



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**CAMPUS V**

**Efecto Ixodícida de Bionanopartículas en extracto de Chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook & Arn) sobre *Rhipicephalus microplus***

**TESIS**

**Que para obtener el grado de**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA  
TROPICAL**

**Presenta**

**Dalia Liy Salmerón PS1886**

**Director de tesis**

**MC. Carlos E. Ibarra Martínez**

**Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México**  
**Enero, 2024.**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS, CAMPUS V.  
DIRECCIÓN



Vitaflores, Chiapas  
15 de noviembre de 2023  
Oficio N° FCACV/D/1160/23

**MVZ. DALIA LIY SALMERON**  
MAESTRANTE EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL  
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS CAMPUS V  
P R E S E N T E.

En atención a que usted ha presentado los votos aprobatorios del Honorable Jurado designado para su evaluación de posgrado, de la tesis titulada: "Efecto Ixodicida de Bionanopartículas en extracto de Chipilin (*Crotalaria longirostrata* Hook & Arn) sobre *Rhipicephalus microplus*", por este conducto le comunico que se le autoriza la impresión del documento, de acuerdo a los lineamientos vigentes de la Universidad.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

FACULTAD DE  
CIENCIAS AGRONÓMICAS  
ATENTAMENTE  
"POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR"  
AUTÓNOMA  
DIRECCIÓN  
M. C. CARLOS ALBERTO VELÁZQUEZ SANABRIA  
DIRECTOR

FACULTAD DE  
CIENCIAS AGRONÓMICAS  
AUTÓNOMA  
COORD. DE INVESTIGACIÓN  
Y POSGRADO

C. c. p. Archivo

CAVS\*marh.



Código: FO-113-05-05

Revisión: 0

### CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LA TESIS DE TÍTULO Y/O GRADO.

La suscrita Dalia Liy Salmerón, Autor de la tesis bajo el título de Efecto Ixodida de Bionanopartículas en extracto de Chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook & Arn) sobre *Rhipicephalus microplus* presentada y aprobada en el año 2024 como requisito para obtener el título o grado de Maestra en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical, autorizo licencia a la Dirección del Sistema de Bibliotecas Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH), para que realice la difusión de la creación intelectual mencionada, con fines académicos para su consulta, reproducción parcial y/o total, citando la fuente, que contribuya a la divulgación del conocimiento humanístico, científico, tecnológico y de innovación que se produce en la Universidad, mediante la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Consulta del trabajo de título o de grado a través de la Biblioteca Digital de Tesis (BIDITE) del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH) que incluye tesis de pregrado de todos los programas educativos de la Universidad, así como de los posgrados no registrados ni reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT.
- En el caso de tratarse de tesis de maestría y/o doctorado de programas educativos que sí se encuentren registrados y reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional del Ciencia y Tecnología (CONACYT), podrán consultarse en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Chiapas (RIUNACH).

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; a los 21 días del mes de marzo del año 2024.

Dalia Liy Salmerón



## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS

### MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL

Esta tesis titulada “**EFFECTO IXODICIDA DE BIONANOPARTÍCULAS EN EXTRACTO DE CHIPILÍN (*Crotalaria Longirostrata Hook & Arn*) SOBRE *Rhipicephalus microplus***” la cual fue financiada con recursos del CONACyT y registrado en la Coordinación de Investigación y Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento **LGAC** - Innovación en los sistemas de producción pecuaria, **RESPONSABLE**.

Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento del Cuerpo Académico consolidado **PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL SOSTENIBLE UNACH-CA-128**, perteneciente al Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical (MCPAT).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL

Esta tesis titulada "EFECTO IXODICIDA DE BIONANOPARTÍCULAS EN EXTRACTO DE CHIPILÍN (*Crotalaria Longirostrata* Hook & Arn) SOBRE *Rhipicephalus microplus*", fue realizada por la MVZ. DALIA LIY SALMERON ha sido APROBADA por la Comisión Revisora indicada, como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL.

COMISIÓN REVISORA

MC. Carlos E. Ibarra Martínez

DR. Gerardo U. Bautista Trujillo

MB. María Ángela Oliva Llavén

## **Dedicatoria**

La presente tesis está dedicada primero a Dios, gracias a él, he logrado concluir la tesis, quién me ha guiado y me ha dado fortaleza para seguir adelante y no soltarme de su mano.

A mi esposo Horacio Gómez Burguete por su comprensión, estímulo constante y apoyo incondicional a lo largo de mis estudios.

A mi madre Wilfrida Salmerón Lagunas que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores lo cual me ha ayudado a seguir adelante en los momentos difíciles.

A mi padre Lucio Lij Martínez que desde el cielo me ilumina para seguir adelante con mis proyectos.

También dedico a mis hijos Horacio y Gregory quienes han sido mi mayor motivación para nunca rendirme, luchar todos los días y poder llegar a ser un ejemplo para ellos.

Y también a mis compañeros que aportaron cada uno de ellos su granito de arena al inicio, durante y al final para poder realizar esta tesis.

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Por el financiamiento otorgado a mi persona durante los estudios de maestría.

A la **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Campus II**, de la Universidad Autónoma de Chiapas por el uso de las instalaciones y acompañamiento brindado.

A mi Consejo Tutorial, por la paciencia y los momentos de enseñanza:

**MC. Carlos E. Ibarra Martínez**, agradezco su paciencia, conocimiento y apoyo brindado en la realización y finalización de esta tesis.

**Dr. Gerardo U. Bautista Trujillo** por ser una persona que me orientó, motivó en esta travesía, así como su valiosa colaboración, de verdad muchas gracias.

**MB. María Ángela Oliva Llavén**, quien desde hace tiempo tiene mi amistad y admiración; gracias por sus atenciones y colaboración prestada para llegar y conseguir mis objetivos trazados.

Al **MC. Herbey Ruis Sesma** por su enseñanza y paciencia en el laboratorio de Biología Molecular, una de las piezas muy importante para la obtención de los resultados obtenidos.

A la **MC. Nancy, M.C. Zoila, MC. Susana** a cada una de ustedes que me orientó y apoyo para obtener esta tan apreciada tesis. Gracias por su gran amistad.

A los profesores de la Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical, por todas las enseñanzas brindadas en mi formación académica que se sirvieron de mucho para llegar a donde hoy estoy; gracias a cada uno de ustedes.

## Contenido

I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Problema de investigación.....	2
1.2 Objetivo general.....	3
1.2.1 Objetivos específicos .....	3
1.3 Hipótesis .....	3
I.REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Distribución en México de <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	4
2.3.1 Ciclo biológico.....	6
2.4. Enfermedades transmitidas por la garrapata .....	9
2.5. Formas de control.....	10
2.5.1 Control químico.....	10
2.5.1.2 Ixodicidas químicos usados para el control de la garrapata.....	11
2.5.1.3 Plaguicidas botánicos .....	12
2.5.2 Metabolitos secundarios .....	12
2.6 Descripción del <i>Crotalaria longirostrata</i> Hook. & Arn. ....	14
2.6.1 Fitoquímica y acción farmacológica .....	15
2.7 Nanopartículas (NPs).....	15
III. MATERIAL Y MÉTODOS .....	16
3.2 Colecta de Garrapatas.....	17
3.4 Selección y procesamiento del extracto vegetal. ....	17
3.4.1 Preparación de extractos. ....	18
3.4.2.3 Biosíntesis de nanopartículas de plata (Ag).....	21
3.5 Diseño experimental y análisis estadísticos.....	21
IV. RESULTADOS Y DISCUSION .....	23
V. CONCLUSIONES .....	32
VI. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	33

## Índice de Cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Taxonomía <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	6
<b>Cuadro 2.</b> Clasificación de metabolitos secundarios según Ávalos y Pérez-Urria (2009) .	13
<b>Cuadro 3.</b> Clasificación taxonómica de <i>Crotalaria longirostrata</i> Hook. & Arn (1838).....	14
<b>Cuadro 4.</b> Media y error estándar de mortalidad de larvas de <i>R. microplus</i> por efecto de extracto de <i>C. longirostrata</i> Hook. & Arn después de 48 h de exposición. ....	23
<b>Cuadro 5.</b> Concentración letal media (CL50) de <i>C. longirostrata</i> Hook. & Arn sobre la larva de <i>R. microplus</i> después de 48 h de exposición.....	23
<b>Cuadro 6.</b> Media y error estándar de mortalidad de larvas de <i>R. microplus</i> por efecto de las NPs después de 48 h de exposición. ....	25
<b>Cuadro 7.</b> Mortalidad porcentual de teologina de <i>R. microplus</i> expuestas a concentraciones de <i>Crotalaria longirostrata</i> Hook. & Arn con adición de NPs.....	27
<b>Cuadro 8.</b> Tasas de reducción de Oviposición (%OR), eclosión de huevos (%E), porcentaje de eficiencia reproductiva (%RE) y porcentaje de inhibición de la reproducción (%RI) de teologina de <i>R. microplus</i> por efecto de aplicación de tratamientos de <i>Crotalaria longirostrata</i> Hook. & Arn con adición de NPs. ....	29

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> Situación actual de la garrapata <i>Boophilus spp</i> en México. ....	4
<b>Figura 2.</b> Ubicación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia CII-UNACH .....	16
<b>Figura 3</b> Mortalidad comparada de tratamientos evaluados sobre la larva de <i>R. microplus</i> después de 48 horas de exposición .....	26

## Resumen

El presente trabajo se desarrolló en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, consistió en ver la efectividad ixodicida de la síntesis de nanopartículas de plata en extracto de *C. Longirostrata Hook. & Arn*, sobre la garrapata *Rhipicephalus microplus*. En primera instancia se procedió a realizar una prueba preliminar evaluando la toxicidad (mortalidad) de la planta sobre la garrapata en su etapa larval, para ello se usaron estructuras de la planta como son hoja y tallo para elaborar los respectivos extractos de la planta. La finalidad de la primera etapa fue determinar la concentración más tóxica que se usaría para realizar los bioensayos en la garrapata en su etapa adulta, el criterio para su selección fue demostrar una actividad toxica igual o superior de 80%; para ello se evaluaron las siguientes concentraciones 100, 80, 60, 40 y 20% respectivamente. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar evaluando los tratamientos mediante la prueba de inmersión de larvas modificada por Santamaría y Soberanes (2001), cada tratamiento tuvo tres repeticiones incluyendo el grupo control que fue agua destilada. Con base al resultado de la primera etapa, el tratamiento seleccionado para dar continuidad al estudio fue el hecho a base de tallo de *C. longirostrata* con concentración de 100%, el cual se le denominó "tratamiento madre", el cual sirvió para realizar más fracciones con adición de nanopartículas de plata y evaluar su toxicidad sobre la garrapata en etapa adulta, las variables evaluadas fueron; mortalidad y eficiencia reproductiva (ER), este es un valor útil para evaluar la eficacia del producto (RI). En cuanto a los resultados de esta etapa, se observó que las concentraciones que mostraron mayor efectividad sobre la mortalidad de la teleogina fueron los tratamientos de 100% y 75% con 46% y 42% respectivamente. Respecto a las variables reproductivas, el tratamiento con concentración de 50% mostro mayor efectividad, con 11.5% para RE y 35.5% para RI, no se observó diferencia significativa en este último (35.5%  $\pm$ 0.2). Si bien existe poca información sobre la actividad ixodicida de *C. longirostrata* sobre *R. microplus*, este estudio comprobó que es eficaz sobre la mortalidad de *R. microplus* durante su etapa larval y moderadamente eficaz sobre la eficiencia reproductiva durante la etapa adulta.

**Palabras Claves:** Nanopartícula, *C. longirostrata*, *R. microplus*, mortalidad, capacidad reproductiva

## I. INTRODUCCIÓN

La garrapata *Rhipicephalus microplus* es uno de los principales ectoparásitos que afectan a los bovinos en zonas tropicales y subtropicales, siendo esta parasitosis sumamente importante en el estado de salud de los bovinos, ya que es el vector por el cual se transmite las enfermedades hemoparasitarias como son Anaplasmosis (***Anaplasma marginale***) y Piroplasmosis (***Babesia bovis***). Siendo su principal característica reproductiva, en un solo hospedero cumple todo su ciclo biológico. De ahí el éxito de su reproducción, pero dificultando su control. Entre las muchas consecuencias de éste ácaro es que afecta la producción de leche y carne en las unidades de producción pecuarias; problemas económicos, debido a los daños en la piel de los animales, mortalidades y dificultad para su control (Alonso *et al.*, 2013).

Generalmente su control ha sido a base de productos químicos, primeramente se usaron los organofosforados (OP), siguieron en el siguiente orden los derivados de piretroides sintéticos (PS), amidinas (AM), Lactonas macrocíclicas (LM). Pero debido a su mal manejo en su uso y aplicación generó la creación de cepas de garrapatas resistentes a los productos; esto hizo necesario desarrollar nuevos métodos de control como son los siguientes: reducir la frecuencia de aplicación de los productos, uso de productos sinergistas, mezclas de acaricidas, rotación de productos químicos, control biológico, introducción de razas de ganado resistentes, manejo y quema de praderas, mejora de inmunidad, el uso de compuestos secundarios de plantas como antiparasitarios no convencionales (Cortés *et al.*, 2010).

Ante esta circunstancia, últimamente se han desarrollado investigaciones donde productos derivados de las plantas, como son los extractos y aceites esenciales, se han usado para evaluar la toxicidad de las plantas sobre la garrapata como productos de control sustitutos de los productos químicos, considerando que éstos se caracterizan por ejercer menor impacto a los ecosistemas, ser menos tóxicos en los animales y humanos, generar bajo riesgo de resistencia y ser solubles en agua u otros solventes. En base a esto y con el objetivo de potenciar la acción de estos productos, se ha valorado que la síntesis de

nanopartículas de metales pesados proporciona un efecto sinérgico de su acción, ya que estas, por su diminuto tamaño, pueden unirse a sustancias que reconocen las células. y tejidos con mayor facilidad, actuando como biosensores en el cuerpo y se les puede agregar un agente antimicrobiano que actuará como medio de transporte lo que mejorará el tratamiento al momento de seleccionar el órgano diana, esto significa que reconocerán el mejor lugar en el sitio de acción del fármaco, consiguiendo una eficacia que diferirá por segundos respecto a otros fármacos (Sarkar & Paul, 2017).

En este sentido, se evaluaron extractos de alrededor de 55 especies de plantas de 26 familias en todo el mundo. En algunas especies se han identificado principios activos con actividad insecticida y/o acaricida, pero pocas sustancias mostraron mayor actividad contra *Rhipicephalus microplus* (Borges, 2011). Las especies más estudiadas son *Melia azaderach* y *Azadirachta indica* (Meliceae). Sin embargo, el estudio con de la familia Fabacea-Mimosae es limitado.

*Crotalaria Longirostrata Hook & Arn* es tradicionalmente conocida como “Chipilín” pertenece a la familia Fabácea, se caracteriza por ser un arbusto de ramificación abundante, compuesta por hojas ovaladas y pequeñas, verde oscuro, flores en las puntas de color amarillo en sus cada una de sus ramas; conteniendo hierro, calcio, ácido ascórbico y rivo flavina, estudios demuestran que la planta posee propiedades purgantes, narcótica, mineralizante además ayuda a la producción de glóbulos rojos. Sin embargo, no se encontró información sustantiva que permita a la planta demostrar su actividad tóxica sobre la garrapata *Rhipicephalus microplus* (Miranda *et al.*, 2018).

## **1.1 Problema de investigación**

La garrapata y lo que se refiere a los problemas de sanidad, económicos y de exportación afectan principalmente para las zonas tropicales y subtropicales. Se han usado varias estrategias para la mitigación, pero no se han obtenido resultados satisfactorios debido al uso indiscriminado de acaricidas o en la búsqueda de productos de origen biológico para reducir el impacto del problema. Por otra parte, el tema de la resistencia a los productos químicos, cambios en el clima, las vegetaciones hacen cada vez más complicado el control de éste ácaro; lo cual representa un gran reto para la investigación; buscando

nuevas alternativas para la lucha contra éste ectoparásito y así también para las enfermedades que derivan de ellos. Todo esto aunado al incremento en cuanto al impacto ambiental que trae como consecuencia debido a los efectos residuales excretado en las heces de los animales.

Considerando que últimamente se han realizado estudios con productos derivados de las plantas como estrategia alterna, se podría sumar a esta alternativa el uso de nanopartículas de plata sintetizadas en la planta de chipilín (*C. longirostrata Hook*) para evaluar su actividad tóxica sobre la garrapata (Benavides, 2016).

## **1.2 Objetivo general**

Evaluar in vitro el efecto tóxico de las bionanopartículas de Chipilín (*Crotalaria Longirostrata Hook & Arn*) sobre *Rhipicephalus (B) microplus*.

### **1.2.1 Objetivos específicos**

- a. Evaluar el efecto de mortalidad que tiene el extracto de chipilín sobre la garrapata *Rhipicephalus microplus* en su etapa larval,
- b. Evaluar el efecto de mortalidad que tiene la adición de nanopartículas de plata al extracto de chipilín sobre la garrapata *Rhipicephalus microplus* en su etapa larval,
- c. Seleccionar y fraccionar el tratamiento de mayor eficacia en los bioensayos durante la evaluación en la fase larval para ser evaluado en *R. microplus* en su fase adulta,
- d. Evaluar el efecto en la capacidad reproductiva que tienen las fracciones de nanopartículas de plata en extractos de chipilín sobre la garrapata *Rhipicephalus microplus* en su etapa adulta.

## **1.3 Hipótesis**

La síntesis de nanopartículas de plata usando extractos de *Crotalaria Longirostrata Hook & Arn* tienen efecto ixodicida sobre la garrapata *Rhipicephalus microplus* en sus diferentes etapas; larval y adulta.

## I. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Distribución en México de *Rhipicephalus microplus*

En nuestro país se distribuye en relación a varios factores ambientales, como es la vegetación, humedad relativa, altitud y temperatura los cuales son importantes para su supervivencia. Así también la relación entre presencia de hospederos, malas prácticas pecuarias, realizadas en cuanto a su control y/o erradicación (SAGARPA, 2018). *Rhipicephalus microplus* se distribuye en todo el mundo en zonas tropicales y subtropicales. Es un ectoparásito endémico del subcontinente indio, parte importante del continente asiático tropical y subtropical, Madagascar, el nordeste de Australia, el Caribe, el sudeste africano, México y diversos territorios en América del Sur y Central. Se tiene conocimiento que en EE. UU. ya se ha erradicado, pero se ha localizado casos en California y Texas en las áreas cuarentenarias de la frontera con México (INIFAP, 2009).

Según datos del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA, sus siglas) señalan que solo el 30.6% del territorio nacional se encuentra libre de garrapatas, este territorio cubre una extensión de 599,367.84 km cuadrados, y ocupa entidades federativas como son Sonora, Tlaxcala, Aguascalientes, Baja California el Norte de Baja California Sur y Chihuahua, este último no incluye las localidades de Morelos y Guadalupe y Calvo, el resto del territorio nacional se encuentra en las etapas de erradicación y control (Figura 1) (SENASICA, 2023)



Figura 1 Situación actual de la garrapata *Boophilus spp* en México.

Fuente SENASICA-SADER, 2023. Tomado de

[https://www.gob.mx/cms/uploads/image/file/782806/garr\\_nacional\\_15\\_de\\_febrero\\_2023.jpg](https://www.gob.mx/cms/uploads/image/file/782806/garr_nacional_15_de_febrero_2023.jpg)

## **2.2 Importancia de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en la ganadería bovina**

*Rhipicephalus microplus* (antes conocida como *Boophilus microplus*) es la garrapata de mayor impacto en la ganadería bovina a nivel mundial. Es una garrapata clasificada dentro del grupo de las duras, que afecta a una gran diversidad de fauna como: ganado bovino, perros, búfalos, caballos, asnos, ovejas, ciervos, cabras, cerdos y silvestres. Al respecto, Rodríguez-Vivas *et al.*, (2007) en su estudio reportan que el ganado de engorda puede llegar a tener una pérdida de ganancia de peso diario de hasta 0.6 gramos, mientras que Álvarez *et al.*, (2008) señalan que el efecto se puede observar reduciendo el índice de fertilidad en el ganado de engorda conllevando un mayor tiempo en el período de la engorda dificultando su exportación.

Otros estudios señalan que su relevancia radica en el grado y proporción del daño en los animales como son; pérdida de sangre, inoculación de toxinas, daños en la piel, gastos para su control impactando en el incremento de los costos de producción, ya sea leche o carne bovina, afectando su capacidad reproductiva e inmunológica de los animales, además, de ser el principal vector de agentes etiológicos de enfermedades hemoparasitarias, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*, (Solórzano, 2008; Ramos y García, 2009; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010).

Datos señalan que aproximadamente el 80% del ganado bovino a nivel mundial, se encuentra en zonas infestadas. En nuestro país se estima que, debido a esta problemática, se reduce su valor en cuanto a su piel y pérdida de sangre; éstas pérdidas alcanzan de 41 a 48 millones de dólares (USD) anuales en la ganadería bovina (Alonso *et al.*, 2013). La FAO (2003) señala pérdidas económicas por 7.3 US dólares/animal/año, en relación a la ganancia de peso.

## **2.3 Clasificación taxonómica de la garrapata**

Este parásito se clasifican como artrópodos, miembros de las garrapatas duras, adaptables a la vida como parásitos, hematófagos son muy resistentes a condiciones extremas de frío y llegan a sobrevivir sin alimento durante meses. Su principal característica que la diferencia de las blandas es que tiene un hipostoma, palpos y un

exoesqueleto duro que recubre su cuerpo, los cuales podemos observar perfectamente. Cada una dependiendo, su estado maduro tiene patas en número par y las podemos observar a simple vista (Rodríguez *et al.*, 2008).

Las garrapatas Taxonómicamente se pueden clasificar de la siguiente manera

**Cuadro 1.** Taxonomía *Rhipicephalus microplus*

Phylum	<b><i>Arthropoda</i></b>
Subphylum	<i>Chelicerata</i>
Clase	<i>Arachnida</i>
Subclase	<i>Acari</i>
Orden	<i>Parasitiformes</i> <i>Acarina</i>
Suborden	<i>Ixodida</i>
Superfamilia	<i>Ixodoidea</i>
Familia	<i>Ixodidae – Argasidae</i>

(Fuente: Wood & Hoskins, 1991)

### 2.3.1 Ciclo biológico

Se alimentan, mudan sus tres fases (larvas, ninfas y adultos), copulan sobre el mismo individuo; durante ese ciclo, así como en la toma de sangre, y otros procesos fisiológicos de la garrapata llegan a transmitir a sus hospedadores una gran variedad de patógenos causantes de graves enfermedades (Álvarez, 2008). Una sola hembra llega a oviponer alrededor de 4500 huevecillos, tardando de 14 a 140 días en eclosionar, una vez eclosionando las larvas que es el primer estadio buscan a su huésped arrastrándose por el suelo, para posteriormente, subirse a los arbustos esperando a su hospedador o también se ayudan por medio de inundaciones, viento u otros hospedadores para finalmente adherirse a él.

Principalmente las podemos encontrar adheridas en lugares como abdomen, pecho, muslos, ingle debajo de las orejas sobre todo en lugares donde no les llegue el sol, para poder fijarse al animal y empezar a alimentarse la cual se lleva a cabo una sola vez, posteriormente seguir su proceso biológico y finalizar ingurgitadas ya en su etapa de adultas. En cuanto a las garrapatas macho en su etapa adulta maduran sexualmente después de que se alimentan y posteriormente se aparean, es ahí donde la hembra se desprende del animal y busca un lugar donde depositar los huevecillos que por lo regular lo oviponen en grietas o debajo de las piedras y la hojarasca, alejados de los rayos del sol para evitar la desecación de los huevos (Cortés-Vecino, 2011).

### **2.3.1.1 Fase no parasítica**

Una vez alimentada la garrapata o ingurgitada se desprende del huésped y empieza a buscar un lugar en donde poner sus huevecillos, a esta etapa se conoce como fase no parasítica. Gallardo y Morales (1999) señalan que esta fase comprende de los siguientes períodos:

**Preoviposición:** Casi siempre por la mañana y una vez ingurgitada éste ectoparásito, se deja caer al suelo en busca de un lugar donde oviponer, lugares húmedos, alejados de la luz solar, con condiciones apropiadas de humedad relativa (80-90%), ésta etapa dura aproximadamente de 2 a 4 días, sin embargo, puede variar dependiendo de la temperatura (Gallardo y Morales, p. 79).

**Oviposición:** Etapa donde inicia cuando pone su primer huevecillo hasta la última postura. La cual puede durar toda la etapa 14 días. Sin embargo, puede variar en tiempo y cantidad de huevos, dependiendo la estación del año y temperatura (Gallardo y Morales, p. 79).

**Postoviposición:** Etapa cuando la hembra ha puesto el último huevecillo y posteriormente muere ya que ha finalizado su función. Según Núñez y ayudantes se lleva a cabo, alrededor de 2 a 15 días.

**Incubación:** Etapa donde los huevecillos comienzan a prepararse para la eclosión para dar inicio a la fase larval; en la mayor parte de las etapas van relacionados con la humedad y temperatura que influyen directamente en cuanto a su supervivencia de los mismos o afectar su desarrollo, tiempo en que se lleva a cabo de 15 a 51 días (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016. P 86).

**Eclosión:** La etapa final en donde ya los huevecillos han eclosionado, esto puede durar de 14-60 días aproximadamente. La cantidad de huevos eclosionados varía ya sea verano o invierno o condiciones adversas y verse afectada la cantidad de huevos eclosionados o larvas que no sean viables para sobrevivir (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016. P 86).

### **2.3.1.2 Fase Parasítica.**

También se le conoce como fase de encuentro, esta etapa al igual que la “no parasítica” van muy relacionadas en cuando factores de humedad y temperatura de igual manera, son muy resistentes a la falta de alimento, una vez eclosionadas las larvas y adquirida viabilidad empiezan a buscar su huésped, con ayuda de quimiorreceptores los cuales le ayudan a percibir el olor, calor, dióxido de carbono que emiten los animales cuando estos caminan sobre los arbustos y se les trepan para seguir su ciclo biológico. (Canales, 2007; Alonso *et al.*, 2013).

El periodo parasítico comprende 3 etapas: larva, ninfa e imago (Cortes-Vecino, 2011).

**Larva:** En esta fase hay características relevantes principalmente en las patas ya que, en esta etapa tienen tres pares de patas; una vez que la larva ha localizado a su huésped empieza a buscar lugares estratégicos en donde permanecer y alimentarse de los líquidos tisulares perforando la piel por medio de su órgano bucal que son los quelíceros e introduciendo el hipostoma. Aumenta de tamaño y se prepara para pasar a la fase de ninfa. Lugares como piernas, ingle, escroto las partes internas alejadas de los rayos del sol son básicos para su supervivencia (Cruz, 2007).

**Ninfa:** Suceden cambios morfológicos en donde se puede observar la diferencia entre una garrapata macho y una hembra, así también deja de ser larva para convertirse en ninfa, ya no son tres pares de patas sino cuatro pares. La hembra ingurgitada realiza su muda a adulta así mismo aumenta su tamaño, la cual puede llegar a tener el doble de su tamaño inicial (Gasque, 2008).

**Adulto o Imago:** esta fase ya es la fase final de su ciclo parasítico en donde la hembra se desprende del animal para pasar a la etapa no parasítica, una vez ya repleta y fecundada, contrario a los machos que siguen sobre el animal alimentándose y apareándose para dar lugar a más descendencia (Fiel & Nari, 2013).

## **2.4. Enfermedades transmitidas por la garrapata**

Los agentes etiológicos causantes de enfermedades transmitidas por garrapatas son *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y por la *rickettsia Anaplasma marginale*.

### **2.4.1 Anaplasmosis**

Enfermedad hemoparasitarias causado por la bacteria *Anaplasma marginale*, cuando son infectados por la mordedura de la garrapata y ésta le transmite al huésped la bacteria desencadenando una serie de signos al animal afectándole los glóbulos rojos y por lo consiguiente desarrollando una anemia severa. Es una enfermedad que puede afectar a todas las especies de animales incluyendo al hombre. Su período de incubación es de 2 a 4 semanas aproximadamente. Animales que son infectados pueden llegar a sobrevivir siendo reservorios de la enfermedad, otro método de transmisión el por fómites, una enfermedad que ocasiona pérdidas en las unidades de producción debido a los abortos y miasis debido a las heridas expuestas, causadas cuando la garrapata se alimenta en casos muy avanzados puede ocasionar la muerte del huésped (González *et al.*, 2013; Corona *et al.*, 2005).

Los tratamientos a base de tetraciclinas de acción prolongada pueden ayudar con la enfermedad; de igual forma se puede usar para expeler el microorganismo de los

portadores infectados crónicamente; transfusiones de sangre para prevenir muerte en casos de anemia grave (Corona *et al.*, 2005).

#### **2.4.2. Babesiosis**

Los signos patognomónica es que causa una lisis eritrocítica extensiva, la cual es causada por el protozooario *Babesia bigemina*, la hemoglobinuria y hemoglobinemia severa acompañada por fiebre, además de taquicardia, pelo hirsuto, disnea y lomo arqueado son signos que nos señalan la presencia de esta enfermedad. En casos avanzados hay anemia, ictericia y finalmente el deceso, la destrucción de aproximadamente el 75% de los eritrocitos en pocos días. Se tiene conocimiento que puede ser a través de la ingestión en las pasturas cuando éstas llevan el ectoparásito infectado y el animal lo consume (Mangold *et al.*, 2013).

#### **2.5. Formas de control**

Se desarrolla fuera del hospedero y se relaciona con las técnicas culturales en relación a el mantenimiento de potreros que involucran actividades que nos permiten manipular o cambiar el hábitat a fin de dañar de manera adversa el desarrollo de la garrapata como, por ejemplo: rotación de potreros, inundaciones, remoción de maleza, descanso de potreros y quemadas controladas, este tipo de acciones causan un impacto sobre el micro hábitat de la garrapata y afecta de igual forma la cantidad poblacional de la misma (INIFAP, 2009).

##### **2.5.1 Control químico**

El uso de productos químicos es la técnica más usada para controlar las infestaciones; no obstante, en muchas ocasiones este tipo de control no se aplica de manera correcta, por lo cual se requiere de ayuda del médico para lograr que los tratamientos sean efectivos y así disminuir la resistencia. Por otro lado, el uso excesivo de estos acaricidas podría traer problemas de envenenamiento a los animales; de igual forma los residuos en carne o

leche podrían traer consecuencias en la salud de los humanos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

### **2.5.1.2 Ixodícticas químicos usados para el control de la garrapata.**

Los principales productos convencionales (químicos) que se usan en el control de la garrapata pertenecen a las siguientes familias químicas: organofosforados, piretroides, amidinas y endectocidas. Estos productos fueron usados en su momento de manera exitosa para su control; no obstante, al mal manejo del producto para su aplicación dio como resultado la generación de cepas de garrapatas resistentes al producto (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

**Organofosforados:** estos productos se absorben a través de la piel y se alojan el tejido adiposo para después diseminarse por vía sanguínea u otros fluidos fisiológicos, teniendo una capacidad residual de 4 a 8 días en el huésped. Actúan inhibiendo la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, lo que ocasiona un incremento en los estímulos nerviosos en los insectos y después la muerte. (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

**Amidinas:** estos productos se caracterizan por ser antagonistas de los receptores de la octopamina, por lo que su diana de acción es el cerebro de la garrapata ocasionando un estado de parálisis, hiperexcitabilidad y muerte del parásito. Y también actúan a que la garrapata no pueda fijarse al animal, por su acción repelente y de esta forma se desprendan y mueran. O muchas veces que no puedan llegar al animal (Junquera, 2021).

**Piretroides:** actúa sobre sistema nervioso, ocasionando alteración en la transmisión del impulso nervioso, parálisis, letargo y posteriormente la muerte. El efecto residual es de aproximadamente 15 días (Hayes, 1975).

**Lactonas macrolíticas o Endectocidas:** en el sistema nervioso de la garrapata liberan ácido gammaaminobutírico (GABA), ocasionando un estado de descanso, parálisis y muerte del parásito. En este grupo se encuentran ivermectina, avermectina, doramectina, etc. (Junquera, 2021).

**Fenilpirazolonas:** el Fipronil la principal sustancia activa del grupo. Por su forma de actuar se asocian al grupo de las avermectinas, debido a que se caracterizan por afectar la formación de cutícula interponiéndose en la formación de la quitina. Debido a que no causan la muerte rápida del parásito, sino que afecta su reproducción se les denomina Inhibidores de desarrollo (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

### 2.5.1.3 Plaguicidas botánicos

En la última década el uso de productos botánicos ha tenido mucha importancia ya que se han usado como plaguicidas sintéticos, ya que son biodegradables, eficaces menos costosos dejando menos residuos que los plaguicidas sintéticos. Se obtienen de algunos órganos o componentes activos en las plantas: tallo, hoja y raíz (Singh *et al.*, 2003).

Investigaciones relacionadas con extractos de plantas han reportado, mortalidades sobre garrapatas adultas y larvas e inhibición de la eclosión y ovoposición. Se han estudiado plantas como: *Leucaena leucocephala* (guaje), *Copaifera reticulata* (copaiba), *Lysiloma latisiliquum* (Tzalam), *Azadiractha indica* (neem), *Piper aduncum* (Cordoncillo blanco), *Piscidia piscipula* (jabón), *Hypericum polyanthemum* (Hiperico). Gramíneas y leguminosas como, *Melinis minutiflora* (pasto gordura), *Brachiaria brizantha* (insurgentes) y *Stylosanthes* spp), (Alonso *et al.*, 2013). Los resultados satisfactorios en laboratorio en cuanto a los extractos utilizados en diferentes fases de vida de *R. microplus* como acaricidas nos dan a conocer su capacidad de uso como acaricida y como una opción económica y ambiental sustentable (Benavides, 2001).

### 2.5.2 Metabolitos secundarios

Se conocen alrededor de 3,000 metabolitos secundarios de procedencia vegetal con actividad biológica sobre diversos organismos. Anaya (1999) señala que los productos derivados del metabolismo primario (carbohidratos, aminoácidos, ácidos nucleicos y lípidos,) intervienen de manera directa en el aumento y permanencia de las plantas, sin embargo, los metabolitos secundarios como son los fenoles, terpenos y alcaloides trabajan como intermediarios (aleloquímicos), interfiriendo sobre la función de la planta;

por otro lado, la perturbación del medio ambiente y las contribuciones bióticas ya sea por el ataque y competencia entre los microorganismos repercuten en la síntesis de los metabolitos secundarios.

Los metabolitos secundarios tienen la posibilidad de actuar como fitoalexinas, disminuyendo o matando el incremento sobre otras plantas. Por su forma de actuar tienen un papel importante en el proceso de adaptación al estrés ambiental, así como en la defensa de agentes patógenos y depredadores. La liberación de estos metabolitos sucede cuando las plantas se encuentran en estado de estrés ocasionado por otros organismos depredadores o por afectación natural, y cada planta genera la cantidad requerida para su defensa así como a su variedad botánica y entorno donde se encuentra (Gómez, 2018). Los metabolitos más relevantes son: taninos, lignanos, saponinas, polifenoles o cumarina, flavonoides y alcaloides (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Estos se pueden encontrar en los extractos o aceites esenciales de las plantas, y son utilizados como enfoques prometedores para controlar artrópodos mediante sus diferentes mecanismos de acción como abstención en la alimentación, afectando la formación de quitina, inhibiendo los factores de reproducción, desarrollo y comportamiento (Figueiredo *et al.*, 2008).

**Cuadro 2.** Clasificación de metabolitos secundarios según Ávalos y Pérez-Urria (2009)

<b>M. Secundario</b>	<b>Característica</b>
Alcaloides	Los alcaloides son metabolitos secundarios nitrogenados, sustancias protectoras de la planta contra el ataque de virus, bacterias, hongos y herbívoros. La nicotina es un alcaloide.
Compuestos azufrados	Los tiofenos, los cuales tiene acción nematocida e insecticida
Fenoles	Taninos debido a su sabor amargo los repelen, las cumarinas disminuyen el desarrollo de hongos, en nematodos y ácaros son tóxicos.
Flavonoides	Dan el color a las diferentes plantas y flores.
Glicósidos cianogénicos	Tóxicos y repelentes ya que liberando cianuro

Terpenos	Son los principales componentes de aceites esenciales, provocan repelencia, inapetencia y evitan la ovoposición
----------	---

## 2.6 Descripción del *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.

La planta de “Chipilín” pertenece a la familia de las Fabaceae (Leguminosae), se caracteriza por ser planta silvestre perenne y es catalogada como una de las especies más importantes, de hoja silvestre, follaje tierno y comestible la cual crece en casi todo el año en climas tropicales por lo que se ha catalogado en muchos lugares como una planta invasora. Corresponde al género *Crotalaria*, existiendo alrededor de 600 especies, distribuidas principalmente en zonas subtropicales, su nombre científico es *Crotalaria longirostrata* y fue descrita por Hook. & Arn. en el año 1838, y publicado en *The Botany of Captain Beechey's Voyage* en 1841. Es considerada nativa de Centro América y de nuestro país.

En el Estado de Chiapas se le conoce con el nombre popular de “Chipilín” y es el nombre con mayor popularidad que podemos encontrar y donde sea caracterizado por su rico olor y sabor al momento de ser cocinado. Informes de literatura con respecto a su composición físico- química o su valor nutricional son escasos y la poca que se conoce hasta ahora es referente a su uso gastronómico (Standley & Steyermark, 1946).

Sus hojas son ricas en proteínas de alto contenido de lisina, por lo que es un excelente suplemento de los cereales además de un elevado contenido de carotenos de alta biodisponibilidad, crece en terrenos húmedos, laderas abiertas y plantadas en campo y jardines. Su olor característico son varias propiedades y sus hojas ricas en tiamina, hierro, calcio, ácido ascórbico y rivo flavina así también ayuda al stress (Chízmar, 2009).

### **Cuadro 3.** Clasificación taxonómica de *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn (1838)

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Clase</b>	<i>Equisetopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Fabales</i>
<b>Familia</b>	<i>Fabaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Crotalaria</i>

### **2.6.1 Fitoquímica y acción farmacológica**

Se han realizado estudios de las especies del género *Crotalaria longirostrata* Hook & Arn, los cuales han sido utilizados como antagonistas de los nematodos en los sistemas de producción de cultivos sostenibles; mostrando su capacidad antiinflamatoria, antihelmíntica, antitumoral y antimicrobiana.

Diversos compuestos se han aislado del género *Crotalaria*, entre los que encontramos los alcaloides son los más reportados, taninos y flavonoides a los que se le atribuye su actividad biológica, las hojas en crudo se les atribuyen propiedades hipnóticas, mineralizante, narcótica, purgante y vomitiva (Camarillo *et al.*, 2020).

### **2.7 Nanopartículas (NPs)**

El uso de las NPs en el campo de lo clínico mejorarán el tratamiento al momento de seleccionar, esto significa que reconocerán un mejor sitio en donde daba actuar el medicamento, logrando una eficacia que estará diferenciada por segundos, en comparación a otros fármacos (Sarkar & Paul, 2017).

Además, por su pequeño tamaño y forma, pueden incluir sustancias que faciliten el reconocimiento de células y tejidos, actuar como biosensores para detectar anomalías en el organismo, o añadirse a agentes antimicrobianos, que actuará como vehículo de transporte de la NP (Leyva, 2013).

Las nanopartículas se encuentran en diversos metales como oro, hierro, platino u óxidos metálicos; Los más utilizados y caracterizados son los sintetizados a partir de iones de plata (AgNPs) por sus propiedades físicas; generan conductividad, químicas; son estables y biológicas; tienen actividad catalítica y antibacteriana (Leyva, 2013).

#### **2.7.2 Aplicaciones de las nanopartículas de plata (AgNP)**

Por mucho tiempo, la plata fue utilizada como medida de prevención en contagio de enfermedades, aun sin saber cómo actuaba. Hoy en día se conoce que los iones de plata

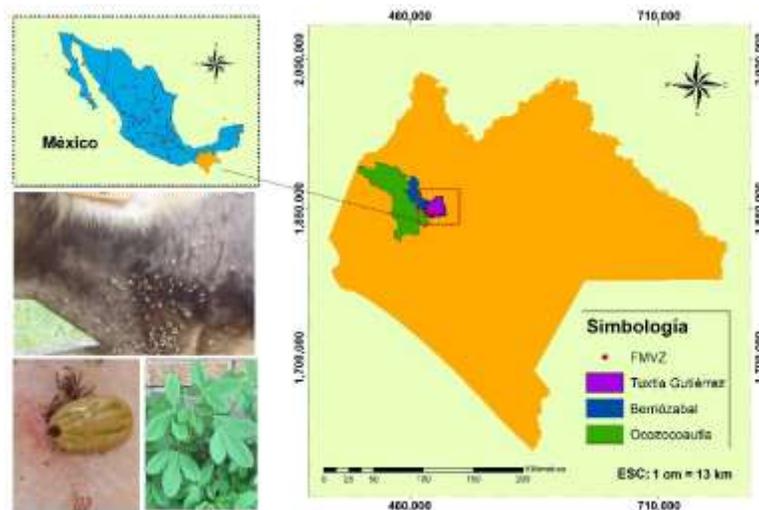
son un fuerte agente antimicrobiano, el cual ataca a todo tipo de gérmenes dentro de los cuales menciona Bacterias, virus, hongos y protozoos

Nuestro medio ambiente posee variedades de plantas y microorganismos extracto de hoja vegetal, hongos bacterianos y las enzimas para la síntesis de nanopartículas de plata, que son utilizados principalmente, y ofrecen numerosos beneficios, como el respeto al medio ambiente y mucha compatibilidad para productos farmacéuticos y otras aplicaciones biomédicas (Travieso *et al.*, 2019).

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Localización del área de estudios

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Autónoma de Chiapas, localizado en el rancho San Francisco Km 8, de la carretera Terán al ejido Emiliano Zapata del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Sus coordenadas geográficas son 16°41'35.38" latitud Norte y 93° 50' 51.55" latitud Oeste.



**Figura 2.** Ubicación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia CII-UNACH

### **3.2 Colecta de Garrapatas**

Las garrapatas hembras adultas ingurgitadas (teleoginas) son procedentes de unidades de producción ganaderas (UP) localizados en el municipio de Berriozábal, Chiapas, México con las siguientes referencia geográficas 16° 48' 00" Norte; 93° 16' 22" Oeste.

La recolección y manipulación de muestras (garrapatas) se realizó teniendo en cuenta el protocolo de la FAO (2004), en horas de la mañana, de forma manual, considerando que estas provinieran de UP dónde por lo menos tuvieran un período de 45 días sin tratamiento con ixodicidas químicos (Rosado-Aguilar et al., 2010). Las garrapatas se recolectaron en botellas de plástico limpias, con orificios de ventilación, algodón húmedo en el fondo del contenedor para mantener ambiente húmedo, se identificaron, y se trasladaron en ambiente frío (hielera) al laboratorio de la FMVZ-UNACH en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

### **3.3 Postura e Incubación de huevo.**

Para el proceso de promover la postura de las teleoginas, en laboratorio fueron colocadas en cajas de Petri y fueron expuestas a condiciones de laboratorio, ambiente oscuro, temperatura de 37- 38°C y humedad relativa de 85-90% hasta obtener la oviposición. Posteriormente los huevos obtenidos se colocaron en viales de cristal tapados con algodón y fueron expuestos a las mismas condiciones ambientales a la que estuvieron expuestas durante la oviposición hasta obtener la eclosión de los huevos (larva). Para efecto de realizar los bioensayos se esperó hasta que las larvas tuvieran una edad de 7 a 14 días (Soberanes *et al.*, 2002).

### **3.4 Selección y procesamiento del extracto vegetal.**

La recolección del material vegetal se llevó a cabo en el municipio de Berriozábal, Chiapas. Las muestras de tallo, se obtuvieron de plantas adultas y se realizó un proceso de deshidratación mediante la estufa marca Imperial III® la temperatura de 40°C durante 72 horas, seguido fue pulverizado hasta obtener un cernido homogéneo en molino marca Ika Werker®, el material obtenido fue empacado en bolsas de nylon, identificadas

y almacenadas a temperatura ambiente, éste proceso se realizó en laboratorio de Biología molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

La recolección de la planta (*C. longirostrata*) se llevó a cabo en el municipio de Berriozábal, Chiapas, México. El criterio de selección fue que estas estuvieran en la fase adulta sin floración. En laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, la muestra fue sujeta a proceso de deshidratación en estufa marca Imperial III® a temperatura de 40 °C durante un período de 72 horas. Posteriormente se pulverizó en molino marca Ika Werker® hasta obtener un polvo fino. El material obtenido fue empacado en bolsas de nailon, identificado y almacenado a temperatura ambiente.

### **3.4.1 Preparación de extractos.**

#### **Extracto acuoso.**

Para preparar el extracto acuoso se tomó una muestra del material molido con un peso de 3 g y se colocó en un vaso de precipitado, se agregaron 100 ml de agua destilada y se llevó a temperatura de ebullición durante 20 minutos para después dejarlo reposar a temperatura ambiente por un período de 24 horas.

Pasado el período, las mezclas se filtraron con papel de filtro Whatman No. 1, el producto obtenido se colocó en un matraz Erlenmeyer, y fue cubierto con papel de aluminio para evitar la exposición de la sustancia a la luz solar y se almacenó a 4 °C por un período no mayor a 72 horas (Lannacone & Lamas, 2003). La mezcla obtenida se consideró una “solución madre o un extracto puro” (EP) con una concentración de 3% p/v. Para los experimentos de dosis-respuesta, a partir de la solución madre se realizaron concentraciones menores añadiendo agua destilada en las siguientes proporciones: 20%, 40%, 60% y 80%, respectivamente. Cada concentración se consideró un tratamiento, el control negativo fue amitraz y el control positivo fue agua destilada.

Las mezclas se filtraron con papel filtro Whatman #1, la solución madre o extracto puro (EP) se depositó en matraz Erlenmeyer cubriéndolo con papel aluminio para obstaculizar el efecto de la luz y se guardó a 4 °C hasta su uso considerando un almacenamiento

máximo de 72 h (Lannacone & Lamas, 2003). La mezcla obtenida inicialmente se consideraron solución madre o también consideradas extracto puro (EP) con una concentración de 3% w/v. Para los experimentos de dosis respuesta las concentraciones se redujeron adicionándole agua destilada en las siguientes proporciones 20%, 40%, 60% y 80% respectivamente, cada concentración se consideró un tratamiento, el control negativo fue Amitraz y el control positivo agua destilada.

### **Extracto alcohólico.**

Para la preparación del extracto alcohólico, se tomó una muestra (3g) de material molido y se colocó en un vaso de precipitado, se le adicionó 300 mL de metanol, y se dejó reposar a temperatura ambiente por un período de 48 horas. Pasando ese tiempo se filtró con papel filtro Whatman #1. Y para eliminar en metanol se utilizó un proceso de calentamiento en estufa de laboratorio a temperatura de 60°C por un período de 2 días. La pasta obtenida se consideró solución madre con concentración de 1% w/v.

Para efecto de los bioensayos de dosis respuesta se tomó 1 gr de la solución madre, y se adicionó 100mL de disolvente (Agua destilada-Tween20, proporción 98:2 v/v) dicha concentración se consideró como solución 100%, para obtener concentraciones más bajas se adiciono diferentes proporciones (20%, 40%, 60% y 80%) del disolvente agua-Tween. Cada concentración se consideró un tratamiento, el grupo control fue Amitraz (negativo) y agua destilada (positivo).

## **3.4.2 Bioensayos.**

### **3.4.2.1 Técnica de inmersión larval modificada.**

La estimación del índice de mortalidad de las larvas de garrapata *Rhipicephalus microplus* por efecto de los tratamientos fue aplicando el método de inmersión larval modificada (Santamaría & Soberanes, 2001) usando larvas de 7-14 días de edad.

Cada tratamiento consistió en adicionar 3 mL de cada extracto en sus diferentes concentraciones y fueron vertidos en las caja de Petri que contenían papel filtro Whatman #1, impregnándose homogéneamente, posteriormente se adicionaron aproximadamente 100 larvas sobre el papel filtro impregnado con la sustancia

dejándose reposar dentro de la sustancia por un período de 10 minutos. Pasado ese período las larvas impregnadas fueron puestas en sobres de papel filtros limpios y secos, depositándose 100 larvas por paquete. Los paquetes se sellaron con broches metálicos y se expusieron, durante 48 horas bajo condiciones de laboratorio a temperatura de 37-38°C, una humedad relativa de 85-90% (Cen *et al.*, 1998).

El porcentaje de mortalidad (M) se estimó aplicando la siguiente formula:

$$M = \frac{(\# \text{ de ácaros vivos} - \text{ácaros muertos})}{\# \text{ de ácaros vivos}} 100$$

#### 3.4.2.2 Prueba de inmersión en garrapatas adultas

La evaluación del efecto de inhibición del potencial reproductivo se realizó aplicando la técnica Drummond mediante los siguientes pasos:

- 1) **Preparación de los productos a ensayar:** se preparó con 25 mL del extracto en solución acuosa a una concentración inicial de 10000 ppm (250 mg/mL).
- 2) **Preparación de las teleoginas:** se utilizaron garrapatas (teleoginas) recolectadas durante las 24h previas, se lavaron y secaron con papel absorbente, posteriormente se colocaron sobre una fuente de calor para detectar las más vitales y con ello descartar las teleoginas lesionadas, las no ingurgitadas, las que presentaron alguna alteración en su color o las que empezaron a oviponer. De las teleoginas seleccionadas se formaron grupos de 10 teleoginas, se pesaron para determinar grupos con peso promedio y fueron colocadas en cajas de Petri en posición ventral hacia arriba y sujetas cada una con cinta adhesiva para evitar su movimiento.
- 3) **Día 0:** A cada caja Petri se le adiciono 25 mL de extracto con la finalidad de que las teleoginas entren en contacto con la sustancia durante un período de 1 minuto. Posteriormente se vertió el contenido sobre un colador a fin de eliminar la solución y separar a las teleoginas para después ponerlas sobre papel absorbente; ya secas

fueron colocadas en caja de Petri, y expuestas a temperatura de 27°C con una humedad relativa de 80% durante 14 días.

- 4) **Día 15:** Se retiraron las teleoginas de la caja de Petri y se pesó la masa de huevos puestos. Éstos se depositaron en viales y se fueron expuestos a las mismas condiciones de temperatura y humedad que habían estado anteriormente, solo que por un período de 25 días.
- 5) **Día 40:** a partir de este día se determinó la tasa de eclosión visualmente (%) contando los cascarones eclosionados y los no eclosionados. comparando el ensayo total de huevos eclosionados, con el ensayo total de los no eclosionados. Se compararon los resultados.

#### **3.4.2.3 Biosíntesis de nanopartículas de plata (Ag).**

El extracto acuoso de Chipilín (*Crotalaria Longirostrata Hook & Arn*) se realizó el mismo procedimiento que se hizo en la preparación del extracto acuoso y se le añadió 1.6983 g de Ag NO<sub>3</sub>, se reposó durante 24 h y se filtró con papel filtro Whatman #1, posteriormente se calentó a 60°C por un periodo de 30 min para finalmente centrifugar a 10,000 ppm / 30 min.

Se seleccionaron hembras adultas, la técnica que se utilizó también fue la técnica prueba de inmersión de adultas" o técnica de Drummond, se hicieron diluciones de diferentes concentraciones al 100, 75, 50, 25 % respectivamente y cada uno con su grupo control que fue el Amitraz y el agua destilada.

#### **3.5 Diseño experimental y análisis estadísticos.**

El diseño experimental aplicado en el estudio fue completamente al azar, con tres repeticiones en sus tratamientos. El análisis estadístico de los datos consistió en estimar comparación de medias mediante ANOVA con un factor, mientras que la evaluación de las diferencias entre las medias fue utilizando la prueba de Tukey. Para el análisis estadístico se usó la herramienta (software) SAS versión 9.0 para Windows. Y la

estimación de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) se hizo mediante prueba Probit, con el software Polo Plus, versión 1.0 Le Ora.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

El estudio se dividió en tres etapas.

##### **Etapas. Estudio preliminar Bioensayos en larvas**

La primera etapa consistió en realizar un tamizaje de los tratamientos a evaluar con la finalidad de seleccionar el de mejor actividad el cual se utilizó para realizar las etapas subsecuentes. El criterio de selección fue tener efectividad en la mortalidad sobre la larva de la garrapata igual o mayor de 80%. Los resultados son los siguientes (cuadro 4).

**Cuadro 4.** Media y error estándar de mortalidad de larvas de *R. microplus* por efecto de extracto de *C. longirostrata* Hook. & Arn después de 48 h de exposición.

Tratamientos		Tallo		Hoja	
Concentración (%)		Media (%)			
		Acuoso	Alcohol	Acuoso	Alcohol
T <sub>1</sub>	100	86 ±4.2 <sub>ab</sub>	47	25.3 ±11.2 <sub>b</sub>	67
T <sub>2</sub>	80	68.7 ±3.4 <sub>ab</sub>	33	60.7 ±5.5 <sub>ab</sub>	44
T <sub>3</sub>	60	55.3 ±11.4 <sub>abc</sub>	16	33.3 ±3.3 <sub>b</sub>	25
T <sub>4</sub>	40	54.7 ±3.7 <sub>abc</sub>	26	46.7 ±0.3 <sub>ab</sub>	14
T <sub>5</sub>	20	46.7 ±3.3 <sub>bc</sub>	14	10 ±3.6 <sub>b</sub>	15
<b>Control positivo*</b>		15.3 ±2.2 <sub>c</sub>		14.7 ±7.3 <sub>b</sub>	
<b>Amitraz 12.5%</b>		100 ±0.0 <sub>a</sub>	90	100 <sub>a</sub>	90

Literales diferentes en la columna indican diferencias entre grupos ( $P < 0.05$ ), prueba de Tukey. ± Error estándar. Control positivo\*: Acuoso: Agua destilada; Alcohólico: Agua destilada - Tween (98/2)

La identificación del nivel de toxicidad aguda de los tratamientos se hizo mediante realizó el análisis Probit donde se observó que de las estructuras vegetales evaluadas la hoja tuvo valor de concentración letal (CL<sub>50</sub>) de 2.63 mg/mL (cuadro 5)

**Cuadro 5.** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de *C. longirostrata* Hook. & Arn sobre la larva de *R. microplus* después de 48 h de exposición

Órgano	Pendiente	CL <sub>50</sub> (mg/ml)	IC	EE	P
--------	-----------	--------------------------	----	----	---

<b>Tallo</b>	1.956	7.78	4.86 - 16.04	± 0.272	<0.05
<b>Hoja</b>	0.940	2.63	1.45 - 4.77	± 0.268	<0.05

Con base a los resultados obtenidos esta investigación reporta que el solvente de extracción que obtuvo mejores valores de toxicidad fue el extracto acuoso, dónde se observó un rango de 50 al 86% de mortalidad sobre larvas, considerando que el objetivo de esta etapa es tamizar los tratamientos para seleccionar el de mejor actividad que se utilizará para realizar las etapas siguientes, se seleccionó el tratamiento 1, ya que reporto un nivel de toxicidad de 86% sobre la larva de *R. microplus*.

Respecto a los valores observados de toxicidad aguda de las estructuras de la planta evaluada se observa que la hoja tiene mejor actividad (CL<sub>50</sub>). Como se puede observar el tratamiento seleccionado en la etapa preliminar la estructura vegetal del tratamiento no corresponde a la estructura más toxica (CL<sub>50</sub>) obtenido en el mismo, por lo que este resultado se considerar a los estudios reportados por Devendra *et al.*, (2012) quienes reportan que en la hoja se concentran la mayor parte de metabolitos secundarios, sin embargo, Cruz-Rodríguez *et al.*, (2017) señalan que en el tallo se concentran alcaloides y flavonoides, mientras que en hoja y raíz se concentran saponinas, siendo los fenoles los de mayor composición fitoquímica, aunado a que la producción o síntesis de metabolitos secundarios depende en gran medida de la etapa fisiológica y de desarrollo de la planta (Rao & Ravishankar 2002).

## **Etapas 2. Bioensayos con Nanopartículas en larvas**

Con base a los resultados obtenidos durante la etapa primera, se realizaron bioensayos de tratamientos con adición de nanoparticulas de plata con diferentes concentraciones; los resultados de mortalidad en larva de *R. microplus* de los tratamientos evaluados obtenidos en esta etapa se muestran en el cuadro 6.

**Cuadro 6.** Media y error estándar de mortalidad de larvas de *R. microplus* por efecto de las NPs después de 48 h de exposición.

	TRATAMIENTO (CONCENTRACION %)	MORTALIDAD %	DE	EE
T <sub>1</sub>	Extracto puro + 100% NPs	100.00a	0	0
T <sub>2</sub>	Extracto puro + 75% NPs	98.67a	1.155	0.666
T <sub>3</sub>	Extracto puro + 50% NPs	86.7a	3.055	1.764
T <sub>4</sub>	Extracto puro + 25% NPs	62.67b	11.372	6.566
	*Agua destilada	7.33c	4.163	2.404
	**Amitraz 12.5%	90.00a	7.211	4.163

Literales diferentes en la columna indican diferencias entre grupos (P<0.05), prueba de Tukey.\* control positivo, \*\*control negativo

Los resultados muestran que entre los tratamientos 1, 2 y 3 no hay diferencia estadística significativa. Sin embargo el tratamiento 1 fue el de mayor actividad con valor de mortalidad sobre la larva de *R. microplus* de 100%. Al respecto, este resultado coincide con el estudio realizado por Velayutham y Ramanibai (2016) quienes reportaron 100% de mortalidad en larvas de primer, segundo, tercer y cuarto estadio usando nanopartículas de plata; y superior a lo reportado por Figueiredo (2020) en su estudio (80%).

La importancia de uso de nanopartículas en el control alternativo de la *R. microplus* se debe a que éstos potencian la acción de los productos naturales, además de especificar su acción en un órgano diana.

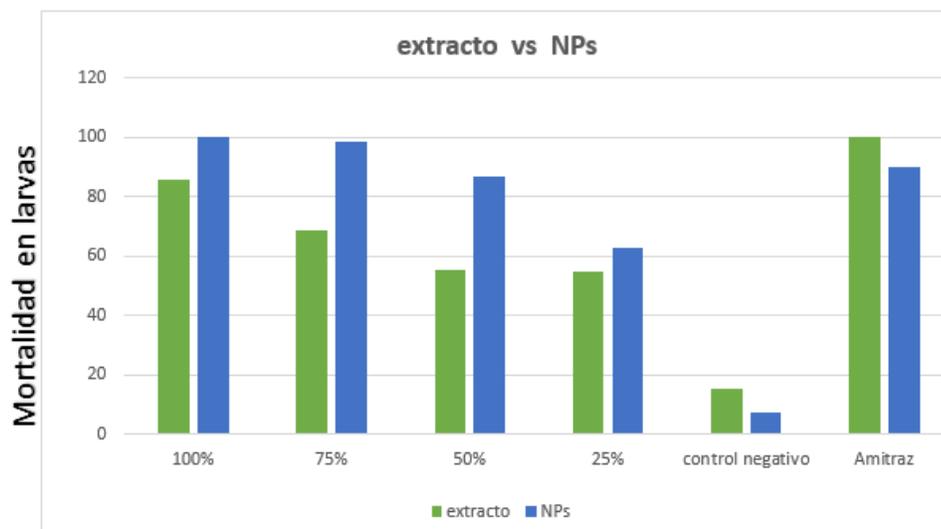


Figura 3 Mortalidad comparada de tratamientos evaluados sobre la larva de *R. microplus* después de 48 horas de exposición

En la gráfica 1 se muestra la mortalidad comparada de los tratamientos en esta etapa del estudio, donde se puede observar que la adición de nanopartículas aumenta la acción en el efecto de mortalidad del extracto puro, donde los tratamientos con NPs tuvieron un efecto de 100% mientras que el extracto puro su efecto fue de 86% de mortalidad observándose una marcada diferencia entre estos.

Al respecto, en la investigación de Ortiz *et al.*, (2021) donde evaluaron nanopartículas *in vitro* sintetizadas con *Lobelia leschenaultiana*, reportan que las nanopartículas mostraron un efecto garrapaticida de 100% a concentraciones de 0.008 mg/ ml, de igual forma se probaron las AgNP sintetizada con Mimosa púdica contra larvas de garrapata de *R. microplus*, determinando que las AgNP tienen un efecto garrapaticida a concentraciones de 8.98 mg/L.

### **Etapas 3. Bioensayos con Nanopartículas en garrapata adulta**

Las técnicas que trabajan con garrapatas adultas se basan en la evaluación de parámetros de fertilidad, es decir, miden la capacidad de un producto para inhibir la postura de huevos por parte de la garrapata. Esta técnica es conocida como prueba de inmersión de adultas o técnica de Drummond.

Con los datos del peso de las garrapatas, el peso de los huevos producidos y el porcentaje de eclosión se calculó la eficiencia reproductiva (ER), un valor que expresa la capacidad de una teologina para transformar su peso corporal en larvas viables, de acuerdo a la fórmula de Drummond *et al.*, (1973).

Los parámetros a evaluar fueron los siguientes; mortalidad de las teologinas y eficiencia de la capacidad reproductiva, esta comprende la medición de los índices de eficiencia en

la reducción de oviposición, eficiencia reducción de eclosión de *R. microplus* usando las mismas concentraciones del extracto acuoso/NPs.

Para evaluar la mortalidad, primero se evaluó la supervivencia de las garrapatas a los tratamientos, para ello se desarrolló la siguiente fórmula sugerida por Álvarez, Loaiza, Bonilla & Barrios (2008).

$$\text{Supervivencia} = \left( \frac{\# \text{ de garrapatas vivas}}{\text{total de garrapatas}} \right) * 100$$

Para estimar la eficacia de la mortalidad (EM), se desarrolló la siguiente fórmula:

$$EM = \left( \frac{\% \text{ supervivencia gpo. control}}{\% \text{ supervivencia gpo. tratado}} \right) * 100$$

Los resultados de mortalidad de teologinas de *R. microplus* en este estudio se presentan en el cuadro 8. Dónde se observa que el efecto de los tratamientos sobre la mortalidad de teologinas estuvo en un rango de 3 a 46%, observándose que el valor más alto corresponde al tratamiento 1.

**Cuadro 7.** Mortalidad porcentual de teologina de *R. microplus* expuestas a concentraciones de *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn con adición de NPs.

Tratamiento	Teologina viva postratamiento (n)	peso garrapatas inicio (g)	Indice De Supervivencia (%)	Eficacia Mortalidad (%)
<b>T1: Extracto puro + 100% NPs</b>	14 (±2.65)	1.43 (±0.32)	46.67	46.15
<b>T2: Extracto puro + 75% NPs</b>	15 (±1.73)	1.57(±0.40)	50.00	42.31
<b>T3: Extracto puro +</b>	22 (±1.00)	1.62 (±0.36)	73.33	15.38

<b>50% NPs</b>				
<b>T4: Extracto puro + 25% NPs</b>	25 ( $\pm 2.65$ )	1.56 ( $\pm 0.34$ )	83.33	3.85
<b>Agua destilada</b>	26 ( $\pm 2.00$ )	1.56 ( $\pm 0.15$ )	86.67	0.00
<b>Amitraz</b>	6 ( $\pm 1.73$ )	1.60 ( $\pm 0.10$ )	20.00	76.92
<b>(<math>\pm</math>). Error estándar de la media.</b>				

El tratamiento de tallo al 100% se obtuvo un menor índice de teoginas vivas al igual que en el peso de larvas eclosionadas (.52 g) de *R. microplus* inferior a lo que reporta Álvarez *et al.*, del estudio evaluado en el 2008 en el cual se tomó el control in vitro de garrapatas mediante extractos vegetales con una mortalidad arriba del 50% con diferentes extractos.

Las concentraciones Tallo 100 y 75, fueron los tratamientos con un menor índice de supervivencia en comparación a los demás tratamientos. Los resultados con respecto a la eficacia de mortalidad fueron por debajo al estudio realizado por Guerrero y Guerrero (2017) encontraron por arriba del 70% de mortalidad en adultas.

Para analizar el índice de eficiencia reproductiva (RE) de *R. microplus*, se realizó midiendo los siguientes parámetros; índice de reducción de la oviposición (%RO) e índice de reducción de eclosión (RE), inhibición de la oviposición (IO). Se obtuvo por medio de la ecuación reportada por Rodríguez-Vivas *et al.*, (2005), para obtener estos indicadores, primeramente, se determinó el índice de eclosión, mediante la relación proporcional entre el peso de los huevos y el peso de los cascarones. La tasa de postura (OR), reducción de la oviposición (OR%), eficiencia reproductiva (ER) e inhibición reproductiva (RI) se obtuvo aplicando las siguientes fórmulas (Djebir, *et al.*, 2019).

#### Índice de postura:

$$\text{Tasa de postura (OR)} = \left( \frac{\text{Peso de los huevos ovopositados}}{\text{Peso inicial de las teoginas}} \right)$$

### Reducción de oviposición:

$$\text{Reducción de la oviposición (OR\%)} = \left( \frac{\text{OR gpo. control} - \text{OR gpo. tratado}}{\text{OR gpo. control}} \right) * 100$$

### Eficiencia reproductiva:

$$\text{Eficiencia reproductiva (RE)} = \left( \frac{\text{Peso de los huevos ovopositados}}{\text{Peso inicial de las teleoginas}} \right) * \text{Eclosión}$$

### Inhibición de la Reproducción (RI):

$$\text{Inhibición de la Reproducción (RI)} = \left( \frac{\text{RE gpo. control} - \text{RE gpo. tratado}}{\text{RE gpo. control}} \right) * 100$$

Los resultados obtenidos para el análisis de eficiencia reproductiva del producto en la teologina de *R. microplus* se muestran en el cuadro 9.

**Cuadro 8.** Tasas de reducción de Oviposición (%OR), eclosión de huevos (%E), porcentaje de eficiencia reproductiva (%RE) y porcentaje de inhibición de la reproducción (%RI) de teologina de *R. microplus* por efecto de aplicación de tratamientos de *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn con adición de NPs.

Tratamiento	Peso vivo inicial teologinas . (g) Media	Peso Huevo (g) Media	Índice De Postura	Eclosión %	OR %	RE %	RI %
<b>T1: Extracto puro + 100% NPs</b>	1.43 (±0.32)	0.35 (±0.05)	0.2448	69.52	37.54	17.02	35.35
<b>T2: Extracto</b>	1.57	0.38	0.2436	55.65	37.82	13.56	35.44

<b>puro + 75% NPs</b>	(±0.40)	(±0.23)					
<b>T3: Extracto puro + 50% NPs</b>	1.62 (±0.36)	0.32 (±0.05)	0.2000	57.73	48.96	11.55	35.50
<b>T4: Extracto puro + 25% NPs</b>	1.56 (±0.34)	0.48 (±0.24)	0.3049	53.85	22.19	16.42	35.36
<b>Agua destilada</b>	1.56 (±0.15)	0.61 (±0.02)	0.3919	91.41	0.00	35.82	0.00
<b>Amitraz</b>	1.60 (±0.10)	0.07 (±0.11)	0.0416	45.00	89.39	1.87	
<b>(±). Error estándar de la media</b>							

Con respecto las variables de la etapa tres, dónde el objetivo fue evaluar el efecto de los tratamientos cargados con nanoparticulas en la actividad reproductiva de teologina de *R. microplus*, se observa que el tratamiento que reporto mejor actividad fue el tratamiento 3 (50%) ya que obtuvo valores de 48.96 de índice de reducción de oviposición (RO), 11.55 eficiencia reproductiva (RE) y 35.5 de inhibición de la oviposición (RI). Al respecto, los datos obtenidos en este estudio son inferiores a lo reportado por Jaramillo *et al.*, (2019) obtuvieron resultados por debajo del 50% en cuanto la inhibición de la reproducción. ,

En comparación con el Amitraz sobre el porcentaje de reducción de la oviposición el cual tiene un 89.39 % no logro eclosionar, mientras que en el tratamiento 50 obtuvo el 48.96 % mayor sobre el efecto de la mortalidad de eclosión en comparación del tratamiento 100 que había sido el de mayor efectividad en larvas, siendo posible haber adquirido resistencia a los tratamientos con mayor rapidez, caso contrario a lo señalado por Rodríguez Molano y Pulido Suárez (2015) en donde obtuvieron una eficacia de mortalidad mínima del 60 %. Si bien esta planta no se ha reportado con efecto ixodicida sobre *R. microplus* se comprobó que tiene un buen efecto ixodicida sobre larvas. Sin embargo, la eficacia moderada, encontrada probablemente se deba a que los metabolitos secundarios de la planta se encontraban en baja concentración

La eficacia de la mortalidad fue clasificada de acuerdo a lo establecido modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-006-ZOO-1993, de fecha 6 de marzo de 1998, denominada, "Requisitos de efectividad biológica para los ixodicidas de uso en bovinos y método de

prueba”, numeral 4.4. donde señala que: *Debido a que diversos plaguicidas pueden tener efecto acaricida y ser utilizados como garrapaticidas, estos deberán evaluarse al menos mediante prueba de campo por un laboratorio de pruebas aprobado y demostrar efectividad mínima de 80%.* Por otra parte, Chungsamarnyart *et al.*, 1991 señalan que un producto tiene efectividad “alta” cuando presenta una eficacia en los rangos de 86-100% de mortalidad.

## V. CONCLUSIONES

En conclusión, con respecto al trabajo de investigación la primera etapa; en el Tratamiento 1 se obtuvo, un 86% efectividad sobre larvas en el extracto puro de Tallo.

La segunda etapa; los Tratamientos 1, 2 y 3 se obtuvo por arriba del 80% de efectividad que señala la Norma Oficial Mexicana para que un producto sea considerado como un insecticida.

En la etapa 3 se concluye que el índice de supervivencia en el Tratamiento 1 tuvo un 46.67%, sin embargo, en lo que se refiere a la Reducción de la ovoposición (OR) se obtuvo un mejor resultado en el Tratamiento 3 con un 48.96%. Esto probablemente se debe a que los metabolitos secundarios se encontraban en menor cantidad o que las adultas exista la probabilidad de una rápida adquisición de resistencia del acaricida.

Con respecto a la planta de *Crotalaria longirostrata* Hook & Arn no se ha reportado en literatura como una planta con propiedades Ixodocidas; pero se puede corroborar que si tiene propiedades como insecticida y realizando estudios más completos podríamos encontrar resultados favorables con respecto a su uso en adultas y poder utilizar esta planta como una alternativa para el control de la garrapata en nuestro Estado y así minimizar el uso de productos químicos que afectan tanto a la fauna como a la flora.

## VI. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abdelmoteleb A., B. Valdez-Salas, M. Carrillo-Beltrán, D. Duran-Hernández & D. González-Mendoza (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Pluchea sericea* a native plants from Baja California México and their potential application as antimicrobials. *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A, Science* 42:457-463.
- Álvarez, Romina (2017). Revisión sobre la biología de *Rhipicephalus sanguineus* (Arthropoda, Chelicerata)(Latreille, 1806). Sustainability, Agri, Food and Environmental Research. 5. DOI: <http://dx.doi.org/10.7770/safer-V5N1-art1173>. Consultado el 10 de Julio del 2020.
- Álvarez, Víctor, Loaiza, Jorge, Bonilla, Roberto y Barrios, Mariano. (2008). Control in vitro de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. *Revista de Biología Tropical*, 56 (1), 291-302. Consultado el 20 de Julio de 2020 en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442008000100021&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442008000100021&lng=en&tlng=es).
- Alonso, D.M.A., Fernández, S.A., Basurto, C.H. (2013). La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: su comportamiento, control y resistencia a los acaricidas en el trópico mexicano. Manual Técnico. UNAM. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, Martínez de la Torre, Veracruz, México. 34 p.
- Anaya, Ana Luisa. (1999). Allelopathy as a Tool in the Management of Biotic Resources in Agroecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences - CRIT REV PLANT SCI*. 18. 697-739. 10.1080/07352689991309450. Ultimo acceso el 10 de Junio de 2020 08:39 PM

- Bazán, M., 2002. *Efecto de Metarhizium anisopliae (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en el control biológico de Boophilus microplus Canestrini (Acari: Ixodidae) en ganado bovino estabulado.*
- Benavides, E. O., Hernández, G. M., Romero, A. Hernando, C., Rodríguez, J.L. B. 2001. Evaluación preliminar de extractos del Neem (*Azadirachta indica*), como alternativa para el control de la garrapata *Boophilus microplus (Acari: Ixodidae)*. Rev. Colombia de Entomol., 27:1-13.
- Benavides E. O., Romero P. J., Villamil J. L. C., 2016. Las garrapatas del ganado bovino y los agentes de enfermedad que transmiten en escenarios epidemiológicos de cambio climático: Guía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio. – Costa Rica: IICA. Disponible en: <http://repiica.iica.int/docs/B4212e/B4212e.pdf>. [Ultimo acceso 20 de Agosto de 2020 11:09 PM]
- Camarillo-Castillo, Fátima, & Mangan, Francis X. (2020). Fijación biológica de nitrógeno en chipilín (*Crotalaria longirostrata Hook. & Arn.*), una fuente sostenible de nitrógeno para la producción comercial. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 26(2), 125-141. Epub 15 de mayo de 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2020.01.002>. [Ultimo acceso 8 de julio de 2020 14:09 PM]
- Canales García Mario M. (2007). Desarrollo de vacunas para el control de garrapatas. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos. España. 125 p.
- Cardona, Z.E., Torres, F.R., Echeverri, L.F. 2007. Evaluación in vitro de los extractos crudos de *Sapindus saponaria* sobre hembras ingurgitadas de *Boophilus microplus (Acar: Ixodidae)*. Scientia et Technica, 3:51-54.
- Carrillo, J.S., 2015. Identificación morfológica y molecular de *Cochliomyia spp.* de la 38 colección científica del Centro Internacional de Zoonosis. Universidad Central de Ecuador.

Cen, A.J., Rodríguez-Vivas, R.I., Domínguez, A.J.L., Wagner, G., (1998). Studies on the effect on infection by *Babesia* sp. on oviposition of *Boophilus microplus* engorged females naturally infected in the Mexican tropics. *Vet. Parasitol.* 78:253–257.

Chízmar Fernández, C. (2009). *Plantas Comestibles de Centroamérica*.

Chungsamarnyart, N.; Jiwajinda S.; Jansawan,W. (1991). Larvicidal effect of plant crude-extracts on the tropical cattle tick (*B. microplus*). Thailand. *Kasetsart Journal Nature Science Supplement*, 25: 80-89.

Cortés-Vecino J. A. 2011 *Garrapatas: estado actual y perspectivas*, Grupo de Parasitología Veterinaria, Laboratorio de Parasitología Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia. *Biomédica*; 31(sup.3):3-315

Cortés, V.J.A., Bentacour, E.J.A. Arguelles, C.J., Pulido, H.L.A. 2010. Distribución de garrapatas (*Boophilus*) *microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia). *Corpoica Cienc. Tecnol Agropecu.*, 11(1):73-84.

Corona, Belkis, Rodríguez, Majela y Martínez, Siomara 2005 Anaplasmosis bovina. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria.* ; VI (4): 1-27. [Fecha de consulta 8 de julio de 2020]. ISSN: Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=636/63612647010>

Cruz, F.M., del Ángel, R. 2007. El árbol de Neem, establecimiento y aprovechamiento en la huasteca. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Huichihuayán y Campo Experimental Ébano. San Luis Potosí, México. Folleto Técnico, (3):1 23.

Drummond RO, SE Ernst, JL Trevino, WJ Gladney, OH Graham (1973), *Boophilus annulatus* y *B. microplus*: Laboratory Tests of Insecticides, *Journal of Economic Entomology*, Volumen 66, Número 1, Páginas 130–133, Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jee/66.1.130>

FAO (2003). Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-y4813s.pdf>. Fecha de consulta: 08 de Noviembre 2019.

FAO (2004) Guideline resistance management and integrated parasite control in ruminants. Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention Agr. Dept. Animal Production and Health Division. Roma, Italia p 25-77

Fernandes F. 2007. Acaricidal activity of an oleoresinous extract from *Copaifera reticulata* (*Leguminosae: Caesalpinioideae*) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (*Acari: Ixodidae*). *Veterinary Parasitology*, 147: 150–154.

Fernández, S.A. 2009. Efecto ixodicida *in vitro* de cuatro plantas ricas en taninos sobre diferentes etapas de desarrollo de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Veracruz, México. Pp. 1-39.

Fiel. C.; Nari, A. (2013). Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Buenos Aires, Hemisferio Sur, 752p.

Figueiredo, AC, Barroso, JG, Pedro, LG y Scheffer, JJC (2008), Factores que afectan la producción de metabolitos secundarios en plantas: componentes volátiles y aceites esenciales. *Sabor Fragr. J.*, 23: 213-226. [Fecha de consulta 10 de julio de 2020] Disponible en: doi: 10.1002 / ffj.1875

Fragoso, S.H., Rodríguez, V.R.I., Rosado, A.A., Basto, E.G. 2006. Manual Técnico para el Control de Garrapatas en el Ganado Bovino. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria. Jiutepec, Morelos, México. 27 p.

Gasque Gómez, R. (2008). Capítulo 4. Enfermedades de los bovinos. En: Enciclopedia bovina. México, pp. 77–228.

González Grau, H.E.; da Cunha Filho, N.A.; Pappen, F.G. y da Rosa Farías, N.A. (2013). Transplacental transmission of *Anaplasma marginale* in beef cattle chronically infected in southern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 22(2): 189–93.

Gómez Garzón Marcela (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*. 15 Agosto 2018. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS. [Fecha de consulta 10 de julio de 2020] Disponible en: [https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/view/191/209#content/contributor\\_reference\\_1](https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/view/191/209#content/contributor_reference_1)

Guillén, N. & Muñoz, L., 2013. Estudio taxonómico a nivel de género de garrapatas en ganado bovino de la parroquia Alluriquín - Santo Domingo de los Tsáchilas.

Ghosh, S., & Nagar, G. (2014). Problem of ticks and tick-borne diseases in India with special emphasis on progress in tick control research: a review. *Journal of vector borne diseases*, 51(4), 259–270.

Harborne, JB. 1993a. Introduction to ecological biochemistry. London, Acad. Press. Fourth edition. University of reading, UK.

Herrera, H. J. G., & Barreras, S. A. 2005. Análisis estadístico de experimentos pecuarios. Manual de Procedimientos (Aplicaciones del Programa SAS).

INIFAP (INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRICOLAS Y PECUARIAS). Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria. Estrategia para el control de la garrapata y la mitigación de la resistencia a los pesticidas 2009. Consultado el 09 de Julio de 2020. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/304119207\\_Estrategias\\_para\\_el\\_control\\_de\\_la\\_garrapata\\_Boophilus\\_microplus\\_y\\_la\\_mitigacion\\_de\\_la\\_resistencia](https://www.researchgate.net/publication/304119207_Estrategias_para_el_control_de_la_garrapata_Boophilus_microplus_y_la_mitigacion_de_la_resistencia)

Lannacone, J., Lamas, G. 2003, Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. *Entomotropica*, Vol. 18(2): 95-105.

Leyva GG. 2013 Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. *Investigación en Discapacidad.*; 2(1):18-22. Consultado el 10 de Julio del 2020. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=40366>

Mangold, A.J. & Mastropaolo, M. (2013). Capítulo 27: Epidemiología y control de hemoparásitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en Argentina. En: Fiel, C. y A. Nari Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su prevención y control. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, pp. 639–655.

Mareggian G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Rev. Manejo Integrado de Plagas*. Volumen 60. PP. 22 – 30.

Miranda-Granados, J., Chacón, C., Ruiz-Lau, N., Vargas-Díaz, ME, Zepeda, LG, Álvarez-Gutiérrez, P. y Lagunas-Rivera, S. (2018). Uso alternativo de extractos de hojas de Chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn) como antimicrobianos. *Sostenibilidad*, 10 (3), 883. [Fecha de consulta 05 de julio de 2020]. <https://doi.org/10.3390/su10030883>

Ocegueda, S., Moreno, E., Koleff, P. 2005. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas* 62: 12-15.

Pilaquinga, Fernanda & Pazmiño, Katherine & T., Alexandra & Jara-Negrete, Eliza & F., Fernanda & Meneses, Lorena & Vizúete, Karla & Debut, Alexis. (2019). Síntesis verde

de nanopartículas de plata usando el extracto acuoso de las hojas de ajo (*Allium sativum*). infoANALÍTICA. 7. 41. 10.26807/ia. v7i2.102.

Polanco-Echeverry Diana Nayibe & Ríos-Osorio Leonardo Alberto (2016). Aspectos Biológicos y Ecológicos de las Garrapatas Duras. Salud Animal. Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria, Mosquera (Colombia), 17(1):81-95. Consultado el 29 de Noviembre del 2019, Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v17n1/v17n1a08.pdf>

Quiroz, R.H. 2005. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial LIMUSA, México. Pp. 767-802.

Ramos, A.J.A. & García, V.Z.S. 2009. Estrategia para el control de la garrapata *Boophilus microplus* y la mitigación de la resistencia a los pesticidas. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria. Jiutepec, Morelos, México. Folleto Técnico Núm. 6. 1-26.

Rao , S.R., Ravishankar , G.A. 2002. Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. Biotechnology Advances 20: 101-153

Rodríguez-Vivas, R. I., Rivas, A. L., Chowell, G. Fragoso, S. H. Rosario, C. R., García, Z., Smith, S. D., Williams, J. J., Schwager, S. J. 2007. Spatial distribution of acaricide profiles (*Boophilus microplus* strains susceptible or resistant to acaricides) in southeastern Mexico. Vet. Parasitol., 146:158-169.

Rodríguez-Vivas. R. I., Rosado, A. J. A., Rosario, C. R., García, V. Z., Alonso, D. M. A. 2008. Situación actual de la resistencia a los Ixodídeos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el sureste de México: diagnóstico, epidemiología y control. VI Seminario Internacional de Parasitología Animal. Boca del Rio, Veracruz, México. 1-20.

Rosado-Aguilar, J.A., Aguilar-Caballero, A.J., Rodríguez-Vivas, R.I., Borges-rgaez, R., García Vázquez, Z., Méndez-González, M., 2010b. Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Vet. Parasitol.* 168, 299–303.

Ruiz-Romero, P., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D. y Méndez-Trujillo, V. (2018). Efectos antifúngicos de las fitonanopartículas de plata de *Yucca shilerifera* contra patógenos transmitidos por el suelo de la fresa: *Fusarium solani* y *Macrophomina phaseolina*. *Microbiología*, 46 (1), 47–51. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454011>

SAGARPA (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación) y SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 18 de Noviembre del 2018. 1-39 Consultado el 19 de Junio del 2020, Disponible en [https://www.aphis.usda.gov/import\\_export/downloads/presentations/sit-of-the-resis-ofbmicro-in-mx.pdf](https://www.aphis.usda.gov/import_export/downloads/presentations/sit-of-the-resis-ofbmicro-in-mx.pdf)

Santamaría, V.M., Soberanes, C.N. (2001). Memorias del Curso-Taller sobre diagnóstico de resistencia a ixodíidas en garrapatas *Boophilus microplus*. Del 26 al 28 de septiembre de 2001, Jiutepec, Morelos, México.

Sarkar, D., Paul, G., 2017. Síntesis verde de nanopartículas de plata usando extracto de *Mentha asiática* (Menta) y evaluación de su potencial antimicrobiano. [Fecha de consulta 10 de julio de 2020] *Int.J.Curr.Res.Biosci.Plantbiol.* 4 (1): 77-82. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcrbp.2017.401.009>

SENASICA (SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA). Situación actual del control de la garrapata *Boophilus spp* 2018. Consultado el 08 de Mayo de 2020. Disponible 39 en: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-del-control-de-la-garrapata-boophilus-spp>

- Sepúlveda Jiménez, Gabriela y Porta Ducoing, Helena y Rocha Sosa, Mario (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21 (3), 355-363. [Fecha de consulta 10 de julio de 2020]. ISSN: Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=612/61221317>
- Singh, B.; Bhat, T. K.; Singh, B. 2003. Potential therapeutic applications of some antinutritional plant secondary metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 5579-5597.
- Soberanes, C. N., Santamaría, V. M., Fragoso, S. H. y García, V. Z. (2002). Primer caso de resistencia al amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. *Técnica Pecuaria México*. 40 G 1: 81-92. Recuperado el 3 de mayo de 2017, de <http://www.redalyc.org/pdf/613/61340106.pdf>
- Solórzano, C. K. 2008. Elaboración y evaluación comparativa de dos compuestos inmunológicos para el control de garrapatas *Boophilus microplus* en bovinos *Bos taurus*. Informe técnico del proyecto de investigación. Escuela Politécnica del Ejército, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Santo Domingo.29-126.
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946). Flora of Guatemala: families *Leguminosae*, *Geraniaceae*, *Oxalidaceae*, *Tropaeolaceae*, *Linaceae*, *Erythroxylaceae*, *Zygophyllaceae*, *Rutaceae*, *Simaroubaceae*, *Burseraceae*, *Meliaceae*, and *Malpighiaceae*. *Fieldiana: Botany*, 24, 1–502. [Fecha de consulta 10 de Abril de 2020] <https://doi.org/10.5962/bhl.title.2435>
- Travieso Novelles, M., Rubio Ortega, A., & Pino Pérez, O. (2019). Las nanopartículas a partir de plantas como base para el diseño de nuevos antimicrobianos. *Revista Cubana de Farmacia*, 51(4). [Fecha de consulta 10 de Julio de 2020] Recuperado de <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/263/178>

Wood y BJ, Hoskins JD. 1991. Ehrlichial disease of dogs. *Vet Clin N AmSmall* 21: 75-98. doi: 10.1016/S0195-5616(91)50009-7

Hayes, W.J. Jr. 1975.- Toxicology of pesticides. The Williams and Wilkins Company, USA.

Junquera, P. (2021). Parasitipedia.net. Obtenido de [https://parasitipedia.net/index.php?option=com\\_content&view=article&id=3150&Itemid=476](https://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=3150&Itemid=476). [Fecha de consulta 20 de Marzo de 2022]

Kanayairam Velayutham & Ravichandran Ramanibai (2016) Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using isoamyl acetate identified in *Annona squamosa* leaves against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*, *The Journal of Basic & Applied Zoology*, Volume 74. Pages 16-22, ISSN 2090-9896, <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2016.02.002>.

Ortiz-Arana, G., Talavera-Rojas, M., Velazquez-Ordoñez, V., & Acosta-Dibarrat, J. (2021). Aplicaciones de las nanopartículas metálicas en las ciencias veterinarias. *Revista MVZ Córdoba*, 26(3), e2123. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2123>

Usha Rani Pathipati, Prasanna Laxmi Kanuparthi, Chapter 2021. Silver nanoparticles for insect control: Bioassays and mechanisms, Editor(s): Kamel A. Abd-Elsalam, In *Nanobiotechnology for Plant Protection, Silver Nanomaterials for Agri-Food Applications*, Elsevier, Pages 471-494. ISBN 9780128235287, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823528-7.00007-X>.

Balan Banumathi, Balasubramanian Malaikozhundan, Baskaralingam Vaseeharan. 2016. Invitro acaricidal activity of ethnoveterinary plants and green synthesis of zinc oxide nanoparticles against *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus, *Veterinary Parasitology*, Volume 216, Pages 93-100, ISSN 0304-

4017,<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.12.003>.(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401715300893>)