rojo, esta garrapata escoge de uno o tres hospedadores como mamíferos domésticos. Por otra parte, Benavides et al. (2017) indican que, se debe aclarar que la transmisión de anaplasmosis la realizan garrapatas del género Dermacentor spp.

# 2.8.3. GÉNERO Rhipicephalus

El género *Rhipicephalus* son garrapatas con más distribución en el mundo ya que coexisten en la actualidad 60 especies, supuestamente es nativa de África, pero se ha encontrado en el trópico y en regiones con clima templado, producido por la migración del hombre y sus mascotas, entre las que se destacan la *Rhipicephalus* 

(Boophylus) microplus y Rhipicephalus sanguineus (Navarrete et al., 2014). Por lo tanto, la enfermedad febril del ganado bovino (FG) originada por organismos transmitidos en el continente americano, primariamente por la garrapata común del ganado Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Benavides et al., 2017).

## 2.9. IMPACTO ECONÓMICO A CAUSA DE LAS GARRAPATAS

Benavides et al. (2017) mencionan que, las pérdidas directas son proporcionadas a la ocurrencia de enfermedad, las cuales están asociada con la entrada o incremento de la población de dichas garrapatas, proporción de animales parasitados que desarrollen enfermedad, daño en piel y molestia permanente que afecta la conducta y bienestar del animal; por otro lado, el impacto económico indirecto desciende, por un lado, del costo del tratamiento los casos clínicos, pero esencialmente por los gastos incurridos en el control de las garrapatas y otros vectores de interés zootécnico, haciendo especial énfasis en acaricidas.

## 2.10. EFECTOS NOCIVOS DEL USO DE ACARICIDAS SINTÉTICOS

Tolulope *et al.* (2018) explican que, las causas de estos fenómenos se deben al uso inapropiado del manejo de productos químicos que incluyen el uso de carbamatos, piretroides, formamidinas, organofosforados, y lactonas macrocíclicas, todos los cuales tienen costos asociados, desarrollo de resistencia y peligros ambientales.

Rocha y García (2008) citados por Culma y Suárez (2018) difieren que, los pesticidas en los que encontramos a los acaricidas se clasifican, de acuerdo con el compuesto activo, en organofosforados, piretrinas, carbamatos (que son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa) y los piretroides sintéticos y organoclorados. Desneux et al. (2007) citados por Culma y Suárez (2018) señalan que, en general, para los artrópodos, los acaricidas inducen cambios fisiológicos a nivel social manifestadas en alteración del comportamiento, problemas en la orientación del alimento, específicamente en los insectos los cambios fisiológicos se han reportado en el desarrollo embrionario y la aparición de mutaciones.

#### 2.10.1. RESISTENCIA

Según Espinosa y Guzmán (2007) consideran que, el esfuerzo para controlar las garrapatas se ha orientado al uso de acaricidas sintéticos, varios de éstos proporcionan alto grado de control del ácaro, no obstante, estos acaricidas presentan serios inconvenientes; pueden promover el progreso de resistencia a su principio activo en los ácaros, son tóxicos para los insectos benéficos para el ecosistema y para el hombre además, dejan residuos químicos en los alimentos de origen animal que son destinados para consumo humano.

Schleske et al. (2012) afirman que, el desarrollo de la resistencia a los garrapaticidas sintéticos ha sido extremadamente rápido, posiblemente porque los artrópodos pueden utilizar los mecanismos que emplean para su defensa contra diferentes compuestos químicos; la velocidad con que se desarrolla la resistencia en una población depende principalmente de la frecuencia inicial de los genes que le confieren la intensidad de la selección, el grado de dominancia de esos genes y la relativa capacidad del genotipo, o sea, la totalidad de la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN.

## 2.10.2. CONSECUENCIAS ECOLÓGICAS

Los resultados referidos por Asela *et al.* (2014) afirman que, la contaminación ambiental por acaricidas está dada principalmente por aplicaciones directas en los cultivos agrícolas, lavado inadecuado de tanques, contenedores, filtraciones en los depósitos de almacenamiento y residuos descargados y dispuestos en el suelo, derrames accidentales y el uso inadecuado de los mismos por parte de la población, asimismo, la unión de estos factores induce su distribución en el ambiente; es así como, los restos de estos garrapaticidas se dispersan en él medio ambiente y se convierten en contaminantes para los sistemas biótico y abiótico amenazando su permanencia, estabilidad y representando sin duda algún peligro para la salud pública.

La distribución de un acaricida en la biofase (plantas y microorganismos) depende de la capacidad de absorción de esta y de la naturaleza del suelo; cuando los pesticidas ingresan en las cadenas alimentarias se distribuyen a través de ellas, se agrupan en cada nicho ecológico y se acumulan sucesivamente hasta que alcanzan una concentración letal para algún organismo constituyente de la cadena, o bien hasta que llegan a niveles superiores de la red trófica (Asela *et al.*, 2014).

En unión de estos factores, los argumentos expuestos por Schleske *et al.* (2012) demuestran que, las piretrinas pueden provocar alteraciones de la sensibilidad cutánea en los trabajadores que se han expuesto a ellas; se conocen casos de intoxicación con síntomas tales como adormecimiento, picazón, hormigueo, sensación de quemazón de la piel y vértigo; no obstante, las observaciones realizadas en animales de laboratorio, algunos piretroides pueden generar ciertas manifestaciones de neurotoxicidad, y por otra parte son sumamente tóxicos para los organismos acuáticos.

Estos acaricidas sintéticos generan impacto a gran escala en la reducción en las poblaciones de abejas nativas causando por consiguiente un efecto negativo notable sobre la producción de alimentos y la biodiversidad vegetal, al respecto, se ha reportado contaminación en la miel con residuos de pesticidas, acaricidas los cuales corresponden principalmente organofosforados (47,5%) y organoclorados (9,8%) (Culma y Suárez, 2018).

# CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

## 3.1. UBICACIÓN

El desarrollo de la presente investigación se realizó en las instalaciones de la unidad de docencia, investigación y vinculación, de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM MFL). En el laboratorio de química, de suelo y hato bovino de la carrera de Medicina Veterinaria y en el laboratorio de bromatología de la carrera de agroindustria, ubicados en el sitio limón del cantón Bolívar a 000 49'23" de latitud sur 800 11'01" de longitud oeste, a una altura de 15msnm.

Tabla 2. Condiciones climáticas de Calceta.

Variables	Valor
Precipitación Media Anual	952,0 mm
Temperatura Mínima	31,11 °C
Temperatura Máxima	20,60 °C
Temperatura Media Anual	25°0 C.
Humedad Relativa Anual	80,0 %
Evapotranspiración potencial Anual	1490,4mm
Promedio de Evaporación	103,0mm
Heliofanía Anual	1134,9 (horas/sol)

Fuente. Datos tomados de la Estación meteorológica Escuela superior Agropecuaria de Manabí (2021).

# 3.2. DURACIÓN

El presente estudio se llevó a cabo en el transcurso de 33 semanas, iniciando el 18 de abril del 2022 y concluyó el 5 de diciembre del mismo año.

# 3.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS

La investigación fue de tipo experimental, apoyado de diferentes métodos y técnicas que permitieron obtener el extracto vegetal, de esta manera poseer una noción oportuna de las variables de estudio, permitiendo un mejor desenvolvimiento de las metodologías en el desarrollo, manejo y cumplimiento de los objetivos de una manera sistematizada y ordenada.

## 3.3.1. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

En esta investigación se utilizaron los métodos inductivo - deductivo, con sus respectivos análisis estableciendo la generalización adecuada de los objetivos.

### 3.3.2. MÉTODOS HIPOTÉTICO- DEDUCTIVO

Es el procedimiento en la que se fórmula la hipótesis para solucionar distintos problemas, contrastando empíricamente estas hipótesis mediante la deducción de predicciones que pueden o no cumplirse en la realidad, y modificando las hipótesis en función del resultado obtenido en ese proceso (Gianella, 2017).

## 3.4. TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación es de nivel relacional en las cuales se utilizarán técnicas de observación, técnica de análisis fisicoquímico y de medición de parámetros las cuales permitirán la obtención de datos determinados para la resolución de la problemática establecida.

## 3.4.1. TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN

Para Fabbri (2018) este método es una "lectura lógica de las formas" y supone el ejercicio y "metodología de la mirada" (deconstrucción y producción de nueva realidad), la observación es un proceso cuya función primera e inmediata es recoger información sobre el objeto que se toma en consideración, esto implica una actividad de codificación. Fabbri (2018) también menciona que, el investigador hablará también de observación en oposición a experimentación; en tal caso, la observación designa esa fase de la investigación, consistente en familiarizarse con una situación o fenómeno determinado, en describirlo, en analizarlo con el fin de establecer una hipótesis coherente con el cuerpo de conocimientos anteriores ya establecidos.

#### 3.4.2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

Es una de las técnicas cuyo objetivo es estudiar las relaciones entre propiedades físicas y composición del sistema para establecer interacciones entre los componentes químicos (Innotec, 2019).

#### 3.5. FACTOR DE ESTUDIO

Extracto de las hojas de piñón (Jatropha curcas).

#### 3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL

Para el desarrollo de esta investigación se utilizaron 16 cajas de Petri constituidas por 20 garrapatas como unidad experimental, distribuidas por tratamiento y repeticiones con un total de 320 garrapatas en fase adulta del género *Rhipicephalus microplus* con los extractos correspondientes para el estudio *in vitro*.

#### 3.7. VARIABLES A MEDIR

#### 3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Extracto de las hojas piñón (Jatropha curcas)

#### 3.7.2. VARIABLES DEPENDENTES

#### 3.7.2.1. FÍSICO -QUÍMICOS

рΗ

Densidad (g/ml)

Índice de refracción

Acidez oleica (%)

Concentración de fenoles (%)

#### 3.7.2.2. EFECTO ACARICIDA IN VITRO

Mortalidad de las garrapatas por horas (%)

Supervivencia de garrapatas por horas (%)

#### 3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO

El procedimiento de la investigación se llevó a cabo por medio de tres fases. La primera fase, corresponde a la recolección, deshidratación, obtención y caracterización del extracto de las hojas de piñón (*Jatropha curcas*), la segunda fase se basó en la identificación de bovinos infestados y extracción de garrapatas en fase adulta para determinar la eficacia del acaricida *in vitro* y la tercera fase consistió en el estudio preliminar *in vivo*.

#### 3.8.1. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

En lo que respecta a esta fase, se recolectó 4kg de la planta de *J. curcas* utilizando las hojas, las cuales fueron deshidratadas a sombra en un lapso de tres semanas, posteriormente, se utilizó un molino industrial y tamiz para triturar y separar en distintas fracciones el material vegetal, resultando una reducción de 5 libras de la muestra en total.

#### 3.8.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

El producto de la molienda y tamizada de las hojas secas se diluyó en agua destilada y en proporciones 5:100, 7:100 y 9:100 donde, la proporción 7:100 se efectuó en base a revisión bibliográfica manifestadas por Tello *et al.* (2014), la proporciones sólido líquido 5:100 y 9:100 se estableció manera aleatoria.

La extracción fue sólida- líquida, y se las realizó a través de un equipo de ultrasonido por un tiempo de 30 minutos para cada extracción, el extracto acuoso obtenido se dejó reposar alejado de la luz en vasos de precipitación, se filtró con papel Whatman y se almaceno en frascos ámbar hasta su uso.

#### 3.8.3. ADICIÓN DE EMULSIONANTE GOMA ARÁBIGA

En los procesos de emulsificación de extractos se emplea la goma arábiga por ser un polisacárido complejo que contiene iones calcio, magnesio, propiedades de solubilidad, evita la oxidación y volatilización de los compuestos (Duran, 2006).

A continuación, se detalla el procedimiento realizado:

Una vez obtenido el extracto acuoso de las hojas de *J. curcas* filtrado, en un vaso de precipitación de 1000 mL se emulsionó empleando un agitador magnético y bala de teflón, a 3500 RPM y agregando paulatinamente goma arábiga al 1.6% para cada uno de los tratamientos.

#### 3.8.4. CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO DE HOJAS

Los parámetros que se determinaron fueron: pH, densidad, índice de refracción, acidez y concentración de fenoles. A continuación, se detalla los procedimientos realizados.

#### 3.8.4.1. pH

El pH de las muestras obtenidas se las realizó a través del método potenciómetro utilizando un medidor electrométrico de PH que funciona mediante un mecanismo de celda electroquímica (NTE INEN 1087).

El procedimiento realizado fue el siguiente:

En primera instancia se calibró el equipo con buffer pH 4 y 7, posteriormente se comprobó el correcto funcionamiento del medidor electrométrico de pH, seguidamente se determinó el pH introduciendo los electrodos del medidor electrométrico de pH en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que no toquen las paredes del recipiente, finalmente se procedió a tomar el pH a cada uno de los extractos obtenidos.

#### 3.8.4.2. **DENSIDAD**

Para determinar la densidad se empleó el método de picnómetros, que se basa en la diferencia de pesaje entre los picnómetros vacíos, con agua y con la muestra (Pérez *et al.*, 2016).

A continuación, se detalla el procedimiento utilizado: En primer lugar, mediante una balanza analítica se realizó el pesaje del picnómetro de 50 ml de volumen con una temperatura de 27 °C el cual obtuvo un peso de 26,8067g vacío, con la muestra presento un pesaje de 79.2027g y con agua destilada fue de 78,7488g. Finalmente se determinó la densidad mediante la siguiente formula:

$$\rho 27 \, {}^{\circ}C = \frac{m3-m1}{m2-m1} \, [1]$$

Donde:

p= temperatura del picnómetro

m3= Peso de picnómetro con muestra

m2= Peso de picnómetro con agua destilada.

m1= Peso de picnómetro vacío.

#### 3.8.4.3. ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Vizoso (2020) manifiesta que, es el cociente entre la velocidad de la luz en el vacío en forma de onda electromagnética y la velocidad de la luz en otro medio diferente; de esta manera, para determinar el índice de refracción se calibró el equipo con una gota de agua destilada en el prisma principal, luego se enfocó en el esquema que muestra dos prismas articulados y se colocó la muestra; posteriormente, se calibró el prisma de refracción P2 hasta observar una escala graduada, de esta manera se enfocó la luz por medio del espejo y se observó un ángulo en el lente; es así como, se determinó por el visor el valor del índice de refracción que se registra sobre la escala graduada entre: 1,3 y 1,7.

#### 3.8.4.4. PORCENTAJE DE ÁCIDO OLEICO

La acidez oleica se efectuó en base a revisión bibliográfica manifestadas por la INEN (2013), donde se determinó la acidez por método volumétrico empleando una solución estandarizada de hidróxido de sodio, usando fenolftaleína como indicador de reacción ácido-base.

A continuación, se detalla el procedimiento realizado:

Se pesó 5g de la muestra en un matraz Erlenmeyer y posteriormente se disolvió en 50 ml con alcohol y éter etílico, se agregó 3 gotas del indicador fenolftaleína al 1%, y desde la bureta dejar caer lentamente la solución 0.1 N de hidróxido de sodio estandariza hasta conseguir en la muestra un color rosado que persista durante 30s. Se anotó el consumo gastado en la titulación de hidróxido. Finalmente se midió

la cantidad de agente titulante gastado (o gasto de bureta) y se utilizó la normalidad de la sustancia, no obstante, se evidenció un color rosa lo cual indicó presencia de reacción ácido-base.

#### 3.8.4.5. CONCENTRACIÓN DE FENOLES

La concentración de fenoles totales para las tres soluciones obtenidas se determinó mediante espectrofotometría UV visible empleando el método de Folin-Ciocalteu usando ácido gálico como material de referencia (Gutiérrez *et al.*, 2008).

A continuación, se detalla el procedimiento de la determinación de concentración de fenoles y curva de calibración:

Se preparó una disolución patrón de ácido gálico de 0.1g/L, para lo cual se pesó en una balanza analítica 0.01g en 100 ml de agua destilada y se colocó en un matraz aforado de 25 ml, de la misma manera se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20%, pesando 5 gramos de carbonato de sodio en un matraz aforado de 25 ml, inicialmente se disolvió en 15 ml de agua destilada.

Por otro lado, se preparó una disolución 1N del reactivo de Folin-Ciocalteu por medio de una dilución 1:2 de reactivo comercial (2N) en agua destilada; el reactivo se protegió de la luz y se colocó en refrigeración hasta su uso, se tomaron 2 ml de cada extracto, se colocaron en un matraz erlenmeyer y se les agregó 20 ml de agua destilada y se agitó; seguidamente, se tomaron 0,5 ml de cada una de estas disoluciones y se mezclaron con 0,75 ml de reactivo dejando en reposo a temperatura ambiente por cinco minutos.

Posteriormente se agregó 0,75 ml de carbonato de sodio al 20 %. Se agitó fuertemente para luego dejar reposar durante 90 min a temperatura ambiente. Después de un barrido espectral se midió la absorbancia a 610 nm en el espectrofotómetro. Este procedimiento se realizó para el blanco, estándares y muestras, simultáneamente se realizó un barrido de la absorbancia a las muestras cuya longitud de onda fue de 610 nm; una vez obtenidos los valores de absorción se procedió a utilizar la curva de calibración con la finalidad de cuantificar los fenoles totales (figura 1) y relacionar los valores de absorbancias en función de la

concentración de los estándares y las muestras a través del método de los mínimos cuadrados.

Se encontró la recta de calibrado ajustada a una serie de "n" puntos experimentales, definido por una variable "x" (variable independiente, concentración del extracto) y una variable "y" (variable dependiente, absorbancia). La recta de calibrado se definió por una ordenada al origen (b) y una pendiente (m), mediante la ecuación y = mx + b. Conjuntamente, los datos experimentales permitieron calcular y justificar la linealidad mediante el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), este último fue mayor a 0,995. En las mediciones de la absorbancia, la respuesta instrumental se interpoló con la recta de calibración, obteniéndose concentraciones de 4.1, 4.24 y 4.3 % de fenoles en el extracto de hojas de piñón.

# 3.8.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA *IN VITRO* DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO

#### 3.8.5.1. IDENTIFICACIÓN Y EXTRACCIÓN DE GARRAPATAS EN BOVINOS

Se identificaron bovinos infestados de garrapatas en fase adulta procedentes del hato bovino de la ESPAM- MFL. Una vez ubicados los bovinos en la manga del hato se procedió a extraer los ectoparásitos de forma manual, con el uso de guantes y con medidas preventivas para evitar daños en sus estructuras, la totalidad de los especímenes fueron de 320 garrapatas que fueron colocadas en un recipiente de vidrio adecuado para su traslado en un lapso de cinco minutos hasta el UDIV Laboratorio de Química, ubicado en la Carrera de Medicina Veterinaria de la ESPAM-MFL. En el laboratorio se revisaron cada una para desechar las muertas o mutiladas sustituyéndolas en caso de ser necesario.

#### 3.8.5.2. APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS Y REPETICIONES

En el laboratorio se pesaron y formaron grupos homogéneos de 20 garrapatas en fase adulta por tratamientos y repeticiones las cuales fueron empleadas en 16 cajas de Petri en total. Teniendo en cuenta a Lopera *et al.* (2017) la exposición de las garrapatas a los extractos, se realizó mediante la prueba de inmersión de adultas (AIT) "Adult Inmersion Test" por sus siglas en inglés. Seguidamente se depositó 3

ml de la dilución del extracto, las cuales se sumergieron completamente, permaneciendo durante 10 minutos completado este tiempo, se eliminará la totalidad del extracto.

A continuación, las cajas de Petri se rotularon y fueron colocadas en una incubadora a una temperatura de 28 a 30°C y humedad relativa de 72 a 80%. La lectura de mortalidad de las garrapatas se realizó a los 24, 48, 72 y 96 h. Se consideraron como garrapatas muertas, aquellas que presentaron ausencia de movimientos en sus extremidades y una tonalidad diferente. Se llevó a cabo observaciones periódicas y se realizaron seguimiento de los datos; hasta el punto de poder calcular la eficacia de los extractos naturales en la supervivencia y mortalidad de las garrapatas (Rodríguez y Pulido, 2015).

#### 3.8.6. ESTUDIO PRELIMINAR IN VIVO

Se identificaron tres bovinos infestados de garrapatas, procedentes de la finca Don Rosero ubicada en el sitio Andarieles del cantón Junín, posteriormente se colocaron los bovinos en un manga para realizar el conteo de garrapatas en dos zonas corporales: Dorsal anterior (cuello) y ventral posterior (genitales), se aplicó el T2 con la concentración de (4.24%), del extracto de hojas de *Jatropha curcas* que fue la que presentó mayor efecto acaricida *in vitro* por aspersión, en las dos áreas corporales antes mencionadas (más prominentes a la infestación) en dosis de 1L por animal, mediante una ficha de observación se analizó la actividad garrapaticida mediante mortalidad y supervivencia de los especímenes por 24, 48, 72 y 96 horas.

#### 3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para esta investigación se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con un total de tres tratamientos más testigo, con cuatro repeticiones, el modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ijk}$$
 [2]

Donde:

 $Y_{iik}$  = Es la j-ésima observación de la i-ésima población

μ= Media general

 $\alpha_i$ = Efecto del *i-ésimo* tratamiento

 $\varepsilon_{ijk}$  = Error experimental

Para lo cual se aplicó el siguiente esquema del ADEVA (tabla 3)

Tabla 3. Esquema ADEVA.

Grados de libertad

15

Total 15

Tratamiento 3

Error experimental 12

A continuación, se detallan los tratamientos:

Fuente de variación

**T0:** Amitraz al 20.8%.

T1: Extracto de las hojas de *Jatropha curcas* (piñón) al 4.1% de concentración.

T2: Extracto de las hojas de Jatropha curcas (piñón) al 4.24 % de concentración.

**T3:** Extracto de las hojas de *Jatropha curcas* (piñón) 4.3 % de concentración.

### 3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La recolección de los datos obtenidos se registró en el software Microsoft Excel (2016), el análisis estadístico se realizó en el paquete InfoStat (2020), se efectuó los supuestos de ANOVA (normalidad y homogeneidad de varianza); para las variables con normalidad se utilizó un DCA con prueba de Tukey al 5% de probabilidad y para las variables que no cumplen con los supuestos se utilizó el test de Kruskal-Wallys y se separó las medianas por pares, se presentaron las tablas con promedio y desviación estándar.

### CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# 4.1. DETERMINACIÓN DE TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN DE FENOLES EN EL EXTRACTO DE Jatropha curcas

Los Resultados del ajuste lineal por el método de los mínimos cuadrados, para cada una de las muestras permitió obtener la ecuación:y = 0.2478x - 0.1694 y el valor para el coeficiente de determinación:  $R^2 = 0.9946$ .

A la vista del resultado analítico (figura 1) podemos afirmar que, el ajuste del modelo es bueno, ya que el valor de R2 = 0,9946 es cercano al número uno, en concreto, el porcentaje de variabilidad de la variable y respecto a su media, es explicado por el modelo de regresión ajustado; por lo tanto, el modelo lineal es el adecuado para describir la relación que existe entre variables. También se puede visualizar que la curva lineal está muy cercana de los puntos medidos lo cual indica que, por efecto, las variables pueden ser representadas linealmente.

Los resultados del análisis de la varianza para regresión del paquete estadístico InfoStat (anexo 8-B) evidenció que, la regresión lineal es la que mejor se ajusta con un p-valor<0.05, demostrando que, si existe una asociación de tipo lineal entre las variables absorbancia y concentración, lo cual valida que el modelo utilizado en la curva de calibración (figura 1) es el correcto.

En la determinación de los tres niveles de concentración para las muestras del extracto de las hojas de piñón, la curva de calibración estableció por efecto de absorbancia los siguientes: 4.1, 4.24 y 4.3% de fenoles.

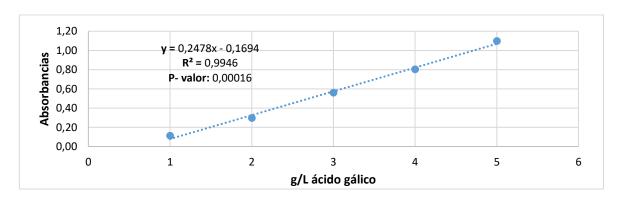


Figura 1. Curva de calibración para determinar fenoles en el extracto de Jatropha curcas

Estos resultados difieren, a los expresados por Cruz (2020), donde se determinó la concentración de fenoles totales presentes en extractos vegetales como *Salvia officinalis* desarrollado mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando el ácido gálico como material de referencia en el que se obtuvo una concentración variada desde 0.2492 g/L hasta 1.5032 g/L.

# 4.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL EXTRACTO

En la tabla 4, se muestran los resultados relacionados al análisis de las medias de la caracterización de los parámetros físicos-químicos del extracto, en donde se puede visualizar que hubo diferencias significativas en la variable de pH entre todos los tratamientos. El T2  $(6,60 \pm 0,29)$  presentó un mayor nivel de pH y ostentó diferencias significativamente (p<0,05) en comparación a los demás tratamientos; mientras que, el T1  $(5,10 \pm 0,08)$  y T3  $(5,92 \pm 0,58)$  mostraron los menores niveles de pH y no difirieron entre ellos, destacando que el parámetro pH obtuvo diferencias significativas en comparación con los demás parámetros físicos-químicos evaluados.

Los resultados de la variable densidad en relación al análisis de las medias se puede observar que, no existe diferencias estadísticas (p>0,05) entre tratamientos, sin embargo, se encontró que el mayor valor de densidad lo obtuvo el T3 (1,06  $\pm$  0,04); seguido por el T2 (1,03  $\pm$  0,04); por último, el valor que menor densidad presentó fue el T1 (1,02  $\pm$  0,01).

Los resultados del parámetro índice de refracción referente al análisis de las medias presentados en la tabla 4, donde se puede observar que, no existe unas diferencias significativas (p>0,05) entre tratamientos; no obstante, se halló que el T2 (1,35  $\pm$  0,01) fue el que ostentó mayor índice de refracción; seguido por el T3 (1,34  $\pm$  0,01); por último, el menor índice de refracción lo obtuvo el T1 (1,33  $\pm$  0,02).

Los resultados del análisis de medias de la variable acidez como se puede observar en la tabla 4, no existe diferencias significativas (p>0,05) entre tratamientos, sin embargo, se encontró que el mayor valor de acidez lo obtuvo el T3 (0,88  $\pm$  0,03);

mientras que, el T2  $(0.87 \pm 0.07)$  y el T1  $(0.87 \pm 0.05)$  presentaron los menores valores de acidez.

Densidad G/MI **Tratamiento** Índice de Refracción **Acidez** pН T1 4.1 % 5,10 (±0,08) B 1,02 (±0,01) 1,33 (±0,02) 0,87 (±0,05) T2 4.24% 6,60 (±0,29) A 1,03 (±0,04) 1,35 (±0,01)  $0.87 (\pm 0.07)$ T3 4.3% 5,92 (±0,58) B 1,06 (±0,04) 1,34 (±0,01)  $0.88 (\pm 0.03)$ P valor 0.0012 0,1923 0.2084 0,9791 E.E 1.2922 0.0098 0.0020 0.0993

**Tabla 4.** Caracterización de extracto de las hojas de piñón

**Nota:** Promedio con letras distintas en la columna, difieren significativamente según la prueba de tukey al 5% de probabilidad, n. s. No significativo. **P valor** Diferencia significativa al 5% \* Diferencia altamente significativa al 1%\*\*. **E.E.** Error estándar

Desde la perspectiva de Lafargue (2012), las composiciones fisicoquímicas del piñón (*Jatropha curcas*) varía en relación a la estructura de la planta, su densidad e índice de refracción suele ser la misma, no obstante, el pH y el índice de acidez suele variar por las partes de la planta o el tipo de procesamiento que le realicen.

Como tal, no se han ampliado antecedentes investigativos sobre las composiciones fisicoquímicas de la hoja del piñón (*Jatropha curcas*), generalmente estos parámetros son empleados hacia investigaciones relacionadas a la extracción de aceites para el uso de combustibles y estudios de actividad para el control de plagas como el de Córdova (2014). Sin embargo, los índices del aceite con 4,6 de pH, 0,90 de densidad y 0,80 de acidez mantienen parámetros similares a los presentados en estudio en relación a las hojas de la planta (Soca *et al.*, 2018).

# 4.3. EVALUACIÓN IN VITRO DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE PIÑÓN (Jatropha curcas) EN LAS GARRAPATAS DEL GANADO BOVINO

### 4.3.1 MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS *IN VITRO* A LAS 24 HORAS.

En la tabla 5, se muestran los resultados referente a las medias de mortalidad de garrapatas entre tratamientos, en donde se visualiza que, hubo una diferencia significativa (P < 0.05) entre todos los tratamientos y el T2 ( $17.75 \pm 0.50$ ) presentó la mayor mortalidad y ostentó diferencias significativas (P < 0.05) en comparación a

los demás tratamientos; mientras que, el T0 y T1 mostraron la menor mortalidad y no difirieron entre ellos, a la vez que, el T1 (13,25  $\pm$  0,96) no difiere del T3 (15,25  $\pm$  0,96).

Los resultados de la supervivencia de garrapatas a las 24 horas, se puede observar que, hubo diferencias significativas (P<0,05) entre todos los tratamientos y el T2  $(2,25\pm0,50)$  obtuvo el menor valor de supervivencia y presentó diferencias significativas (P<0,05) en comparación a los demás tratamientos, mientras que, el T0 y el T1 obtuvieron los mayores valores de supervivencia y no difirieron entre ellos, a la vez que, se pudo observar que el T1  $(6.75\pm0,96)$  no difiere del T3  $(4,75\pm0,96)$ .

Variables **Tratamientos** Mortalidad Supervivencia T0 Amitraz 20.8% 12,25 (±1,26) С 7,75 (±1,26) C T1 4.1% 13,25 (±0,96) С 6,75 (±0,96) ВС В T2 4.24% **17,75** (±0,50) Α  $2,25(\pm 0,50)$ Α T3 4.3 % 15,25 (±0,96) 4,75 (±0,96) В <0.0001 <0.0001 p-valor E.E. 11.0000 11.0000

Tabla 5. Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 24 horas

Promedio con letras distintas en la columna, difieren significativamente según la prueba de tukey al 5% de probabilidad; n.s. No significativo. \*Diferencia significativa al 5%\*\* Diferencia altamente significativa al 1%. E.E. Error estándar

Estos datos se asemejan con lo de Soca *et al* (2018), los cuales muestran los porcentajes de repelencia para las sustancias evaluadas a las 2, 4, 8, 16 y 24 horas respectivamente, los cuales fueron superiores a los 89% para los aceites de *J. curcas*, esto se debe a los componentes químicos que contiene el aceite.

# 4.3.2. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS A LAS 48 HORAS

En la tabla 6, se muestran los resultados relacionados a las medias de mortalidad de garrapatas entre tratamientos, en donde se visualiza que, hubo diferencias significativas (P<0,05) entre todos los tratamientos y el T2 (18,75  $\pm$  0,50) ostentó el mayor valor de mortalidad de garrapatas; el mismo que, no difiere del T3 (17,25  $\pm$  0,50) mientras que, el T0 (13,00  $\pm$  1,63) y T1 (15,75  $\pm$  0,96) presentaron el menor valor de mortalidad y difirieron estadísticamente entre ellos; a la vez que, el T1 no difiere del T3.

Los resultados de la supervivencia de garrapatas a las 48 horas, en lo referente al análisis de las medias, se observar que, hubo diferencias significativas entre todos los tratamientos, en donde el T2  $(1,25 \pm 0,50)$  y T3  $(2,75 \pm 0,50)$  lograron el menor valor de supervivencia de garrapatas y no difirieron entre ellos; mientras que, el T0 y el T1 fueron los que presentaron mayor valor de supervivencia y difirieron estadísticamente entre sí, a la vez que, el T1 no difiere del T3.

**Tabla 6.** Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 48 horas

Tratamientos		Variables		
<del></del>	Mortalidad		Supervivencia	
T0 Amitraz 20.8%	13,00(±1,63)	С	7,00 (±1,63)	С
T1 4.1%	15,75(±0,96)	В	4,25 (±0,96)	В
T2 4.24%	18,75(±0,50)	Α	1,25(±0,50)	Α
ГЗ 4.3%	17,25 (±0,50)	AΒ	2, 75 (±0,50)	АВ
p-valor	<0,0001		<0,0001	
E.E.	12,2500		12,2500	

Promedio con letras distintas en la columna, difieren significativamente según la prueba de tukey al 5% de probabilidad;n.s. No significativo. \*Diferencia significativa al 5%; \*\* Diferencia altamente significativa al 1%. E.E. Error estándar.

Un ejemplo de lo explicado anteriormente es el estudio de Rodríguez y Pulido (2016), donde se observó una mortalidad acumulada en aumento con el tratamiento con extracto vegetales (*Morus alba*) desde las 48 hasta las 96 post- aplicación, en el extracto puro y sus diluciones. El extracto puro de morera mostró una mortalidad de 73,3 % en garrapatas adultas, evaluadas a nivel *in vitro* a diferencia de los demás tratamientos.

### 4.3. 3. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS *IN VITRO* A LAS 72 HORAS

En la tabla 7, se muestran los resultados relacionados con las medias de mortalidad de garrapatas entre tratamientos, en donde se visualiza que, hubo diferencias significativas (P<0,05) entre todos los tratamientos y el T2 (19,75  $\pm$ 0,50) se puedo observar una mayor mortalidad de garrapatas, el mismo que, no difiere del T3 (18,50  $\pm$  0,58), mientras que, el T0 (16,25  $\pm$ 0,96) y T1 (17,50  $\pm$ 0,58) presentaron la menor mortalidad y no difirieron entre ellos; a la vez que, el T1 no difiere del T3.

Los resultados de la supervivencia de garrapatas a las 72 horas, en relación al análisis de las medias, se puede visualizar que hubo diferencias significativas

(P<0,05) entre todos los tratamientos y el T2 (0,25  $\pm$  0,50) presentó el menor valor de supervivencia; el mismo que, no difiere del T3; mientras que, el T0 y el T1 presentaron mayor supervivencia y no difirieron entre ellos, a la vez que, el T1 (2.50  $\pm$  0,58) no difiere del T3 (1,50  $\pm$  0,58).

**Tabla 7.** Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 72 horas

Tratamientos		Variables		
	Mortalidad	Mortalidad Supervivend		
T0 Amitraz 20.8%	16,25 (±0,96)	С	3,75 (±0,96)	С
T1 4.1%	17,50 (±0,58)	ВС	2,50 (±0,58)	BC
T2 4.24%	19,75 (±0,50)	Α	0,25 (±0,50)	A
T3 4.3%	18.50 (±0,58)	ΑВ	1,50 (±0,58)	A B
p-valor	0,0001		0,0001	
E.E.	5,5000		5,5000	

Promedio con letras distintas en la columna, difieren significativamente según la prueba de tukey al 5% de probabilidad; n.s. No significativo. \*Diferencia significativa al 5%; \*\* Diferencia altamente significativa al 1%. E.E. Error estándar.

Estos resultados son similares al estudio realizado por Rodríguez y García (2017), en donde se demostró que la eficacia del producto sintético amitraz, reveló valores inferiores con relación a los demás acaricidas evaluados, y mostró una mortalidad sumamente baja (38.5%) presentando una eficacia mínima aceptada internacionalmente, la cual debe ser igual o mayor de 90%.

### 4.3.4. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS A LAS 96 HORAS

En la tabla 8, se aprecian los resultados relacionados a las medias de mortalidad de garrapatas entre tratamientos, en donde se puede observar que, el T2 (20,00  $\pm$  0,00) ostentó el mayor valor de mortalidad de garrapatas y presentó diferencias significativas (P<0,05) en comparación a los otros tratamientos; mientras que, el T0 y T1 obtuvieron menor mortalidad y no difieren entre ellos, a la vez que, el T0 (18,25  $\pm$  0,50) no difiere del T3 (18,75  $\pm$  0,50).

Los resultados de la supervivencia de garrapatas a las 96 horas, en relación al análisis de las medias, evidenció que hubo diferencias significativas entre todos los tratamientos y el T2  $(0.00 \pm 0.00)$  logró la menor supervivencia y presentó diferencias significativas (P<0.05) en comparación a los demás tratamientos, mientras que, el T0  $(1.75 \pm 0.50)$  y T1  $(2.25 \pm 0.50)$  obtuvieron mayor valor de

supervivencia y no difirieron entre ellos; a la vez que el T0  $(1,75 \pm 0,50)$  no difiere del T3  $(1,25 \pm 0,50)$ .

Tabla 8. Mortalidad y supervivencia de garrapatas in vitro a las 96 horas

Tratamientos		Variabl	es	
	Mortalidad		Supervivencia	
T0 Amitraz 20.8%	18,25 (±0,50)	ВС	1,75 (±0,50)	ВС
T1 4.1%	17,75 (±0,50)	С	2,25 (±0,50)	С
T2 4.24%	20,00 (±0,00)	Α	0,00 (±0,00)	Α
T3 4.3%	18,75 (±0,50)	В	1,25 (±0,50)	В
p-valor	0,0001		0,0001	
E.E.	2,2500		2,2500	

Promedio con letras distintas en la columna, difieren significativamente según la prueba de tukey al 5% de probabilidad; n.s. No significativo. \*Diferencia significativa al 5%; \*\* Diferencia altamente significativa al 1%. E.E. Error estándar.

En investigaciones aplicadas en Ecuador como la de López (2020) se observó que, los tratamientos a las 96 horas post-aplicacion obtuvieron un mayor porcentaje de mortalidad de *Rhipicephalus microplus*, en el tratamiento de un extracto acaricida a base de ruda con dosis de 100ml/L presentó un promedio del 50% de mortalidad y la dosis de 50ml/L presentó mortalidad con el 33,33%. En estudios similares realizados por Sanis *et al.* (2012), reportaron que la eficacia de un extracto de las hojas de *Jatropha curcas* inhiben la eclosión de los huevos puestos por garrapatas tratadas y podría atribuirse a la presencia de sus principios activos como la flavona y apigenina que causan una disminución en el nivel de ecdisteroide activo al inhibir la enzima P450.

# 4.4. ESTUDIO PRELIMINAR *IN VIVO* DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS *Jatropha curcas* AL 4.24% DE CONCENTRACIÓN

# 4.4.1. MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DE GARRAPATAS EVALUADAS POR HORAS

Se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallys, a las variables mortalidad y supervivencia evaluadas por horas, las cuales no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, con la finalidad de medir la eficacia del extracto de las hojas de *Jatropha curcas* al 4.24% de concentración a través de un estudio preliminar *in vivo* aplicado al ganado bovino.

En la tabla 9, se puede observar los resultados relacionados a las medias de mortalidad de garrapatas entre horas, donde se evidenció que, no existe diferencias estadísticas (p>0,05) entre las horas evaluadas, sin embargo, se encontró que el mayor valor de mortalidad se obtuvo a las 96h (249,67  $\pm$  112,96); seguido por las 72h (244,33  $\pm$  108,97), por último, los valores que menor mortalidad de garrapatas presentaron fueron a las 24 (200,00  $\pm$  100,50) y 48 horas (226,33  $\pm$  115,33) post aplicación.

Los resultados de la variable supervivencia de garrapatas, en relación al análisis de las medias, en donde se visualiza que, hubo diferencias significativas (P<0,05) entre todas las horas evaluadas y a las 96h (6,67  $\pm$  0,58), obtuvo el menor valor de supervivencia de garrapatas y presentó diferencias significativas (P<0,05) en comparación en comparación a las demás horas; el mismo que, no difiere de las 72h (10,00  $\pm$ 1,00), mientras que, a las 24h (56,33  $\pm$  11,93) y 48h (30,00  $\pm$  6,08) ostentaron mayor supervivencia y no difirieron entre ellos; a la vez que a las 48h (30,00  $\pm$  6,08) no difiere de las 72h (10,00  $\pm$ 1,00).

**Tabla 9.** Estudio preliminar *in vivo* de las variables Mortalidad y supervivencia de garrapatas evaluadas por horas.

Variables							
Horas	Mortalidad	Supervivencia					
24	200,00 (±100,50)	56,33 (±11,93) C					
48	226,33 (±115,33)	30,00 (±6,08) B C					
72	244,33 (±108,97)	10,00 (±1,00) A B					
96	249,67 (±112,96)	6,67 (±0,58) A					
p-valor	0,3916	0,0153					
E.E.	27,6050	6.1903					

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Los resultados expuestos se asemejan a los manifestados por Lopera *et al.* (2017), en la cual se reveló una reducción en el porcentaje de postura de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) de hasta el 90% cuando son tratadas con extracto vegetal a partir de las hojas de Jatropha, aunado a esto, varios estudios han sido conducidos a soportar la idea de que esta planta posee un amplio espectro de acción con actividad garrapaticida e insecticida.

### **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1. CONCLUSIONES.**

Los parámetros físico-químicos obtenidos en la caracterización del extracto de la hoja de *Jatropha curcas* no presentó diferencias significativas al (p>0,05) en las variables de densidad, índice de refracción y acidez en comparación con la variable del pH, en donde el T2 se diferenció estadísticamente de los demás tratamientos, de esta manera se determinó que la dilución 7:100 para la extracción sólida líquida por ultrasonido del extracto acuoso, sí influyo en el pH y por lo tanto en su actividad acaricida.

Se determinó mediante ensayos *in vitro* que el extracto de la hoja de piñón (*Jatropha curcas*) con una concentración al 4.24% correspondiente al T2 presentó mayor mortalidad de garrapatas a las 96 horas post-aplicación a diferencia del tratamiento testigo (amitraz), demostrando que los productos químicos utilizados en el control de ectoparásitos, han disminuido su efectividad debido a la resistencia que estos generan.

El extracto de las hojas de *Jatropha curcas* al 4.24% de concentración aplicado en un estudio preliminar *in vivo* al ganado bovino, evidenció que, el extracto de piñón presenta efectos acaricidas en el control de garrapatas y no hubo diferencias estadísticas (p>0,05) en las medias de mortalidad de garrapatas entre las horas evaluadas, sin embargo, se encontró que el mayor valor de mortalidad se obtuvo a las 96 horas.

#### **5.1. RECOMENDACIONES**

Los resultados obtenidos referentes a la caracterización del extracto acuoso obtenido de las hojas de piñón (*Jatropha curcas*) sirvan de base para adquirir conocimientos y herramientas para posteriores estudios en relación el campo teórico-práctico de la medicina veterinaria.

Dado que la problemática más crítica detectada en este estudio es el desarrollo de resistencia a los acaricidas sintéticos, el impacto ambiental y los residuos nocivos en la carne y leche, se deben emplear esfuerzos para concienciar a los productores sobre la importancia de controlar y minimizar estos factores con la finalidad de adquirir alternativas ecológicas, basadas en plantas que sustituya los productos químicos y garantice eficacia, baja toxicidad que permitan mejorar el nivel de producción en las ganaderías bovinas y el medio ambiente.

Se hace necesario consolidar o realizar estudios de garrapaticidas *in vivo* en concentraciones superiores al 4.24% del extracto de las hojas de *Jatropha curcas* (piñón) para obtener mejores resultados en cuanto al control de garrapatas en bovinos.

#### **BIBLIOGRAFIA**

- Asela, M., Suárez, S., & Palacio, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista cubana de Higiene y Epidemiología, vol.*52 (núm.3), paginas 1-30. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1561-30032014000300010
- Bavera, G. (19 de 08 de 2016). Advierten que el uso irresponsable de garrapaticidas podría perjudicar las exportaciones bovinas. Sitio Argentino de Producción Animal.https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\_intoxicaciones\_metabolicos/parasitarias/Bovinos\_g arrapatas\_tristeza/67-uso\_irresponsable.pdf
- Benavides, E., Romero, R., & Villamil, L. (09 de Enero de 2017). *Guía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio climático*.IICA. http://repiica.iica.int/docs/B4212e/B4212e.pdf
- Carballo, M., & Guelmes, E. (2016). Algunas consideraciones acerca de las variables en las investigaciones. *Revista Universidad y Sociedad, vol.* 8 (no.1), pag 140-150. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S2218-36202016000100021
- Campo, Y., & Gélvez, V. A. (2018). Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado). *Scielo, Vol. 16* (núm.1), pag 11-113. https://doi.org/doi: http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v16n1.628
- Cañarte, E., Valarezo, O., & Navarrete, B. (2017). Estudio de la artropofauna asociada a piñón (*Jatropha curcas L.*) En Manabí, Ecuador. *Revista Científica Ecuatoriana, vol.*1 (núm.4), pp.58-66. https://doi.org/DOI:10.36331/revista.v4i1.30
- Casteblanco, J. (2018). Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. *Scielo, vol.27* (núm.1), pag 21-35 Https://doi.org/https://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.02
- Chacón, O., Arroyo, N., Archila, A., & Chacón, O. (2018). Extracción enzimática del aceite de *Jatropha curcas* L., Oecopetalum mexicanum Y Pistacia vera. *Agro productividad, Vol. 11* (núm.7), paginas 15- 19. file:///C:/Users/CLIENTE/Downloads/91-88-PB%20(1).pdf
- Córdova, L. (2014). Composición química del aceite de jatropha curcas y su actividad sobre el crecimiento, morfología y viabilidad de fusarium oxysporum f. Sp. Gladioli. [Tesis de Pregrado, Instituto Politécnico Nacional de Yautepec]. Repositorio Institucional. https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/14686/Tesis%202014%20

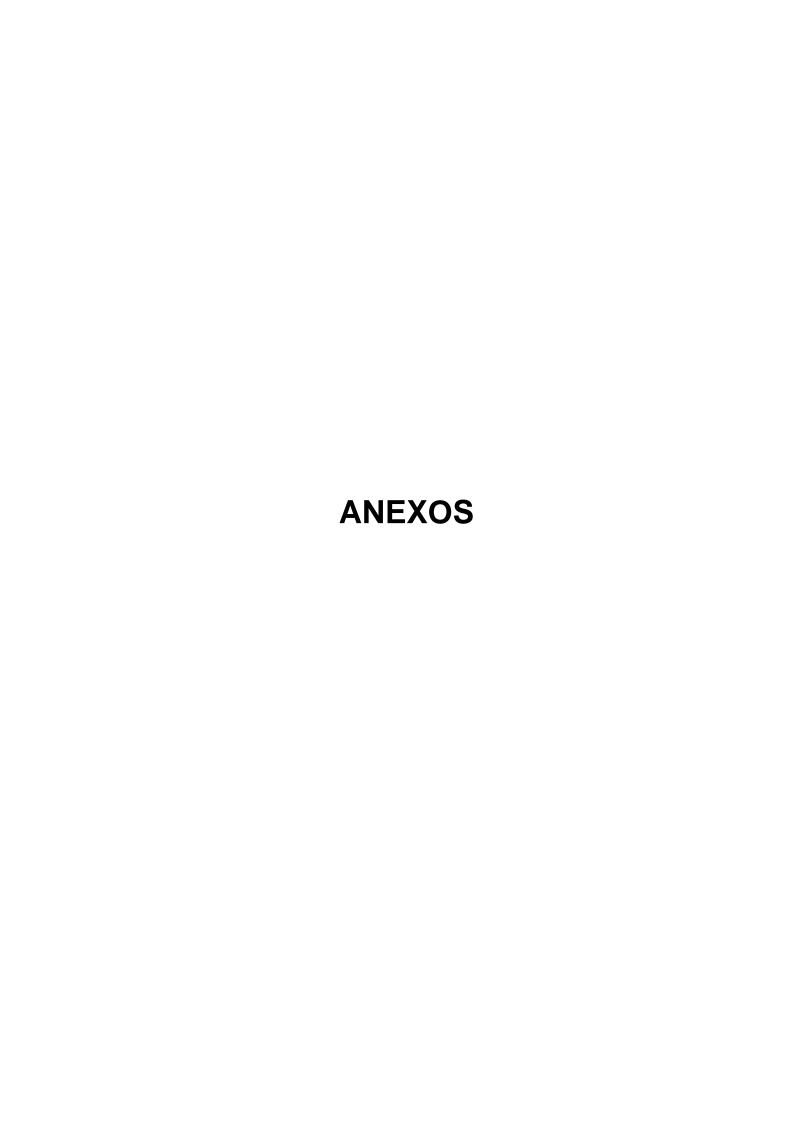
- Doctorado%20Liliana%20Carolina%20C%c3%b3rdova%20Albores.pdf?se quence=3&isAllowed=y
- Cruz, J. (2020). Determinación de fenoles y flavonoides en extractos de hojas de plantas con actividad antioxidantes empleando espectroscopia FTIR y análisis multivariado. [Tesis de grado, Instituto Politécnico Nacional de Tepatitlán Tlaxcala]. Repositorio Institucional. http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/30097
- Culma, N., & Suárez, N. (2018). Daño colateral en abejas por la exposición a pesticidas de uso agrícola. *Ciencias Agrigolas, Vol. 14* (núm.1), pag 232–240. https://doi.org/https://doi.org/10.18041/entramado.2018v14n1.27113
- Domingo, R., Téllez, D., Hernandez, M., & De la cruz, E. (2015). Evaluación de cinco sustratos para la obtención de plantas de la especie Jatropha. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias, Vol.2 (No.2), pag 169-184. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias\_Naturales\_y\_Agropecuarias/vol2num2/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%202%20Final\_7.pdf
- Duran, F. (2006). Manual del Ingeniero de Alimento. Grupo Latino Ltda web site: www.gleditores.com. https://es.scribd.com/document/390767629/Manual-Del-Ingeniero-Alimentos-Digi
- Echeverría, R., Rengifo, L., & Ramírez, A. (13 de Febrero de 2015). *Manual de producción de Piñón blanco ¡Jatropha curcas Linn!*.INTA. file:///C:/Users/CLIENTE/Downloads/Echeverria-Manual\_de\_produccion\_de\_pi%C3%B1on.pdf
- Espinosa, L., & Guzmán, E. (2007). Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del ácaro Varroa destructorde las abejas (Apis mellifera L.) en Villa Guerrero, Estado de México. *Veterinaria México, vol. 38* (núm. 1), pp. 9-19. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42338102
- Fabbri, M. (01 de 04 de 2018). Las técnicas de investigación: la observación. http://institutocienciashumanas.com/wp-content/uploads/2020/03/Las-t%C3%A9cnicas-de-investigaci%C3%B3n.pdf
- Gallardo, G., Chávez, J., & Contreras, M. (2019). Evaluación del efecto antibacteriano del látex de Jatropha curcas "piñón" frente a Staphylococcus aureus. *redaly, vol.16* (núm.1), pp. 105-114. https://doi.org/https://doi.org/10.21676/2389783X.2533

- Gianella, A. (23 de Febrero de 2017). Los metodos de la ciencia y la investigación. Introducción a la Epistemología y a la Metodología de la Ciencia.: https://miel.unlam.edu.ar/data/contenido/2403-B/El-Metodo-Hipotetico-Deductivo2.pdf
- Guerrero, Y. (2019). Optimización del proceso de transesterificación convencional del aceite de piñón blanco (Jatropha curcas L.) aplicando nuevos parámetros de concentración de metanol e hidróxido de sodio. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de San Martín -Tarapoto]. Repositorio Institucional. https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/11458/3512/1/ING.%20AGROIND .%20-%20Yoel%20Guerrero%20Chuquilin.pdf
- Gutiérrez, M., Ortiz, C., & Mendoza, A. (14 de Octubre 1 de 2008). *Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para*. Simposio de Metrología 2008. file:///C:/Users/CLIENTE/Downloads/SM2008-M220-1108.pdf
- Idrees, M., Habib, S., Hussain, N., Kandhro, F., Lodhi, N., Islam, N., & Aqeel, M. (2021). Determination of antimicrobial and phytochemical compounds of Jatropha curcas plant. *Science*, *Vol.28* (núm.5), Pages 2867-2876. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.019
- INEN. (10 de Julio de 2013). Leche. Determinación de la acidez titulable. Norma técnica ecuatoriana. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\_inen\_13-1-C.pdf
- INEN. (26 de Marzo de 2013). Bebidas gaseosas. determinación del pH. Norma técnica ecuatoriana. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\_inen\_1087.pdf
- Innotec. (2019). *Análisis físico químico*. Innotec laboratorios. https://www.innotec-laboratorios.es/analisis-de-alimentos/analisis-fisico-químico/
- Lafargue, F., Díaz, M., Barrera, N., Rodríguez, C., & Chitue, J. (2012). Caracterización físico-química del aceite vegetal de *Jatropha curcas* L. *Redalyc, Vol.*32 (núm.2), pag 162-165. https://www.redalyc.org/pdf/4455/445543776007.pdf
- Lopera, J., León, G., Guzmán, P., & Escobar, C. (2017). Efecto de los extractos vegetales de Jatropha curcas y *Anonna muricata sobre teleoginas* de la garrapata común del ganado *Ripichephalus (Boophilus) microplus* bajo condiciones de laboratorio. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, Vol. 12(*núm.1). https://doi.org/https://doi.org/10.21615/cesmvz.12.1.2

- López.(2020). Efectos de los extractos de ruda [tesis de pregrado, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí] Repositorio uleam. https://repositorio.uleam.edu.ec/bitstream/123456789/3355/3/ULEAM-AGRO-0109.pdf
- Navarrete, R., Rodríguez, E., & Vallles, C. (29 de Julio de 2014). *Principales géneros y especies de garrapatas (Ixodidae) encontradas en.* Catalogo de garrapas: https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5989/2/CATALOGO%20DE%20GARRAPATA S%20.pdf
- Noguera, B. (21 de Agosto de 2020). Extracción sólido-líquido: Método gráfico. Ingenería Química: https://www.ingenieriaquimicareviews.com/2020/08/extraccion-solido-liquido-metodo-grafico.html
- Pabón, L., & Hernández, P. (2012). Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales, vol.17* (núm.2), paginas 10-70. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1028-47962012000200008
- Pérez, Y., Rodríguez, E., Aguilar, M., & Hung, B. (2016). Caracterización físicoquímica de extractos de *Spondias mombin L. Revista Cubana de Química,* vol.28 (núm.1), pp. 444-449. https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543743008.pdf
- Polanco, D., & Ríos, L. (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Corpoica Ciencias Tecnologicas Agropecuaria, Mosquera, Vol.17* (núm.1), paginas 81-95. http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v17n1/v17n1a08.pdf
- Rodríguez, C., & Pulido, N. (2015). Eficacia de extractos vegetales sobre la garrapata adulta Rhipicephalus (*Boophilus*) *microplus* y su oviposición. *Rev Cubana* Plant Med, *vol.20* (núm.4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1028-47962015000400002
- Rodríguez, R., Ojeda, M., Ojeda, R., & Daniele, M. (2021). Otobius megnini: La garrapata espinosa. *Bioagrociencias, Vol. 14,* (núm.2), 59-68. https://www.researchgate.net/profile/Roger-Ivan-Rodriguez-Vivas/publication/357032023\_Otobius\_megnini\_La\_garrapata\_espinosa\_de I\_oido/links/61b8dbb34b318a6970df9e3b/Otobius-megnini-La-garrapata-espinosa-del-oido.pdf

- Rodriguez, R., Ojeda, M., Sánchez, S., & Torres, M. (2022). La garrapata Amblyomma ovale: otro potencial vector de agentes patógenos para animales y humanos [Divulgación]. *Bioagrociencias, Vol. 15,* (núm.1), 28-37. https://doi.org/DOI:10.56369/BAC.4242
- Rodríguez, C., & Pulido, N. (2015). Eficacia de extractos vegetales sobre la garrapata adulta *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y su ovoposición. *Revista cubana de Plantas Medicinales, Vol.* 4, (núm. 20), paginas 375- 388. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1028-47962015000400002
- Rodríguez, J., Pulido, M., & Garcia, D. (2017). Resistencia in vitro de la garrapata Rhipicephalus microplus a organofosforados, piretroides y amitraz en el Departamento de Boyacá, Colombia. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Vol.58* (núm.1), paginas 17-23. http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0258-65762017000100003&script=sci\_abstract
- Saavedra, S., Valencia, J., & Palacios, J. (2018). Análisis del rendimiento en la extraccion de aceite de *Jatropha curcas*. Por los métodos de extracciónquímica y ultrasonido. *Vol.*15 (núm.1), pag 171-179. https://doi.org/https://doi.org/10.18041/1794-4953/avances.1.1394
- Sanchez, O., Rodríguez, V., Herrera, M., & Herrera, S. (2020). El piñón mexicano no tóxico (Jatropha curcas L.): Importancia y fundamentos prácticos para su propagación, siembra y cuidados. Instituto Literario de Veracruz, S.C. https://www.researchgate.net/publication/341342860\_El\_pinon\_mexicano\_no\_toxico\_Jatropha\_curcas\_L\_importancia\_y\_fundamentos\_practicos\_para\_su\_propagacion\_siembra\_y\_cuidados
- Sanis, J., Ravindran, R., Athalathil, S., & Ajith, K. (2012). Extracto de hoja de Jatropha curcas (Linn): Una posible alternativa para el control poblacional de Rhipicephalus (Boophilus) annulatus. *Researchgate. Vol.2* (núm 3),pp 225–229. file:///C:/Users/CLIENTE/Downloads/AsianPacificJournalofTropicalDise ase.pdf
- Schleske, M., Peniche, A., Hernández, M., Martínez, H., Romero, S., Barradas, L., Rodríguez-, V. (03 de diciembre de 2012). Evaluación de la resistencia de Rhipicephalus microplus a cipermetrina y amitraz en bovinos de comapa y manlio faltamirano, veracruz. Tecnología Forestal Agropeguría. https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/Resistencia-degarrapatas.pdf
- Soca, M., Rizo, A., Fuentes, M., Castro, I., Fuentes-, A., & Giupponi, p. (27 de Julio de 2018). *Jatropha curcas (L.), una especie con potencialidades para la*

- salud animal en el trópico. Lechería. https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/ciapa-jatropha-curcas-especie-t42423.htm
- Tello, V., Jacob, S., & Vargas, R. (2014). Estudio preliminar del efecto acaricida de seis extractos metanólicos sobre la arañita bimaculada, Tetranychus urticae Koch. Scielo, vol.32 (no.2), Páginas 37-45. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000200006
- Tolulope, O., Shahid, O. A., Joy, L., Eloff, J., & Naidoo, V. (2018). Plantas plaguicidas como posible alternativa a los acaricidas sintéticos en el control de garrapatas: revisión sistemática y metanálisis. *ELSEVIER, Vol. 123* (núm.1), Pag 779-806. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.075
- Ulloa, L., y Ulloa, D. (2021). Incidencias de los tipos de garrapatas rhipicephalus microplus y amblyomma cajennense en el ganado bovino de la parroquia Huambi del Canton Sucua categorizados por sexo y edad. *Polo del conocimeinto*, Vol.6 (núm.3), pp. 1025-1038. https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/2419/html
- Vargas, D., Torres, M. y Pulido, M. (2019). Anaplasmosis y babesiosis: estudio actual. *Pensamiento y Acción*, *Vol.5* (núm.26), Pag.45-46. https://revistas.uptc.edu.co/index.php/pensamiento\_accion/article/view/972 3
- Vinueza, R. (16 de 03 de 2018). *Manual BP Jatropha revisado final*.pdf. Proyecto Piñón para Galápagos. http://www.iica-ecuador.org/pinon/archivos/Manual%20BP%20jatrophja%20revisado%20fi nal.pdf
- Vizoso, A. (2020). Aplicaciones del índice de refracción complejo. [Trabajo de fin de grado, Universidad de Valladolid facultad de ciencias]. Repositorio Institucional. https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/50510/TFG-G5326.pdf?sequence=1



Anexo Nº 1. Obtención de extracto de las hojas de Jatropha curcas.Anexo 1-A. Recolección de las hojas de piñón.



Anexo 1-B. Deshidratación.



Anexo 1-C. Molienda y tamizado.



Anexo 1-D. Obtención de extracto



Anexo № 2. Caracterización del extracto de las hojas de piñón
Anexo 2-A. Determinación del pH



Anexo 2-B. Determinación de la densidad



Anexo 2-C. Determinación del índice de refracción



Anexo 2-D. Determinación de la acidez oleica



Anexo 2-E. Determinación de concentración de fenoles



**Anexo Nº 3.** Aplicación del tratamiento *in vitro* de las diferentes concentraciones **Anexo 3-A.** Extracción de garrapatas



Anexo 3-B. Pesaje y distribución de las unidades experimentales



Anexo 3-C. Aplicación de tratamiento in vitro



Anexo Nº 4. Estudio preliminar in vivo

Anexo 4-A. Inspección de garrapatas



Anexo 4-B. Aplicación del tratamiento (T2)



Anexo 4-C. Cuantificación de garrapatas



Anexo Nº 5. Supuesto de homogeneidad de varianza mediante el Test Levene

#### Anexo 5-A. Test Levene para la variable pH.

#### RABS PH

 Variable N
 R²
 R² Aj
 CV

 RABS PH
 12 0,3435 0,1976 92,5159

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.	0,2195	2	0,1097	2,3548	0,1505	
TRATAMIENTO	0,2195	2	0,1097	2,3548	0,1505	
Error	0,4194	9	0,0466			
Total	0,6389	11				

#### **Anexo 5-B.** Test Levene para la variable Densidad.

#### RABS DENSIDAD G/ML

	Variable		N	R <sup>2</sup>	R² Aj	CV
RABS	DENSIDAD	G/ML	12	0,2801	0,1201	72,5031

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,0010	2	0,0005	1,7506	0,2279
TRATAMIENTO	0,0010	2	0,0005	1,7506	0,2279
Error	0,0025	9	0,0003		
Total	0,0035	11			

#### **Anexo 5-C.** Test Levene para la variable índice de refracción.

#### RABS ÍNDICE DE REFRACIÓN

	Vari	lab!	le	Ν	R²	R² Aj	CV
RABS	INDICE	DE	REFRACIÓN	12	0,3347	0,1869	76 <b>,</b> 9371

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,0003	2	0,0001	2,2642	0,1598
TRATAMIENTO	0,0003	2	0,0001	2,2642	0,1598
Error	0,0005	9	0,0001		
Total	0,0008	11			

#### Anexo 5-D. Test Levene para la variable Acidez.

#### RABS ACIDEZ

Var	iable	N	R <sup>2</sup>	R² Aj	CV
RABS	ACIDEZ	12	0,3082	0,1545	61,3336

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,0089	2	0,0044	2,0050	0,1905
TRATAMIENTO	0,0089	2	0,0044	2,0050	0,1905
Error	0,0199	9	0,0022		
Total	0,0288	11			

#### **Anexo 5-E.** Test Levene para la variable mortalidad evaluada a las 24 horas

#### RABS MORTALIDAD

Variable	N	R <sup>2</sup>	R² Aj	CV
RABS MORTALIDAD	16	0,1636	0,0000	71,1960

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) F.V. SC ql CM F p-valor

F.V.	SC	gΙ	CM	F'	p-valor
Modelo.	0,5625	3	0,1875	0,7826	0,5262
TRATAMIENTO	0,5625	3	0,1875	0,7826	0,5262
Error	2,8750	12	0,2396		
Total	3,4375	15			

#### **Anexo 5-F.** Test Levene para la variable supervivencia evaluada a las 24 horas

#### RABS SUPERVIVENCIA

	Variable	N	R <sup>2</sup>	R² Aj	CV
RABS	SUPERVIVENCIA	16	0,1636	0,0000	71,1960

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,5625	3	0,1875	0,7826	0,5262
TRATAMIENTO	0,5625	3	0,1875	0,7826	0,5262
Error	2,8750	12	0,2396		
Total	3,4375	15			

#### Anexo 5-G. Test Levene para la variable mortalidad evaluada a las 48 horas

#### RABS MORTALIDAD

Va	ariable	N	R²	R² Aj	CV
RABS	MORTALIDAD	16	0,1875	0,0000	101,9804

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,1250	3	0,3750	0,9231	0,4592
TRATAMIENTO	1,1250	3	0,3750	0,9231	0,4592
Error	4,8750	12	0,4063		
Total	6,0000	15			

#### Anexo 5-H. Test Levene para la variable supervivencia evaluada a las 48 horas

#### RABS SUPERVIVENCIA

	Variable	N	R²	R² Aj	CV
RABS	SUPERVIVENCIA	16	0,1875	0,0000	101,9804

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,1250	3	0,3750	0,9231	0,4592
TRATAMIENTO	1,1250	3	0,3750	0,9231	0,4592
Error	4,8750	12	0,4063		
Total	6,0000	15			

#### Anexo 5-I. Test Levene para la variable mortalidad evaluada a las 72 horas

#### RABS MORTALIDAD

Variable	N	R²	R² Aj	CV
RABS MORTALIDAD	16	0,3016	0,1270	45,0554

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,2969	3	0,0990	1,7273	0,2145
TRATAMIENTO	0,2969	3	0,0990	1,7273	0,2145
Error	0,6875	12	0,0573		
Total	0,9844	15			

#### Anexo 5-J. Test Levene para la variable supervivencia evaluada a las 72 horas

#### RABS SUPERVIVENCIA

 Variable
 N
 R²
 R²
 Aj
 CV

 RABS
 SUPERVIVENCIA
 16
 0,3016
 0,1270
 45,0554

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,2969	3	0,0990	1,7273	0,2145
TRATAMIENTO	0,2969	3	0,0990	1,7273	0,2145
Error	0,6875	12	0,0573		
Total	0,9844	15			

#### Anexo 5-K. Test Levene para la variable mortalidad evaluada a las 96 horas

#### RABS MORTALIDAD

 $\frac{\text{Variable}}{\text{RABS MORTALIDAD}} \frac{\text{N}}{\text{16}} \frac{\text{R}^2}{\text{0,4286}} \frac{\text{R}^2}{\text{0,2857}} \frac{\text{CV}}{\text{76,9800}}$ 

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,4219	3	0,1406	3,0000	0,0728
TRATAMIENTO	0,4219	3	0,1406	3,0000	0,0728
Error	0,5625	12	0,0469		
Total	0,9844	15			

#### Anexo 5-L. Test Levene para la variable supervivencia evaluada a las 96 horas

#### RABS SUPERVIVENCIA

	Variable	N	R <sup>2</sup>	R² Aj	CV
RABS	SUPERVIVENCIA	16	0,4286	0,2857	76,9800

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,4219	3	0,1406	3,0000	0,0728
TRATAMIENTO	0,4219	3	0,1406	3,0000	0,0728
Error	0,5625	12	0,0469		
Total	0,9844	15			

#### Anexo Nº 6. Supuesto de normalidad.

**Anexo 6-A.** Prueba de Shapiro-Wilks para las variables físicos —químicos pH, densidad, índice de refracción y acidez.

#### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO pH	12	5 <b>,</b> 87	0,34	0,9710	0,9290
RDUO DENSIDAD	12	1,04	0,03	0,9465	0,7166
RDUO INDICE DE REFRACIÓN	12	1,34	0,01	0,9089	0,3438
RDUO ACIDEZ	12	0,87	0,10	0,9441	0,6941

### **Anexo 6-B.** Shapiro-Wilks para las variables mortalidad y supervivencia evaluadas a las 24 horas

#### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO MORTALIDAD	16	14,63	0,86	0,9159	0,2974
RDUO SUPERVIVENCIA	16	5,38	0,86	0,9159	0,2974

### **Anexo 6-C.** Shapiro-Wilks para las variables mortalidad y supervivencia evaluadas a las 48 horas

#### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO MORTALIDAD	16	16,19	0,90	0,9656	0,8702
RDUO SUPERVIVENCIA	16	3,81	0,90	0,9656	0,8702

### **Anexo 6-D.** Shapiro-Wilks para las variables mortalidad y supervivencia evaluadas a las 72 horas

#### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	M *	p(Unilateral D)
RDUO MORTALIDAD	16	18,00	0,61	0,8785	0,0774
RDUO SUPERVIVENCIA	16	2,00	0,61	0,8785	0,0774

### **Anexo 6-E.** Shapiro-Wilks para las variables mortalidad y supervivencia evaluadas a las 96 horas

#### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO MORTALIDAD	15	18 <b>,</b> 69	0,39	0,9005	0,1778
RDUO SUPERVIVENCIA	15	1,31	0,39	0,9005	0,1778

#### Anexo Nº 7. Análisis estadísticos de la caracterización del extracto

#### Anexo 7-A. Análisis estadístico de la variable pH.

#### PH

Variable	N	R²	R² Aj	CV
PH	12	0,7774	0,7279	6,4515

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4,5131	2	2,2565	15,7165	0,0012
TRATAMIENTO	4,5131	2	2,2565	15,7165	0,0012
Error	1,2922	9	0,1436		
Total	5,8053	11			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,74807

Error: 0,1436 gl: 9

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
2	6,60	4	0,1895	А
3	5 <b>,</b> 92	4	0,1895	В
1	5,10	4	0,1895	В

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

#### ANEXO 7-B. Análisis estadístico de la variable Densidad.

#### DENSIDAD G/ML

Variab	le	Ν	R²	R² Aj	CV
DENSIDAD	G/ML	12	0,3068	0,1527	3,1890

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,0043	2	0,0022	1,9912	0,1923
TRATAMIENTO	0,0043	2	0,0022	1,9912	0,1923
Error	0,0098	9	0,0011		
Total	0,0141	11			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,06517

Error: 0,0011 gl: 9

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
1	1,02	4	0,0165	Α
2	1,03	4	0,0165	Α
3	1,06	4	0,0165	Α

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### ANEXO 7-C. Análisis estadístico de la variable Índice de refracción.

#### INDICE DE REFRACIÓN

Vá	aria	able	Ν	R²	R² Aj	CV
INDICE	DE	REFRACIÓN	12	0,2943	0,1374	1,1176

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,0008	2	0,0004	1,8762	0,2084
TRATAMIENTO	0,0008	2	0,0004	1,8762	0,2084
Error	0,0020	9	0,0002		
Total	0.0029	11			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02956

Error: 0,0002 gl: 9

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
1	1,33	4	0,0075	Α
3	1,34	4	0,0075	Α
2	1,35	4	0,0075	Α

 $\overline{\text{Medias con una letra común no son sign}}$  ificativamente diferentes (p > 0,05)

#### ANEXO 7-D. Análisis estadístico de la variable acidez

#### ACIDEZ

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,0005	2	0,0002	0,0211	0,9791
TRATAMIENTO	0,0005	2	0,0002	0,0211	0,9791
Error	0,0993	9	0,0110		
Total	0,0998	11			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,20737

Error: 0,0110 gl: 9

TRATAMIENTO Medias n E.E.
2 0,87 4 0,0525 A
1 0,87 4 0,0525 A
3 0,88 4 0,0525 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

### **Anexo 8.** Determinación de concentraciones por efecto de absorbancia **Anexo 8-A.** Coeficientes de regresión y estadísticos asociados

Coeficiente	Estimado	EE	LI	LS	Т	P- valor
Const.	-0,17	0,03	-0,28	-0,06	-4,9	0,02
Conc. g/L	0,25	0,01	0,21	0,28	23,72	0

#### Anexo 8-B. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

FV	SC	GL	СМ	F	P-valor
Modelo	0,62	1	0,62	562,54	0,00016
Conc. g/L	0,62	1	0,62	562,54	0,00016
Error	0	3	0		
Total	0,62	4			

#### Anexo Nº 9. Análisis Estadísticos de los resultados del ensayo in vitro.

#### Anexo 9-A. Variable Mortalidad garrapatas in vitro evaluada a las 24 horas.

#### Análisis de la varianza

Variable 1	N R <sup>2</sup>	R?	² Aj	CV	
MORTALIDAD :	16 0,865	4 0,	,8318 6	<b>,</b> 5465	
Cuadro de A	nálisis d	de :	la Vari	anza (SC	tipo III)
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	70,7500	3	23,583	3 25,7273	<0,0001
TRATAMIENTO	70,7500	3	23,583	3 25,7273	<0,0001
Error	11,0000	12	0,916	7	
Total	81,7500	15			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,00996

	•					
Error: 0,91	67 gl: 1	12				
TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.			
2	17,75	4	0,4787	Α		
3	15,25	4	0,4787		В	
1	13,25	4	0,4787		В	С
0	12,25	4	0,4787			С

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

### **Anexo 9-B.** Variables supervivencia de garrapatas *in vitro* a evaluada a las 24 horas.

#### SUPERVIVENCIA Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R² Aj	CV
SUPERVIVENCIA	16	0.8654	0.8318	17,8126

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	70,7500	3	23,5833	25,7273	<0,0001
TRATAMIENTO	70,7500	3	23,5833	25,7273	<0,0001
Error	11,0000	12	0,9167		
Total	81,7500	15			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,00996

Error: 0,91	67 gl:	12				
TRATAMIENTO	Media	s n	E.E.			
2	2,25	4	0,4787	A		
3	4,75	4	0,4787		В	
1	6 <b>,</b> 75	4	0,4787		В	С
0	7,75	4	0,4787			С

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### Anexo 9-C. Variables Mortalidad de garrapatas in vitro evaluada a las 48 horas

#### Análisis de la varianza

Variable N R<sup>2</sup> R<sup>2</sup> Aj MORTALIDAD 16 0,8549 0,8187 6,2416

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	72,1875	3	24,0625	23,5714	<0,0001
TRATAMIENTO	72,1875	3	24,0625	23,5714	<0,0001
Error	12,2500	12	1,0208		
Total	84,4375	15			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,12109

Error: 1,0208 gl: 12

TRATAMIENTO Medias n E.E.

2 18,75 4 0,5052 A

3 17,25 4 0,5052 A B

1 15,75 4 0,5052 B 0 13,00 4 0,5052

#### **Anexo 9-D**. Variable supervivencia de garrapatas *in vitro* evaluada a las 48 horas.

#### Análisis de la varianza

Variable N R<sup>2</sup> R<sup>2</sup> Aj SUPERVIVENCIA 16 0,8549 0,8187 26,5013

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	72,1875	3	24,0625	23,5714	<0,0001
TRATAMIENTO	72,1875	3	24,0625	23,5714	<0,0001
Error	12,2500	12	1,0208		
Total	84,4375	15			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,12109

Error: 1,0208 gl: 12

TRATAMIENTO Medias n E.E. 1,25 4 0,5052 A 2 2,75 4 0,5052 A B 3 1 4,25 4 0,5052 B 7,00 4 0,5052 0 С

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### **Anexo 9-E.** Variable Mortalidad de garrapatas in vitro evaluada a las 72 horas.

#### Análisis de la varianza

<u>Variable N R<sup>2</sup> R<sup>2</sup> Aj CV</u> <u>MORTALIDAD 16 0,8281 0,7852 3,7611</u>

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26,5000	3	8,8333	19,2727	0,0001
TRATAMIENTO	26,5000	3	8,8333	19,2727	0,0001
Error	5,5000	12	0,4583		
Total	32,0000	15			

### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,42125 Error: 0,4583 q1: 12

Error: 0,458	83 GT: 1					
TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.			
2	19,75	4	0,3385	Α		
3	18,50	4	0,3385	Α	В	
1	17,50	4	0,3385		В	С
0	16,25	4	0,3385			С

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### **Anexo 9-F.** Variable supervivencia de garrapatas *in vitro* evaluada a las 72 horas.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
SUPERVIVENCIA	16	0,8281	0,7852	33,8502

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26,5000	3	8,8333	19,2727	0,0001
TRATAMIENTO	26,5000	3	8,8333	19,2727	0,0001
Error	5 <b>,</b> 5000	12	0,4583		
Total	32,0000	15			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,42125

Error: 0,4583 gl: 12 TRATAMIENTO Medias n E.E.

2 0,25 4 0,3385 A

3 1,50 4 0,3385 A B

1 2,50 4 0,3385 B C

0 3,75 4 0,3385 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### **Anexo 9-G.** Variable Mortalidad de garrapatas *in vitro* evaluada a las 96 horas.

#### MORTALIDAD

#### Análisis de la varianza

 Variable
 N
 R²
 R²
 Aj
 CV

 MORTALIDAD
 16
 0,8326
 0,7907
 2,3171

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11,1875	3	3,7292	19,8889	0,0001
TRATAMIENTO	11,1875	3	3,7292	19,8889	0,0001
Error	2,2500	12	0,1875		
Total	13,4375	15			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,90904

Error: 0,1875 gl: 12

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.			
2	20,00	4	0,2165	Α		
3	18,75	4	0,2165		В	
0	18,25	4	0,2165		В	С
1	17.75	4	0.2165			С

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### Anexo 9-H. Variables supervivencia de garrapatas in vitro evaluada a las 96 h.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
SUPERVIVENCIA	16	0,8326	0,7907	32,9914

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11,1875	3	3,7292	19,8889	0,0001
TRATAMIENTO	11,1875	3	3,7292	19,8889	0,0001
Error	2,2500	12	0,1875		
Total	13,4375	15			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,90904

Error: 0,1875 gl: 12

TRATAMIENTO	Medias n	E.E.		
2	0,00 4 0	,2165 A		
3	1,25	0,2165	В	
0	1,75	0,2165	В	С
1	2,25	0,2165		С

#### Anexo Nº 10. Estudio preliminar in vivo

**Anexo 10- A.** Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para la variable mortalidad evaluadas a las 24,48, 72 y 96 horas post aplicación

#### Prueba de Kruskal Wallis

Variable	!	HORA N	Medias	D.E.	Medianas	H	р
MORTALIDAD	24	3	200,00	100,50	145,00	3,00	0,3916
MORTALIDAD	48	3	226,33	115,33	170,00		
MORTALIDAD	72	3	244,33	108,97	187,00		
MORTALIDAD	96	3	249,67	112,96	189,000		

**Anexo 10-B.** Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para la variable supervivencia evaluada a las 24,48, 72 y 96 horas post aplicación

Variable	HORA	Ν	Medias	D.E.	Medianas	H	р
SUPERVIVENCIA	24	3	56,33	11,93	51,00	10,38	0,0153
SUPERVIVENCIA	48	3	30,00	6,08	27,00		
SUPERVIVENCIA	72	3	10,00	1,00	10,00		
SUPERVIVENCIA	96	3	6,67	0,58	7,00		

Horas.	Rango Med	io	
96	2,0000 A		
72	5,0000 A	В	
48	8,0000	В	С
24	11,0000		(

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)