

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE NUTRICIÓN

Evaluación in vitro de extractos botánicos en el control de
Rhipicephalus (Boophilus) microplus: una alternativa a la
exposición de agentes cancerígenos

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

P R E S E N T A:

LICENCIADA EN NUTRICIÓN PERLA IRIS MIRANDA REYES

DIRECTORA DE TESIS: Dra. América Ivette Barrera Molina (UAEM)
CODIRECTOR: Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla (CENID-SAI,
INIFAP)

COMITÉ TUTORAL:

Dra. Delia Vanessa López Guerrero (UAEM)
Dra. Margarita de Lorena Ramos García (UAEM)
Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez (UAEM)
Dr. Jair Millán Orozco (UAAAN)

CUERNAVACA, MORELOS.

NOVIEMBRE, 2020.

Agradecimientos

En las siguientes líneas me gustaría agradecer a todas las personas que hicieron posible este proyecto.

Para comenzar, quiero agradecer a mi directora de tesis, la Dra. América Ivette Barrera Molina, quien desde el primer día confió en mí, me enseñó con paciencia a creer en mí y en el trabajo que juntas realizamos, así como buscar los medios para lograr nuestros objetivos y por acompañarme en congreso, trabajo de campo, laboratorio, por escucharme en momentos de crisis personales e inspirarme con su energía y amor a la ciencia. Al Mtro. Francisco Martínez Ibañez, por su dedicación, tiempo, paciencia y por enseñarme todo lo que una nutrióloga jamás pensó saber acerca de las garrapatas, ha sido una experiencia sumamente grata contar con sus conocimientos y experiencia. A la Dra. Margarita de Lorena Ramos García por tener un espacio para mis dudas, por su siempre amable atención, por su paciencia, aportaciones y su guía a lo largo de este trayecto. Al Dr. Rodolfo Lagunes Quintanilla por apoyarme desde el inicio abriendo puertas en los laboratorios donde llevaría a cabo este proyecto y a los doctores Delia Vanessa López Guerrero, Ollin Celeste Martínez Ramírez y Jair Millán Orozco por sus valiosas aportaciones.

A Dios por prestarme la vida y darme a mis padres Eduardo Miranda Flores y María Cristina Reyes Vázquez, quienes han sido mis mejores maestros y ejemplo de vida a nivel personal y profesional, por sus regaños, por sus palabras, por su motivación, por siempre creer en mí y ayudarme a ser la mujer que soy hoy. A mis hermanos Eduardo, Cristal y Esmeralda por motivarme, siempre su amor y su ejemplo me ayudan a ser mejor persona, estoy muy orgullosa de ser su hermana. A Javier quien siempre me ha recordado que este paso es sólo mío, que la satisfacción y las recompensas que vendrán son para mí aunque las preocupaciones y desvelos muchas veces fueron de los dos. A mis sobrinos por ser los niños más maravillosos que el mundo pueda tener y recordarme lo importante de sorprendernos todos los días aprendiendo algo nuevo, por sus preguntas y por permitirme ser parte de su vida.

RESUMEN

La creciente demanda de productos de origen animal por parte de la población ha dado lugar a la intensificación de los sistemas de producción agropecuarios, en particular del ganado bovino. Esta situación ha conducido a que los animales de las explotaciones pecuarias se vean expuestos al incremento de enfermedades de diversa índole, lo que trae consigo una mayor utilización de productos de uso veterinario como pesticidas y antiparasitarios. El uso indiscriminado de estos químicos ocasionan la presencia de residuos en los alimentos de origen animal; lo cual, pone de manifiesto el manejo indebido de los fármacos durante las prácticas agropecuarias y el incumplimiento de los tiempos de retiro de los pesticidas y otros fármacos veterinarios que afectan a los subproductos derivados de los animales, ocasionando daños a la salud pública. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar *in vitro* el efecto de extractos vegetales comerciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), ajo (*Allium sativum* L) y cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la mortalidad de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. La actividad ixodicida se evaluó mediante las técnicas de inmersión (Shaw y Drummond) y por último se determinó el daño morfológico en larvas expuestas a extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía estereoscópica. Los resultados mostraron que el extracto de canela a una concentración de 6%, tuvo una mortalidad hasta 100%, la concentración de 3% del extracto tuvo una mortalidad de 97.86% y la concentración del 1.5% tuvo mortalidad de 64.23% de larvas en comparación con los controles. Se concluye que el único extracto que tuvo efectividad es el de canela, sin embargo se requieren estudios posteriores para poder determinar su efectividad en bovinos.

Palabras clave: Extractos botánicos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, inocuidad alimentaria.

ABSTRACT.

The growing demand for products of animal origin by the population has led to the intensification of agricultural production systems, particularly cattle. This situation has led to animals on livestock farms being exposed to an increase in diseases, which brings with it a greater use of products for veterinary use such as pesticides and dewormers. The discriminate use of these chemicals causes the presence of residues in food; this shows the improper handling of drugs during agricultural practices and the non-compliance with the withdrawal times of pesticides and other veterinary drugs, which affects products derived from animals, causing damage to public health. The objective of the present work was to evaluate the effect of commercial plant extracts of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), garlic (*Allium sativum L*) and cempasúchil (*Tagetes erecta*) on the mortality during the biological cycle of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, one of the ectoparasites that affect livestock the most. Ixodicidal activity was evaluated by Shaw and Drummond's immersion techniques and finally, morphological damage in larvae exposed to commercial botanical cinnamon extract was determined by stereoscopic microscopy. The results showed that the cinnamon extract at a concentration of 6% had a mortality of up to 100%, the concentration of 3% of the extract had a mortality of 97.86% and the concentration of 1.5% had a mortality of 64.23% of larvae in comparison with the controls. It is concluded that only the cinnamon extract was effective, however in vivo studies are required to determine its effectiveness in cattle.

Key words: Botanical extracts, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, food safety.

El presente proyecto se realizó en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias en conjunto con el Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	III
ÍNDICE GENERAL	VI
SIGLAS Y ABREVIATURAS	VIII
SIMBOLOGÍAS	IX
ÍNDICE DE TABLAS.	X
ÍNDICE DE FIGURAS.	XI
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Importancia de alimentos de origen animal en la dieta humana.	1
1.2 Valor nutrimental de la carne y leche	2
1.2.1 Beneficios del consumo de carne y leche.	4
1.2.2 Riesgos del consumo de carne y leche.....	5
1.3 Producción pecuaria en México.	6
1.3.1 Procesos de producción y manejo del ganado.....	8
1.4 Garrapatas <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>.	10
1.4.1 Ciclo biológico de <i>R. microplus</i>	11
1.4.2 Principales métodos de control contra <i>R. microplus</i>	13
1.4.3 Resistencia de garrapatas a fármacos ixodicidas.	18
1.4.4 Residuos de fármacos ixodicidas.....	20
1.4.5 Relación con enfermedades crónicas no transmisibles.	21
1.5 Importancia del consumo de alimentos de origen animal inocuos	23
1.6 Alternativas de control seguras para el consumo	25
1.6.1 Extractos botánicos con propiedades ixodicidas	26
2. JUSTIFICACIÓN	33
3. HIPÓTESIS	34
4. OBJETIVOS	34
4.1 Objetivo general.....	34
4.2 Objetivos específicos.....	34
5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	35
5.1 Localización de las investigaciones	35
5.2 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto ixodicida de los extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre larvas de <i>R. microplus</i> mediante la técnica de inmersión de Shaw.	36

5.2.1 Material biológico	36
5.2.2 Preparación de las soluciones	36
5.2.3 Evaluación de extractos botánicos en larvas	38
5.3 Evaluación del efecto ixodicida de extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre la oviposición de garrapatas adultas de <i>R. microplus</i> mediante la técnica de inmersión de Drummond.....	40
5.3.1 Material biológico	40
5.3.2 Evaluación de extractos botánicos sobre garrapatas adultas	41
5.4 Evaluación del efecto ixodicida de extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre la eclosión de huevos en garrapatas adultas de <i>R. microplus</i> posterior a la técnica de inmersión de Drummond.....	43
5.5 Determinación del daño morfológico en larvas expuestas al extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía estereoscópica.	44
5.6 Diseño del análisis estadístico.....	45
6. RESULTADOS	47
6.1 Efecto de los extractos botánicos sobre la mortalidad de larvas.	47
Efecto de extractos botánicos sobre la oviposición y eclosión de garrapatas adultas <i>R. microplus</i>	51
6.2 Determinación del daño morfológico en larvas expuestas al extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía estereoscópica.	53
7. DISCUSIÓN	55
8. CONCLUSIÓN.....	57
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
10. ANEXOS	1

SIGLAS Y ABREVIATURAS

<i>R. microplus</i>	<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>
AOA	Alimentos de origen animal
OMS	Organización Mundial de la Salud
NOM	Norma Oficial Mexicana
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
SADER.	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
CIIC.	Centro de Investigaciones sobre el Cáncer
USDA	United States Department of Agriculture
CCR	Concentración comercial recomendada
CENID-SAI	Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad
ER	Eficacia reproductiva
PRRE	Porcentaje de reducción en reproducción estimada

SIMBOLOGÍAS

gr	Gramo
Kcal	Kilocaloría
g	Gramo
μg	Microgramo
mg	Miligramo
Vit	Vitamina
Ca	Calcio
Fe	Hierro
ml	Mililitro
°C	Grado centígrado

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1	Valor nutrimental de la carne de bovino más consumida en México.....	2
Tabla 2	Valor nutrimental de la leche de bovino.....	4
Tabla 3	Ciclo biológico de <i>R. microplus</i>	12
Tabla 4	Familias de plaguicidas utilizados	19
Tabla 5	Revisión sistemática de la literatura sobre los efectos del uso de pesticidas en los resultados de salud crónicos para evaluar la evidencia actualmente disponible.....	22
Tabla 6	Diluciones seriadas para la primera evaluación.....	37
Tabla 7	Diluciones seriadas para la segunda evaluación extracto de canela...	37
Tabla 8	Diluciones seriadas para la segunda evaluación del extracto de ajo y cempasúchil.....	37
Tabla 9	Homogeneización de los lotes, peso de garrapatas en gramos.....	40
Tabla 10	Mortalidad de larvas con extractos de ajo, canela y cempasúchil. Primer ensayo.....	47
Tabla 11	Mortalidad de larvas con extracto de canela. Segundo ensayo.....	48
Tabla 12	Mortalidad de larvas con extracto de ajo y cempasúchil.. Segundo ensayo.....	48
Tabla 13	Medidas de tendencia central y de dispersión de la variable mortalidad.....	49
Tabla 14	Resultados de % inhibición de oviposición y control de <i>R. microplus</i> , con extracto de ajo.....	51
Tabla 15	Resultados de % inhibición de oviposición y control de <i>R. microplus</i> , con extracto de ajo.....	52
Tabla 16	Resultados de % inhibición de oviposición y control de <i>R. microplus</i> , con extracto de ajo.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1	Consumo de carne de bovino en México	7
Figura 2	Estimación de la producción y consumo de carne de bovino en México.....	8
Figura 3	Ciclo biológico de <i>R. microplus</i>	12
Figura 4	Incubación, montaje y conteo de larvas de <i>R. microplus</i>	39
Figura 5	Exposición a extractos botánicos e incubación de hembras adultas repletas de <i>R. microplus</i>	42
Figura 6	Determinación del porcentaje de eclosión de larvas de <i>R. microplus</i>	43
Figura 7	Determinación del daño morfológico en larvas	44
Figura 8	Gráfica de dispersión	48
Figura 9	Resultado de determinación del daño morfológico en larvas de <i>R. microplus</i>	54

1. ANTECEDENTES

1.1 Importancia de alimentos de origen animal en la dieta humana.

Conocemos por la historia de la alimentación, que el hombre en sus inicios tomaba los frutos, tallos y raíces de la naturaleza para alimentarse, complementaba con insectos y posteriormente comenzó a alimentarse con carne de diferentes animales, siendo esto hasta que el hombre paleolítico comenzó la elaboración de herramientas y utensilios que le facilitaran la caza de animales situando a nuestros antepasados en un plano superior al meramente animal, desarrollando de manera creativa habilidades incluso para la conservación de la carne, convirtiéndose así los alimentos de origen animal (AOA) en una constante en la dieta humana¹. A lo largo de la historia se han implementado y mejorado técnicas de producción de AOA, ya que al estudiarse los beneficios de estos alimentos en el cuerpo humano se ha encontrado que las proteínas son el alimento fundamental de nuestras células y aportan los materiales para la formación de los músculos, huesos, glándulas, órganos internos, sistema nervioso, sangre y otros líquidos del cuerpo, como la leche^{2,3}.

Los AOA suministran proteína de excelente calidad, que se aprovecha en el organismo de mejor manera (90%) comparado con proteína de origen vegetal, a esto le llamamos biodisponibilidad, así como determinados minerales y vitaminas en proporciones adecuadas, que contribuyen también a elevar la palatabilidad (cualidad de ser grato un alimento al paladar)⁴. Por otra parte, la presencia de AOA en la alimentación del ser humano mejora la calidad de su dieta, tanto en términos

de aporte de nutrientes como en términos de aceptabilidad, con lo cual se puede decir que los motivos para que muchas personas se abstengan de consumir carne son principalmente religiosos, éticos o económicos, y no por razones organolépticas o nutricionales⁵.

1.2 Valor nutrimental de la carne y leche.

Desde el punto de vista nutricional, la carne es una fuente incomparable de nutrimentos ya que provee de aminoácidos esenciales que muy difícilmente se pueden obtener de otras fuentes y aunque en menor grado, provee también vitaminas, minerales y ácidos grasos esenciales⁶ (**Tabla 1**).

Tabla 1. Valor nutrimental de la carne de bovino más consumida en México.

Corte de carne	Energía (kcal)	Proteína (g)	Lípidos (g)	Vit A (µg RE)	Ca (mg)	Fe (mg)
Bistec	120	24.0	2.6	139	9	1.6
Cecina	160	24.0	6.4	2.4	35.2	4.4
Chambarete	120	19.4	4.6	132	8.6	1.7
Milanesa	120	24.0	2.6	139	9	1.6
Costilla	280	11.3	25.8	0	5.8	1.3

Nota. Valor nutrimental de la carne de bovino en 100 gr.

Fuente: Elaboración propia con base en el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. 4^o edición.

En el tejido muscular, se encuentra la mioglobina, que es un pigmento que le da su color característico y que en contacto con el aire, cambia y hace que el corte exterior sea más oscuro que la zona interior, aunque la mayor o menor intensidad en el color rojo no afecta al valor nutritivo, ni a su digestibilidad, también contienen tejido graso,

que puede ser visible o invisible (grasa interfascicular), cuanto más cantidad de grasa tenga una carne, menor contenido de agua tiene, esta cantidad de grasa influye en su valor nutritivo y en la digestibilidad de la misma. Finalmente, el tejido conectivo es el que separa o recubre los grandes músculos y su cantidad depende del grupo muscular, éste aumenta con la edad y ejercicio que haya realizado el animal, haciendo que la carne sea más dura⁷.

Por otro lado la leche de vaca es una compleja mezcla de distintas sustancias, presentes en suspensión o emulsión y otras en forma de solución verdadera y presenta sustancias definidas: agua, grasa, proteína, lactosa, vitaminas, minerales; a las cuales se les denomina extracto seco o sólidos totales. Los sólidos totales varían por múltiples factores como lo son: la raza, el tipo de alimentación, el medio ambiente y el estado sanitario del bovino, entre otros⁸.

Desde el punto de vista nutricional su principal proteína es la caseína, contiene aminoácidos esenciales y es excelente fuente de calcio, fósforo y riboflavina (vitamina B12), además contribuye significativamente a los requerimientos de vitamina A y B1 (tiamina). Por otra parte, los lípidos y la lactosa constituyen un importante aporte energético, como se muestra en la **Tabla 2**. Químicamente, la leche es uno de los fluidos más completos que existen, el agua representa aproximadamente entre un 82% y un 82.5% de la leche, los sólidos totales alcanzan habitualmente la cifra de 12% hasta un 13% y los sólidos no grasos casi siempre están muy próximos al 9%⁹.

Tabla 2. Valor nutrimental de la leche de bovino.

Tipo de leche	Energía (kcal)	Proteína (g)	Lípidos (g)	Vit A (µg RE)	Ca (mg)
Entera	61.7	3.3	3.3	31.2	119.3
Semidescremada	49.8	3.3	1.9	61.8	121.9
Descremada	35.1	3.4	0.2	61.8	123.2

Nota. Valor nutrimental de la leche de bovino en 100 ml.

Fuente: Elaboración propia con base en el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. 4^o edición.

1.2.1 Beneficios del consumo de carne y leche.

Las proteínas son macronutrientes cuya función principal es estructural, es decir, contribuyen a la formación, desarrollo y renovación de todos los órganos y sistemas del organismo y desempeñan también un gran número de funciones en las células de los seres vivos. Los AOA como las carnes, leche, pescado y huevo, contienen proteínas de alto valor biológico, es decir que contienen aminoácidos esenciales en cantidad y proporciones adecuadas para el ser humano¹⁰.

Por las particularidades que la carne presenta, el suministro constante y adecuado de una ración, en combinación con otros alimentos, aseguran una dieta balanceada. Entre otros puntos importantes a destacar sobre el consumo balanceado de las proteínas de origen animal, éstas proveen a los atletas ganancia de masa muscular y coadyuva a la pronta recuperación de pacientes tras intervenciones quirúrgicas o con padecimientos crónico degenerativos. Asimismo, compensa la baja de hierro que en casos graves puede ocasionar una anemia ferropénica o insuficiencia de glóbulos rojos que afecta la oxigenación del organismo¹¹.

Por otro lado, la leche de vaca es un alimento de primera necesidad, tiene gran demanda por su alto valor nutricional que se refleja en sus componentes, es considerada un alimento básico en la dieta de niños, ancianos, enfermos, y en general de toda la población¹².

1.2.2 Riesgos del consumo de carne y leche.

Los riesgos que se refieren al consumo de carne de bovino se relacionan a la ingesta de carne procesada, los métodos de cocción, residuos de pesticidas y a las enfermedades transmitidas por alimentos.

El centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), realizó una evaluación en donde se analizaron 800 estudios procedentes de diferentes países y poblaciones con dietas distintas, en donde se investigó la relación del consumo de carnes rojas y carnes procesadas con más de una docena de tipos de cáncer, los resultados que arrojaron muestran evidencias limitadas de que el consumo de carne roja causa cáncer en los humanos, se menciona que los tipos de cáncer que podría producir serían el colorrectal además del de páncreas y próstata. En este sentido, la carne procesada se refiere a la carne que ha sido transformada a través de la salazón, el curado, la fermentación, el ahumado, u otros procesos para mejorar su sabor o su conservación. La mayoría de estas carnes contienen carne de cerdo o carne de res, pero también pueden contener otras carnes rojas, aves, menudencias o subproductos cárnicos tales como la sangre. Algunos ejemplos de carnes procesadas incluyen salchichas, jamones, carne en conserva y cecina o carne seca, así como carne en lata y las preparaciones y salsas a base de carne¹³. El contenido

de sales (nitritos y nitratos) se relacionan con este riesgo, así como cocinar a altas temperaturas o con la comida en contacto directo con una llama o una superficie caliente, como la barbacoa o el sartén ya que produce ciertos tipos de químicos cancerígenos (como los hidrocarburos aromáticos policíclicos y las aminas aromáticas heterocíclicas)¹⁴.

Otro tipo de riesgos asociados al consumo de carne es el relacionado a las enfermedades transmitidas por alimentos, desde los microorganismos que pudieran ser consumidos por el animal a través del agua y los alimentos hasta que éste es llevado al matadero, de acuerdo con las condiciones sanitarias de estos lugares, así como el transporte y manipulación de la carne en las carnicerías, en donde se encuentran expuestos a diferentes patógenos, como *Escherichia Coli*¹⁵.

1.3 Producción pecuaria en México.

A nivel mundial, la industria pecuaria tiene gran importancia debido a que da origen a una gran cantidad de subproductos de alto valor nutricional tales como la carne de aves, bovinos, puercos y derivados como son la leche, huevo y quesos. Esto es importante ya que el continente americano ocupa el primer lugar en la producción de carne, contando con una actividad ganadera donde la especie rumiante más importante es el bovino¹⁶.

El consumo *per cápita* de carne de res en México para el año 2018 fue de 8.8 kilogramos anuales¹⁷, esta demanda de productos de origen animal por parte de la población ha dado lugar a la intensificación de los sistemas de producción agropecuarios, en particular la producción de ganado bovino, dicha demanda está

influenciada por las condiciones económicas de la población y se encuentra determinada por los ingresos disponibles; ya que el consumo de la carne es afectada directamente por cambios en el ingreso, la cultura, edad, ocupación percepciones y preferencias del individuo. Y aunque desde 2008 éste consumo ha disminuido, en los últimos años se ha mantenido, de tal manera que para 2020 podría haber crecido 0.5 por ciento¹⁸ **Fig. 1.**

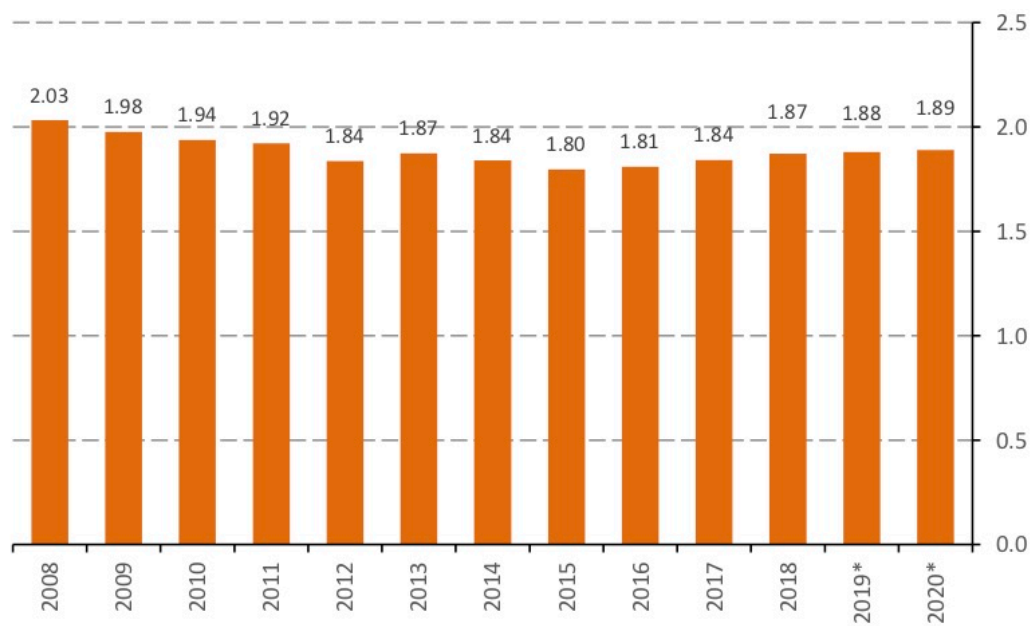


Figura 1. Consumo de carne de bovino en México. (Millones de toneladas de carne en canal).
Fuente: USDA. Proyectado en octubre de 2019.

Conforme a lo que se ha citado en diversos foros del sector agroalimentario por representantes de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) en el año 2022 el mundo requerirá para su alimentación 70 millones de toneladas más de proteína animal, lo cual representa el 30% de los casi 50 millones de toneladas que se producen actualmente y por ende, ello representa un enorme reto y oportunidad

para el mercado de México hacia el mundo¹⁹. La siguiente figura (**Fig. 2**) nos muestra la estimación de la producción y consumo de carne de res en México en donde podemos observar que para 2021 la demanda de este producto será mayor que su producción.

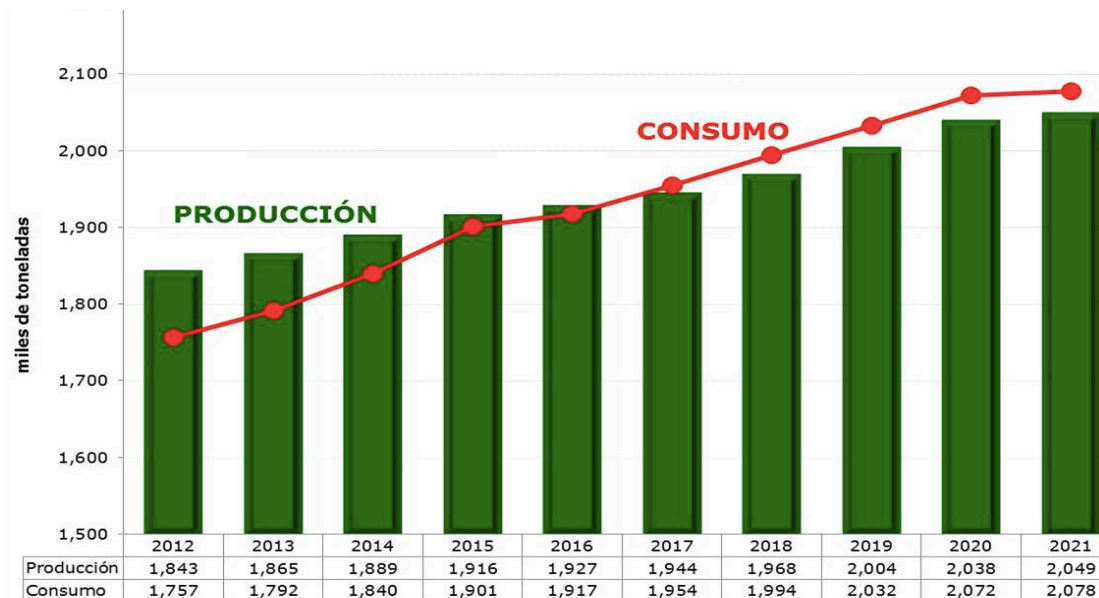


Figura 2. Estimación de la producción y consumo de carne de res en México.
Fuente: USDA.

Los estados con mayor producción ganadera en México son en primer lugar Veracruz, seguido por Jalisco, Chiapas, Michoacán, Oaxaca, Tabasco, Sonora, Guerrero, Sinaloa, Tamaulipas, Chihuahua, Durango y Zacatecas, según datos oficiales de SADER.

1.3.1 Procesos de producción y manejo del ganado.

Existen diferentes etapas durante la producción y el manejo del ganado bovino, el manejo de la vaca gestante, durante el parto, el manejo del ternero recién nacido, del ternero de leche (de 0 a 3 meses), terneros destetados, novillos, vaquillas, hasta

el sacrificio²⁰. Las enfermedades que ocurren a lo largo de la vida del bovino, en la mayoría de los casos deben considerarse en la planificación como causantes de pérdidas si no se implementan medidas de prevención y control. Ejemplos de este grupo son los parásitos gastrointestinales, la mosca del cuerno, garrapatas y algunas deficiencias minerales de cada región en particular, asociadas al tipo de suelo y pastura. Para controlar y prevenir estas enfermedades, muchas veces por desconocimiento, algunos productores y asesores son propensos al uso indiscriminado de antiparasitarios y otros productos veterinarios, sin determinar el estado real de salud del rebaño o lote. Cabe mencionar que el uso excesivo de fármacos, sobre todo antibióticos, fomenta la aparición de cepas resistentes, agravando a futuro el control del problema²¹.

Existen diferentes tipos de fármacos utilizados en bovinos de acuerdo con su función. Los más utilizados son los siguientes:

Vacunas: Son medicamentos que se utilizan para prevenir enfermedades. Las vacunas deben ser aplicadas a animales sanos y bajo los programas definidos por la autoridad veterinaria o recomendados por un médico veterinario.

Antiparasitarios: Son medicamentos que se utilizan para tratar los animales contra parásitos externos (p. ej. garrapatas) o internos (p. ej. nemátodos).

Antimicrobianos: Son medicamentos que matan o inhiben el desarrollo de microorganismos (p.ej. bacterias) que son perjudiciales para los animales. Dentro de este grupo de medicamentos no se incluyen los antihelmínticos, ni las sustancias consideradas desinfectantes o antisépticas.

Vitaminas y minerales: Son medicamentos que contienen nutrientes para el buen funcionamiento del organismo o para mejorar procesos fisiológicos en los animales.

Hormonales: Son medicamentos que se utilizan para regular procesos relacionados con la reproducción en machos y hembras o con la lactancia en hembras^{22, 23}.

1.4 Garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Las garrapatas son los ácaros más estudiados por su importancia como parásitos de animales de campo, domésticos y en los humanos, además la infestación por garrapatas es una de las principales causas de las pérdidas económicas de la ganadería mundial²⁴. En México se han registrado 82 especies de garrapatas tanto en animales silvestres como domésticos siendo *R. microplus* la que mayor impacto tiene en la ganadería ya que produce pérdidas relacionadas con mortalidad de los animales, reducción en los niveles de producción, alteraciones reproductivas, altos costos de control, transmisión de diversos agentes patógenos como virus, bacterias, rickettsias y protozoos. Esto puede conducir a enfermedades agudas, crónicas o incluso, a la muerte de los animales por su amplia distribución en regiones tropicales y subtropicales, a los problemas de resistencia a ixodicidas, y a las enfermedades que transmiten (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*)²⁵.

Las afecciones parasitarias son consideradas como causa importante de morbilidad y mortalidad de los animales en los sistemas de producción ganadera ubicados en regiones tropicales y subtropicales del mundo, provocando la reducción

de los niveles de producción, productividad y presentación de alteraciones reproductivas, esto trae consigo aumento en los costos. Estudios realizados en varias razas de ganado bovino confirman que el parasitismo subclínico puede generar pérdidas mensurables en la productividad²⁶.

1.4.1 Ciclo biológico de *R. microplus*.

R. microplus es una garrapata de un sólo hospedador ya que pasa todos sus estadios de vida en un animal. Los huevos hacen eclosión en el medio ambiente y las larvas trepan a los pastos y otras plantas para encontrar un hospedador. También pueden ser transportadas por el viento. En el verano, las garrapatas *R. microplus* pueden sobrevivir durante un período de hasta 3 o 4 meses sin alimentarse y en temperaturas más frías pueden vivir sin alimento hasta seis meses, las garrapatas que no pueden encontrar un hospedador finalmente mueren de inanición²⁷.

Las larvas recién eclosionadas se suelen encontrar adheridas a las zonas más finas de la epidermis tales como la cara interna de los muslos, los flancos, entrepiernas y patas traseras. También se las puede observar en el abdomen y el pecho. Después de alimentarse las larvas sufren mudas y se convierten en ninfas y posteriormente en garrapatas adultas. Cada estadio de desarrollo (larva, ninfa y adulta) se alimenta una sola vez, siendo el tiempo de alimentación variable. Los machos maduran sexualmente después de la alimentación y se aparean con hembras que están alimentándose²⁸.

Una garrapata hembra adulta que se ha alimentado y apareado se separa de su hospedador y deposita una gran cantidad de huevos en el medio ambiente. Por

lo general, colocan los huevos en grietas o debajo de las piedras, muriendo después de la oviposición. Las garrapatas en el subgénero *Boophilus* pueden completar su ciclo de vida parasítico en un plazo de 3 a 4 semanas; esta característica puede causar una gran carga parasitaria en los animales²⁹.

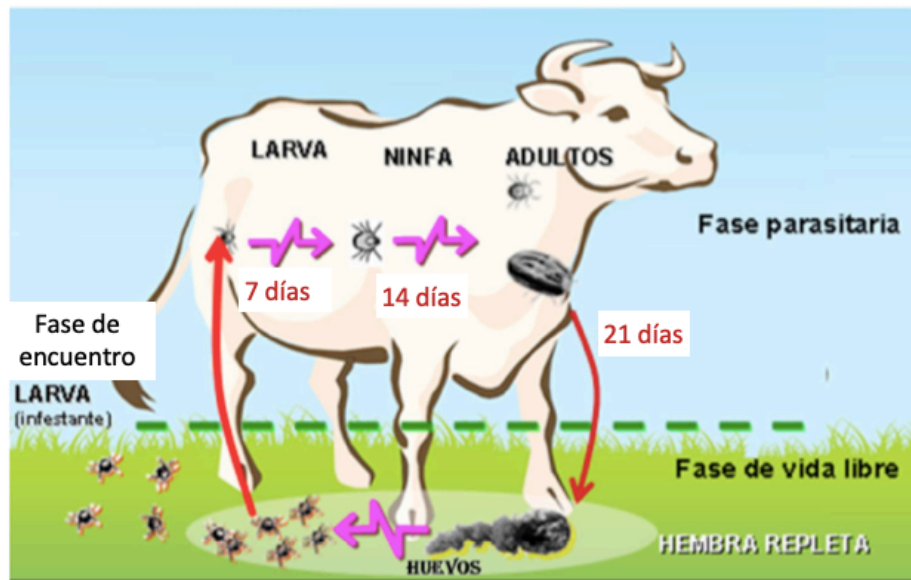


Figura 3. Ciclo biológico de *R. microplus*.

Fuente: Pérez-León JM., Efecto de diferentes medios biológicos en el control de las garrapatas de bovinos, 2007.

Para explicar el ciclo parasítico de *R. microplus*, De la Vega, realizó un estudio exhaustivo del desarrollo de sus estadios parasíticos en Cuba, describiendo lo que se resume en la siguiente tabla.

Tabla 3. Ciclo parasitario de *R. microplus*.

Etapa	Día del ciclo
Larvas alimentándose	0-5

Aparición de metalarvas	5-7
Aparición de ninfas	7-9
Aparición de metaninfas	10-13
Aparición de adultos jóvenes	14-15
Apareamiento	15-17
Ingurgitación	14-21
Desprendimiento	21

Nota. Fuente: Pérez-León JM., Efecto de diferentes medios biológicos en el control de las garrapatas de bovinos, 2007.

El conocimiento de la duración de los estadios no parasíticos de *R. microplus* que pululan en los pastos, permite la regulación de la población existente en la biocenosis, mediante la aplicación de los medios biológicos sin alterar el equilibrio que toda la especie debe mantener con los demás elementos del ecosistema³⁰.

1.4.2 Principales métodos de control contra *R. microplus*.

Muchos han sido los métodos de control que el hombre ha implementado para erradicar la problemática que las garrapatas representan, los primeros fueron los aceites y extractos de las plantas, más tarde el petróleo crudo y las soluciones arsenicales hasta llegar a las sustancias químicas, clasificándose en métodos químicos, biológicos, composición-tipo de vegetación y métodos genéticos³¹.

1.4.2.1 Control químico

El ciclo biológico de *R. microplus* en los bovinos se completa en un periodo promedio de 22 a 23 días. Teóricamente, utilizando un acaricida eficaz (99%) cada

21 días, se evitaría la presencia de *R. microplus* con capacidad reproductiva, logrando un control adecuado con tratamientos de rutina³².

Los métodos de control químicos de las garrapatas, tienen como función romper los ciclos de vida de las garrapatas a través de la aplicación de medicamentos a intervalos determinados por la región ecológica, especies a las que se va a combatir, eficacia residual o persistencia del antiparasitario. En México existen más de 50 productos para el control de garrapatas que incluyen seis grupos distintos con diferencias en sus mecanismos de acción³³. Por ejemplo, organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretroides sintéticos, amidinas, lactonas macrocíclicas, fenilpirazolonas e inhibidores del desarrollo. Los productos más empleados son líquidos concentrados que contienen un principio activo contra el parásito pero que además tienen en su fórmula sustancias emulsionantes, solventes y humectantes que juegan un rol muy importante en la calidad del producto. Los principios activos más usados en la lucha contra las garrapatas han sido: organoclorados, organofosforados, carbamatos³⁴, amidinas y piretroides sintéticos³⁴.

Según Encinas, los componentes anteriores son neurotóxicos. Sus dianas más importantes son los canales axonales de sodio (DDT y piretrinas), la acetilcolinesterasa (organofosforados y carbamatos), los receptores de la octopamina (formamidinas) y los receptores del GABA (HCH) de la garrapata³⁵.

La resistencia desarrollada por garrapatas se ha manifestado frente a casi todos los grupos químicos utilizados en su control; esto ha ocurrido preferentemente en áreas donde la utilización de acaricidas ha sido más sistemática. Este fenómeno crea la

necesidad de realizar investigaciones epidemiológicas determinando la dinámica de la población del parásito a través de conteos de garrapatas y estudios ecológicos; así como la búsqueda de nuevas alternativas de control. Esta realidad y el hecho de que el desarrollo de nuevos acaricidas es cada vez más complicado y costoso, implica contar con estudios que permitan alargar al máximo su vida útil. El buen uso de los productos para baños acaricidas es importante pues en el lapso que va entre su aparición en el mercado y el desarrollo de resistencia del parásito es cada vez menor con los nuevos productos^{36,37}.

1.4.2.2 Control inmunológico

La disponibilidad de productos químicos para el control de garrapatas es cada vez menor debido a los altos costos y a la aparición de resistencia que los deja fuera del mercado, por esta razón se hace necesario el correcto uso de los acaricidas disponibles para prolongar su vida útil. Dicha situación, sumado al impacto ambiental que conlleva la eliminación de estos productos al medio, resultó en la necesaria búsqueda de nuevos métodos de control, donde se destaca el empleo de vacunas recombinantes contra las garrapatas³⁸. Esta experiencia fue reportado por primera vez en Australia donde la proteína Bm86, aislada del intestino de la garrapata, fue recombinada en *Escherichia coli* y llevada a escala mundial bajo los nombres de TickGard®. Este antígeno permanece en forma natural “oculto” al sistema inmunológico del animal, o sea, no juegan ningún papel en la interacción hospedador-parásito para inducir de forma artificial la inmunidad del hospedador³⁹. Diversos autores reportan que la ventaja de usar antígenos ocultos está en evitar los principales mecanismos de evasión parasitaria de la respuesta inmune. La falta

de contacto entre los antígenos ocultos y el sistema inmunológico permite que los parásitos no desarrollen estrategias para escapar a la acción de una respuesta contra ellos, esto los hace especialmente atractivos para el diseño de vacunas contra ectoparásitos. Los efectos de la vacuna sobre la garrapata *R. microplus* son reducciones de la capacidad reproductiva (50-90%), del número de garrapatas repletas (20-30 %), del peso de las garrapatas (30 %) y del peso de los huevos (60-80 %), sin embargo no produce mortalidad⁴⁰.

1.4.2.3 Composición y tipo de vegetación

Se ha comprobado que *R. microplus* en su etapa de vida libre en donde se desarrolla el 95% de su vida, depende en gran manera de las condiciones de humedad y temperatura que el ambiente le provea, por lo que pastoreos intensivos, reducen la cobertura vegetal y pueden disminuir la sobrevivencia de huevos y larvas. Las garrapatas repletas que caen al suelo procuran un lugar protegido de los rayos solares para iniciar su postura, por lo tanto tiene influencia la composición del tapiz vegetal donde cae la hembra repleta para encontrar esa protección; es así que campos sucios con arbustos y malezas proporcionan condiciones favorables para que esta garrapata complete su ciclo biológico⁴¹.

En este sentido investigaciones realizadas determinaron que la supervivencia larvaria de la garrapata fluctúa entre 30 y 60 días promedio, resultados que permiten recomendar un manejo rotacional de potreros con periodos de descanso no menor de 30 días, siendo el ideal de 45 día.

Por otra parte, en los sistemas de pastoreo muchos son los enemigos naturales que se han registrado como reguladores de las poblaciones de garrapatas, los más

importantes parecen ser las hormigas, sin embargo los artrópodos no son los únicos reguladores biológicos de las garrapatas, existen determinantes como es la regulación que el propio hospedero ejerce mediante la remoción mecánica de la piel; las aves también actúan al deprimir las poblaciones del ectoparásito al igual que las ratas y los ratones^{43,44}.

Existen leguminosas con capacidad para atrapar larvas, mediante pelos y secreciones glandulares viscosas presentes en sus hojas y que tienen la capacidad de inmovilizar entre un 12-27 % las larvas de *R. microplus* ⁴⁵.

Todos estos autores, refieren que los ectoparásitos pertenecientes a la familia Ixodidae, están expuestos a un gran número de reguladores biológicos, eso nos permite comprender por qué no son aún mayores los niveles de plagas que se reproducen en el ganado; si tenemos en cuenta que el promedio de huevos que oviposita una hembra de *R. microplus* está alrededor de los 2,000 con una viabilidad por encima del 90% y las larvas pueden permanecer largo tiempo sin ingerir alimento, lo que les permite poder esperar hasta trepar al bovino y pasar a la etapa parasitaria⁴⁶.

1.4.2.4 Control genético.

El control genético se basa en la utilización de razas de bovino que han mostrado más resistencia a las garrapatas y de manera general se puede definir como la capacidad del hospedero para imponer limitaciones sobre el parásito en cualquier etapa de su relación. La resistencia es adquirida como respuesta al ataque de garrapatas, dura toda la vida, aumenta con la densidad de garrapatas y es hereditaria, siendo que los terneros que nacen de madres resistentes están

protegidos hasta el destete. La muerte de las garrapatas está determinada por la resistencia del hospedero en que se alimenta⁴⁷.

Los porcentajes de sobrevivencia van de 0, en animales que no son hospederos habituales o que han desarrollado fuerte resistencia a 40% en bovinos susceptibles. La mortalidad ocurre, aparentemente en las primeras 24 horas de fijadas al hospedador y en menor medida en el establecimiento de estadios evolutivos posteriores. Estos porcentajes de sobrevivencia fueron medidos en *R. microplus* en las distintas razas de bovinos y en varias condiciones⁴⁸.

1.4.3 Resistencia de garrapatas a fármacos ixodicidas.

La resistencia es la capacidad que se confiere a las garrapatas para tolerar altas dosis tóxicas, que para la mayoría de los individuos en una población susceptible de la misma especie serían letales. Cuando un ixodicida o garrapaticida es utilizado intensivamente, ocasiona una fuerte presión de selección que elimina a los individuos susceptibles, dejando así poblaciones completas de garrapatas resistentes a estos fármacos, forzando a los productores a buscar estrategias para la mitigación de esta plaga⁴⁹.

El Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), reporta que cinco (organofosforados, piretroides sintéticos, amidinas, fenilpirazolonas e inhibidores del desarrollo) de las seis familias de fármacos utilizados para el control de garrapatas presentan resistencia, además Rodríguez-Vivas et al.,(año) reportan resistencia también en la última familia que son las

lactonas macrocíclicas (**Tabla 4**). Esto reforzando la importancia del manejo adecuado de los fármacos ixodicidas utilizados en el ganado bovino⁵⁰.

Tabla 4. Familias de plaguicidas utilizados en bovinos.

Familia	Sustancia Activa	Forma de aplicación
Organofosforados	Coumafos	Inmersión, aspersión
	Clorpirifos	Inmersión, aspersión
	Clorfenvinfos	Inmersión, aspersión
Piretroides sintéticos	Cipermetrina	Inmersión, aspersión, derrame dorsal
	Deltametrina	Inmersión, aspersión, derrame dorsal
	Flumetrina	Inmersión, aspersión, derrame dorsal
	Lambdacyalotrina	Derrame dorsal
	Alfacipermetrina	Inmersión, aspersión, derrame dorsal
Amidinas	Amitraz	Inmersión, aspersión
Lactonas macrocíclicas	Ivermectina	Inyectable, derrame dorsal
	Moxidectina	Inyectable
	Doramectina	Inyectable
Fenilpirazolonas	Fipronil	Derrame dorsal
Inhibidores del desarrollo	Fluazurón	Derrame dorsal

Fuente: Rodríguez-Vivas. Control integrado de garrapatas en Yucatán, 2014.

El 80% de los problemas de resistencia a los ixodicidas, se deben al mal manejo de los productos, la prevención de la resistencia va de la mano con el manejo racional de los pesticidas; como ayuda a esta problemática se ha insistido en el uso de diferentes métodos de control que incluyen: quemas de pastizales, intercambio de potreros, entre otros, que ayuden a romper con el ciclo normal de la garrapata y así tener un manejo integrado de estas poblaciones⁵¹. En México, para el manejo integral de la garrapata se han indicado opciones para establecer estrategias que

permitan controlar a la garrapata del género *Boophilus spp*, ejemplo de ello es la aplicación de una vacuna basada en el antígeno recombinante Bm86 de *R. microplus*, en predios de los estados de Michoacán, Nayarit, Puebla, Quintana Roo, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, adicionalmente se ha indicado el manejo de forma integral y su aplicación de tratamientos a base de lactonas macrocíclicas, inhibidores del desarrollo de la garrapata en su fase larvaria, en zonas donde existe el fenómeno de la resistencia los garrapaticidas⁵².

1.4.4 Residuos de fármacos ixodicidas.

El uso de fármacos veterinarios es esencial durante la crianza de animales productores de alimentos, sin embargo en los últimos años el sector agroalimentario en todo el mundo se ha enfrentado a la diseminación de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en los que intervienen, residuos de medicamentos veterinarios. Esta problemática tiene como principal factor, la falta de respeto en los tiempos de retiro de los fármacos. El tiempo de retiro de un fármaco indica el tiempo que debe transcurrir entre la última aplicación o administración del fármaco en condiciones normales de uso, hasta el momento donde el animal es sacrificado o sus productos sean consumidos sin que provoque ningún problema en la salud de las personas. Antes de este periodo, la carne, vísceras, leche y quesos no pueden ser utilizados como alimentos ya que contienen residuos que pueden ser dañinos para la salud de las personas^{53,54}.

Existen daños reportados en la salud humana por el consumo de carne o subproductos de la misma, que contienen fármacos que no fueron eliminados; éstos residuos pueden causar un efecto perjudicial en los consumidores de varias maneras, como por ejemplo: efectos adversos toxicológicos crónicos, efectos farmacológicos agudos, efectos adversos en la microflora del tubo digestivo, reacciones alérgicas, resistencia a los antimicrobianos entre otros⁵⁵.

1.4.5 Relación con enfermedades crónicas no transmisibles.

Aunque los efectos a la salud humana por el consumo de carne, leche y subproductos contaminados, no están totalmente descritos, se han estudiado los efectos neurotóxicos causados por la exposición ambiental o laboral a plaguicidas los cuales abarcan un amplio intervalo que va desde trastornos neurológicos hasta alteraciones de carácter psiquiátrico. Los daños producidos pueden ser reversibles o definitivamente irreversibles y su toxicidad proviene de la acción anticolinesterásica, siendo la principal vía de entrada al organismo a través de la piel, por la ingestión o por la respiración produciendo toxicidad aguda o crónica, agentes mutagénicos y carcinogénicos, lo cual reitera la preocupación hacia el manejo indebido de los fármacos durante las prácticas agropecuarias y el incumplimiento de los tiempos de retiro de los medicamentos^{56,57}.

En la revisión que realiza Bassil, sobre los efectos en relación al cáncer por la exposición a pesticidas, la mayoría de los estudios muestran asociaciones positivas sobre el linfoma de Hodgkin y la leucemia. Algunos muestran relaciones dosis-respuestas y algunos pudieron identificar pesticidas específicos, como se muestra

en la **tabla 5**. Si bien en estos estudios se habla sobre exposiciones directas por inhalación, en el caso del consumo de estos pesticidas a través de los alimentos, podemos tener resultados similares con el consumo de cantidades menores sin embargo con intoxicación de manera crónica⁵⁸.

Tabla 5. Revisión sistemática de la literatura sobre los efectos del uso de pesticidas en los resultados de salud crónicos para evaluar la evidencia actualmente disponible.

Tipo de cáncer	Resultados	País
Leucemia	Los resultados de los 8 estudios de casos y controles fueron estadísticamente significativos. Uno de los pocos estudios que incluyó mujeres encontró una elevada leucemia mielocítica crónica y leucemia mielocítica aguda, aunque no se nombraron ni cuantificaron pesticidas específicos.	Estados Unidos.
Cáncer de cerebro	Los 11 estudios de los Estados Unidos, Canadá y Europa que examinan la asociación entre la exposición a pesticidas y el cáncer cerebral mostraron un mayor riesgo.	Estados Unidos, Canadá, Europa.
Cáncer de mama	Seis estudios analizaron la asociación entre la exposición a pesticidas y el cáncer de seno. La mayoría de ellos apoyó una asociación.	Reino Unido.
Cáncer de riñón	Seis artículos evaluaron la relación entre la exposición a pesticidas y el cáncer de riñón, y todos encontraron asociaciones positivas. La asociación se encontró no solo en poblaciones expuestas	Estados Unidos

directamente, sino también en niños de padres expuestos, y fue más consistente cuando las personas habían tenido una exposición prolongada.

Cáncer de páncreas	Tres estudios evaluaron la relación entre el cáncer de páncreas y la exposición a pesticidas, y los 3 encontraron asociaciones positivas	Canadá.
--------------------	--	---------

Fuente: Elaboración propia con datos del artículo: Bassil, KL. Cancer health effects of pesticides, 2007.

1.5 Importancia del consumo de alimentos de origen animal inocuos.

La creciente demanda de garantías de inocuidad y seguridad alimentaria para la comercialización y exportación de productos agrícolas y pecuarios para consumo, así como la necesidad de una conciencia mundial sobre revertir la grave tendencia actual hacia el deterioro ambiental y de la salud de los consumidores por el uso indiscriminado de insecticidas, pesticidas y plaguicidas, han puesto de relieve la importancia de modificar las formas de control de plagas a través de la aplicación exógena de biomoléculas con actividad insecticida o bien promoviendo el aprovechamiento de bioinsecticidas naturales⁵⁹.

Es importante destacar la importancia de consumir alimentos de origen animal inocuos, ya que éstos pueden garantizar la preservación de la salud humana. La inocuidad de los alimentos entonces se refiere al conjunto de condiciones y medidas necesarias durante el proceso de crianza del animal, así como la producción, almacenamiento, distribución y preparación de los alimentos una vez que éstos han

llegado al consumidor para asegurar que, una vez ingeridos no representen un riesgo apreciable para la salud, por eso es importante hacer hincapié en que la inocuidad es un aspecto de la calidad y las cadenas agroalimentarias, siendo una responsabilidad conjunta del gobierno como eje de relación al crear las condiciones ambientales y el marco normativo necesario para regular las actividades de la industria alimentaria, que a su vez forma otro eslabón importante en el interés de productores en el cuidado de las mismas, y por supuesto los consumidores una vez que el producto ha llegado a ellos para su consumo^{60,61}.

La calidad de la carne debe ser reflejada en la inocuidad o que no represente ningún riesgo para la salud pública, es decir, carne sin contaminación. El Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria establece que la carne es inocua cuando ha sido aprobada como apta para el consumo humano de conformidad con los siguientes criterios:

1. Que no contenga residuos fármacos que excedan los límites establecidos por el *Códex Alimentarius*.
2. Que no causará una infección ni intoxicación transmitida por los alimentos, siempre que se haya manipulado y preparado correctamente para los fines a que está destinada.
3. Que está exenta de contaminación visible.

4. Que está exenta de defectos generalmente reconocidos por el consumidor como objetables.
5. Que se ha producido con un control higiénico adecuado.
6. Que no se ha tratado con sustancias declaradas como ilícitas por la legislación nacional⁶².

Si la carne tiene fines de exportación, ésta debe también cumplir ciertos regímenes de seguridad extras, ya que los mercados ¿metas? (EE. UU., Unión Europea y Japón) son muy estrictos con productos tan sensibles como la carne y sus derivados⁶³.

Los riesgos para la salud humana transmitidos por los AOA pueden deberse a causas de orden biológico, químico (como residuos de fármacos) o físico, derivados de enfermedades de los animales destinados al consumo humano⁶⁴.

1.6 Alternativas de control seguras para el consumo

Durante los últimos años se ha despertado, en el mundo un gran interés por investigar la presencia de principios farmacológicos en aquellas plantas que, por tradición popular, son reconocidas en estudios de etnobotánica como antiparasitarias y que son utilizadas por nuestros campesinos. Estos productos presentan una mayor seguridad, bajo costo, buena eficacia, ningún daño a los ecosistemas y a la salud humana⁶⁵.

Si los medicamentos no fuesen absorbidos por los animales o si fuesen metabolizados y transformados en productos inocuos, no habría por qué preocuparse. Desgraciadamente, no suele ser así. Por lo tanto, es necesario buscar alternativas de origen natural que permitan el control de las garrapatas y no causen daños perjudiciales a la salud, como es el caso de los extractos botánicos.

La disponibilidad de métodos alternativos al uso exclusivo del control químico es una necesidad no solamente de productores, sino de los consumidores que demandan productos libres de residuos de agrotóxicos, con tecnología ambientalmente segura. En la búsqueda de tales métodos, productos alternativos como los extractos de plantas han sido utilizados por agricultores para control de plagas y enfermedades, especialmente en los sistemas de producción ecológicos y orgánicos⁶⁶.

1.6.1 Extractos botánicos con propiedades ixodicidas

En los últimos años se han venido impulsando estudios vinculados al uso de principios activos en las plantas y fitoterápicos que tienen potencialidades como garrapaticidas e insecticidas. Según Chagas, muchas plantas acumulan sustancias orgánicas que pueden ser extraídas en cantidades suficiente para ser económicamente utilizadas para las más variadas aplicaciones científicas, tecnológicas y comerciales. Los químicos extraídos de las plantas son normalmente clasificados en metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son sustancias ampliamente distribuidas en la naturaleza ocurriendo de una forma u otra en prácticamente todos los organismos y en las plantas superiores tales

compuestos se concentran frecuentemente en semillas y órganos de almacenamiento que son necesarias para el desarrollo fisiológico, ya que poseen papel importante en el metabolismo celular básico. Ellos son usados principalmente como materia prima industrial, alimento o aditivo alimenticios e incluye productos tales como: aceites vegetales, ácidos grasos y carbohidratos⁶⁷.

Los compuestos químicos derivados de plantas se presentan como una alternativa a los productos de síntesis química, ya que tienen baja toxicidad, son solubles en agua y se degradan mejor en el ambiente, por radiación solar y humedad. Estas propiedades permiten reducir el desarrollo de resistencia acaricida y el alto impacto ecológico en los sistemas ambientales⁶⁸.

1.6.1.1 Ajo (*Allium sativum* L.).

Allium sativum L., es una especie que pertenece a la familia *Liliaceae* (comprende alrededor de 600 especies), originaria de Asia central. Desde tiempos inmemoriales se utilizan los bulbos, tanto para su uso culinario como por sus propiedades terapéuticas ya que contiene numerosos componentes activos, de entre los que destacan sus compuestos azufrados. Si el bulbo está intacto y fresco, el componente mayoritario identificado es la aliína o sulfóxido de *S-alil-cisteína* (aminoácido azufrado). El ajo tiene propiedades diaforéticas, expectorantes, antiespasmódicas, antisépticas, antimicrobianas, hipotensivas y antihelmínticas y es un promotor de la leucocitosis⁶⁹.

Como mecanismo de acción, esta planta provoca una sobreexcitación del sistema nervioso (causado por la sustancia llamada tiosulfato) que conlleva a la desorientación en los insectos. Los compuestos constituyen una señal inequívoca

para el insecto que le dificulta encontrar su fuente de alimento (efecto anti alimentario). Además, penetran a la planta a través de las estomas y es transportado a través del sistema vascular, modificando su complejo enzimático, transpiración y cambio en los líquidos intracelulares de la planta (savia), provocando repelencia y excitación del sistema nervioso que les dificulta el vuelo y la oviposición. El efecto irritante induce a los insectos a salir de sus refugios, facilitando su control ya sea por depredación, parasitismo o por el uso de insumos. Además, obstruye la acción de las feromonas sexuales, causando desorientación durante la etapa de reproducción, disminuyendo de esta forma las poblaciones insectiles. La utilización de extracto de ajo ha sido reportada por Martínez-Velázquez sobre la mortalidad de larvas de *R. microplus* (90-100%) de 10 días de edad cuando se aplicaron en ciertas concentraciones⁷⁰.

1.6.1.2 Canela (*Cinnamomum zeylanicum*)

Cinnamomum zeylanicum pertenece a la familia *Lauraceae*, es un pequeño árbol que alcanza entre 3 y 10 m. de altura; su tronco suele llegar a los 50 cm de diámetro., según la medicina tradicional la canela tiene muchos usos, tales como propiedades espasmolítico, antibacteriano, antihelmíntico, dispepsia, flatulencia, anorexia, cólico intestinal, fungicida, antioxidante, antiulcerogénico, inflamaciones de la boca y la faringe, diarreas infantiles, influenza, debilidad, convalecencia y externamente para tratar heridas⁷¹.

El extracto de canela es un insecticida y repelente de ácaros que además impide el desarrollo de hongos y bacterias. Contiene sustancias naturales,

cinamaldehído y *ácido cinámico*, que causan mortalidad, repelencia y disminuyen la alimentación de los insectos. Causan también excitación del sistema nervioso provocando un enmascaramiento de las feromonas involucradas en el proceso de apareamiento. Contiene sustancias con acción fungicida consistente en inhibir la germinación de esporas y crecimiento micelial de hongos fitopatógenos y actúa por contacto por lo que es necesario mojar bien toda la planta y las hojas. Su mecanismo de acción es a nivel digestivo y del apetito; el *cinamaldehído* es el principal elemento del aceite de hoja de canela y se utiliza en todo el mundo como un aditivo alimentario, se ha evaluado como repelente de insectos. En su uso comercial, aceite de canela puede ser utilizado como un pesticida no dañino para el medio ambiente, sin causar semejantes efectos adversos en la salud humana y además, provocando un olor agradable⁷².

Se han realizado investigaciones diversas del extracto de canela como agente insecticida, algunos resultados en control de *Bactericera cockerelli* demuestran su efectividad en control de adultos de hasta un 80 - 85 % en la reducción de ninfas lo que sugiere una efectividad como opción para el control de esta plaga. En el control del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamays*, presentó una mortalidad en adultos del 55 % resultado que indica ser promisorio en el control del picudo en el almacenaje de grano de maíz⁷³.

La antracnosis es el problema más importante en poscosecha de frutos tropicales. En experimentos realizados se ha demostrado que el extracto de canela presentó efecto fungicida en contra de *C. gloeosporioides* al inhibir el crecimiento micelial, la

germinación y esporulación del hongo en un 100 %, estos resultados se obtuvieron *in vitro*. Estudios *in vivo* también revelaron que el extracto de canela aplicada antes y al mismo tiempo de la inoculación con *C. gloeosporioides*, controlaron la antracnosis en frutos de papaya artificialmente inoculados, mientras que a mayores dosis la severidad aumentó. Los resultados sugieren la posibilidad de usar estos extractos a dosis adecuadas como biofungicidas para controlar antracnosis en papaya en poscosecha⁷⁴.

1.6.1.3 *Cempasúchil (Tagetes erecta)*.

De acuerdo con la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), la flor de cempasúchil ha sido empleada en padecimientos digestivos (como el dolor de estómago, empacho, diarrea, cólicos e indigestión y para eliminar parásitos intestinales); para afecciones respiratorias (como el catarro, la gripa y el mormado); en afecciones de la piel (como salpullidos, llagas y verrugas); en problemas ginecobstétricos (inflamación del vientre, cólicos menstruales); en alteraciones nerviosas (como el insomnio, los nervios, la epilepsia) y en enfermedades culturales (como el espanto, el mal aire y el susto)⁷⁵. En el ámbito agrícola, la flor de cempasúchil se reconoce como una planta antagonista, debido a sus propiedades, ya que al rotar e incorporar residuos de cempasúchil o al asociarlo con cultivos de chile y jitomate, se reducen especies de nematodos y fitoparásitos⁷⁶.

Mecanismo de acción: Por su formulación de origen botánico, el cempasúchil es un insecticida de contacto, sus compuestos activos traspasan la cutícula de los insectos, paralizando por completo su sistema nervioso. Tiene acción excitatoria

intensa, provoca hipersensibilidad a los estímulos externos, ocasionando convulsiones, tetanización de músculos y muerte del insecto. Obstruye y altera el impulso nervioso en las neuronas, por lo que presenta un alto efecto irritante o de derribe que hace que el insecto apenas entre en contacto con las superficies tratadas deje de alimentarse, se paralice y muera. Estudios señalan que el aceite de cempasúchil tiene una efectividad de hasta 99.98% utilizado contra *R. microplus*, sugiriendo éste como una alternativa exitosa para su control⁷⁷.

Durante siglos, las plantas fueron la única fuente de compuestos terapéuticos para el hombre. Con el desarrollo de la química terapéutica, a partir del siglo XIX, las plantas representaron el recurso más importante para el desarrollo de medicamentos. Actualmente el desarrollo de la farmacoterapia tiende a ser expandido rápidamente, apenas el 25% de los medicamentos prescritos son derivados de plantas, y 120 sustancias de origen natural son obtenidas de alrededor de 90 especies de plantas y son empleadas en tratamientos modernos. Estudios *in vitro* han demostrado el potencial que tienen las plantas medicinales, sus aceites esenciales y otras sustancias aisladas para el control de la garrapata *R. microplus*. Los aceites son mezclas complejas que contienen gran cantidad de sustancias con variada composición química, obtenida por destilación. Hay alrededor de 3,000 aceites esenciales conocidos, de ellos el 10% se reconocen por tener poca importancia comercial para su uso en productos farmacéuticos, alimentos ó cosméticos⁷⁹.

Los acaricidas se originaron a partir de plantas que llegan a tener una baja toxicidad para los mamíferos, la rápida degradación y el lento desarrollo de la resistencia, recordando que es uno de los principales problemas en la utilización de productos químicos. Estas características hacen que los biogarrapaticidas tengan un gran atractivo comercial, que le permite controlar garrapatas *R. microplus* de una manera menos agresiva con el medio ambiente. Actualmente diversas plantas han sido investigadas como candidatos de nuevos fármacos naturales, pero existen aproximadamente 350,000 de plantas en el mundo entero que aún no han sido sometidas a cualquier estudio fitoquímico y farmacológico^{80,81}.

2. JUSTIFICACIÓN

Desde el punto de vista nutricional, la carne es una fuente incomparable de aminoácidos y ácidos grasos esenciales que, en combinación con otros alimentos, aseguran una dieta balanceada en la población general. México es el octavo productor de carne de bovino a nivel mundial, el consumo *per cápita* es de 8.8 kilogramos anuales, sin embargo, en los últimos años el sector agroalimentario se ha enfrentado a diseminación de brotes de infestaciones parasitarias como la garrapata *R.) microplus*. El método de control mediante el uso de acaricidas químicos para este parásito, ha causado resistencia en las garrapatas, aumentando su uso lo cual ha traído serios problemas de contaminación en la carne y subproductos; lamentablemente en México son pocos los estudios que reportan los residuos de estos compuestos en carne. Con esta problemática, se ha despertado el interés en buscar alternativas naturales y se han evaluado extractos de plantas tales como el ajo, la canela y el cempasúchil, que puedan controlar el problema de infestaciones por garrapatas sin causar contaminación en carne y subproductos para reducir los riesgos y daños al ambiente y a la salud pública.

3. HIPÓTESIS

El uso de extractos botánicos de ajo, canela y cempasúchil presentarán un efecto ixodocida ante el desarrollo de *R. microplus*.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto ixodocida de extractos botánicos de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*), Ajo (*Allium sativum* L) y Cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la mortalidad de garrapatas *R. microplus* durante las etapas de su ciclo biológico.

4.2 Objetivos específicos

- I. Evaluar el efecto de extractos botánicos comerciales de ajo, canela y cempasúchil sobre la mortalidad de larvas de *R. microplus*, mediante la técnica de inmersión de Shaw.
- II. Evaluar la inhibición de la oviposición en hembras repletas de garrapatas *R. microplus*, expuestas a extractos botánicos comerciales de ajo, canela y cempasúchil, mediante la técnica de inmersión de Drummond.
- III. Determinar el porcentaje de eclosión de huevos de garrapatas *R. microplus*, expuestas a extractos botánicos comerciales de ajo, canela y cempasúchil.
- IV. Determinar los daños morfológicos en larvas expuestas al extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía esteroscópica.

5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

5.1 Localización de las investigaciones

Las investigaciones se realizaron en el Laboratorio de ectoparásitos y helmintos de SENASICA, situado en el municipio de Jiutepec, Morelos., y estuvieron enmarcadas en tres etapas experimentales:

Experimento 1. Evaluación *in vitro* del efecto ixodicida de extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre las larvas de *R. microplus*, mediante la técnica de inmersión de Shaw.

Experimento 2. Evaluación *in vitro* del efecto ixodicida de extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre la oviposición de garrapatas adultas de *R. microplus*, mediante técnica de inmersión de Drummond.

Experimento 3. Evaluación *in vitro* del efecto ixodicida de extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre la eclosión de huevos en garrapatas adultas de *R. microplus*, posterior a la técnica de inmersión de Drummond.

Experimento 4. Determinación del daño morfológico en larvas expuestas al extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía esteroscópica.

5.2 Evaluación *in vitro* del efecto ixodicida de los extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre larvas de *R. microplus* mediante la técnica de inmersión de Shaw.

5.2.1 Material biológico

Se utilizaron larvas de garrapata *R. microplus* de 7 a 15 días de edad, obtenidas del laboratorio de ectoparásitos y helmintos del SENASICA.

5.2.2 Preparación de las soluciones

Para evaluar el efecto ixodicida de los extractos botánicos se prepararon soluciones con cada uno de los extractos a evaluar, usando como referencia la concentración comercial recomendada (CCR) del producto. Posteriormente se utilizó la metodología Probit (metodología estadística) para obtener cinco concentraciones diferentes de acuerdo con el factor de dilución 0.5, establecido en la técnica⁸².

Las soluciones de los extractos se prepararon de la siguiente manera:

En la primera evaluación se utilizaron 6 probetas de vidrio con capacidad de 100 ml., se colocó en una probeta, 6 ml del extracto a evaluar y se aforó a 100 ml con agua destilada, a continuación se realizaron diluciones seriadas tomando 50ml de la solución anterior en una nueva probeta y se diluyó en 50 ml agua destilada para obtener concentraciones menores, este paso se repitió cuatro veces más hasta llegar a la concentración de 0.375%, en la primera evaluación con cada uno de los extractos de ajo, canela y cempasúchil (**Tabla 6**).

Tabla 6. Diluciones seriadas para la primera evaluación

Concentración	Extracto (ml)	Agua destilada (ml)
Testigo	-----	100mL
6%	6 mL	94 mL
3%	3 ml	97 mL
1.5%	1.5 ml	98.5 mL
0.75%	0.75 ml	99.25 mL
0.375%	0.375 ml	99.625 mL

Se llevó a cabo la misma metodología para el cálculo de las soluciones de la segunda evaluación, en la cual se calcularon diferentes concentraciones para el extracto de canela (**tabla 7**) y los extractos de ajo y cempasúchil (**tabla 8**).

Tabla 7. Diluciones seriadas para la **segunda** evaluación del extracto de canela

Concentración	Extracto (ml)	Agua destilada (ml)
Testigo	-----	100mL
24%	24 mL	76 mL
12%	12 mL	88 mL
6%	6 mL	94 mL
3%	3 mL	97 mL
1.5%	1.5 mL	98.5 mL

Tabla 8. Diluciones seriadas para la segunda evaluación extracto de ajo y cempasúchil

Concentración	Extracto (ml)	Agua destilada (ml)
Testigo	-----	100mL
96%	96 mL	4 mL
48%	48 ml	52 mL
24%	24 ml	76 mL
12%	12 ml	82 mL
6%	6 ml	94 mL

5.2.3 Evaluación de extractos botánicos en larvas

Una vez obtenidas las soluciones con las concentraciones determinadas se prosiguió a preparar los paquetes de larvas para la evaluación. En 6 cajas de petri de vidrio de 15 cm de diámetro, se colocó papel filtro y se adiciono 10 ml de solución de extracto de cada una de las concentraciones a evaluar, iniciando con la solución testigo (agua destilada) y continuando con la concentración más baja hasta la más alta de cada extracto cuidando que el papel filtro se impregnara en su totalidad. Posteriormente con un pincel se colocaron de 300 a 500 larvas distribuidas sobre en el papel, una vez distribuidas se cubrió con otro papel filtro cuidando que no quedaran espacios (burbujas) entre los papeles de tal manera que quedaran expuestas al extracto a temperatura ambiente por 10 minutos⁸³. Posterior al tiempo de exposición, se retiraron los papeles de la caja Petri de vidrio con ayuda de unas pinzas de disección, enseguida fueron colocados sobre un papel secante, para quitar el exceso de solución del extracto y se procedió a destapar el paquete. A continuación, una cantidad de \approx 100 larvas fue extraída del papel filtro con la ayuda de un pincel y fueron colocadas en paquetes de papel filtro, de 7.5 x 8.5 cm, los cuales se sujetaron con tres broches BACO™ tipo Bulldog, desinfectados previamente con alcohol al 96%, cuidando que quedaran totalmente sellados. Cada paquete de larvas se identificó con los datos del extracto que fue utilizado y fecha, este procedimiento se realizó por triplicado⁸⁴. Una vez etiquetados, estos se colocaron sobre charolas metálicas, y se llevaron a la incubadora a una temperatura de 28 ± 2 °C y una humedad relativa de 80-90 % durante 24 horas (**Fig.4**).

Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó la lectura de los paquetes contabilizando el número de larvas vivas y muertas en todas las concentraciones y los controles. Con ayuda de masking tape se atraparon las larvas vivas y las larvas muertas fueron contabilizadas (circulando el área donde se encuentran las larvas para facilitar el conteo) sobre el papel con ayuda de un contador de mesa.

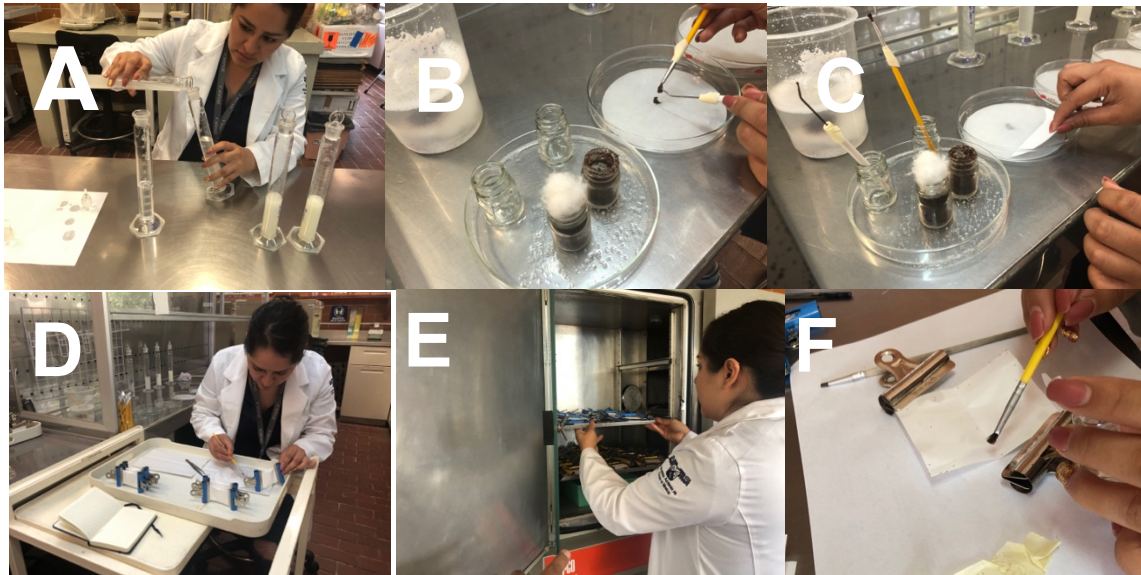


Figura 4. Incubación, montaje y conteo de larvas de *R. microplus*. **A** Preparación de las diluciones de extractos botánicos comerciales. **B** Colocación de larvas de *R. microplus* en papel filtro impregnado. **C** Envoltura del papel filtro con larvas. **D** Paquetes de larvas en papel filtro. **E** Incubación de larvas. **F** Conteo de larvas vivas y larvas muertas.

5.3 Evaluación del efecto ixodicida de extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre la oviposición de garrapatas adultas de *R. microplus* mediante la técnica de inmersión de Drummond.

5.3.1 Material biológico

Utilizamos un diseño completamente aleatorizado con dos repeticiones para cada tratamiento: se homogeneizaron en peso 10 garrapatas por cada lote, para un total de 80 garrapatas por extracto (testigos y tratadas) dando como resultado 240 garrapatas en total.

Tabla 9. Homogeneización de los lotes, peso de garrapatas en gramos

Lote Testigo (T)/ Tratado (A)	Ajo (g)	Canela (g)	Cempasúchil (g)
T 1	3.6782	3.7319	3.5575
T 2	3.6652	3.7578	3.5378
T 3	3.6850	3.7653	3.5690
T 4	3.6783	3.7348	3.5391
A 1	3.6803	3.7654	3.5488
A2	3.6726	3.7647	3.5354
A3	3.6965	3.7420	3.5364
A4	3.6740	3.7305	3.5695

5.3.2 Evaluación de extractos botánicos sobre garrapatas adultas

Para el desarrollo del Test de inmersión de garrapatas ingurgitadas de *R. microplus* se utilizaron las técnicas de eficacias descritas por Drummond, modificada por Chagas *et al.*

Una vez obtenidos los lotes de garrapatas para cada uno de los extractos, se evaluó únicamente con la concentración comercial de los productos (1.5%), la eficacia de los extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre la inhibición de la oviposición para los grupos tratados y con agua destilada para los testigos.

Se colocaron tres vasos de precipitados con 30 ml de solución al 1.5% de ajo, canela y cempasúchil y posteriormente se colocaron las garrapatas adultas de cada uno de los lotes marcados como tratados; se mantuvieron en inmersión por un minuto, realizando movimientos circulares para evitar que floten y así asegurar que todas se impregnen de manera correcta. Una vez expuestas al producto se sacaron y se colocaron en un papel secante para quitar el exceso de líquido, seguido se regresaron a la caja de Petri. Este procedimiento se repitió en cada uno de los lotes para cada extracto. A continuación, se colocaron las cajas de Petri en una estufa a una temperatura de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de 95% (**Fig. 5**); posteriormente al día 11 del inicio de la oviposición, se separaron los huevos y se pesaron comparando con los pesos de las “teleóginas” al inicio para determinar el porcentaje de inhibición de la oviposición⁸⁵.

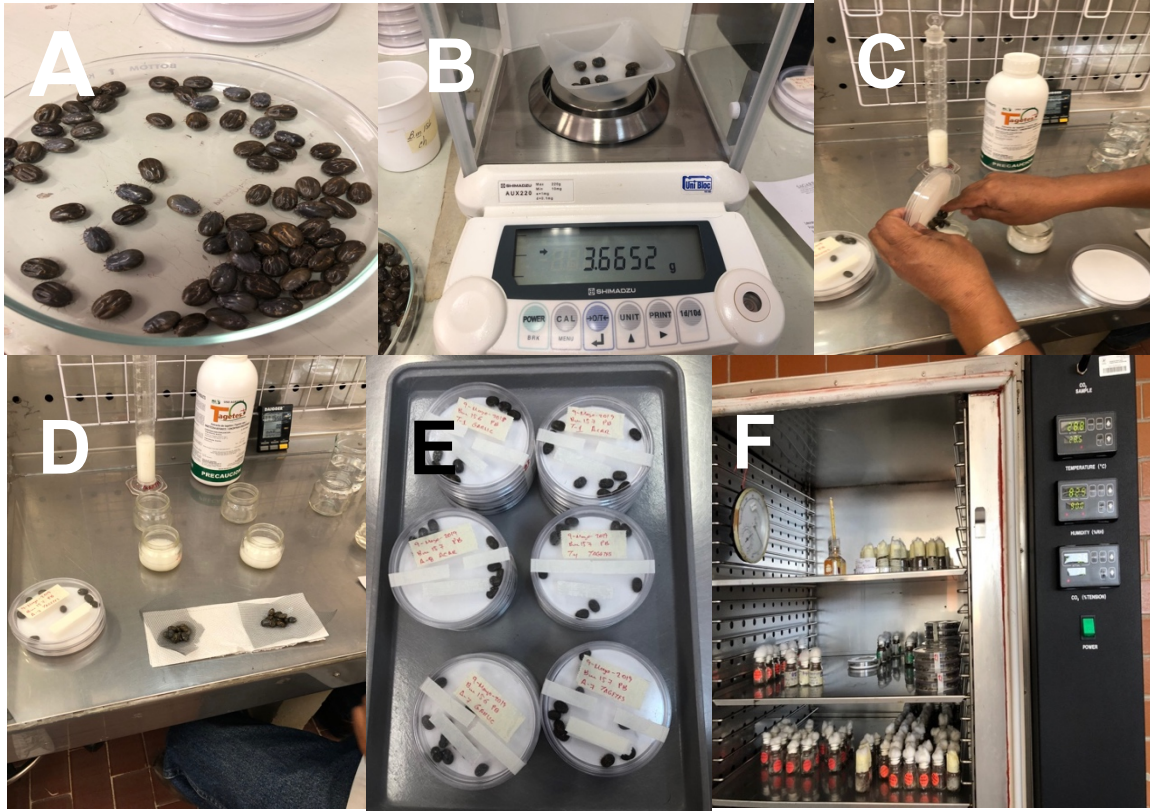


Figura 5. Exposición a extractos botánicos e incubación de hembras adultas repletas de *R. microplus* **A** y **B** Homogeneización de peso de hembras repletas. **C** Exposición a extractos botánicos. **D** Retirarel exceso de humedad. **E** y **F** Incubación de hembras repletas tratadas.

5.4 Evaluación del efecto ixodicida de extractos de ajo, canela y cempasúchil sobre la eclosión de huevos en garrapatas adultas de *R. microplus* posterior a la técnica de inmersión de Drummond.

El día 11 posterior al inicio de la oviposición se pesaron los huevos, de los cuales se colocó 1 g en viales debidamente identificados y tapados con algodón, se colocaron en la incubadora durante 26 días, esperando al término de la eclosión de las larvas. Una vez eclosionadas las larvas al día 26, se eliminaron por medio de calor (45 °C) durante 48 horas y se estableció el porcentaje de eclosión por medio de conteo en cuadrante de 3x3 (Fig.6).

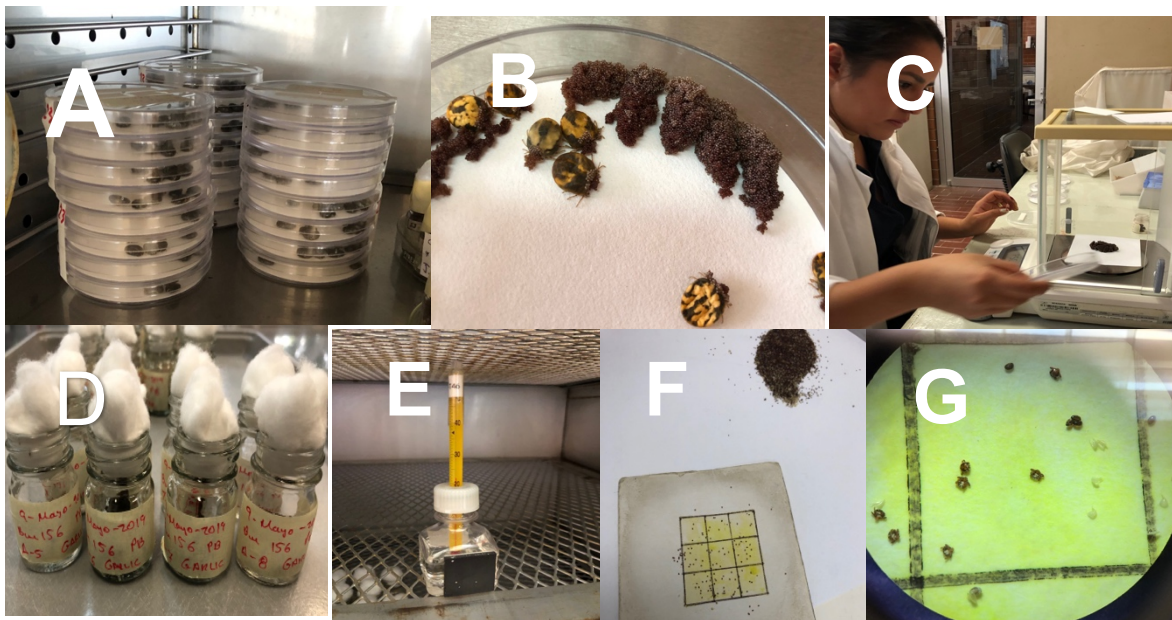


Figura 6. Determinación de porcentaje de eclosión de larvas de *R. microplus*. **A** y **B** Hembras ovipositando. **C** Pesaje de 1 g de huevos. **D** Viales con 1 g de huevos. **E** Incubación de huevos. **F** Sacrificio de huevos. **G** Conteo de huevos y cascarones.

5.5 Determinación del daño morfológico en larvas expuestas al extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía estereoscópica.

Para identificar un posible daño morfológico en larvas generado por la exposición al extracto, fueron tomadas larvas post tratamiento con extracto de canela a las siguientes concentraciones: 1.5%, 3.0% y 6%. Posteriormente fueron analizadas mediante microscopía estereoscópica (Microscopio marca Leica) en el departamento de Helmintos de CENID-SAI, INIFAP (Fig. 7).

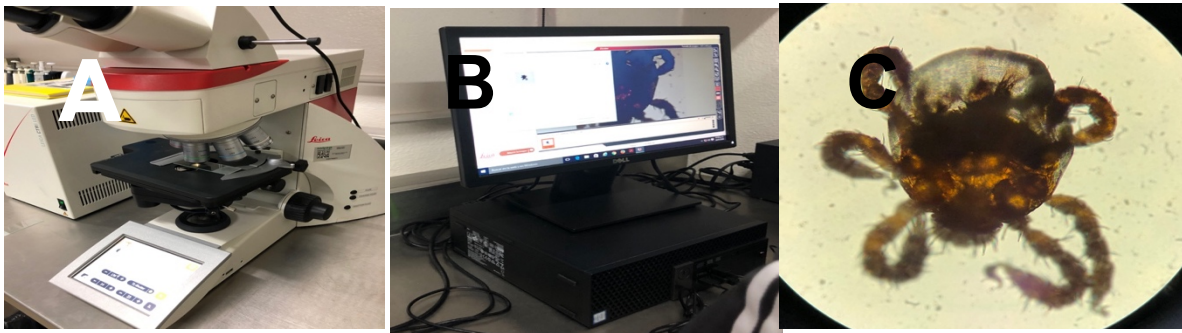


Figura 7. Determinación de daño morfológico en larvas. A Microscopio estereoscópico. **B** Equipo de cómputo. **C** Larva control, lente 40x.

5.6 Diseño del análisis estadístico

La mortalidad larval se calculó a través de la fórmula de Santamaría y Soberanes⁸⁶, para el cálculo de la eficacia se utilizó la fórmula reportada por Álvarez⁸⁷. La eficiencia reproductiva (ER) y el porcentaje de reducción de la reproducción estimada (PRRE) se obtuvieron por medio de la ecuación reportada por Rodríguez-Vivas⁸⁸.

Los parámetros de eficiencia reproductiva y eficacia del garrapaticida se calcularon de la siguiente manera

% Eclosión : $\frac{\text{No. total de huevos y cascarones}}{\text{No. cascarones}} \times 100\%$

Eficiencia reproductiva (ER) (%)

$$ER = \frac{(\text{Peso huevos})(20\ 000) (\text{Eclosión } \%)}{\text{Peso Teleogina}}$$

Eficacia del garrapaticida (EC) (%)

$$EG = \frac{ER \text{ Control} - ER \text{ Tratado}}{ER \text{ Control}} \times 100$$

El parámetro de mortalidad se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{(\text{Larvas muertas}) (100)}{\text{Larvas totales}}$$

Se realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) para determinar la prueba estadística a utilizar para la comparación entre los grupos. Según estos resultados se decidió utilizar la prueba de Kruskal-Wallis para este fin⁸⁹.

Para el análisis estadístico se utilizaron únicamente los datos del extracto de canela, ya que fue el único extracto con resultados favorables y se agregaron las observaciones de las tres repeticiones según los diferentes grupos de concentración, de modo que se obtuvieron 6 grupos con 9 observaciones cada uno. Con estadística descriptiva se exploraron las medidas de tendencia central y de dispersión de la variable mortalidad.

6. RESULTADOS

6.1 Efecto de los extractos botánicos sobre la mortalidad de larvas.

6.1.1 Porcentaje de mortalidad de larvas.

Por el método probit se obtuvieron 5 diluciones del extracto comercial de cada planta (ajo, canela y cempasúchil), a diferentes concentraciones. En los tratamientos evaluados se observó el mismo comportamiento entre el grupo tratado y su control.

Los resultados para el primer ensayo de eficacia de los diferentes extractos vegetales y sus diluciones, sobre la mortalidad de larvas de *R. microplus* se observan en la **tabla 10**.

Tabla 10. Mortalidad de larvas con extractos de ajo, canela y cempasúchil. Primer ensayo.

	Ajo	Canela	Cempasúchil
Concentración del extracto	Porcentaje de mortalidad (%)		
6%	0	100	0
3%	0	97.86	0
1.5%	0	64.23	0
0.75%	0	0	0
0.375%	0	0	0
Testigo	0	0	0

Una vez obtenidos los resultados de mortalidad para el primer ensayo, se realizó un segundo ensayo en donde las concentraciones se aumentaron de acuerdo con el factor de dilución de 0.5. En donde las concentraciones para las diluciones fueron

diferentes para el extracto de canela (**Tabla 11**) y los extractos de ajo y cempasúchil (**Tabla 12**), arrojando los siguientes resultados.

Tabla 11. Mortalidad de larvas con extracto de canela. Segundo ensayo.

Concentración del extracto	Porcentaje de mortalidad (%)
Testigo	0
96%	100
48%	100
24%	100
12%	100
6%	100

Tabla 12. Mortalidad de larvas con extractos de ajo y cempasúchil. Segundo ensayo.

	Ajo	Cempasúchil
Concentración del extracto.	Porcentaje de mortalidad (%)	
Testigo	0	0
96%	0	0
48%	0	0
24%	0	0
12%	0	0
6%	0	0

Con estadística descriptiva se exploraron las medidas de tendencia central y de dispersión de la variable mortalidad. Los resultados se muestran en la **Tabla 13**.

Tabla 13. Medidas de tendencia central y de dispersión de la variable mortalidad

Grupo	Concentración	n	Media	Mediana	DE	RIQ	Mín	Máx
A	6%	9	100	100	0	0	100	100
B	3%	9	97.86	100	3.45	2.30	89.60	100
C	1.5%	9	64.23	66.37	5.36	6.60	54	71.40
D	0.75%	9	0	0	0	0	0	0
E	0.375%	9	0	0	0	0	0	0
T	0%	9	0	0	0	0	0	0

p=0.0001

El grupo A (concentración al 6%) es un grupo homogéneo, con una media, mediana, valor mínimo y máximo de 100%. El grupo B (concentración al 3%) tuvo una media de 97.86%, una mediana de 100%, una desviación estándar de 3,45%, un rango intercuartil (RIQ) de 2.3%, un valor mínimo de 89.6% y un valor máximo de 100%. El grupo C (concentración al 1.5%) tuvo una media de 64.34%, una mediana de 66.37%, una desviación estándar y un RIQ de 5.36% y 6.6% respectivamente, así como un valor mínimo de 54% y un valor máximo de 71.4%. Los grupos D, E y T (concentraciones al 0.75%, 0.375% y 0% respectivamente) no mostraron variabilidad alguna, siendo todos sus valores igual al 0% de mortalidad.

El valor-P de 0.0001 (**Tabla 13**) fue estadísticamente significativo con lo que se concluye que al menos uno de los grupos es diferente a los demás, en este caso, se trata de los grupos B y C. El grupo A se considera estadísticamente igual al grupo B. Los grupos D, E y T se consideran estadísticamente iguales entre sí. En ese tenor

se infiere que desde el punto de vista estadístico los seis grupos se resumen en tres: Grupo 1 (grupos A y B), Grupo 2 (grupo C) y Grupo 3 (grupos D, E y T). Finalmente se realizó una gráfica de dispersión para visualizar la relación entre la mortalidad y concentración según los 6 grupos (**Figura 8**).

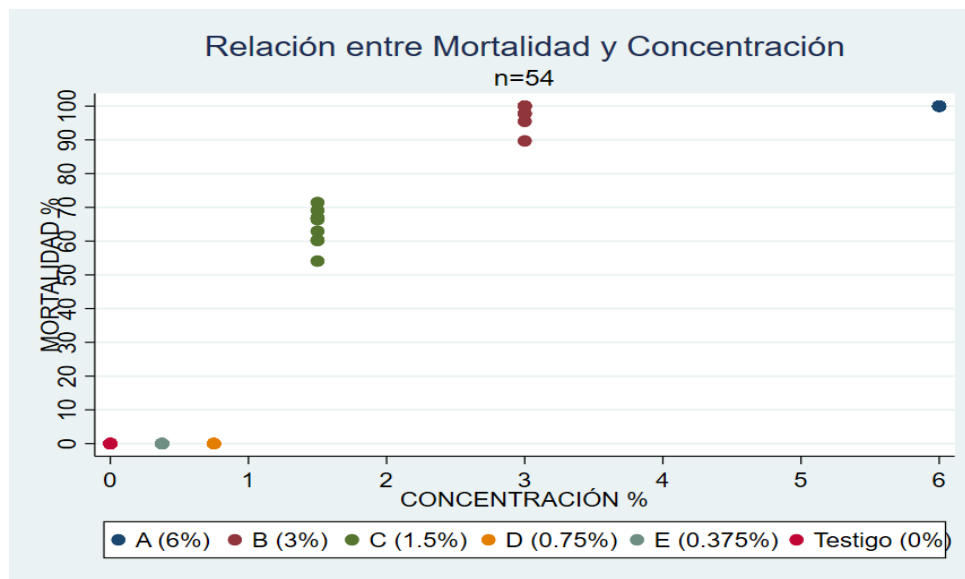


Figura 8 Gráfica de dispersión. Relación entre la mortalidad y concentración de 6 grupos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el extracto de canela resultó ser eficaz sobre larvas, en pruebas realizadas hasta la dilución 1.5% mostrando una mortalidad de 64.23%, la concentración de 3% mostró una mortalidad de 97.86% y la de 6% un 100% de mortalidad. Por el contrario, en los resultados de los extractos de ajo y cempasúchil del primer y segundo ensayo, son negativos con una mortalidad de 0%.

Efecto de extractos botánicos sobre la oviposición y eclosión de garrapatas adultas *R. microplus*.

Los resultados para inhibición de la oviposición, nos indican que no hubo diferencia para ningún extracto.

La **Tabla 14**, nos muestra el resultado de la inhibición de la oviposición para el extracto de ajo, el cual en promedio nos dio una inhibición de 1.92 %, lo cual no es representativo.

Tabla 14. Resultados de % de inhibición de oviposición y control de *R. microplus*, con extracto de ajo.

LOTE Testigo (T)/ Tratado (A)	Peso garrapatas	Peso huevos	Porcentaje de inhibición de oviposición (%)	% control (Eficacia garrapaticida)
T 1	3.5575	2.1622	0	
T 2	3.5378	2.0028	0	
T 3	3.5690	2.1829	0	
T 4	3.5391	1.9139	0	
Σ	14.2034	8.2618	0	
X	3.5508	2.0655	0	
A 1	3.5488	2.1024	2.52	
A2	3.5354	2.0403	0	
A3	3.5364	2.0505	5.15	
A4	3.5695	2.1021	0	
Σ	14.1901	8.2953	7.67	
X	3.5475	2.0738	1.92	9.21

En la **Tabla 15**, se observan los resultados obtenidos sobre la inhibición de la oviposición con el extracto de canela, lo cual mostró un porcentaje de 3.46%, estos resultados nos permiten observar mayor inhibición a comparación con el extracto de ajo.

Tabla 15. Resultados de % inhibición de oviposición y control de *R. microplus*, con extracto de canela.

LOTE	Peso garrapatas	Peso huevos	Porcentaje de inhibición de oviposición (%)	% control (Eficacia garrapaticida)
Testigo (T)/ Tratado (A)				
T 1	3.6782	2.1810	0	
T 2	3.6652	2.0934	0	
T 3	3.6850	2.1385	0	
T 4	3.6783	2.0679	0	
Σ	14.9900	8.4808	0	
X	3.7475	2.1202	0	
A 1	3.6803	2.1336	3.07	
A2	3.6726	2.1744	0	
A3	3.6965	1.9602	7.72	
A4	3.6740	1.9262	0	
Σ	15.0028	8.1944	10.79	
X	3.7507	2.0486	3.46	9.6

En la tabla siguiente, se encuentran los datos de inhibición de oviposición con el extracto de cempasúchil que mostró en promedio un resultado del 1.8%, por lo tanto, tampoco se puede considerar un resultado positivo.

Tabla 16. Resultados de % de inhibición de la oviposición y control de *R. microplus*, con extracto de cempasúchil.

LOTE	Peso garrapatas	Peso huevos	Porcentaje de inhibición de oviposición (%)	% control (Eficacia garrapaticida)
Testigo (T)/ Tratado (A)				
T 1	3.6782	2.1810	0	
T 2	3.6652	2.0934	0	
T 3	3.6850	2.1385	0	
T 4	3.6783	2.0679	0	
Σ	14.9900	8.4808	0	
X	3.7475	2.1202	0	
A 1	3.6803	2.1336	2.01	
A2	3.6726	2.1744	0	
A3	3.6965	1.9602	5.22	
A4	3.6740	1.9262	0	
Σ	15.0028	8.1944	7.23	
X	3.7507	2.0486	1.80	0

6.2 Determinación del daño morfológico en larvas expuestas al extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía estereoscópica.

Observamos el daño morfológico de las larvas después del tratamiento con extracto de canela, en el cual notamos que conforme la concentración aumenta, el daño es más evidente, ya que éstas mostraron reducción en su tamaño y alteración en su color **Fig. 9**.

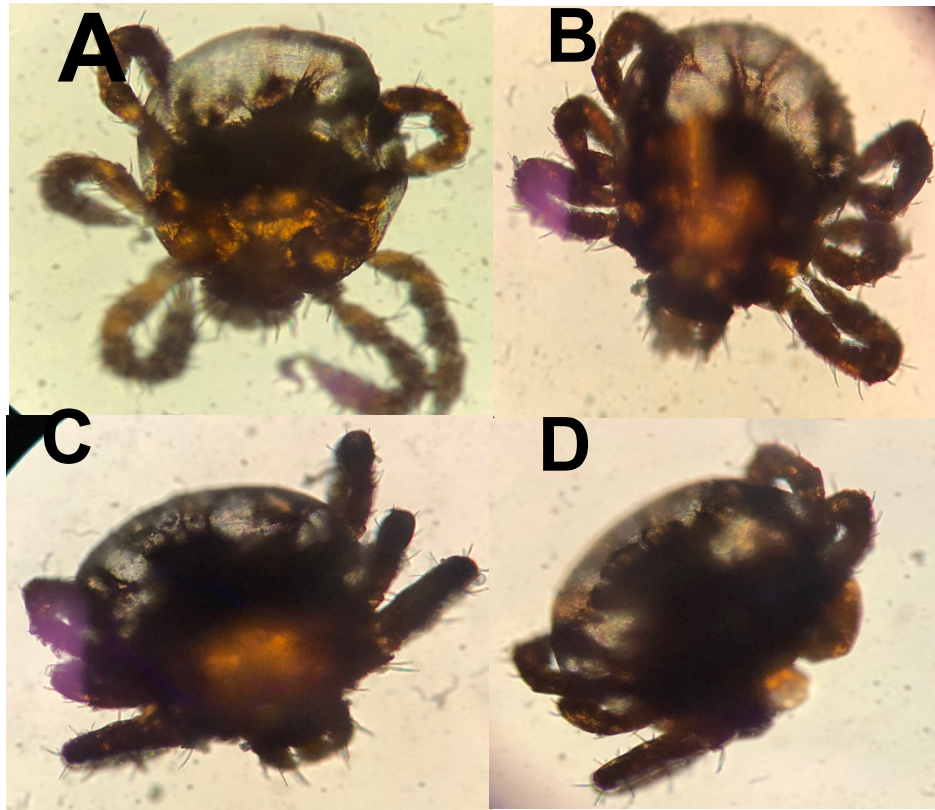


Figura 9. Resultados de determinación de daño morfológico en larvas de *R. microplus*. **A** Larva testigo. **B** Larva tratada con extracto de canela a una concentración de 1.5%. **C** Larva tratada con extracto de canela a concentración de 3% **D** Larva tratada con extracto de canela a concentración de 6%.

7. DISCUSIÓN

A partir de los hallazgos encontrados, aceptamos de manera parcial la hipótesis general, que establece que “El uso de extractos botánicos de ajo, canela y cempasúchil presenta un efecto ixodicida ante el desarrollo de *R. microplus*”, en este caso, obtuvimos que, si existe actividad ixodicida únicamente para el extracto de canela, en una etapa del ciclo biológico de la garrapata *R. microplus*.

En el caso de los extractos de ajo, Álvarez y Loaiza mencionan que el ajo tiene una potente actividad antihelmíntica contra larvas de *R. microplus*, sin embargo esta actividad no se presenta de la misma manera en adultas repletas, esto debido a que ellos elaboraron los extractos hidroalcohólicos y fraccionaron sus partes polares y no polares, en este estudio se utilizó un extracto comercial del cual no sabemos cómo fue su extracción y que además es oleoso, es decir que el excipiente es en forma de aceite.

Andreotii realizó un estudio en donde evaluaron la acción antihelmíntica del extracto de cempasúchil en distintas variedades, concluyendo que este aceite esencial mostró una eficacia del 99.98% en comparación con su grupo testigo cuando se usó a una concentración del 20%, en relación a estos resultados, se podría considerar en futuras investigaciones, realizar una separación de los compuestos del extracto comercial de ajo para poder mejorar el producto.

Los resultados de nuestro estudio en cuanto al aceite de canela, guardan relación con lo que sostiene Nogueira-Monteiro et al. (2017) quien evalúa el extracto de canela en larvas y realiza pruebas de inmersión de adultas repletas obteniendo resultados favorables para la mortalidad de larvas, sin embargo tampoco presentó actividad ixodocida en adultas repletas, en este trabajo los autores podrían haber encontrado como componentes principales causantes de la actividad antihelmíntica al benzoato de bencilo y al eugenol que es tres veces más eficiente que el primero. Cabe mencionar que, en el presente estudio, una de las limitantes que se presentaron fue que no se destiló ni realizó ninguna cromatografía para separar los componentes del extracto, por lo tanto no es posible asegurar cuál es el compuesto que presentó actividad exodocida en contra de las larvas de *R. microplus*.

La ventaja con el extracto de canela es que, además de ser una alternativa complementaria interesante a ser evaluada, también es biodegradable en la naturaleza y por lo tanto no debe contaminar el medio ambiente, sugiriendo realizar futuros estudios *in vivo* utilizando el extracto de canela dentro de un programa integrado de control como medida para reducir el surgimiento de cepas resistentes de garrapatas a los fármacos utilizados tradicionalmente.

8. CONCLUSIÓN.

En la evaluación el efecto de extractos botánicos sobre la mortalidad de larvas de *R (B) microplus*, obtuvimos resultados únicamente con el extracto de canela (100% de mortalidad), el valor-P de 0.0001 fue estadísticamente significativo con lo que se concluye que al menos uno de los grupos es diferente a los demás, en este caso, se trata de los grupos B y C. Siendo que los extractos de ajo y cempasúchil no tuvieron efectividad.

No encontramos efectividad en la inhibición de la oviposición en hembras repletas de garrapatas *R (B) microplus*, expuestas a extractos botánicos comerciales de ajo, canela y cempasúchil.

Los resultados para la determinación del porcentaje de eclosión de huevos de garrapatas *R (B) microplus*, tratadas con los extractos botánicos comerciales de ajo, canela y cempasúchil fueron que no hubo efectividad de ninguno de ellos.

En la determinación de daños morfológicos en larvas expuestas a extracto botánico comercial de canela, mediante microscopía estereoscópica, encontramos que efectivamente hay un daño a nivel morfológico provocado por el extracto de canela.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ritchie CIA. LA COMIDA Y LA CIVILIZACIÓN. Madrid: Alianza editorial, 1897; 7-125.
2. Boza JJ, Jiménez J, Espinosa C, Boza J. IMPORTANCIA DE LOS ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL EN LA DIETA HUMANA. España: Anales de RACVAO, 1992;105-122.
3. Aguilera, JF. PRESENTE Y FUTURO DE LA PRODUCCIÓN ANIMAL EN UN MUNDO CON LIMITACIONES EN RECURSOS ALIMENTICIOS: Anales de la Academia de Ciencias veterinarias de Andalucía Oriental, 1989; 52-63.
4. Luna Orta , A. PROTEÍNA ANIMAL. LA IMPORTANCIA DE SU CONSUMO; 2017. Recuperado el 21 de Marzo de 2020, de Código F : <https://codigof.mx>
5. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. NUTRICIÓN HUMANA EN EL MUNDO EN DESARROLLO. Roma, 2002.
6. Bourges H. NUTRICIÓN Y ALIMENTOS: SU PROBLEMÁTICA EN MÉXICO. México: Compañía editorial Continental, 1982.
7. Castillo JL. CARNE Y SUS DERIVADOS. Revisiones de la ciencia: Tecnología e ingeniería de los alimentos. 2006; 6 (2).
8. Agudelo Gómez DA, Bedoya Mejia O. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA LECHE DE GANADO VACUNO. Rev Las Inv. 2005; 2 (1).
9. Pineda Portugal MM. IMPORTANCIA DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS [ingeniero]. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.

10. Sanz TP. LAS PROTEÍNAS. *Vive sano*; 2010, 2 (3).
11. Pineda Portugal MM. IMPORTANCIA DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS [ingeniero]. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.
12. Sheen R. S, Riesco D. A. FACTORES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO EN TRÓPICO HÚMEDO (PUCALLPA). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2013;13(1).
13. Carcinogenicidad del consumo de carne roja y carne procesada. Organización Mundial de la Salud; 2015.
<https://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/es/>
14. Cruz J. La OMS relaciona el consumo de carnes rojas y carnes procesadas con el cáncer. *Eurocarne*; 2015, 230.
15. Berges M, Liseras N, Casellas K, Guerrero I. RIESGOS PERCIBIDOS EN EL CONSUMO DE CARNE VACUNA Y DISPOSICIÓN A PAGAR POR CARNICERÍAS MÁS SALUDABLES; 2016.
16. Vargas, H. MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS PARA UNA GANADERÍA BOVINA SOSTENIBLE EN GUATEMALA. Guatemala. Departamento de Estado de los Estados Unidos, Programa Centroamérica Resiliente (ResCA), The Nature Conservancy. 2019.
17. Fernández I. PANORAMA AGROALIMENTARIO DE CARNE DE BOVINO. Dirección de investigación y evaluación económica y sectorial agricultura; 2017.

18. Basurto Hernández S., Escalante Semerena R., IMPACTO DE LA CRISIS EN EL SECTOR AGROPECUARIO EN MÉXICO. Economía UNAM; 2012 (9).
19. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. MÉXICO SE PREPARA ANTE CRECIENTE DEMANDA MUNDIAL DE PROTEÍNA ANIMAL: SAGARPA. Cancún Q.R; 2017.
20. Vargas, H. MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS PARA UNA GANADERÍA BOVINA SOSTENIBLE EN GUATEMALA. Guatemala. Departamento de Estado de los Estados Unidos, Programa Centroamérica Resiliente (ResCA), The Nature Conservancy. 2019.
21. Ballina- Bencomo. MANEJO SANITARIO EFICIENTE DEL GANADO BOVINO. INSTITUTO NICARANGÜENSE DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA), Nicaragua; 2010.
22. Guía de uso responsable de medicamentos veterinarios en bovinos / Ministerio de Agricultura y Ganadería, Servicio Nacional de Salud Animal, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. – San José, C.R.: MAG: SENASA: IICA, 2018.
23. Dildo M. RESIDUOS QUÍMICOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL EN LA DIETA HUMANA, México; 2008.
24. Rodríguez-Vivas RI, Rosado-Aguilar JA, Ojeda-Chi MM, Pérez-Cogollo LC, Trinidad-Martínez I, Bolio-González ME. CONTROL INTEGRADO DE GARRAPATAS EN LA GANADERÍA BOVINA. Ecosistemas Recur Agropecu. 2014;1(3):295–308.

25. Rodríguez- Vivas RI, Ojeda Chi M, Rosado Aguilar A. CONTROL INTEGRADO DE GARRAPATAS EN YUCATÁN. *Nuestro Agro*. 2015; 5 (1): 65-86.
26. Flores Vazquez A, Mencho Ponce JD, Guerra Llorens Y. PREFERENCIA Y EFECTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA EN RELACIÓN CON FENÓMENOS DE RESISTENCIA. *Rev vet*; 2006, 7(9).
27. Polanco-Echeverry DN, Ríos-Osorio LA. ASPECTOS BIOLÓGICOS Y ECOLÓGICOS DE LAS GARRAPATAS DURAS. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*. 2016 (1):81-95.
28. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Garrapata común del ganado bovino [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*] (biotecnología, importancia sanitaria, control, resistencia a los antiparasitarios). Santa Fe, Argentina; 2015.
29. Guerrero D. GARRAPATA DEL GANADO DEL SUR. *The center for food security and public health*; 2017.
30. Perez Leon JM. EFECTO DE DIFERENTES MEDIOS BIOLÓGICOS EN EL CONTROL DE GARRAPATAS DE BOVINOS; 2017.
31. Rodriguez Molano C.E, Pulido Juarez N.J. EFICACIA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE LA GARRAPATA ADULTA *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Y SU OVIPOSICIÓN. *Rev Cubana Plant Med*; 2015. 20 (4).
32. Cardozo, H. Franchi, M. Garrapata, EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE *Boophilus microplus*: ENFERMEDADES PARASITARIAS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN BOVINOS. *Hemisferio sur*; 1995 (402).

33. Rodríguez-Vivas R, Arieta-Román R, Pérez-Cogollo L, Rosado-Aguilar J, Ramírez-Cruz G, Basto-Estrella G. USO DE LACTONAS MACROCÍCLICAS PARA EL CONTROL DE LA GARRAPATA *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* EN EL GANADO BOVINO. *Archivos de medicina veterinaria*. 2010;42(3).
34. Guerra A., Valdez Rodriguez M., Mendez Mellor L. CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA DE REFERENCIA DE LA GARRAPATA *B. microplus* PARA EVALUACIÓN DE EFECTIVIDAD Y RESISTENCIA DE GARRAPATICIDAS EN CUBA. *Biotecnología*; 2015 1(8).
35. Encinas A., Oleada a., Pérez R. GARRAPATAS DURAS. *Parasitología veterinaria*;1999, 420-429.
36. Parra MH, Pelaez SL, Segura CF, Arcos JC, Londoño A, Diaz E, Venegas MA. MANEJO INTEGRADO DE GARRAPATAS EN BOVINOS. Serie modular para la capacitación en tecnologías agropecuarias; 2012 (2) 72-77.
37. Nari A. RESISTANCE TO ECTO AND ENDOPARASITES. A challenge for the XXI century. *Seminario Internacional de Parasitología Animal*. Mérida, Yucatán; 2003.
38. Perez Leon JM. Efecto de diferentes medios biológicos en el control de las garrapatas de bovinos [Maestría]. MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PASTOS Y FORRAJES; 2007.
39. Sirikantha A, Spring K, Tellan R, Willadsen P. CLONING AND EXPRESSION OF A PROTECTIVE ANTIGEN FROM CATTLE TICK

- Boophilus microplus*. [Proc Natl Acad Sci U S A](#). 1989 Dec; 86(24): 9657–9661.
40. Willadsen P. ISOLATION FROM THE CATTLE TICK CONTROL. *Parasitology today*; 2010 (4) 196.
 41. Perez Leon J. EFECTO DE DIFERENTES MEDIOS BIOLÓGICOS EN EL CONTROL DE LAS GARRAPATAS DE BOVINOS [Maestria]. Ministerio de educacion superior estacion experimental de pastos y forrajes; 2007.
 42. Hors S. ECTOPARASITE OF ANIMALS AND THEIR IMPACT OF ECONOMY OF SOUTH AMERICA. *23rd World Veterinary Congress*. Montreal, Canadá; 1987.
 43. Soto G A. MANEJO ALTERNATIVO DE ÁCAROS PLAGAS. *Revista de ciencias agrícolas*. 2013;30(2):34- 44.
 44. Bannet S. LUCHA CONTRA LAS GARRAPATAS DEL GANADO. *Estudios Agropecuarios*; 1961 (5).
 45. Maldonado Tapia I. CONTROL INTEGRAL DE LA GARRAPATA *Boophilus microplus* EN COYUCA DE BENÍTEZ, GUERRERO. *Tlamati Sabiduría*. 2017;8(2).
 46. Santamaria VM. Soberanes CN. Curso- Taller sobre diagnóstico de resistencia a ixodicidas en garrapatas *Boophilus microplus*, Jiutepec, Morelos; 2001, 1-121.
 47. Parra MH, Pelaez SL, Segura CF, Arcos JC, Londoño A, Diaz E, Venegas MA. MANEJO INTEGRADO DE GARRAPATAS EN BOVINOS. *Serie modular para la capacitación en tecnologías agropecuarias*; 2012 (2) 72-77.

48. Nápoles V. D, Sebasco R. K, Colas C. M, López S. W, Meireles R. T. EFICACIA *in vitro* DE *Morinda citrifolia* L PARA EL CONTROL DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2017;27(4):833.
49. Sievers AA. DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA FRENTE A IVERMECTINA DE NEMÁTODOS DEL BOVINO EN DOS PREDIOS DEL SUR DE CHILE. Med Vet; 2007, 39 (1).
50. Alonso- Díaz MA, Rodriguez Vivas RI, Fragoso- Sanchez H, Rosario- Cruz R. RESISTENCIA DE LA GARRAPATA *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch de med vet; 2006, 38 (12).
51. Kourí P. USO CORRECTO DE INSECTICIDAS: CONTROL DE LA RESISTENCIA. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2002;54(3).
52. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Resistencia a los garrapaticidas. México; 2020.
53. Lozano MC. RESIDUOS DE FÁRMACOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL. *Revista Colombiana de Ciencia Pecuaria*; 2008, 21(5).
54. Servicio Nacional de Salud Animal. GUIA DE USO RESPONSABLE DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN BOVINOS. San José Costarica; 2018.
55. Lara D. RESIDUOS QUÍMICOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL: PROBLEMAS Y DESAFÍOS PARA LA INOCUIDAD ALIMENTARIA EN COLOMBIA. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 2008;9(1):124.

56. Lozano MC. RESIDUOS DE FÁRMACOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL. *Revista Colombiana de Ciencia Pecuaria*; 2008, 21(5).
57. Martínez- Valenzuela C, Gomez- Arrollo S. RIESGO GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS. *Rev Int de Cont Amb*; 2007, 23(4).
58. Bassil KL. CANCER HEALTH EFFECTS OF PESTICIDES. *Family Physicians of Canada*; 2007, 10(53), 1704-1722.
59. Arispe I. INOCUIDAD Y CALIDAD: REQUISITOS INDISPENSABLES PARA LA PROTECCIÓN DE LA SALUD DE LOS CONSUMIDORES. *Agroalimentaria*. 2007;12(24).
60. Dominguez García DI, Torres Agaton F, Rosario Cruz R. EVALUACIÓN ECONÓMICA DEL CONTROL DE GARRAPATAS *Rhipicephalus microplus* EN MÉXICO. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*; 2016.
61. Andreotti R., Valerio- Garcia M., Casquero- Cunha R., Cavalcante- Barros J. PROTECTIVE ACTION OF *tagetes minuta* (Asteraceae) ESSENTIAL OIL IN THE CONTROL OF *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) IN A CATLLE PEN TRIAL. *Veterinary Parasitology*; 2013, 197.
62. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Buenas prácticas para la industria de la carne. Roma, 2007, p13.
63. Servicio de Gestión, Comercialización y finanzas agrícolas. Calidad e inocuidad en las cadenas latinoamericanas de comercialización de alimentos. Roma;2006, p25.

64. Comisión federal para la protección contra riesgos sanitarios. Riesgo en Alimentos de Origen Animal: Evaluación de riesgos en Rastros y Mataderos Municipales, México; 2017.
65. Fernandes E. Freitas E, ACARICIDAL ACTIVITY OF AN OLEORESINOUS EXTRACT FROM *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) AGAINST LARVAE OF THE SOUTHERN CATTLE TICK, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasit*; 2007. 147, 150- 154.
66. Soto, A. MANEJO ALTERNATIVO DE PLAGAS DE ÁCAROS. Revista de ciencias agrícolas; 2013, 2(30).
67. Martins RM. González FH. USO DEL ACEITE DE CITRONELA DE JAVA (*Cymbopogon winterianus* Jowit)(Panicoidideae) COMO ACARICIDA FRENTE A LA GARRAPATA *Boophilus microplus canestrini* (Acari: Ixodidae). *Rev Bra Plant Med* (9):1-8.
68. Mora Ramos JA, EFICACIA IN VITRO DE EXTRACTO DE *Phytolacca bogotensis* K y *Alnus acuminata* K EN EL CONTROL IN VIVO DE LA GARRAPATA ADULTA *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* [Medico veterinario zootecnista]. Universidad pedagógica y Tecnológica de Colombia; 2016.
69. López- Luengo MT. El ajo: PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS E INDICACIONES TERAPÉUTICAS. *Offarm*; 2007 (26)78-81.
70. Martinez-Velazquez M, Rosario-Cruz R, Castillo-Herrera G, Flores-Fernandez J, Alvarez A, Lugo-Cervantes E. ACARICIDAL EFFECT OF ESSENTIAL OILS From *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae),

Rosmarinus officinalis (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) AGAINST *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae).
Journal of Medical Entomology. 2011;48(4):822-827.

71. Jean-Pierre N. MANUAL DE PLANTAS MEDICINALES DEL ALTIPLANO DE GUATEMALA PARA EL USO FAMILIAR; 2013 p200.
72. Huerta- Ramírez A. EXTRACTO DE CANELA: INSECTICIDA Y ACARICIDA. Bio-can;2018.
73. Vega Chavez JL. COMPATIBILIDAD DE DIFERENTES INSECTICIDAS SOBRE TAMARIXIA TRIOZAE (*Hymenoptera: Eulophidae*) y *Bactericera cockerelli* (*Hemiptera Triozidae*). Biology, 2017; 3.
74. Valenzuela- Landero N, Nieto Angel D, Teloz Ortiz D. POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS DE CUATRO ESPECIES VEGETALES SOBRE EL CRECIMIENTO DE *colletotrichum gloesporoides* en *papaya* (*carica papaya*) EN POSCOSECHA. Rev Ven Cien y Tec Alim, 2013; 4(1) 047-062.
75. Ortega-Cala L, Monroy Ortiz C, Monroy Martínez R. PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS PARA ENFERMEDADES EN EL SISTEMA DIGESTIVO DE TETELA DEL VOLCÁN, ESTADOS DE MORELOS, MÉXICO. Boletín Latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas; 2019 (2)106-129.
76. Cenxonxochitl. LA FLOR DE MUERTOS CONTRA EL MICROMUNDO.
<https://www.feriadelasciencias.unam.mx>

77. Andreotti R., Valerio- Garcia M., Casquero- Cunha R., Cavalcante- Barros J. PROTECTIVE ACTION OF *tagetes minuta* (Asteraceae) ESSENTIAL OIL IN THE CONTROL OF *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) IN A CATTLE PEN TRIAL. *Veterinary Parasitology*; 2013, 197.
78. Fonseca, A. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. *A hora veterinaria*, 1(135), 15-23.
79. Rodriguez-Molano CE, Pulido Suárez NJ. EFICACIA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE LA GARRAPATA ADULTA *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Y SU OVIPOSICIÓN. *Rev Cubana Plant Med*; 2015, 4 (20).
80. EDAFON. (s.f.). *Fundación agroecológica. Plantas para el control de ectoparásitos*. . Recuperado el 29 de abril de 2014, de Fundación agroecológica. Plantas para el control de ectoparásitos. <http://www.controlbiologico.com/index.htm>.
81. Chungsamarnyart, N, Jiwajinda, S. PRACTICAL EXTRACTION OF SUGAR APPLE SEEDS AGAINST TROPICAL CATTLE TICKS. *Kasetsart Journal*, 25, 101- 105.
82. (Larvas) Dirección General de Salud Animal. Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. PROCEDIMIENTOS DE TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE SUSCEPTIBILIDAD A ACARICIDAS EN LARVAS Y ADULTAS DE LA GARRAPATA BOOPHILUS MICROPLUS. Morelos; 2009.
83. Olvera- Valencia FA. ESTADO Y EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA EN LA GARRAPATA *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* A IXODICIDAS, DOS

MUNICIPIOS DEL ESTADO DE TAMAULIPAS [Maestría]. Universidad Autónoma del México; 2011 pp21-24.

84. (Larvas) Dirección General de Salud Animal. Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. PROCEDIMIENTOS DE TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE SUSCEPTIBILIDAD A ACARICIDAS EN LARVAS Y ADULTAS DE LA GARRAPATA *BOOPHILUS MICROPLUS*. Morelos; 2009.
85. Drummond R, Ernest S, Trevino S, Gladney W, Graham O. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. J Econ Entomol; 1973 (66) 130-133.
86. Santamaria VM. Soberanes CN. Curso- TALLER SOBRE DIAGNÓSTICO DE RESISTENCIA A IXODICIDAS EN GARRAPATAS *Boophilus microplus*, Jiutepec, Morelos; 2001, 1-121.
87. Alvarez-Colom O, Neske A, Popich S, Bardon A. TOXIC EFFECTS OF *Annonaceous Acetogenins* FROM *Annona cherimolia* (*Magnoliales: Annonaceae*) on *Spodoptera frugiperda* (*Lepidoptera: Noctuidae*). Journal of Pesticides Science 2007; (80) 63-67.
88. Rodriguez-Vivas RI. *Técnicas diagnósticas en parasitología veterinaria*. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán; 2005.
89. Flores- Muñoz P, Muñoz Escobar L, Sánchez Acalo T. ESTUDIO DE POTENCIA DE PRUEBAS DE NORMALIDAD USANDO DISTRIBUCIONES DESCONOCIDAS CON DISTINTOS NIVELES DE NO NORMALIDAD. Perfiles, 2019; 1(21).

Referencias de las técnicas utilizadas en laboratorio:

Dosis Discriminante. Técnica de Inmersión de hembras Adultas (AIT) (CENAPA-PDF-404G)

Reporte Técnico (CENAPA-PDF-403R) (carátula)

Formato de supervisión técnica (CENAPA-PDF-018I)

Registro de uso de balanzas (CENAPA-PDF-406B)

Registro de ingreso y egreso de material biológico a incubadoras (CENAPA-PDF-406C).

10. ANEXOS

Anexo1. Formatos de laboratorio

Bioensayo de concentraciones múltiples en prueba de paquete de larvas.

Cepa: _____ Fecha de tratamiento: _____

Producto: _____ Fecha de lectura: _____

Tiempo de exposición: _____. Hora de lectura: _____

Concentración	Vivas	Muertas	Total	% mort.	X mort

Técnica de inmersión de adultas (Drummond).

Cepa: _____ Fecha de inicio: _____

Producto: _____ Fecha de salida: _____

No. Lote	Concentración	Peso por lote	Peso de huevos	% I.O	% Eclosión	R.E	% Control

Anexo1. Formatos de laboratorio

Porcentajes de eclosión

Laboratorio: _____ Cepa: _____

Fecha: _____ Producto: _____ No. Registro: _____

Bovino no.		
Rep.	Piel	
	Cascarones	Huevos
1		
2		
3		
4		
5		
Total		
% Eclosión		

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Perla Iris Miranda Reyes, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022632, y que lleva por título “Evaluación in vitro de extractos botánicos en el control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: una alternativa a la exposición de agentes cancerígenos”, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

Atentamente
Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez
SINODAL Suplente .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

OLLIN CELESTE MARTINEZ RAMIREZ | Fecha:2020-11-27 10:17:54 | Firmante

DDupUtXAI9dIS31LSJ10RFggrMC/jsXOHIDOPMf9GprZz/K5/I1Rr75ogL7/bWsOXCRcmt7QRlnzCUoPdWjtQx4lpd/6A1Hg/sqNcOOjdVdgrYKETvmk43QqImaTETdMHnPu
yn5ImzTm1Ln79+G+H1uiUQpTv2dVbk+KJj0jHRA9t1zY/VY19PCtgDYQX1kb238W/2YfGHn88ONUyIB19/1y3DWNqn/9/SBZzEYVs0oyAhD0S7XE3AxQqp2wLd0YAcGgB
so4+DaW2auWUUh1Pm7ixW19lzP1jXr9hNzWbTGVEeofYdafucvNAZSfeYI0j2Lxh29VYOYmDE3VnxQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[qh62ru](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ZHAIkjmp8SR9LTzIE2iogdOcCy5rbV0j>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

COMISIÓN ACADÉMICA DE
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
DE LA NUTRICIÓN
PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Perla Iris Miranda Reyes, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022632, y que lleva por título “**Evaluación in vitro de extractos botánicos en el control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: una alternativa a la exposición de agentes cancerígenos**”, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dr. Jair Millán Orozco
SINODAL SECRETARIO .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JAIR MILLÁN OROZCO | Fecha:2020-11-29 19:22:51 | Firmante

mbtcEWOzGfOG5u6c5P4erAHqMoD8xk+66fT7zQSYC84EeT2i9U00eRxMkiGC1+AgFrWxkzdJkag5kabkFFLeoNffFCgYcoWcdhYhdy2itCXaeoOLWSCAJsp+7GXQtJ4EnOwFUkgdzBmavZboQVslMrfMa+ouctGNtjQhNsjVzlf+XzePv0d8oDTISatGkicG4gEppsaBr0A0YzDTL2N7w8X7AWJ3Jfjw55YR8msKAq1ALdmrTpjvRGaCvP04y1z3NOK0EQr39jPBngvopKceLi1330gV2J/LSoArUI9imaBtYKr1c+3bNsai0gU0KdcZmaBu8QkrW/My+4YGx4vvQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[cqgrN8](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/PdhaB5ZJVTLkhnjUcgNJ0g1hQPrUGbsK>





MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Perla Iris Miranda Reyes, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022632, y que lleva por título **“Evaluación in vitro de extractos botánicos en el control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: una alternativa a la exposición de agentes cancerígenos”**, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dra.Margarita de Lorena Ramos García
SINODAL Suplente .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARGARITA DE LORENA RAMOS GARCIA | Fecha:2020-11-22 21:26:34 | Firmante

MoeM/ADDPqoNE65TNWWibHHLNqeQfVd/etOyUY1syxkyqZ/ZCdWvdzEzGD6U2lCsQPKfugw6EPjCk7pb4uBR7alh9OhKmsoSloJKxWWPogmVfpHMyUPfXE3/mEyiKfIHJkRQhs/zOyCrkH55fDPbH2jSh5EfWzXtQKcD1ZpiFkdE+frH6pTGkW0vZYgyw6jqibj7cYuw9PIJ076/Kcgit7G3xELXN4PrxCH98ZxuzqJdiHPx1krY+jhptvNOGqsia5wy6PCmpgAUkm4iPBJ8wBqsXxXPWgsGNHkNuv7ACI4BuyKo9vmDVYvXc12xGlnYw1PmN5g6PJBA9GK3TqMLw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



APWUKL

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/xdveKJ3muCb2i71wc3gKTFAc1KpqyOtk>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

**COMISIÓN ACADÉMICA DE
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
DE LA NUTRICIÓN
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Perla Iris Miranda Reyes, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022632, y que lleva por título **“Evaluación in vitro de extractos botánicos en el control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: una alternativa a la exposición de agentes cancerígenos”**, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla
SINODAL Suplente .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

RODOLFO ESTEBAN LAGUNES QUINTANILLA | Fecha:2020-11-24 21:47:49 | Firmante

g3/xZMyTavmBXqRaDni1B74YnHHQ1vngCxWTveetcQwpEALVaQSulysF35CKzfd8QMR9sDRmklrFZ/2qtuahiONZhq2g942WdzPU2VAtDg/ppsfR8DTKINQYy6ETMmpv0obS0+zigncfBs1LD3M5lx01E4isg9OLwpPvX/RXhaaP7rablSbG/N1r7M3xTiHiW7Z/alj0TMQxHF4Hh2ROQR9CGEbDymSX7yjr1am9vsmr6IAfa/dc7gN7w+OlpNM1jdVjFpBprb/3WShylWoTa/TetfljfmEbxQiHxSpDt3lRcaci1y27h7lQ5stQc7nMrCcCtj87arLj49cqyg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



vXxNO4

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/yCmk1zB3ZD2KGHAVHmQwTm0y3Cuwlpi8>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

**COMISIÓN ACADÉMICA DE
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
DE LA NUTRICIÓN
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Perla Iris Miranda Reyes, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022632, y que lleva por título “**Evaluación in vitro de extractos botánicos en el control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: una alternativa a la exposición de agentes cancerígenos**”, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dra. Delia Vanessa López Guerrero
SINODAL VOCAL .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DELIA VANESSA LOPEZ GUERRERO | Fecha:2020-11-24 12:25:42 | Firmante

wAkEd6CsrNv6n1bKKVBfFhjkLFkX+zYK+wr/VW0WeshOgYLDULxfBVj1zSpHPC6A90EsSZtT2bz0PI+6gMcu88O1Bqngq3ITHYLeYmJfICIGFRIXfR+vY54Wl76sExQ8RGBvYxfpWnV/qggGZ9s0IMC0mPddZHY1B0NjuSxkCLDF45/P0oiiiB4KjB889caomfC0dSSglqHH+d+3u5xrUvSNMr7ndx1OA0br6SES1n3aaqWW5J8da9fyrVl+NKqQqPqn+1h5MOBVjz/sOvLQ7fkWQsfU2UVuUqSU2svbjs+qTOHMemlejg5nsdN6lo3oA1akO6ldaGDUuy4NCd/6A==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



HJv6Pf

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/lpuQii6Vr6vyTkbzleGpCcX8Fvtj3W5O>

