UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS PECUARIAS

TINGO MARIA

EFECTO BIOCIDA DE LA RAÍZ PULVERIZADA DEL BARBASCO (*Lonchocarpus nicou (Aublet)* DC.) IN VITRO E IN VIVO EN EL CONTROL DE GARRAPATAS (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*)

Tesis
Para optar el título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

YEMEN MEJÍA AGUIRRE

PROMOCIÓN 2011 – II

TINGO MARÍA – PERÚ
2012

BIBLIOTECA CENTRAL - UNAS

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
AREA DE PROCESOS TECNICOS
UCID

L72
M39
Mejía Aguirre, Yemen

Efecto biocida de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou* (*Aublet*) DC.) in vitro e in vivo en el control de garrapatas (*Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*) – Tingo María, 2012

54 páginas.; 03 cuadros; 06 fgrs.; 29 ref.; 30 cm.
Tesis (Ingeniero Zootecnísta) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Zootecnia.

1. BARBASCO **2. GARRAPATA** **3. DILUCIÓN**

4. RAIZ PULVERIZADA **5. ROTENONA** **6. CONTROL**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
Av. Universitaria Km. 2 Teléfono: (062) 561280
TINGO MARÍA

"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de nuestra Diversidad"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 08 de Noviembre de 2012, a horas 4:00 p.m. para calificar la tesis titulada:

EFECTO BIOCIDA DE LA RAIZ PULVERIZADA DEL BARBASCO (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) IN VITRO E IN VIVO EN EL CONTROL DE GARRAPATAS (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus)*

Presentada por el Bachiller **Yemen MEJIA AGUIRRE**; después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobada con el calificativo de **"EXCELENTE".**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el **TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA,** que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Artículo 95, inciso "i" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 13 de Noviembre de 2012

Mèd. Vet. TEODOLFO VALENCIA CHAMBA
Presidente

Mèd. Vet. JORGE TURPO CALCINA
Miembro

MSc. JUAN LAO GONZALES
Miembro

Dr. DANIEL MARCO PAREDES LÒPEZ
Miembro - Asesor

DEDICATORIA

A Dios por el éxito y la satisfacción de esta investigación. Quien me regala los dones de sabiduría y el entendimiento.

A mí madre Viola a mi padre Teodoro quienes aún en la distancia siempre han estado conmigo brindando su amor, cariño y comprensión en todo momento.

A mis hermanos: Rita, Dictimio, Yeni Yelinda, Elías y Shari Violeta. Quienes me acompañan y me brindan siempre su cariño. Y por compartir el espacio y los momentos significativos con mis padres.

AGRADECIMIENTO

A mi alma mater, la Universidad Nacional Agraria de la Selva y la Facultad de Zootecnia.

A mi asesor de tesis: Dr. Daniel Marco Paredes López. Por haber brindado su apoyo incondicional para el desarrollo de esta investigación.

Doy infinitas gracias al Ing. Marco Antonio Rojas Paredes por brindarme su amistad y apoyo moral durante mi formación profesional y en la ejecución, redacción de la tesis.

A mis jurados: Méd. Vet. Teodolfo Valencia Chamba, Méd. Vet. Jorge Turpo Calcina, Ing. M.Sc. Juan Lao González. Por el interés, motivación, apoyo y críticas necesarias para la realización de este trabajo de investigación.

Un agradecimiento especial a mí tío Manzueto Meza Miguel por su apoyo constante y un préstamo en efectivo para la compra de una computadora que fue muy útil durante mi formación procesional y mi titulación.

A mis amigos: Wilson, Miguelina, Tonny, William, Amadeo, Jaimer y a todo mis compañeros de la promoción 2007 por su confianza y amistad durante mi formación profesional.

Eterno agradecimiento a los docentes de la Facultad de Zootecnia por sus valiosas contribuciones en mi formación profesional.

ÍNDICE GENERAL

Pagina

I. INTRODUCCIÓN..... 1

II.REVISIÓN DE LITERATURA..... 4

2.1. Clasificación taxonómica del barbasco..... 4

2.2. Generalidades del (barbasco) *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC*..... 4

2.2.1. Componentes químicos de la raíz..... 5

2.2.2. Rotenona..... 6

2.2.2.1. Generalidades de las rotenona..... 6

2.2.2.2. Estructura molecular de rotenona..... 7

2.2.2.3. Mecanismos de acción..... 8

2.2.2.4. Acción farmacológica..... 9

2.2.3. Usos y trabajos realizados con el barbasco..... 10

2.3. Generalidades de la garrapata..... 12

2.3.1. Concepto..... 12

2.3.2. Distribución..... 12

2.3.3. Localización..... 13

2.3.4. Vía de infestación..... 14

2.3.5. Adaptabilidad ecológica..... 14

2.3.6. Ciclo biológico y epidemiológico..... 16

2.3.7. Clasificación del ciclo biológico..... 16

2.3.7.1. Ciclo parasítico..... 16

2.3.7.2. Ciclo no parasítico..... 17

2.3.7.2.1. Periodo de pre ovoposición o protoquia..... 18

2.3.7.2.2. Periodo de ovoposición u ootoquia..... 18

2.3.7.2.3. Periodo metatoquia..... 19

2.3.7.2.4. Periodo de incubación..... 19

2.3.7.2.5. Periodo de eclosión..... 20

2.3.7.2.6. Supervivencia larval..... 20

2.3.8. Control..... 21

2.4. Efecto de la garrapatosis sobre la ganadería..... 22

III. MATERIALES Y MÉTODOS..... 25

3.1. Lugar y fecha de ejecución del experimento..... 25

3.2. Etapa I Laboratorio o in vitro..... 26

3.2.1. Tipo de investigación..... 26

3.2.2. Material biológico..... 26

3.2.3. Materiales y equipos..... 26

3.2.3.1. Obtención de la raíz pulverizada del barbasco..... 26

3.2.3.2. Preparación de la solución..... 28

3.2.3.3. Producción de larvas de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) en laboratorio..... 28

3.2.3.4. Prueba de inmersión de los huevos de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*)..... 29

3.2.3.5. Prueba de inmersión de las larvas de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*)..... 30

3.2.4. Variable independiente..... 30

3.2.5. Tratamientos en estudio..... 31

3.2.6. Análisis estadístico..... 31

3.2.7. Variable dependiente..... 32

3.3. Etapa II Campo o in vivo..... 32

3.3.1. Tipo de investigación..... 32

3.3.2. Población y muestra..... 33

3.3.3. Materiales y equipos..... 33

3.3.3.1. Obtención de la raíz pulverizada del barbasco..... 33

3.3.3.2. Regiones corporales de ubicación en el animal..... 33

3.3.3.3. Preparación de la solución..... 34

3.3.3.4. Aplicación..... 34

3.3.3.5. Muestreo y toma de datos..... 34

3.3.4. Variable independiente..... 35

3.3.5. Tratamientos en estudio..... 35

3.3.6. Análisis estadístico..... 35

3.3.7. Variable dependiente..... 36

IV. RESULTADOS..... 37

4.1. Viabilidad embrionaria de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in vitro.... 37

4.2. Mortalidad larvaria de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in vitro..... 39

4.3. Desprendimiento del estadio adulto de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vivo..... 41

V. DISCUSIÓN..... 43

5.1. Viabilidad embrionaria de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in vitro... 43

5.2. Mortalidad larvaria de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in vitro..... 44

5.3. Desprendimiento del estadio adulto de *Rhipicephalus* (*Boophilus*)

microplus in vivo..... 45

VI. CONCLUSIÓN..... 47

VII. RECOMENDACIONES..... 48

VIII. BIBLIORAFIA..... 49

ANEXO..... 54

ÍNDICE DE CUADROS

Pagina

Cuadro 1. Efecto de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* sobre la viabilidad embrionaria y mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro..... 38

Cuadro 2. Mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en periodo de 5 – 15 minutos por acción de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* in vitro..... 40

Cuadro 3. Efecto de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) en los estadios adultos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vivo..... 42

Cuadro 4. Viabilidad embrionaria (N°) y mortalidad larvaria (N°) de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*..... 55

Cuadro 5. Mortalidad larvaria (N°) de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*..... 55

Cuadro 6. Numero de garrapatas vivas en las áreas evaluadas (trabajo de campo)..... 56

ÍNDICE DE FIGURAS

Pagina

Figura 1. Estructura de la rotenona..... 8

Figura 2. Cadena de transporte de electrones en la mitocondria..... 9

Figura 3. Procedimiento para la obtención de la raíz pulverizada del barbasco 29

Figura 4. Porcentaje de viabilidad embrionaria y mortalidad de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* por acción de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* in vitro..... 38

Figura 5. Porcentaje de mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a los 5, 10 y 15 minutos por acción de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* in vitro..... 40

Figura 6. Efecto de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)* en los estadios adultos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vivo..... 42

RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivo determinar in vitro e in vivo el efecto biocida de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*)) en el control de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus).* La raíz fresca primeramente se picó a 2.29±0.69 cm de longitud luego fueron deshidratados a 50°C por 72 horas y al final se trituro en un molino Willy hasta 1 mm de partícula. En la prueba in vitro se emplearon 150 huevos y 150 larvas, estos se distribuyeron en grupos de 10 y se colocaron sobre papel filtro Wattman Nº40 después de ser embebidos con las concentraciones de 0, 0.1, 0.25, 0.5 y 0.75 % de la raíz pulverizada de barbasco con tres repeticiones por cada tratamiento. Para el trabajo in vivo se empleó 5 vaquillas de 1.5 años en promedio, distribuyéndose en 5 tratamientos; 0.00% (T0), 0.10% (T1), 0.25% (T2), 0.50% (T3), 0.75% (T4) con 3 repeticiones. Los resultados obtenidos fueron analizados empleando chi cuadrado. In vitro e in vivo, la mortalidad de larvas y adultos respectivamente obtenidos en T2, T3 y T4, fueron mayores al control (T0) ($P<0.0001$), a partir de los 15 minutos in vitro y a partir de las 24 horas in vivo. La raíz pulverizada del barbasco mostró efectividad en suprimir la viabilidad larvaria post nacimiento a partir de 0.10% de concentración y en la mortalidad de larvas y garrapatas adultas a partir de 0.50% de concentración.

Palabras claves: *Lonchocarpus nicou*, *Rhipicephalus microplus,* efecto biocida, garrapatas.

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que afecta la ganadería peruana es la infección por parásitos externos o ectoparásitos, lo que influye en la productividad pecuaria además de producir enfermedades secundarias. La garrapatosis es una enfermedad producida por parásitos del género ixode; entre los principales daños que ocasionan en los animales se hallan: debilidad, irritación, disminución en la producción de leche, carne y cuero; además de constituir transmisores de importantes enfermedades como la anaplasmosis y piroplasmosis con patologías de alta incidencia en el Alto Huallaga.

Desde hace mucho tiempo, la práctica más común para el control de garrapatas es por medio de productos químicos. En el desarrollo de la ganadería, se aplican tratamientos que permiten al ganadero prevenir o controlar plagas y enfermedades; sin embargo, los productos que se aplican pueden causar efectos colaterales sobre la salud animal y humana; además, pueden provocar diversos niveles de contaminación de la carne, la leche y el medio ambiente, debido a su residualidad y toxicidad, como es el caso de los compuestos con base en cloro, fósforo, carbamatos, piretrinas o amidinas.

Debido al uso prolongado de los acaricidas químicos, la garrapata desarrolló resistencia a ellos en todo el mundo, sobre todo en aquellos casos

en que las dosis son altas (BAYER, 2004). Frente a ello recurrimos a los conocimientos de los pobladores que han logrado mitigar este problema usando plantas medicinales y sus derivados que han mostrado actividad biocida, buscando una alternativa etnobotánica que se pueda utilizar para implementar estrategias de control y manejo integrado de garrapatas, haciendo mejor uso de los recursos naturales y reduciendo el uso actual de acaricidas organosintéticos los cuales no son favorables para el medio ambiente; frente a esta problemática se plantea la presente investigación con la finalidad de evaluar cuál será el efecto biocida de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)* en el control de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus)*, planteándose la hipótesis de que la raíz pulverizado del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)* presenta efectividad antiparasitaria frente a garrapatas *(Rhipicephalus (Boophilus) microplus)* debido que su principio activo principal es la rotenona que afecta al sistema nervioso.

Objetivo general

- Evaluar el efecto biocida de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC)* in vitro e in vivo en el control de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus).*

Objetivos Específicos

- Determinar la eclosión de huevos de garrapatas (*Rhipicephalus*

(Boophilus) microplus), luego de la prueba de inmersión en la solución de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)*

- Determinar la mortalidad, in vitro e in vivo, de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus)* por efecto biocida de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.).*

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Clasificación taxonómica del barbasco

ALNICOLSA (2011) menciona la siguiente clasificacion:

Filo	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Rosidae
Orden	: Fabales
Família	: Papiloniaceae
Genero	: Lonchocarpus
Especie	: Lonchocarpus nicou (aublet) DC.

2.2. Generalidades del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)*

Las investigaciones de GOODMAN Y GILMAN (1986) manifiestan que el cube o barbasco al principio de su desarrollo es un arbusto o pequeño arbol y planta trepadora mas tarde, crece de preferencia en climas calidos y humedos como el que predomina en la amazonia, esta planta rara vez florece, se propaga por via gevetativa, reproducciendoce por estacas, las raices crecen hasta alcanzar una longitud de tres metros a mas y miden de 1.5 a 2.5 cm. de

diametro, se cocechan las raices cuando la planta esta cerca de los tres años de edad, por lo general se cortan en trozos de 4 a 30 cm. de longitud; exteriormente son de color gris pardusco, con arrugas longitudinales reticuladas.

Los nativos y colonos cultivan esta planta en chacras pequeñas que preparan en las partes secas, cuando bajan los ríos de la Selva (entre mayo a octubre), esto es, en el verano tropical. Las plantas alcanzan alturas de 2.5 hasta 5 metros cuyas raíces se explotan después de los 3 o 4 años de edad; esta planta requiere de campos abiertos; se parece mucho a la de café y puede hacerse trepador hasta alcanzar una altura de 16 metros o más cuando hay un tronco cerca; Cuando la planta envejece al estado silvestre o cultivado se vuelve trepador o se echa, si no hay un sostén o tutor; de allí los nombres de "huasca barbasco" (Loreto) que significa soga y "kumo barbasco" (Cusco) que significa agachado. La planta rara vez florece (ALNICOLSA, 2011).

2.2.1. Componentes químicos de la raíz

De las raíces del barbasco se extraen principalmente la rotenona, la deguelina, trefosina y el toxicarol; existen otros compuestos no importantes y poco conocidos. De éstas la más importante y toxica es la rotenona. Cuando se trata la raíz molida por medio de un solvente orgánico como tetraclururo de carbono, al hacerlo concentrar por evaporación se obtiene la rotenona cristalizada, al separar la rotenona y evaporar el resto de solvente queda un residuo resinoso que contiene alta proporción de deguelia y toxicarol; Se cree

que la tefrosina no existe como tal en la planta si no que se forma por oxidación de la deguelina por acción del aire en presencia de una sustancia alcalina utilizada para su separación; La deguelina es el segundo compuesto importante y es un isómero de la rotenona por lo que tiene la misma fórmula estructural $C_{22}H_{22}O_6$ (ALNICOLSA, 2011).

El porcentaje de rotenona en barbasco, según investigaciones anteriores de ANGULO *et al.* (1987) en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, facultad de medicina veterinaria, el barbasco de 2 años de edad de la zona Tingo Maria tiene 3% de rotenona.

2.2.2. Rotenona

2.2.2.1. Generalidades de la rotenona

El extracto de rotenona, es una sustancia utilizada como pesticida natural, de gran demanda a nivel mundial. Se obtiene de la raíz del Barbasco, conocido también como cube, es una planta que puede crecer en suelos muy pobres y climas tropicales. Cuya producción por hectárea es de 7.500Kg de raíz seca, con una densidad de 10.000 plantas por hectárea. Para lograr mejores contenidos de rotenona se debe realizar una cuidadosa selección de material genético. La acción insecticida es debida al compuesto rotenoide, se conoció desde 1884 en Singapur. En 1902 el químico hindú Nagal aisló el principio activo al que puso el nombre de Rotenona, porque a esta planta se le conoce en el lugar como "roten" (REYES, 2011).

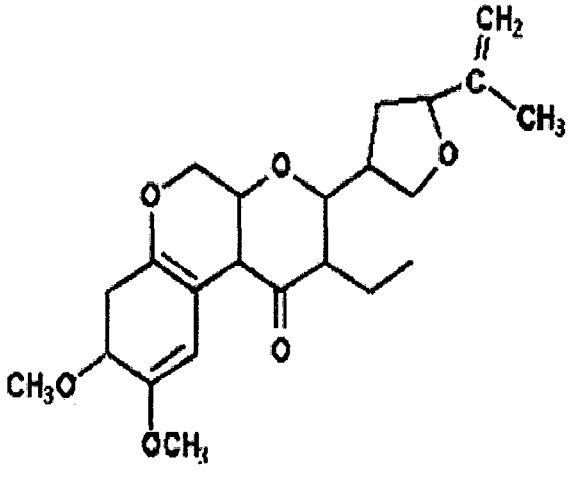
La rotenona, extraída de una planta llamada barbasco (*Lonchocarpus utilis*) es un flavonoide que se extrae de las raíces de esta planta. Se puede obtener un 5% de rotenona. Este compuesto es un insecticida de contacto e ingestión, y repelente. Su modo de acción implica una inhibición del transporte de electrones a nivel de mitocondrias bloqueando la fosforilación del ADP a ATP. Por esa razón se dice que actúa inhibiendo el metabolismo del insecto. Los síntomas que presentan los insectos intoxicados con rotenona son: disminución del consumo de oxigeno, depresión en la respiración y ataxia que provocan convulsiones y conducen finalmente a la parálisis y muerte del insecto por paro respiratorio (SILVA *et al.,* 2002).

KATZUNG (1987) informa que la rotenona es alterada por la luz solar, la misma que le hace perder efectividad a los 7 días de exposición continua. De ahí la recomendación de guardar los preparados en frascos de color caramelo, por que la luz difusa no lo altera, siendo imperceptible su descomposición.

2.2.2.2. Estructura molecular de rotenona

La rotenona en su estructura molecular esta formado de piretrinas, son esteres con propiedades insecticida obtenidas de las flores del piretro (*Chrysantemum cinaerifolium*, Fam Compositae). Los componentes de esta planta con actividad insecticida reconocida son seis ésteres, formados por la combinación de los ácidos crisantémico y pirétrico y los alcoholes piretrolona, cinerolona y jasmolona. Estos compuestos atacan tanto el sistema nervioso

central como el periférico lo que ocasiona descargas repetidas, seguidas de convulsiones. Diversos estudios han demostrado que estos compuestos taponan las entradas de los iones sodio a los canales, generando que dichos canales sean afectados alterando la conductividad del ión en tránsito. Sin lugar a dudas la característica más importante de estos compuestos es su alto efecto irritante o "knock down" que hace que el insecto apenas entre en contacto con la superficie tratada deje de alimentarse y caiga. Las piretrinas son el mejor ejemplo de la copia y modificación de moléculas en laboratorio porque dieron origen a la familia de los piretroides (SILVA *et al.,* 2002).



FUENTE: REYES, L. 2011.

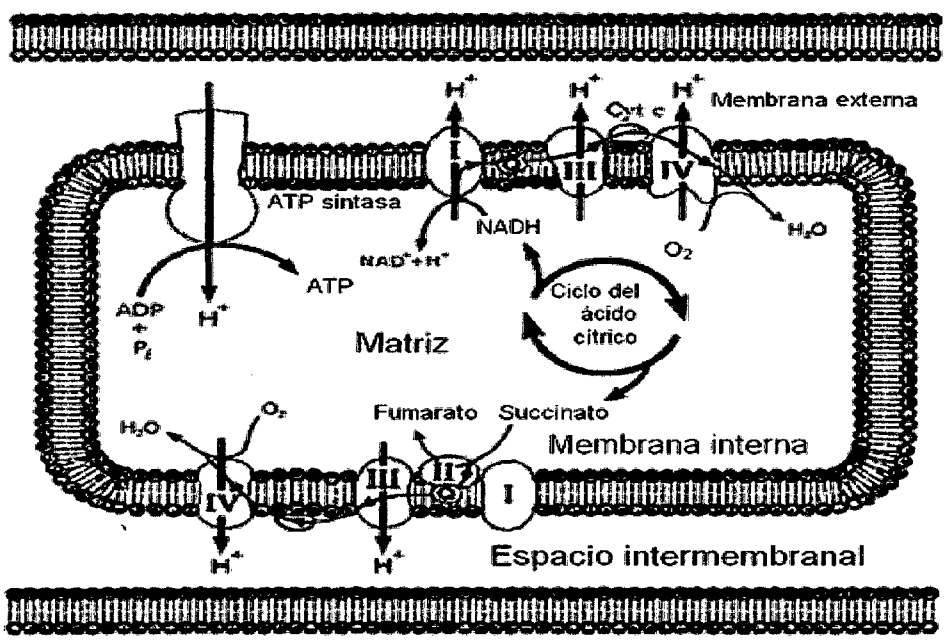
Figura 1. Estructura de la rotenona

2.2.2.3. Mecanismos de acción

Su modo de acción implica una inhibición del transporte de electrones a nivel de mitocondrias bloqueando la fosforilación del ADP a ATP. Por esto se dice que actúa inhibiendo el metabolismo del insecto; La acción

insecticida de la rotenona, verificado por la sintomatología que experimentan los insectos tratados, se da a través de 5 fases (REYES, 2011):

- Fase1: Hipotonía muscular
- Fase 2: Atonía con supresión del reflejo muscular
- Fase 3: Parálisis parcial
- Fase 4: Parálisis completo
- Fase 5: Bloqueo de la cadena respiratoria y muerte del insecto.



FUENTE: REYES, L. 2011.

Figura 2. Cadena de transporte de electrones en la mitocondria.

2.2.2.4. Acción farmacológica

La acción insecticida rotenona sobre los insectos parece implicar la inhibición del transporte de electrones de la mitocondria, así como en la

mitocondria aislada y esto aparentemente debido al hecho de la unión de la rotenona con un componente de la cadena. La forma bioquímica de la acción insecticida se manifiesta por la disminución del oxígeno consumido por los insectos, depresión de la respiración y taquicardia que finalmente conduce a la parálisis y muerte. (ALNICOLSA, 2011).

CHIESA (1965) demuestra que a través de la vía digestiva la rotenona actúa por contacto directo sobre el sistema nervioso central de los insectos.

2.2.3. Usos y trabajos realizados con el barbasco

Los tratamientos con dosis 6,25 y 3,10 g/L del polvo de raíz diluido de *Lonchocarpus utilis* después de 12 horas de inoculación, presentaron mayores valores de mortalidad larvaria de *Anopheles benarrochi* vector del *plasmodium*, en agua destilada (98 y 89%) con respecto a agua de criadero (86 y 82%). A las 24 horas los valores de mortalidad fueron 99 y 94% en agua destilada y 93 y 90% en agua de criadero; con las dosis 2.10, 1.0 y 0.15 g/L después de 12 y 24 horas de inoculación, presentan una mortalidad en agua destilada (71, 41 y 41 %) con respecto a agua de criadero (66, 41 y 25%) (MARIÑOS *et al.,* 2004).

ESPINOZA (1994), en un trabajo de investigación (tesis) utilizó el extracto del barbasco (*Lonchocarpus nicou*) en concentraciones de 7 y 10% contra piojos de cuyes (*Gyropus ovalis y Gliricola porcelli*) en Tingo María

obteniendo una mortalidad de 100% a los 3 días después de la aplicación. PERALTA (2004) menciona que la harina del Kumu (*Lonchocarpus sp*) en concentraciones de 10, 20 y 30 g/L en baños de inmersión contra piojos de cuyes reporta una mortalidad de 100 % a 2 días post-tratamiento

KILLIP Y SMITH (1931) expresan que en la región de Huancayo (Perú) el cube en suspensión con agua, era usado como baño para el ganado lanar, principalmente en la lucha con los parásitos que debilitan al animal, tales como: Garrapatas, piojos de oveja (*Melophagus ovinus*), sarna de la oveja (*sarcoptes sp*), piojo azul del ganado vacuno (*Haematopinus eurysternus*) y piojo del ganado porcino (*Haematopinus suis*).

La rotenona se le usó para controlar áfidos del algodonero con buenos resultados; hace algunos años; en forma de polvo de raíz finamente molida o como extracto de agua en concentraciones bajas controla bien trípidos (Thisanoptera); como polvo de cube se mezcla con talco al 0.5% (ALNICOLSA, 2011) el mismo autor menciona que en la ganadería se utilizó con excelentes resultados para el control de garrapatas y otros ectoparásitos; sin embargo hay que indicar que actualmente ha sido desplazado por los modernos insecticidas orgánicos sintéticos.

2.3. Generalidades de la garrapata

2.3.1. Concepto

Garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* pertenece a la Clase *Arachinida* Orden *Acarina* Familia *Ixodidae.* Presenta rostro corto, con ojos, palpos con arrugas transversas y peritremos circulares. El macho es muy pequeño y presenta un surco atrás que rodea el ano. El macho fecunda a la hembra y muere a los pocos días (ESPINOZA, 2005).

Las garrapatas del ganado vacuno son un grupo de parásitos artrópodos hematófagos causantes de enfermedad parasitaria externa que afecta a los bovinos en todas sus edades, causándoles anemia perjudicial para la producción; irritación y malestar en los animales. Cuando una enfermedad cursa con algún tipo de anemia, definiéndose a éstas como la incapacidad de la sangre de transportar oxigeno, se llega invariablemente a una baja en la producción individual y general del rebaño. Estas bajas en los rendimientos productivos se ven acentuadas en casos tales como animales jóvenes, viejos, hembras lactantes o aquellos cuyo sistema inmunológico esté afectado en forma temporal o permanente (DRUGUERI, 2004).

2.3.2. Distribución

Las garrapatas de ganado vacuno (Acari: Ixodidae) Se encuentra distribución por todo el mundo sobre todo en regiones tropicales y sub

tropicales. Este parásito se originó en Asia, lugar donde se desarrolló por miles de años en estrecho contacto con el ganado cebuino (*Bos indicus)*. Debido a su coevolución, esta especie bovina desarrolló y ha mantenido cierto grado de resistencia, mientras que las razas de ganado continental (*Bos taurus*) son susceptibles a este ectoparásito (BAZAN, 2002).

En cuanto a la distribución existen en la actualidad muchas zonas libres de este mal debido a los intensos planes de erradicación que se han llevado a cabo en muchos países a causa de las pérdidas económicas que este parásito causa. Por ejemplo en Brasil las pérdidas económicas ocasionadas por la infestación por garrapatas han sido estimadas en más de 1000 millones de dólares anuales; en Australia se estima que las pérdidas sean de 100-150 millones de dólares al año; y en Cuba, sólo por el concepto de enfermedades hemoparasitarias trasmitidas por las garrapatas, se ha ocasionado la pérdida de alrededor de 100, 000 cabezas en la última década (NÚÑEZ *et al.*, 1987).

2.3.3. Localización

La localización de la garrapata sobre el huésped depende especialmente del género, en el ganado bovino la más frecuente es el *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* que se distribuye por todo el animal haciéndose más notoria la infestación en las orejas, tabla del cuello, región pectoral, axilas, base de la cola, región del periné en todos sus estadios parasitarios, y parte interna del muslo, (BAYER 2004). Las larvas y las ninfas

en ocasiones son encontradas en la oreja y los adultos en pecho, papada, genitales, cuello, axila, abdomen, ingle y prepucio (Barriga, 1994 citado por NÚÑEZ, *et al.,* 1987).

2.3.4. Vía de infestación

Siempre es directa, necesitan ellas mismas entrar en contacto con el hospedador para poder alcanzarlo (DRUGUERI, 2004). La mitad del ganado del mundo es afectado por una o varias enfermedades transmitidas por las garrapatas que son la mayor limitante en la producción animal, principalmente en las zonas tropicales y subtropicales. Una infestación moderada con garrapatas no controladas causa un 25% de pérdidas en la ganancia de peso (O'KELLY, 1981).

Muchas especies de garrapatas son capaces de vivir largos periodos de tiempo sin alimentación y sin agua. Las ninfas por lo general viven más que las larvas. La humedad es un factor determinante en la longevidad de las garrapatas Ixodidae. Su total ausencia es altamente destructiva, la demasiada humedad particularmente después de un largo periodo de ayuno, permite el crecimiento de hongos en las garrapatas resultando fatal. (SUTHERST, 1989).

2.3.5. Adaptabilidad ecológica

Las garrapatas pueden vivir desde el nivel del mar hasta los 2,600

msnm y con fluctuaciones de lluvia de 400 a 2,800 mm anuales. Pueden sobrevivir en condiciones adversas, pero la falta de humedad atmosférica puede disminuir o romper el ciclo de vida de las Ixodidae prefieren alta humedad y temperaturas arriba de los 20° C., ya que se reporta que, las larvas de *Boophilus* sp sobreviven hasta 43 días con 20°C y 84% de humedad relativa; pero los daños inician cuando la humedad es menor del 63%. Normalmente las larvas trepan a las plantas de los pastizales para facilitar el acceso a los hospederos, moviéndose horizontalmente hasta 8 m de su sitio original (BAZAN, 2002).

En las zonas tropicales donde llueve regularmente, imperando una alta humedad y clima cálido se dan condiciones óptimas para fomentar el desarrollo de varias generaciones de garrapatas por año, haciéndose sentir constantemente. En regiones subtropicales, marcada por temporada de más o menos lluvias o sequías, la intensidad de la plaga es fluctuante (BAYER, 2004).

Una vez que la hembra adulta completa su ciclo, pone sus huevos en sitios húmedos, frescos y libres de la radiación solar, de preferencia en la parte baja de la vegetación predominante; con ello asegura una eclosión alta: Una vez que emergen las larvas, durante el día se protegen contra la desecación del sol, cuyo refugio es la sombra de los pastizales o de otros vegetales. Incluso debajo del suelo (Vairani *et al.*, 1994 citado por BAZAN, 2002)

2.3.6. Ciclo biológico y epidemiología

La garrapata tiene un ciclo de vida que se divide en dos fases: fase parasitaria y no parasitaria; empiezan con la fase no parasitaria cuando una hembra se desprende y en el suelo inicia la postura en 2 a 6 días, por un período de 8 a 20 días. El tiempo de incubación puede durar hasta 50 días (según el clima y humedad). Las larvas nacen con tres pares de patas y se fijan al huésped, muda de cutícula en 7 días y pasa a ninfa (con 8 patas), en 8 a 9 días muda y luego adulto. El ciclo total es de 19 a 22 días por término medio en climas medios o templados, esta familia puede sobrevivir de 21 a 27 meses sin alimento (ESPINOZA, 2005).

2.3.7. Clasificación del ciclo biológico

La garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) presenta un ciclo de vida que se caracteriza por la utilización de un solo hospedero, generalmente un bovino aunque puede infestar ocasionalmente a los equinos, ovinos y caprinos; para lograr su desarrollo, componiéndose de dos ciclos (MERIAL, 2001).

2.3.7.1. Ciclo parasítico

Se cumple sobre el animal desde el momento en que una larva Provista de tres pares de patas, se adhiere al animal e inicia la ingurgitación de

sangre. La larva se alimenta de sangre y en 6 a 7 días, muda a ninfa, la cual tiene cuatro pares de patas; la ninfa se ingurgita de sangre y en 6 o 7 días muda a adulto, diferenciándose los machos y las hembras y se ingurgita de sangre para caer repleta de sangre en 6 o 7 días, para un ciclo parasítico total de 18 a 21 días. Durante el ciclo parasítico el control de garrapatas se basa en: a. Utilización de ixodicidas, para cortar el ciclo biológico de la garrapata sobre el animal. b. Resistencia natural del animal a la adherencia de las larvas (BAYER, 2004)

En esta etapa el sexo se puede apreciar puesto que la garrapata hembra difiere del macho porque tiene un escudo pequeño, además esto muda primero y son más pequeños y activos que las hembras. Ambos se alimentan del huésped aumentando de tamaño antes de la copula. Después que el macho copula una o más hembras y muere. Posteriormente, la hembra cae al suele, comienza a poner huevos y también muere (GUTIERREZ, 2006).

2.3.7.2. Ciclo no parasítico

Se inicia desde el momento en que la garrapata ingurgitada inicia la postura de sus huevos (2500) para el caso de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, postura que finaliza en 14 días y luego la garrapata muere. Una vez finalizada su postura la larva nace a los 28-30 días. La fase no parásita de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* esta caracterizada por varios periodos de desarrollo, preoviposición, oviposición, incubación y sobrevivencia larval (SUTHERST, 1989)

2.3.7.2.1. Período de pre ovoposición o protoquia

Cuando la teleogina ingurgitada se desprende espontáneamente del huésped, busca lugares sombríos y protegidos para desovar. El periodo comprendido entre el desprendimiento y el comienzo de la ovoposición se denomina protoquia o preoviposición (GUTIÉRREZ, 2006).

Las cifras obtenidas en verano varían de 2 a 6 días con un modo de 3 y una media de 3,4 días. En general, se puede decir que el 95% de la protoquia fue de 2 a 4 días siempre en meses de verano y bajo condiciones de laboratorio. En otros países como en la India el periodo es de 7 días con una media de 4,2 aproximadamente (NUÑEZ *et al.,* 1987). En Brasil, en condiciones de laboratorio (GONZÁLES *et al.,* 1979) informan períodos de pre ovoposición medios de 3 días (86% de las Teleoginas estudiadas), con extremos de 2 a 6 días.

2.3.7.2.2. Período de ovoposición u ootoquia

Se denomina así al periodo que se extiende desde que la teleogina desova el primer huevo hasta que desova el último. Los factores ambientales tienen cierta influencia sobre la duración de este periodo, aproximadamente de 13 a 15 días como el de mayor frecuencia en verano, y de 35 a 45 días en invierno, con un mínimo de 8 (mes de enero) y un máximo de 60 en invierno (mes de agosto), cifras obtenidas en Buenos Aires. Se observó 9 y 10 días en diciembre y enero y 27 en agosto (GUTIÉRREZ, 2006).

2.3.7.2.3. Periodo metatoquia

Es el periodo de tiempo que transcurre entre el cese de la ovoposición y la muerte de la kenogina, es decir la hembra ovigera que ya cumplió su función. De acuerdo con nuestras experiencias que abarcan el número de casos citados precedentemente, este periodo es de 2 a 15 días, siendo excepcionalmente bajo el número de especímenes que superan los 8 días de vida. En estos casos, solo mediante una prolongada observación se pueden apreciar leves y muy espaciados movimientos, en especial en la zona dorsal (GUTIÉRREZ, 2006).

2.3.7.2.4. Periodo de Incubación

Una vez depositados en el medio ambiente, los huevos presentan forma elíptica, miden aproximadamente 550 por 400µ, son de color marrón oscuro y de superficie brillante y pegajosa cubierta por una sustancia de aspecto albuminoide (NUÑEZ *et al.,* 1987).

En cultivos mantenidos in vitro en recipientes de vidrio (cajas petri) donde la temperatura fue controlada los índices en verano es de 15 días y en invierno es de 51 días (GUTIÉRREZ, 2006). En Argentina dan cifras extremas que van de 19 – 51 días (GONZÁLES, 1979)

2.3.7.2.5. Periodo eclosión

Tratándose de ejemplares normales sin alteraciones morfológicas visibles y que no hayan sufrido en el manipuleo ni estén afectados por algún tratamiento ixodicida o por el excesivo calor, luz solar, etc., los porcentajes de eclosión en el laboratorio son muy altos, superando siempre el 80% (GUTIÉRREZ, 2006).

En in vitro favorece el desarrollo de hongos, los que, una vez que atacan un cultivo, lo esterilizan, mientras que a campo se comprobó que los huevos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sumergidos en agua durante 7 a 14 días bajan su índice de fertilidad a un mínimo, y a medida que transcurre el tiempo lo anulan por completo. Eso explica por que en pasturas inundables el número de larvas es con frecuencia muy inferior al hallado en campos más altos (NÚÑEZ *et al.,* 1987).

2.3.7.2.6. Supervivencia larval

En Argentina, (NÚÑEZ *et al.,* 1987) observaron una supervivencia de hasta 204 días en condiciones de laboratorio (20 a 22° C, 80% HR, y bajo sombra). Según los autores, este período tan prolongado fue resultado de condiciones ambientales favorables. (LEITER, 1987) afirma que la vida libre de las larvas sin alimentarse puede ser de hasta 180 días, reduciéndose en épocas de altas temperaturas y sequías persistentes. En Brasil, (GONZÁLEZ, 1974) cita 240 días a temperaturas de 15 a 24° C.

2.3.8. Control

La tendencia actual es buscar alternativas que permitan mantener el control de garrapatas, entre las cuales se pueden citar el uso de productos químicos, agentes biológicos vivos, materiales genéticos, depredadores naturales, agentes biológicos atenuados (vacunas) y la rotación de potreros, manejados en forma integral. Aunque se afirma que no existe una sola alternativa viable por sí sola, todas ellas tienen algo que aportar (BAZAN, 2002).

El control de garrapatas basado en el uso exclusivo de químicos es insostenible a largo plazo, por el desarrollo de resistencia y presencia de residuos; así pues, se reporta resistencia múltiple de *Boophilus microplus* con un 95% de resistencia a los Piretroides Sintéticos (PS) y Amitraz (amidinas), además del alto costo de estos productos. Por otra parte los baños garrapaticidas penetran la piel, envenenan poco a poco al animal, generando residuos en la leche y carne (ESPINOZA, 2005).

Desde hace mucho tiempo, la práctica más común para el control de garrapatas es por medio de productos químicos. En el desarrollo de la ganadería, se aplican tratamientos que permiten al ganadero prevenir o controlar plagas y enfermedades; sin embargo, los productos que se aplican pueden causar efectos colaterales sobre la salud animal y humana; además, pueden provocar diversos niveles de contaminación de la carne, la leche y el

medio ambiente, debido a su residualidad y toxicidad (Duncan, 1997 citado por BAZAN, 2002)

El desarrollo de resistencia a los acaricidas químicos, hace una llamada de atención a la búsqueda de alternativas de control; la más prometedora es la vacuna que tienen un avance y una posibilidad real de contribuir a la seguridad y conservación del medio ambiente. La disponibilidad de vacunas efectivas pueden proporcionar métodos más confiables y reducir los costos de producción en los programas de prevención y tratamiento, para permitir un manejo efectivo de los animales (BAZAN, 2002).

2.4. Efecto de la garrapatosis sobre la ganadería

El impacto económico negativo de *B. microplus* a la ganadería se debe a efectos directos e indirectos (LIMA *et al.,* 2000). El efecto directo, es el resultado del daño a las pieles por acción de las picaduras, pérdida de sangre y disminución de parámetros productivos (SUTHERST, 1989). El efecto indirecto está dado por los agentes etiológicos que transmiten (CEN *et al.,* 1998).

La garrapata (*Boophilus microplus*), es uno de los principales parásitos limitantes de la explotación de bovinos en el mundo. Afectando principalmente la ganancia de peso, producción de leche, bajas en la fertilidad del ganado, mayor tiempo de engorda y dificultad en la introducción de razas mejoradas para incrementar la calidad genética en áreas infestadas por garrapatas. Particularmente, en el Perú, donde la Amazonía representa el 70%

del territorio peruano y en ella los bovinos productores de leche y carne no son indiferentes a este problema sufriendo el efecto directo de los ixódidos, es un problema serio especialmente en empresas familiares (CASAS *et al.,* 2009)

Para completar su ciclo de vida, estos ectoparásitos se alimentan de sangre, absorbiendo de 1 a 3 ml durante su vida parasitaria. Sus picaduras provocan irritación lo que determina molestias, interfiriendo con la alimentación del animal. Los daños provocados en la piel constituyen puertas de entrada para enfermedades bacterianas o fúngicas y otras parasitosis, que como miasis pueden ocasionar grandes pérdidas en el vacuno (CARDOZO Y FRANCHI, 1995).

Este parásito transmite enfermedades como la Babesiosis, Anaplasmosis, Theileriosis, rickettsiosis o toxicosis transmitidas por distintos géneros de garrapatas en diferentes regiones del mundo (RODRIGUEZ, 2000).

Las infestaciones propician una reducción en la cantidad de leche producida, hasta del 48%, una baja conversión alimenticia, daños diversos en la piel del animal, costos elevados en la aplicación de acaricidas y muertes de animales por enfermedades parasitarias (BAZAN, 2002).

Entre las principales consecuencias que sufre el ganado está la merma en la producción de leche y carne, por ejemplo durante el año 1982 Brasil se produjo una pérdida de 5 millones de cabezas de ganado, 75 millones de kilogramos de carne y 1,5 millones de litros de leche; alrededor de 5

millones de dólares por daños secundarios y 25 millones de dólares en acaricidas químicos para el control de las infestaciones de garrapatas (HORS, 1987).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y fecha de ejecución del experimento

El trabajo concerniente a la etapa I (in vitro) se realizó en el laboratorio de sanidad animal perteneciente a la faculta de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco. Geográficamente está ubicado a 660 m.s.n.m, 09°17'58" latitud sur y 76°01'07" longitud oeste, con una temperatura promedio de 24.8°C y humedad relativa de 80%. Ecológicamente se encuentra en el área correspondiente a la zona de vida bosque muy húmedo-Premontano Sub-tropical (bmh-Pst) (UNAS, 2011).

La etapa II (Campo o in vivo), se ejecutó en el área de producción de leche de la hacienda "Tirol", ubicado en la carretera Federico Basadre Km. 67.00, distrito de Irazola, provincia de Padre Abad, región Ucayali, desde el 14 al 18 de marzo del 2012.

La fase experimental del trabajo tubo una duración total de 3 meses (enero – marzo del 2012).

Se realizó cuatro ensayos cada uno con 3 repeticiones en ambas etapas, buscando evaluar la efectividad biocida de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)* en concentraciones de 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75 % sobre (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*).

3.2. Etapa I Laboratorio o in vitro

3.2.1. Tipo de investigación

La investigación es de tipo experimental

3.2.2. Material Biológico

Se empleó 150 garrapatas en estado de larva del género de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, 150 huevos del mismo género.

3.2.3. Materiales y equipos

3.2.3.1. Obtención de la raíz pulverizada del barbasco

Las raíces frescas del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)* fueron obtenidas en el caserío de Agua Blanca, distrito de Monzón, provincia de Huamalies del departamento de Huánuco, la identificación taxonómica de la planta se realizó con Ing. Warren Ríos García profesor de

Dendrología de la facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Las raíces frescas de 1.50±0.33 cm de diámetro, se picarón a una longitud de 2.29±0.69 cm y se sometió a deshidratación a 50°C por 72 horas. Luego las raíces secas fueron triturados en un molino willy a un espesor de 1 milímetro (mm), obteniendo como producto final un polvo fino que fue guardado en frascos herméticamente cerrados y mantenidos en refrigeración (MARIÑOS *et al.*, 2004). El rendimiento de polvo fino a partir de raíz fresca fue de 2.44:1 (de 2.44 unidades de raíz fresca se obtiene 1 unidad de polvo fino).

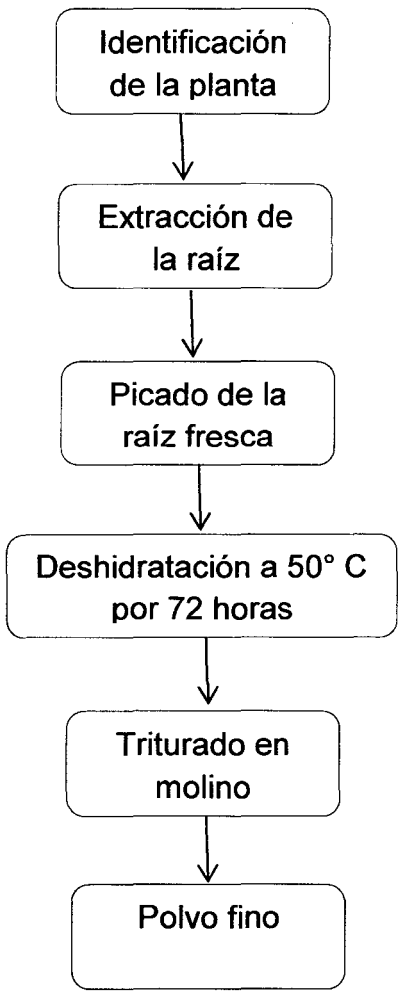


Figura 3. Procedimiento para la obtención de la raíz pulverizada del barbasco

3.2.3.2. Preparación de la solución

Se tomó como dosis de referencia la utilizada por MARIÑOS *et al.,* (2004) de 0.15 a 6.25g/L del polvo de raíz de *Lonchocarpus utilis,* Se prepararon 4 dosis pesándose en una balanza analítica 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75 g de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* y diluidas en un vaso de precipitación, se adiciono agua para completar a 100 ml de volumen total, se homogenizó e inmediatamente se filtró por una tela fina (tafena) obteniéndose las dosis finales de 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75% de concentración de la solución.

Cada dosis del biocida fue probada por triplicado, contra 10 huevos y 10 larvas de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* por repetición, utilizándose en total 30 huevos y 30 larvas por dosis y la misma cantidad en el grupo control. En total se empleó 150 huevos y 150 larvas. En el grupo control se empleó agua destilada sin la adición de la raíz pulverizada del barbasco.

3.2.3.3. Producción de larvas de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), en laboratorio

Se colectaron garrapatas en estado adulto (Teleóginas) de ganados infestados del camal municipal de la provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco. Se procedió a lavarlas con agua destilada sumergiéndolas por un minuto y luego se colocaron sobre una hoja de papel toalla para retirar el exceso de humedad, posteriormente se les colocó en 10

placas petri a razón de 1 adulto por placa para su ovoposición, se puso algodón húmedo en las placas petri y tapados con sus propias tapas. Se esperó la eclosión de los huevos obteniendo larvas listas para el ensayo.

3.2.3.4. Prueba de inmersión de los huevos de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*)

1. Se cuantificó el número total de huevos a evaluar
2. Se embebió el papel filtro Wattman N° 40 con la solución de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)* y ponerlos como base en una placa petri.
3. Poner los huevos sobre el papel filtro Wattman N° 40 embebido con la solución de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)*
4. Incubar a temperatura ambiente en cámara húmeda; se empleo algodón húmedo para mantener la humedad relativa requerida para la eclosión
5. Evaluar la temperatura y la humedad cada 24 horas a fin de mantener un ambiente propicio para el desarrollo embrionario; una cámara de cultivo de madera o cartón sin acceso a la luz (cámara oscura)
6. Evaluar los resultados a 20 días luego del experimento para así determinar el porcentaje de eclosión.

3.2.3.5. Prueba de inmersión de las larvas de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*)

1. Cuantificar el número total de larvas de diez días de edad, además de tener un comportamiento viable
2. Embeber el papel filtro wattman N° 40 con la solución de la raíz pulverizado del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)* y colocar como base en la placa petri; el papel filtro debe tener una cantidad adecuada de la solución para mantener en contacto entre la solución y las patas de las larvas sin cubrir los espiráculos
3. Evaluar el tiempo de acción del producto a los 5, 10 y 15 minutos luego de la prueba de inmersión con la solución de la raíz pulverizado del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)*
4. Los resultados en cuanto a viabilidadse evaluaron por la respuesta de estímulo-reflejo; separando las larvas vivas de las muertas.

3.2.4. Variable independiente

Raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)*

3.2.5. Tratamientos en estúdio

T0: agua destilada

T1: dilución al 0.10 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

T2: dilución al 0.25 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

T3: dilución al 0.50 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

T4: dilución al 0.75 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

3.2.6. Análisis estadístico

Para determinar la dependencia de la eclosión de huevos y la mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* por efecto de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou* se empleó la prueba de chi x^2 cuadrado de Pearson. Para lo cual se emplearon las siguientes formulas:

Prueba de independencia:

$$X^2cal = \frac{(Oi - ei)^2}{ei}$$

Para encontrar la frecuencia esperada:

$$ei = \frac{FxC}{n}$$

El grado de libertad será:

$$gl. = (f-1)(c-1)$$

Donde:

Oi = Frecuencia observada de la clase o categoría.

ei = Frecuencia esperada.

F = Suma total de las variables a probar.

C = Suma total de los resultados obtenidos

f = Número total de las variables.

c = Número de los resultados.

n = Número total de muestras

3.2.7. Variable dependiente

- Mortalidad de larvas (%)
- Eclosión de huevos (%)

3.3. Etapa II campo o in vivo

3.3.1. Tipo de investigación

La investigación es de tipo experimental

3.3.2. Población y muestra

Se emplearon zonas garrapateadas en 5 vaquillas (1.5 años en promedio) de la raza Holstein y Brown swiss, las vaquillas se seleccionaron de una población de 15 animales. Se verificó que las vaquillas estén infectado de garrapatas del genero *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Se identificó 3 áreas con mayor infestación, cada área es una repetición por tratamiento; localizados en las regiones internas de la pierna (ingle) y en la tabla del cuello por ambos lados.

3.3.3. Materiales y equipos

3.3.3.1. Obtención de la raíz pulverizada del barbasco

Se empleó la raíz pulverizada que fue procesado para la prueba en la etapa I Laboratorio o in vitro.

3.3.3.2. Regiones corporales de ubicación en el animal

Se identificó 3 áreas de 100cm^2/animal con infestación de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), localizados en la región interna de la pierna (ingle) y en la tabla del cuello por ambos lados, cada área es una repetición por tratamiento; donde se realizó el conteo antes y después de la aplicación mediante la técnica del método del centímetro cuadrado descrita por (BAZÁN, 2002).

3.3.3.3. Preparación de la solución

Se prepararon 4 dosis pesándose en una balanza analítica 4, 10, 20 y 30 g de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* y diluidas en 4 litros de agua en un balde.

3.3.3.4. Aplicación

Los animales empleados fueron de una explotación semi intensiva. La aplicación se realizó con bombas manuales de 20 litros utilizando una solución de 4 litros por animal. La dosis por bomba es de 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75 % de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.),* los animales fueron completamente asperjados hasta penetrar el pelo del animal. Se realizó una sola aplicación.

3.3.3.5. Muestreo y toma de datos

Dos horas antes del conteo se marcó las zonas de evaluación con esmalte, luego se procedió con el conteo de las garrapatas adultas de 0.5 a 0.6 cm de largo y 0.3 a 0.4 cm de ancho (pre aplicación), a los 24, 48 y 72 horas se realizó el conteo (pos aplicación de los tratamientos). Se contó en cada evaluación las garrapatas que seguían pegados en las zonas marcadas y por diferencia obtenemos las garrapatas que se desprendieron.

3.3.4. Variable independiente

Raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)*

3.3.5. Tratamientos en estudio

T0: agua destilada

T1: dilución al 0.10 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

T2: dilución al 0.25 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

T3: dilución al 0.50 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

T4: dilución al 0.75 % de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*

3.3.6. Análisis estadístico

Para determinar la dependencia del desprendimiento de las garrapatas adultas del animal por efecto de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* se empleó la prueba de chi x^2 cuadrado de Pearson. Para lo cual se emplearon las siguientes formulas:

Prueba de independencia:

$$X^2cal = \frac{(Oi - ei)^2}{ei}$$

Para encontrar la frecuencia esperada:

$$ei = \frac{FxC}{n}$$

El grado de libertad será:

$$g.l. = (f-1)(c-1)$$

Donde:

Oi = Frecuencia observada de la clase o categoría.

ei = Frecuencia esperada.

F = Suma total de las variables a probar.

C = Suma total de los resultados obtenidos

f = Número total de las variables.

c = Número de los resultados.

n = Número total de muestras

3.3.7. Variable dependiente

- Mortalidad de garrapatas adultas (%)

IV. RESULTADOS

4.1. Viabilidad embrionaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro

En el cuadro 1 se muestra los resultados de la viabilidad embrionaria cuyos valores fluctúan de 33.33 a 90.00%, observándose en el grupo control (T0) el mayor porcentaje de eclosión (90.00%); la mortalidad larvaria en los tratamientos con inclusión de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* es de 100.00%, lo que indica que todos las larvas viables murieron a diferencia del grupo control donde la mortalidad es de 7.41%.

Al análisis estadístico con chí x^2 se encontró dependencia significativa ($p<0.0001$) lo que indica que existe relación directa entre las concentraciones de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* con la viabilidad embrionaria mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus.*

Cuadro 1. Efecto de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* sobre la viabilidad embrionaria y mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro

Concentración	Viabilidad embrionaria	Larvas muertas	Huevos evaluadas
T0 (0.00%)	27 (90.00%)	2 (7.41%)	30
T1 (0.10%)	13 (43.33%)	13 (100.00%)	30
T2 (0.25%)	10 (33.33%)	10 (100.00%)	30
T3 (0.50%)	12 (40.00%)	12 (100.00%)	30
T4 (0.75%)	11 (36.67%)	11 (100.00%)	30
Chi cuadrado: p - valor	<0.0001	<0.0001	

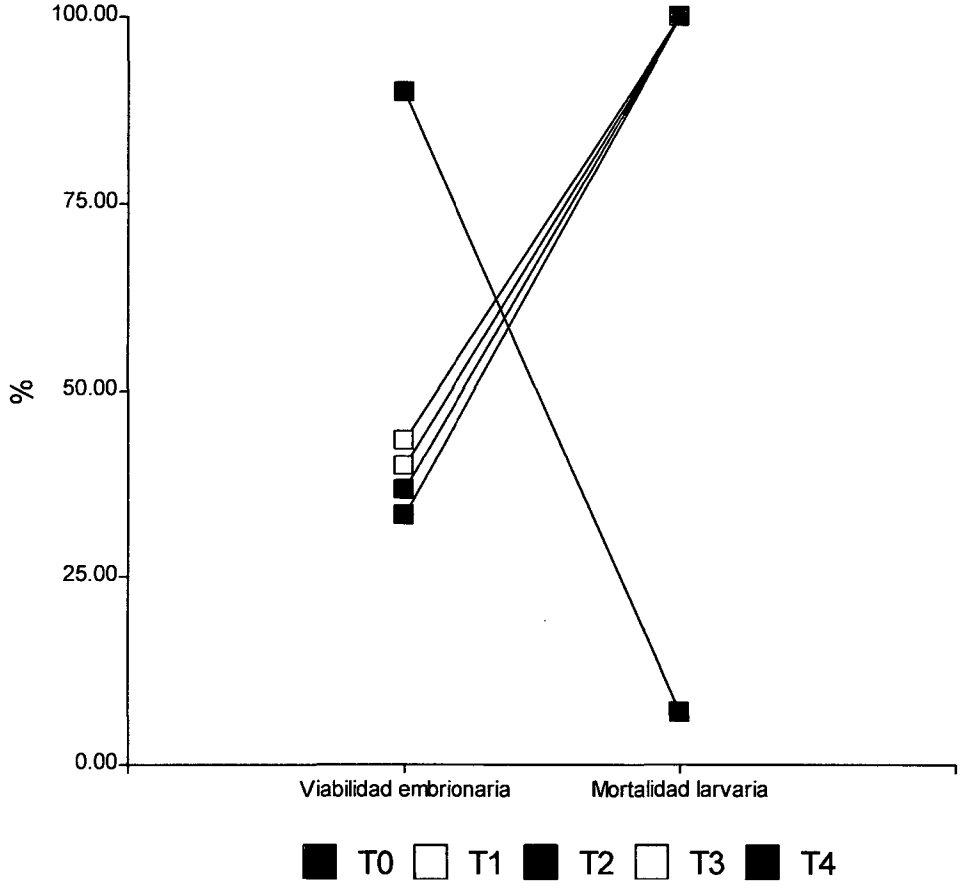


Figura 4. Porcentaje de viabilidad embrionaria y mortalidad de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* por acción de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* in vitro.

4.2. Mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro

Los resultados de la eficacia de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*, como factor que determina la mortalidad de las larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* durante los bioensayos, se presenta en el cuadro 2 donde el valor máximo se obtuvo a los 15 minutos después de la prueba de inmersión (post-tratamiento).

Los tratamientos con las concentraciones de 0.50 y 0.75 % a los 10 minutos de inmersión, presentaron valores de mortalidad de 90 y 100 % respectivamente, a los 15 minutos con la concentración de 0.50% se obtuvo el 100% de mortalidad; las dosis 0.10 y 0.25 % después de 10 minutos de inmersión, presentaron valores de mortalidad de 33 y 73 % y a los 15 minutos los valores fueron de 43 y 83 % respectivamente. Al análisis estadístico con chí x^2 se encontró dependencia significativa ($p<0.0001$) lo que indica que existe relación directa entre la concentración de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* con la mortalidad larvaria.

Cuadro 2. Mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en periodo de 5 – 15 minutos por acción de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* in vitro

Concentración	Larvas muertas			Larvas evaluadas
	5 minutos	10 minutos	15 minutos	
T0 (0.00%)	0	0	0	30
T1 (0.10%)	2 (6.67%)	10 (33.33%)	13 (43.33%)	30
T2 (0.25%)	10 (33.33%)	22 (73.33%)	25 (83.33%)	30
T3 (0.50%)	16 (53.33%)	27 (90.00%)	30 (100.00%)	30
T4 (0.75%)	23 (76.67%)	30 (100.00%)	30 (100.00%)	30
Chi cuadrado: p - valor	<0.0001	<0.0001	<0.0001	

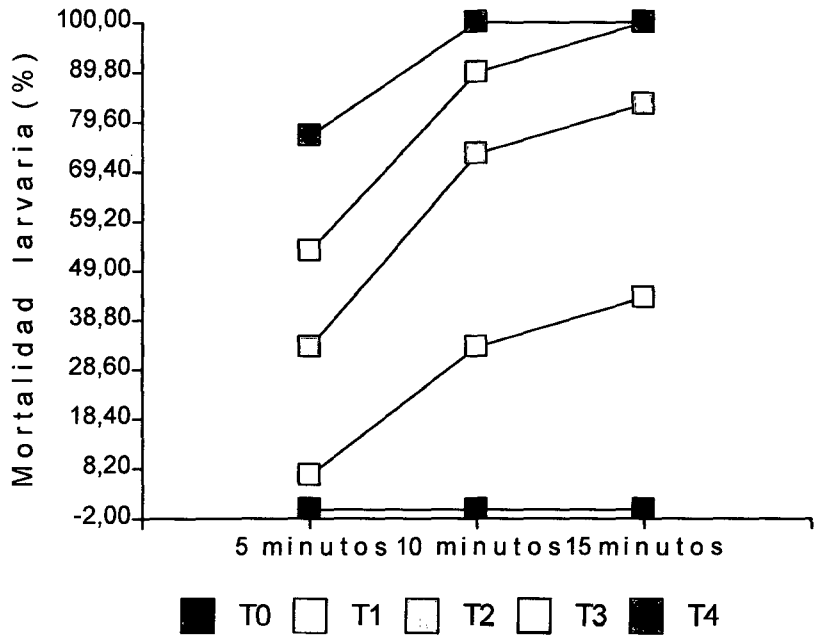


Figura 5. Porcentaje de mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a los 5, 10 y 15 minutos por acción de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* in vitro

4.3. Desprendimiento del estadio adulto de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) in vivo

En el cuadro 3 se observa el porcentaje de desprendimiento de las garrapatas adultas del animal despues del baño con la solución de la raiz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*); la garrapatosis fue heterogeneo entre tratamientos antes de la aplicación. En los animales que fueron bañados con agua sin adición del brabasco (T0) el desprendimiento de garrapatas oscila de 2.33 a 9.30% durante el tiempo evaluado (hasta 72 horas), mientras que en los demas tratamientos el desprendimiento fue de una manera creciente entre tratamientos y tiempo de evaluación, el desprendimiento a los 72 horas con las concentraciones de 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75 % es de 83.33, 94.23, 100.00 y 100.00% respectivamente. Al análisis estadístico con chí χ^2 se encontró dependencia significativa ($p<0.0001$) lo que indica que existe relación directa entre la concentración de la raíz pulverizada de *Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.* con el desprendimiento de las garrapatas adultas.

Cuadro 3. Efecto de la raiz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) en los estadios adultos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vivo

Tratamientos	Desprendimiento de garrapatas			Garrapatas
	24 horas	48 horas	72 horas	evaluadas
T0 (0.00%)	1 (2.33%)	3 (6.98%)	4 (9.30%)	43
T1 (0.10%)	3 (10.00%)	16 (53.33%)	25 (83.33%)	30
T2 (0.25%)	21 (40.38%)	45 (86.54%)	49 (94.23%)	52
T3 (0.50%)	14 (32.56%)	35 (81.40%)	43 (100.00%)	43
T4 (0.75%)	34 (54.84%)	56 (90.32%)	62 (100.00%)	62
Chi cuadrado: p - valor	<0.0001	<0.0001	<0.0001	

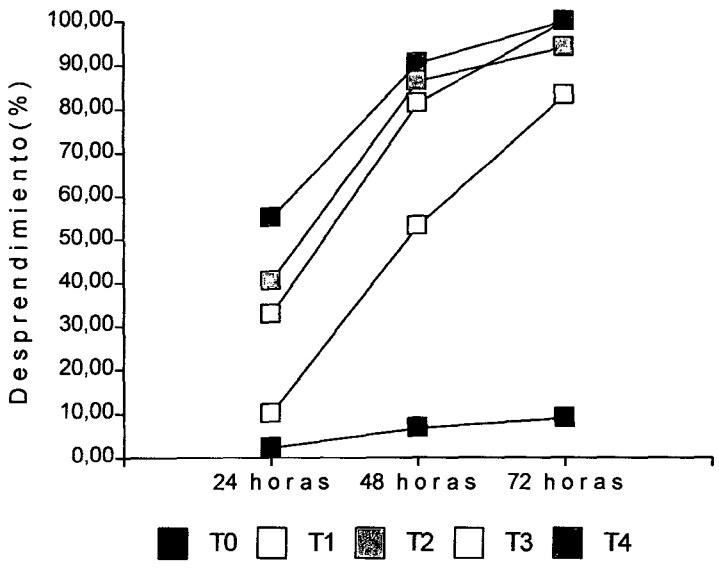


Figura 6. Efecto de la raiz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) en los estadios adultos de *Rhipicehalus (Boophilus) microplus* in vivo

V. DISCUSIÓN

5.1. Viabilidad embrionaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro

Cuando se evaluó la viabilidad embrionaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro en el tratamiento control (T0) donde se empleó solo agua destilada, la eclosión fue de 90% esto debido a que no todo los huevos son fértiles, este resultado está en concordancia con el reporte de (GUTIÉRREZ, 2006), que tratándose de ejemplares normales sin alteraciones morfológicas visibles y que no hayan sufrido en el manipuleo ni estén afectados por algún tratamiento ixodicida o por el excesivo calor, luz solar, etc., los porcentajes de eclosión en el laboratorio son muy altos, superando siempre el 80%.

La investigación reporta en los tratamientos que se usó el barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) en concentraciones de 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75% la eclosión es de 43.33, 33.33, 40.00 y 36.67% respectivamente, la baja eclosión es probable al efecto de la rotenona que se encuentra en el entorno de los huevos en evaluación ya que en el huevo y su entorno hay un intercambio gaseoso; las larvas que eclosionaron muren en un 100.00% en todo los tratamientos debido a que el metabolismo no se lleva a cabo en su total normalidad por efecto de la rotenona, coincidiendo con REYES (2011)

quien reporta que su modo de acción implica una inhibición del transporte de electrones a nivel de mitocondria bloqueando la fosforilación del ADP a ATP. Por esto se dice que actúan inhibiendo el metabolismo del artrópodo.

5.2. Mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro

La Mortalidad larvaria de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro en la evaluación sin adición del barbasco (T0) esta fue de 0.00% debido a que su medio no está alterada con productos ixodicidas y las larvas se encuentran activos por encontrarse en un medio completamente adecuado. Esto está en concordancia con el reporte de BAYER (2004), en las zonas tropicales donde llueve regularmente, imperando una alta humedad y clima cálido se dan condiciones óptimas para fomentar el desarrollo de varias generaciones de garrapatas por año, haciéndose sentir constantemente. En Argentina, (NÚÑEZ *et al.,* 1987) observaron una supervivencia de hasta 204 días en condiciones de laboratorio (20 a 22° C, 80% HR, y bajo sombra), según los autores, este período tan prolongado fue resultado de condiciones ambientales favorables. (LEITER, 1987) afirma que la vida libre de las larvas sin alimentarse puede ser de hasta 180 días.

Los resultados del ensayo in vitro observados en el cuadro 2, se muestra que a los 15 minutos después de la prueba de inmersión, en concentraciones de 0.10, 0.25, 0.50 y 0.75 % se observa mortalidad de 43.33, 83.33, 100.00 y 100.00 %, la mortalidad es probable a la acción de la rotenona que tiene la propiedad de atacar al sistema nervioso impidiendo el

transporte de iones, el resultado de la evaluación tiene relación con el reporte de MARIÑOS *et al.* (2004), la mortalidad larvaria de *Anopheles benarrochi* vector del plasmodium evaluadas en laboratorio utilizando el barbasco (*Lonchocarpus utilis*), a los 24 horas post-tratamiento, en concentraciones de 6.25, 2.10, 1.00 y 0.15 g/L presentaron mortalidad de 99, 94, 41 y 41 % en agua destilada y 93, 90, 66, 41 y 25 % en agua de criadero. La rotenona se le usó para controlar áfidos del algodonero con buenos resultados; hace algunos años; en forma de polvo de raíz finamente molida o como extracto de agua en concentraciones bajas controla bien trípidos (Thisanoptera); como polvo de cube se mezcla con talco al 0.5% (ALNICOLSA, 2011)

5.3. Desprendimiento del estadio adulto de *Rhipicehalus (Boophilus) microplus*) in vivo

En los animales que fueron bañados con agua sin adición de la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) el porcentaje de desprendimiento de las garrapatas adultas oscila de 2.33 a 9.30 % durante el tiempo de evaluación (hasta 72 horas) esto se debe a que las hembras después de la copula tienden a caer para seguir su ciclo de vida. Esto está en concordancia con el reporte de GUTIERREZ (2006) quien menciona que en el ciclo parasitario la hembra después que el macho copula cae al suelo para poner huevos y luego muere.

Los tratamientos en los que se usó el barbasco, a los 72 horas post-tratamiento mostró un 83.33 a 100 % de desprendimiento, esto se debe a

que la rotenona afecta al sistema nervioso a nivel del mitocondria bloqueando la fosforilación del ADP a ATP inhibiendo el metabolismo del artrópodo de maneras la garrapata pierde la capacidad de adherencia sobre el animal y por consiguiente cae. Estos resultados concuerdan con ESPINOZA (1994) reporta que el extracto del barbasco (*Lonchocarpus nicou*) al 7 y 10% contra piojos de cuyes (*Gyropus ovalis y Gliricola porcelli*) obteniendo una mortalidad de 100% a los 3 días después de la aplicación, PERALTA (2004) menciona que la harina del Kumu (*Lonchocarpus sp*) en concentraciones de 10, 20 y 30 g/L en baños de inmersión contra piojos de cuyes reporta una mortalidad de 100 % a 2 días post-tratamiento

Los resultados de la evaluación tiene relación con el reporte de KILLIP Y SMITH (1931) quienes expresan que en la región de Huancayo (Perú) el cube en suspensión con agua, era usado como baño para el ganado lanar, principalmente en la lucha con los parásitos que debilitan al animal, tales como: Garrapatas, piojos de oveja (*Melophagus ovinus*), sarna de la oveja (*sarcoptes sp*), piojo azul del ganado vacuno (*Haematopinus eurysternus*) y piojo del ganado porcino (*Haematopinus suis*). ALNICOLSA (2011) menciona que la rotenona usado en un 0.50 % en la ganadería mostró efecto para el control de garrapatas y otros ectoparásitos.

VI. CONCLUSIÓN

- La raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) disueltos en agua destilada a partir de 0.10% de concentración presenta efectividad en el control de huevos de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus)* microplus) in vitro.

- La raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) disueltos en agua destilada a partir de 0.50% de concentración presenta mayor mortalidad larvaria de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus)* microplus) in vitro.

- La raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) disueltos en agua a partir de 0.50% de concentración presenta mayor mortalidad de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus)* microplus) adultas in vivo.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar trabajos de investigación in vivo post-tratamiento para obtener el efecto residual y determinar el intervalo entre baños.

- Realizar trabajos de investigación in vitro e in vivo con las diferentes partes del barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.*) para darle importancia toda la planta.

ABSTRACT

The objective of the present research was to determine the *in vitro* and *in vivo* biocidal effect of dusted barbasco (*Lonchocarpus nicou (Aublet) DC.)*) on the control of ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus)*. For this purpose the fresh barbasco root was firstly chop up at 2.29±0.69 cm long, then it was dehydrated at 50° C for 72 hours and milled in a willy mill at 1mm size particle. In vitro, 150 tick eggs and larvae were distribuited in 15 groups of 10 ticks each, then were placed on wattman N° 40 filter paper after being embed in the 0,. 0.1, 0.25, 0.5 and 0.75 % w/v suspension of dusted barbasco root with three repetition for treatment. For in vivo procedure, 5 tick parasitized heifers 1.5 years old were distribuited in five treatments 0 % (T0), 0.10% (T1), 0.25% (T2), 0.50% (T3), 0.75% (T4) with three repetitions each were used. Data was analyzed by Chi-square test. In vitro and in vivo, larvae and adult mortality respectively obtained in T2, T3, and T4 were higher than those obtained in the T0 ($P<0.0001$) after 15 minutes in vitro and 24 hours in vivo. Dusted barbasco root shown efficacy in suppressing larval viability post hatch after 0.1% w/v and in the larvae and adults mortality after 0.5% w/v of dusted barbasco.

Key words *Lonchocarpus nicou*, *Rhipicephalus microplus,* biocidal effect, ticks.

VIII. BIBLIOGRAFIA

ANGULO, P.; ESPINOZA, J. Y FERNANDEZ, V. 1987. Nuevas formulaciones de *Lonchocarpus nicou* "cube o barbasco" para uso humano y veterinario, Universidad Nacional Mayor de san Marcos. Lima, Perú, 50 p.

ALNICOLSA, 2011. Productos agroindustriales de exportación [en línea]: http://taninos.tripod.com/cube.htm, documento, 17 de Noviembre 2011.

BAYER, 2004. Manual Bayer de la garrapata. Sanidad animal. México [en línea]: http://www.sanidadanimal.com/manuales.php?w=garrapatas-76k, documento, 10 de Noviembre 2010.

BAZÁN, M. 2002. Efecto de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en el control de *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en ganado bovino estabulado. Tesis MSc. biotecnología. Km 40 autopista Colima-Manzanillo, México. Universidad de Colima. [en linea]: http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Marcelino%20Bazan%20Tene.pdf, tesis, 08 de Febrero 2012.

CARDOZO, H. Y FRANCHI, M. 1995. Garrapata. Epidemiología y control de

Rhipicephalus (Boophilus) microplus. En: Enfermedades Parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención. Ed Nari, A. y Fiel, C. Editorial Hemisferio Sur. p 369 – 402.

CASAS, A.; TRIGUEROS, V.; CHAVEZ, V.; TANG, P. y RUIZ, V. 2009. Tratamiento y control de Garrapata *Boophilus microplus,* a través de la combinación de Fluzuron/fipronil *pour on,* en bovinos de trópico, Pucallpa, Perú. Tesis Med. Veterinario. Ivita – Pucallpa, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 11 p.

CEN, A.; RODRIGUEZ, A.; DOMINGUEZ, J. Y WAGNER, G. 1998. Studies on the effect on infection by *Babesia spp* on oviposition of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* engorged females naturally infected in the Mexican tropics. *Vet Parasito*l Pp78,-257.

CHIESA, M. 1965. Terapéutica vegetal. Barcelona España Edit. Salvat S.A. 1016p.

DRUGUERI, L. 2004. Garrapatas del ganado bovino. Argentina [en línea]: http//www.zoetecnocampo.com/Documentos/garrapata.htm37k.documento, 2 de Febrero 2007.

ESPINOZA, J. 1994. Efecto de barbasco (*Lonchocarpus nicou*) en el control de piojos de cuyes, en Tingo María. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo maría, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 45 p.

ESPINOZA, L. 2005. Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y de *Metarhizium anisopliae* en control biológico de *Boophilus microplus.* Tesis Ing. Agrónomo. Francisco Morazán, Honduras. Escuela Agricola Panamericana, El Zamorano. 29 p.

GONZALEZ, J. 1974. O controle do carrapato dos bovinos porto alegre: sulina. 103p.

GONZÁLEZ, O. Y LÓPEZ, L. 1979. Efecto de las garrapatas sobre la producción bovina. Biología 8.pags 125-136.

GOODMAN, E. Y GILMAN, V. 1986. Las bases farmacológicas de la terapéutica. México. Edit. Medica panamericana. 1559 p.

GUTIÉRREZ, 2006. Identificacion de órganos blanco en garrapatas de la especie *Boophilus microplus* para anticuerpos-antigarrapata de bovinos inducidos por el inmunógeno Tick-Vac MK® del laboratorio limor de Colombia S.A mediante métodos de inmunoperoxisadasa. Tesis Microbiología industrial. Bogota. Pontificia Universidad Javeriana. 105 p.

HORS, S. 1987. Ectoparasite of animals and their impact of economy of South America. 23 Rd. Word Veterinary Congress. Montreal, Canadá.

KILLIP, E. Y SMITH, A. 1931. Smithsonian institute. Publication 3093. EE. UU. 401p.

LEITER, R. 1987. Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Susceptibilidade, uso actual e retrospectivo de garrapaticida en propiedades das regionais fisiogeografica da baixa da do Grande – rio e Rio de Janeiro. Una abordagem epidemiologia. 1988. 151 p

LIMA, W.; RIBEIRO, M. Y GUIMARAES, P. 2000. Seasonal variation of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in cattle in Minas Gerais State, Brazil. *Trop Anim Health Prod* 32, Pp375-380.

MARIÑOS, C.; CASTRO, J. Y NONGRADOS, D. 2004. Efecto biocida del «barbasco» *Lonchocarpus utilis* (Smith,1930) como regulador de larvas de mosquitos. Rev. peru. Biol. Yurimaguas-Loreto, Peru. 11 (1): 87-94. [en línea]: http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v11n1/v11n1a11.pdf, Revista, 14 de Diciembre 2011.

MERIAL. 2001. Control de enfermedades parasitarias de los Bovinos.Argentina [en línea] : http://ar.merial.com/producers/beef/enfer_parasitarias_book.html.documento, 13 de Junio 2007.

NÚÑEZ, J.; MUÑOZ, M. Y MOTELDO, H. 1987. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. La garrapata común del ganado vacuno. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.

O'KELLY. 1981. Metabolic changes in cattle due to specific effects of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus.* 45:657-566.

PERALTA, R. 2004. Efecto de la raíz molida del kumu (*Lonchocarpus* sp) en el control de piojos en cuyes (*Cavia porcellus*). Tesis Ing. Zootecnista. Tingo maría, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 35 p.

REYES, L. 2011. Extracto de rotenona, insecticida natural, orgánico y biodegradable. [en línea] http://www.sectorproductivo.com.py/agricola/plaguicidas/6277-extracto-de-rotenona-insecticida-natural-orgánico-y-biodegradable, Revista, 15 de Noviembre 2011.

RODRÍGUEZ, M. 2000. Respuesta inmunológica contra garrapatas. Biotecnología aplicada. 17:215-220.

SILVA, G.; LAGUNES, J. RODRÍGUEZ, R. 2002. Insecticidas vegetales [en línea]: http://www.monografias.com/trabajos18/insecticidas-aturales/insecticidas-naturales.shtml, documento, 10 de Noviembre 2011.

SUTHERST, R. 1989. Resistance of cattle ticks as one element in a tick control programme. The erradication of tick. FAO. Rome, Italy. Pp. 154-164.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA, 2011. Datos meteorológicos. Estación meteorológica "José Abelardo Quiñones" datos no publicados.

ANEXO

Cuadro 4. Viabilidad embrionaria (N°) y mortalidad larvaria (N°) de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*

Tratamiento	Eclosionaron	No eclosionaron	Mortalidad larvaria	Total
T0R1	9	1	1	10
T0R2	10	0	1	10
T0R3	8	2	0	10
T1R1	5	5	5	10
T1R2	5	5	5	10
T1R3	3	7	3	10
T2R1	3	7	3	10
T2R2	2	8	2	10
T2R3	5	5	5	10
T3R1	5	5	5	10
T3R2	2	8	2	10
T3R3	5	5	5	10
T4R1	4	6	4	10
T4R2	4	6	4	10
T4R3	3	7	3	10
TOTAL				150

Cuadro 5. Mortalidad larvaria (N°) de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*

TRATAMIENTOS	Larvas muertas			Larvas evaluadas
	5 minutos	10 minutos	15 minutos	
T0R1	0	0	0	10
T0R2	0	0	0	10
T0R3	0	0	0	10
T1R1	0	3	4	10
T1R2	1	4	5	10
T1R3	1	3	4	10
T2R1	3	7	8	10
T2R2	4	8	9	10
T2R3	3	7	8	10
T3R1	6	9	10	10
T3R2	5	9	10	10
T3R3	5	9	10	10
T4R1	7	10	10	10
T4R2	8	10	10	10
T4R3	8	10	10	10
Total				150

Cuadro 6. Numero de garrapatas vivas en las áreas evaluadas (trabajo de campo)

Tratamiento	Tiempo (horas)			
	0	24	48	72
T0R1	15	15	14	14
T0R2	18	17	16	15
T0R3	10	10	10	10
T1R1	13	11	4	0
T1R2	10	10	6	2
T1R3	7	6	4	3
T2R1	21	10	3	1
T2R2	13	11	2	0
T2R3	18	10	2	2
T3R1	21	8	5	0
T3R2	16	15	2	0
T3R3	6	6	1	0
T4R1	28	8	3	0
T4R2	21	10	2	0
T4R3	13	10	1	0

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo Maria – Perú

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

EL ESPECIALISTA EN DENDROLOGIA TROPICAL DE LA FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES, QUE SUSCRIBE:

CERTIFICA

Que, la muestra proporcionada por el Bach. YEMEN MEJIA AGUIRRE que tengo a la vista y la observación realizada en campo pertenecen a:

- ***Lonchocarpus nicou*** **(Aublet) DC.**

Se expide el presente a solicitud de la interesada para los fines pertinentes.

Tingo María, 08 de Noviembre del 2012.

Universidad Nacional Agraria de la Selva
Dpto. de Ciencias de los R.N.R.
TINGO MARIA

Ingº Warren Ríos García
Profesor de Dendrología
UNAS
CIP 43189