

2.03
6



Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES CUAUTITLAN
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DEL PIQUEROLA Y SUS
DERIVADOS COMO POSIBLES AGENTES
QUIMIOTERAPICOS DE USO VETERINARIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

DANIEL CHAVEZ PEÑA

Director de Tesis: MARIO GONZALEZ DE LA PARRA

MEXICO 1979



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ASIGNACION DEL JURADO

Presidente: M.V.Z. LUIS G. BASURTO

Secretario: Q.F.B. MARIO GONZALEZ DE LA PARRA

Vocal: M.V.Z. JOSE DE LUCAS TRON

1er. Suplente: M.V.Z. MARCO ANTONIO FAJARDO

2do. Suplente: M.V.Z. JUAN MANUEL BEZARES

Este trabajo se desarrolló en el I.N.I.P. y el I.N.I.F.

A mis Padres:

Otto y Josie

A mis Hermanas:

Gloria, Alicia y Susana

A mis amigos:

Mario,

Lince,

Eduardo,

Ricardo,

Ramón,

César,

Mario L.

y

Luis

A MIRIAM

I N D I C E

1. INTRODUCCION
2. GENERALIDADES
3. FUNDAMENTOS
4. MATERIALES Y METODOS
5. RESULTADOS Y DISCUSION
6. CONCLUSION
7. BIBLIOGRAFIA
8. APENDICE

1. INTRODUCCION:

La importancia socio-económica que tiene el parasitismo en México ha invitado a abrir un amplio campo de investigación para su erradicación.

Las cifras en base a las pérdidas que la industria pecuaria sufre como consecuencia de los daños causados por la infestación de garrapatas, se ha estimado anualmente en más de cuatro mil y medio millones de pesos por conceptos de disminución de producción, muertes y contagios de enfermedades. (10)

En estos reportes no se tiene en cuenta la depreciación de elementos como mano de obra, baños de inmersión, equipos de aspersión, ni los gastos por concepto de investigación.

Existen otros tipos de daños menos apreciables, pero también de importancia como: El punto de picadura, la pérdida de sangre y las infecciones primarias y secundarias en los animales.

Los métodos de control disponibles los podemos clasificar en: Físicos, químicos y biológicos, de los cuales destacamos los químicos por ser los que más se usan en base a razones económicas y prácticas.

Este tipo de agentes químicos presentan una serie de desventajas tales como: Toxicidad para los huéspedes, degradación del medio ambiente, resistencia creciente y altos costos entre otros.

La investigación de nuevos productos garrapaticidas es un campo abierto y de vital importancia para el país, ya que necesitamos desarrollar fármacos sin los inconvenientes antes mencionados.

2. GENERALIDADES:

Las garrapatas con artópodos en la superfamilia Ixodoidea, dividida en dos familias, las garrapatas duras con escudo Ixodidae y las blandas sin escudo Argasidae. (1).

En el mundo hay cuatrocientas especies de garrapatas de las cuales treinta y cinco pueden encontrarse en México y de interés veterinario solo diez especies.

En el ciclo biológico, las garrapatas pueden localizarse en uno, dos o tres huéspedes desde un período larvario hasta la fase adulta madura. En este proyecto el tipo de garrapata a usar será de un solo huésped y pertenece al género y especie de Boophilus microplus.

Esta garrapata presenta varios nombres, dependiendo la región y la fase en que se encuentra, Garrapata tropical del ganado, garrapata de venado, "Cueruda" en estado adulto. "Pinolillo" en estado larvario.

a) Localización: B. microplus se ha encontrado en México en Baja California, Campeche, Chiapas, Coahuila, Distrito Federal, Guerrero, Hidalgo, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán.

Ha sido reportada de las Indias Occidentales, América Central, América del Sur, Islas del

Caribe, Australia, Africa y Oriente. En los E.U.A. fué hallada en un tiempo en el Sur de Florida. (25)

b) Huéspedes: Se ha encontrado parasitando al ganado bovino en México. También se encuentra raramente en el hombre. Se halla asimismo en venados, conejos, cerdos, etc. Las larvas se alimentan y mudan sobre el huésped, las ninfas y los adultos se encuentran con mayor frecuencia en flancos, vientre y ubres. Sin embargo, todas las formas pueden fijarse en el cuello, vientre, flancos, papada, ubres, escudo y escroto del ganado.

c) Ciclo Biológico: B. microplus es una garrapa ta que necesita un sólo huésped para su Ciclo biológico.

El adulto macho se alimenta por algunas horas y después se desplaza por el huésped buscando una hembra. La hembra adulta, también es capaz de moverse, se fija generalmente esperando la fertilización, tiempo después se alimenta lentamente por los primeros cinco días, para acelerar rápidamente su ingestión de sangre en los últimos periodos de la alimentación hasta repletarse. El macho permanece en cópula algunas veces por varios días, hasta

que la hembra repleta cae del huésped,

Se ha podido observar el apareamiento fuera del huésped. La hembra busca un lugar protegido para oviponer. El macho puede permanecer sobre el huésped un mes o más para buscar y fertilizar a otras hembras.

En un lapso de catorce a doscientos dos días, los huevecillos eclosionan dando lugar a larvas sobre las cuales la temperatura y la humedad influyen severamente, en virtud de que son aún más vulnerables que los huevecillos a las bajas temperaturas. La máxima eclosión se consigue entre los 29.4 y 35°C.

Un pequeño porcentaje de las larvas recién emergidas se desplazan sobre el huésped por dos o tres días. Sin embargo, la mayoría se fija con sus piezas bucales a la piel del huésped, una hora después de haberlo hallado.

Las larvas se alimentan de 4 a 19 días, poco después de que sus cuerpos se han desteñido, sus patas se hacen rígidas y las larvas pierden su movilidad. La muda tiene lugar seis días después de la fijación. En la fase libre y en presencia de humedad suficiente, la larva puede vivir en ayuna por 184 días, posteriormente para a la fase de ninfa.

La ninfa joven puede fijarse cerca de la piel recién mudada o dirigirse hacia los flancos, vientre o ubres para chupar sangre. Una vez repletas, las ninfas son inmóviles. Mue-- dan enseguida hacia los ocho días después de adherirse, es frecuente hallar a las ninfas -- junto con los adultos.

El tiempo que dura el período parasitario, desde la emergencia de las larvas hasta que las hembras adultas repletas se sueltan del huésped, varía entre 18 y 38 días, pero generalmente es de 23 días. (6)

- d) Control y Erradicación: Los métodos más usados para su erradicación son productos químicos. A continuación se hace una pequeña descripción de las ventajas y desventajas de los principales agentes garrapaticidas que se han usado:

INSECTICIDASVENTAJASDESVENTAJASSINTETICOSARSENICO (4,27)

No se pierde la concentración después del baño.

Efectos residuales tóxicos.

HIDROCARBUROS (2,15,22) Muchas presentaciones.
CLORADOS
D.D.T.

En garrapatas no es muy eficaz. Se retiene en el tejido adiposo y puede aparecer en forma de residuo en la leche.

DICLORO (2,15)DIFENIL

Bastantes presentaciones, es menos tóxico que el D.D.T.

Se usa en compañía del D.D.T.

METOXICLORO (2,15)

Bastante tóxico para insectos.

Se tiene que usar 5 horas antes del ordeño.

DICLORO FENIL (2,15,18)

Sinérgico con el D.D.T.

Sólo en concentraciones. Emulsiones al 25%.

LINDANO (15)

Fácil de eliminar. Pocos efectos se dan en sus residuos.

En grandes dosis es tóxico al mamífero. Es muy caro.

TOXAFENO (2,15)

Similar al Lindano.

INSECTICIDAS PARALIZANTES DEL SISTEMA NERVIOSO:

Son varios. Presentan grupos organofosforados, son muy tóxicos para animales y hombre.

AGENTES GARRAPATICIDAS DE ORIGEN NATURAL:INSECTICIDAVENTAJASDESVENTAJASNICOTINA (4)

Administración eficaz a animales resistentes al arsénico.

Producen irritación ocular.

PIRETRINAS (4)

Poco tóxicos para mamíferos. Efectos residuales mínimos.

Resistencia.

IMPORTANCIA ECONOMICA:

B. microplus es una plaga de considerable importancia en -
aquellas partes del mundo donde prevalece.

Esta garrapata es el vector de diversos Protozoarios Babesia
bigemina, tales como: Protozooario parásito de los glóbulos
rojos que ocasiona en el ganado bovino la fiebre del ganado
o piroplasmosis bovinas: Anaplasma marginale, microorganismo
causal de la anaplasmosis bovina.

Entre el ganado ovino, estas garrapatas transmiten Babesís
ovis, que causa la piroplasmosis ovina.

Pérdidas ocasionadas por garrapata en México. (3)

CARNE	\$ 1,965'000,000.00
LECHE	281'250,000.00
PIELES	136'000,000.00
MUERTE	<u>450'000,000.00</u>
T O T A L	<u>\$ 2,832,250,000.00</u>

3. FUNDAMENTOS.

Las piretrinas son compuestos naturales obtenidos de las flores Crysantemus cineracuacium de las familias de las compuestas. Son productos muy tóxicos para los insectos, pero poco para plantas y mamíferos.

Las piretrinas pueden obtenerse como extractos al 25%. Su principio activo es insoluble en el agua y se administra como emulsión. (4).

Las piretrinas se han usado para el control de las garrapatas presentando destrucción de todas las fases de la garrapata, sin poseer efectos residuales para el huésped. (4).

Whitehead en 1956, observó que los adultos de *Boophilus* eran muy sensibles a las piretrinas, utilizando una emulsión al 10% del extracto de 25%. En diluciones progresivas obtuvo in-vitro una mortalidad del 96%, los ensayos del investigador indican que en último término las garrapatas adquieren resistencia a este producto. (4).

La acción biológica de las piretrinas es la paralización en el sistema nervioso, aunque sea en pequeñas dosis es activa y casi siempre se usan acompañadas (sinergismo). El mecanismo para producir parálisis sobre el sistema nervioso es despolarizando la membrana. (16).

Bajo estos efectos se llega a bloquear el impulso nervioso. La acción bioquímica aún no es bien conocida, pero in-vivo no inhibe la colinesterasa e in-vitro parece inhibir la citocromo oxidasa. La hiperactividad del sistema nervioso produce una neurotoxina, que es la culpable de la parálisis. (16)

Los piretroides son metabolizados principalmente por vía oxi-

dativa, se tiene la hipótesis que a medida que sube la temperatura disminuye su efecto.

Para una acción más efectiva, los piretroides se administran con butoxido de piperonilo y metilaleno bioxifenil que ayuda en su acción, pero con estas sustancias se incrementa la toxicidad al mamífero. (16).

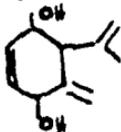
RELACION ESTRUCTURA QUIMICA ACTIVIDAD BIOLOGICA.

Las relaciones estructura actividad biológica establecen:

- 1) Debe haber al menos un anillo carboxílico o heterocíclico de 5 ó 6 miembros. El anillo debe ser planar o pseudoplanar y con dobles ligaduras.
- 2) El anillo debe poseer un grupo oxhidrilo.
- 3) Debe haber un sustituyente bencilo o alilo en la porción beta al grupo oxhidrilo unido al anillo. (16).

La planta Piqueria trinerva, de la familia de las compuestas se ha obtenido una serie de productos, de los cuales el Piquerol-A se muestra interesante como posible agente contra las garrapatas.

El Piquerol-A es un monoterpeno $C_{10}H_{14}O_2$ Pf=135 C. El producto en sí reúne algunos requisitos mínimos mencionados por las piretrinas, como un anillo de 6 miembros con electrones 11, grupos oxhidrilos y grupos insaturados en posición beta.



En pruebas biológicas el Piquerol-A se ha mostrado con efectos inhibitorios del crecimiento de semillas silvestres y cultivadas. (11). Se tiene la hipótesis que en ciertas condiciones biológicas el Piquerol-A se metaboliza por oxidación.

En los últimos años se ha progresado mucho en la bioquímica y fisiología de la garrapata. Esto es muy importante porque en base a este tipo de estudio se pueden establecer estrategias para un diseño racional garrapaticida. Cabe mencionar entre los principales hallazgos:

Estudios llevados para resistencia inmunológica, se probó que las glándulas salivales del macho secretan una ventiaava parte más que la hembra. (21).

En cerdos de Guinea se trabajó con cloramida en dosificaciones 300mg/kg durante 48 horas y se demostró que hay resistencia. (30).

En un experimento llevado en tres grupos de larvas, para encontrar aminoácidos libres se hallaron histidina, metionina, licina, isoleucina y valina, también decreció el nivel enzimático hepático del huésped.

De treinta acaricidas probados, los más efectivos fueron -- los compuestos de propano carboxilato, de menos actividad -- los arsenicales. (9).

En las montañas de Colorado se descubrió cuando el macho se aparea y hay una falsa copulación, esto produce una pheromona sexual llamada 2,6 Dicloro fenol (14).

En el caso del Piquero, cabe destacar que Dermacentor andersoni es incapaz de sintetizar Esteroles. (21).

Los esteroles en plantas y mamíferos biogenéticamente son -- derivados de terpenos. Los terpenos son productos natura-- les constituidos por unidades de isopreno. (20).

Los terpenos tienen una gran importancia para plantas y animales, en el caso de los insectos muchas de las hormonas son terpenos y algunos de estos se han usado para controlar plagas de insectos. (21).

El Piquerol-A y el Piquerol-B son terpenos, y cabe la posibilidad que pudieran interferir en el metabolismo hormonal de los insectos.

4. MATERIALES Y METODOS:

La parte experimental de este trabajo comprende el aislamiento de algunos de los productos de la planta Piqueria Trinervia. La obtención de hembras adultas gestan de Boophilus microplus y los ensayos de los productos, con larvas y hembras adultas (200 mg.)

Los productos que se probaron fueron el Piquerol-A, Piquerol-B.

La planta fué recolectada en octubre de 1977, en los alrededores de la carretera nueva que se dirige al Ajusco.

De las hojas y las flores se hicieron extractos con cloroformo y agua a reflujo, estos se concentraron a mínimo volumen por destilación y posteriormente se secaron en alto vacío.

OBTENCION DEL PIQUEROL-A:

En una columna de cromatografía de 1 metro de longitud por 7 centímetros de diámetro, se percolaron 100 gramos de extracto cloroformico, usando como soporte silica gel (0.2-0.5 mm.) (3 kg.), se eluyó de benceno a acetato de etilo y de las fracciones correspondientes a la proporción 1:1 benceno - acetato de etilo, se obtuvo el Piquerol-A (1 gramo), que se purificó por cristalización de hexceno-acetona. (23).

OBTENCION DE PIQUERINA:

Hojas y flores (3 kg.) se extrajeron con agua (8 lts.) a reflujo, el extracto acuoso se concentró a sequedad, y se extrajo exhaustivamente con etanol, el extracto etanólico se concentró a sequedad, se le agregó agua (300 ml.) y se separaron por filtración los materiales insolubles. Se agregó $(\text{NH}_4)\text{OH}$, hasta obtener un pH=12, la solución se dejó en reposo durante 24 hrs., precipitando la piquerina que fue purificada por cristalización en metanol.(23)

OBTENCION DEL PIQUEROL-B:

Este producto fue proporcionado por el Dr. Alfonso Romo de Vivar. (23).

Para la evaluación del producto se hará in-vitro, usando dos diferentes soluciones acuosas a 200 ppm. y 300 ppm., en base a productos comerciales. (28).

Por las características del producto y el manejo de las garrapatas, seleccionamos tres técnicas. Inmersión de larvas, inmersión de hembras y aplicación topical de hembras.

A) INMERSION DE LARVAS EN TUBO DE ENSAYO.

- A:1) Obtención e identificación de larvas.
- A:2) Dilusión y preparación de la solución.
- A:3) Esterilización del material requerido.
- A:4) Ordenar y etiquetar (nombre del producto, concentración, fecha), el material.
- A:5) En un tubo de ensayo, se deposita por medio de una pipeta, 5ml. de cada tratamiento.
- A:6) Con isopos estériles, se toman las larvas aproximadamente 100 y se sumergen en los tubos de ensayo que contienen 5ml. del tratamiento.
- A:7) Se agita durante 2 minutos.
- A:8) Con papel filtro secamos y en estos mismos depositamos las larvas.
- A:9) Los papeles filtro recolectados se sellan con clips del No. 1 y guardados en cajas de petri.
- A:10) Las cajas de petri se guardan en campanas de desecación, las cuales depositaremos en una estufa que guarde una temperatura de 28° C y una humedad de 96%.
- A:11) Las lecturas se hacen cada 24 horas por medio de un microscopio estereoscópico.
- A:12) Con un contador Hope se toman las lecturas de vivas (presenten movimiento) o muertas.

A:13) Los resultados obtenidos se evalúan por un análisis de varianza. (28).

B) INMERSION DE HEMBRAS ADULTAS:

- B:1) Obtención e identificación de hembras.
- B:2) Dilución y preparación de la solución.
- B:3) Esterilización del material requerido.
- B:4) Ordenar y etiquetar (nombre del producto, concentración, fecha), el material.
- B:5) La solución ya preparada se vierte sobre una caja petri y se introducen las garrapatas durante 30 segundos.
- B:6) Después de 30 segundos sacar los especímenes por medio de un colador.
- B:7) Colocar las garrapatas secas en una caja de petri con papel filtro.
- B:8) Colocar las cajas de petri en una campana de desecación, las cuales se depositan en una estufa que guarde una temperatura de 28° C y una humedad de 96%.
- B:9) Las lecturas se hacen cada 24 horas por medio de un microscopio Esteroscópico.
- B:10) Los resultados obtenidos serán evaluados por un análisis de varianza. (28).

C) APLICACION TOPICAL A HEMBRAS ADULTAS:

- C:1) Obtención e identificación de hembras.
- C:2) Dilución y preparación de la solución.
- C:3) Esterilización del material requerido.
- C:4) Ordenar y etiquetar (nombre del producto, concentración, fecha), el material.
- C:5) En una caja de petri se coloca papel filtro con cinco tiras adhesivas de manera que se puedan pegar en forma dorsal en cada tira.
- C:6) Una vez colocadas las garrapatas, se lleva a cabo la aplicación topical con un microaplicador, dejando una gota graduada en 1 ml. por cada garrapata.

- C:7) Las cajas de petri se guardan en campanas de desecación, las cuales depositaremos en una estufa que guarde una temperatura de 28° C y una humedad de 96%.
- C:8) Las lecturas serán cada 24 horas por medio de un microscopio Esteroscópico.
- C:9) Los resultados obtenidos se evalúan por un análisis de varianza. (28).

5. RESULTADOS Y DISCUSION:

El tiempo de presentación de efectos, se expresa en los cuadros de resultados, el tratamiento de inmersión de larvas se usaron las soluciones de Piquerol-A y B, así como la piquerina en concentraciones de 200 ppm. y 300 ppm., teniendo 100 - larvas aproximadamente con sus respectivos testigos.

La inmersión de garrapatas adultas se usaron las soluciones de Piquerol-A y B a 200 ppm. y 300 ppm., con 30 garrapatas para cada tratamiento y sus respectivos testigos.

En la aplicación topical, se usaron las soluciones de Piquerol-A y B a 200 ppm y 300 ppm., con 20 garrapatas por tratamiento y sus respectivos testigos.

Los cambios aparentes que corresponden en los cuadros de resultados son:

- A) Cambio de color; varía de café verdoso brillante a café oscuro.
- B) Peristaltismo: disminución de movimientos peristálticos hasta la muerte.
- C) Oviposición: número de garrapatas que efectuaron la oviposición.
- D) Muerte: número de garrapatas muerta por día.

La discusión será en base a los resultados obtenidos en los diferentes tratamientos. Se definió un índice de supervivencia para cada garrapata adulta (200 mg.), esto significa la asignación de una calificación, según el día de muerte expresada en porcentaje.

El experimento duró 20 días a las garrapatas que murieron o sobrevivieron en el vigésimo día, se les dió un valor de 100%, en tanto a los que sobrevivieron en cualquier otro día del tiempo global y se les dió un valor proporcional.

Los datos se graficaron en barras y frecuencias acumulativas. Se aplicó análisis de variancia para la variable por ciento de supervivencia, se hicieron pruebas de F y de T, se obtuvieron resultados significativos con 5% de significancia.

Los resultados de larvas se expresaron como porcentaje de mortalidad al tercer día del experimento.

El Piquerol-A se mostró más activo que el Piquerol-B, para ambos tratamientos aplicados a hembras adultas.

En larva no se presentó diferencia de actividad entre los dos productos, la piquerina no presentó actividad en ningún tratamiento. Esto sugiere que existe especificidad en las hembras adultas porque Piquerol-A y Piquerol-B son isómeros.

El ciclo biológico no se interrumpió porque los productos no inhibieron la oviposición y eclosión, a diferencia de los compuestos organofosforados.

El Piquerol-A y el Piquerol-B no inhiben la acetilcolinesterasa en mamíferos, lo cual establece una diferencia con el mecanismo de acción de los compuestos organofosforados. El Piquerol-A y el Piquerol-B, así como los organofosforados presentan actividades similares sobre la muerte de larvas al tercer día. En las garrapatas adultas no se puede establecer una diferencia porque existe variabilidad entre los métodos usados para determinar la actividad de los compuestos organofosforados.

Estos productos naturales se presentan interesantes como garrapaticida de uso común, siempre y cuando se administre con algún ixodocida que inhiba la oviposición (sinergismo).

El Piquerol-A y el Piquerol-B pueden servir como larvicida,

estableciendo un calendario de desparasitación estacional por región, ya sea por baños de inmersión o por aspersión de los pastos.

Las ventajas que presenta en relación a los compuestos órganofosforados es menos tóxica para mamíferos, y es biodegradable. (14).

ANALISIS ESTADISTICO

Se organizaron los datos por tratamiento, a cada población del tratamiento se le calculó la media aritmética (\bar{x}), la desviación standar, ($Gn, Gn-1$) y el logaritmo natural de la media ($\ln \bar{x}$); con estas constantes estadísticas se desarrollaron las pruebas de significancia: de "T" y "F" a un índice de significancia de 5%. Para las hembras adultas se aplicó el análisis de varianza, para la variable de porcentaje de supervivencia (%S).

En las tablas (ver apéndice).

N= Número de repetición por tratamiento

\bar{x} = Media aritmética

Gn= Desviación Standar

Gn-1= Desviación standar a la menos un grado de libertad.

$\ln \bar{x}$ = Logaritmo natural de la media

gl - Grados de libertad

ANALISIS ESTADISTICO:

LARVAS

PIQUEROL - A 300 ppm.

	N	\bar{X}	n	n-1	$1n \bar{X}$
1	5	13.14	5.31	5.94	2.59
2	5	72.79	25.48	26.01	4.27
3	5	93.4	8.23	9.20	4.53

Prueba de "T" = 15.33 "T" = 2.360 para 5%

PIQUEROL -A 200 ppm.

	N	\bar{X}	n	n-1	$1n \bar{X}$
1	5	5.88	3.24	3.63	2.17
2	5	70	12.82	14.33	4.24
3	5	98	2.75	3.08	4.58

Prueba de "T" = 26.29 "T" = 2.360 para 5%

PIQUEROL - B 300 ppm.

	N	\bar{X}	n	n-1	$1n \bar{X}$
1	5	11.2	2.31	2.58	2.41
2	5	68.8	7.62	8.52	4.23
3	5	100	- -	- -	- -

Prueba de "T" = 30.18 "T" = 2.360 para 5%

PIQUEROL - B 200 ppm.

	N	\bar{X}	n	n-1	$1n \bar{X}$
1	5	6.8	3.86	4.32	1.91
2	5	27.6	14.56	16.28	3.18
3	5	92.41	2.70	2.81	4.53

Prueba de "T" = 8.54 "T" = 2.360 para 5%

PIQUERINA 300 ppm.

	N	\bar{X}	n	n-1	$\ln \bar{X}$
1	5	2.4	0.4	0.44	1.02
2	5	9.2	4.35	4.86	2.21
3	5	17.8	5.45	6.09	2.87
Prueba de "T" = 0.57				"T" = 2.360 para 5%	

PIQUERINA 200 ppm.

	N	\bar{X}	n	n-1	$\ln \bar{X}$
1	5	3.4	0.29	0.54	1.65
2	5	10.2	2.09	2.34	2.70
3	5	27	3.01	3.44	3.29
Prueba de "T" = 1.09				"T" = 2.360 para 5%	

TESTIGO

	n	\bar{X}	n	n-1	$\ln \bar{X}$
1	4	5.25	3.96	4.57	1.65
2	4	10.3	9.1	11.29	2.32
3	4	21.25	10.08	11.64	2.45

GARRAPATAS ADULTAS

PIQUEROL-A 300 ppm.

INMERSION

\bar{S} = 46.17

n = 21

n-1 = 21.36

\bar{X} = 1385

"T" = 6.51

"T" = 2.003 para 5%

PIQUEROL-A 200 ppm.

INMERSION

\bar{S} = 56.83

n = 19.73

n-1 = 20.06

\bar{X} = 1365

"T" = 4.75

"T" = 2.003 para 5%

PIQUEROL-B 300 ppm.

INMERSION

\bar{S} = 69.83

n = 16.76

n-1 = 17.04

\bar{X} = 2095

"T" = 2.48

"T" = 2.003 para 5%

PIQUEROL-B 200 ppm.

INMERSION

\bar{S} = 48

n = 13.45

n-1 = 13.80

\bar{X} = 960

"T" = 6.54

"T" = 2.003 para 5%

TESTIGO

\bar{S} = 82

n = 20.88

n-1 = 21.24

\bar{X} = 2460

PIQUEROL-A 300 ppm.

APLICACION TOPICAL

$\{S= 48$

$n=13.45$

$n-1= 13.80$

$\bar{X}= 960$

"T"= 6.54

"T"= 2.021 para 5%

PIQUEROL-A 200 ppm.

APLICACION TOPICAL

$\{S= 53.5$

$n= 15.90$

$n-1= 16.31$

$\bar{X}= 1070$

"T"= 6.15

"T"= 2.021 para 5%

PIQUEROL-B 300 ppm.

APLICACION TOPICAL

$\{S= 59.9$

$n= 15.66$

$n-1= 16.05$

$\bar{X}= 2460$

"T"= 5.11

"T"= 2.021 para 5%

PIQUEROL-B 200 ppm.

APLICACION TOPICAL

$\{S= 59.75$

$n= 16.16$

$n-1= 18.53$

$\bar{X}= 1750$

"T"= 5.05

"T"= 2.021 para 5%

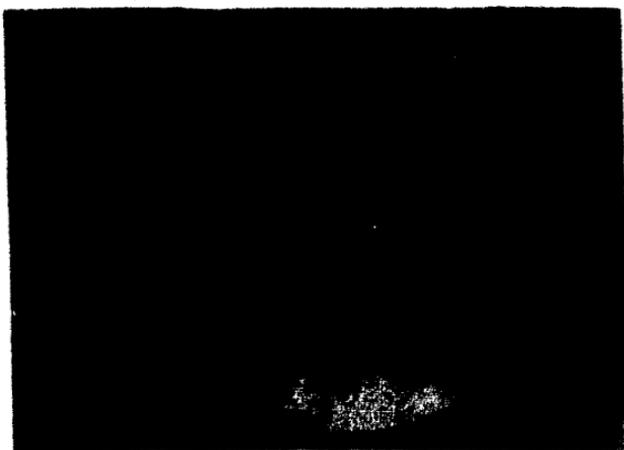
TESTIGO

$\{S= 87.5$

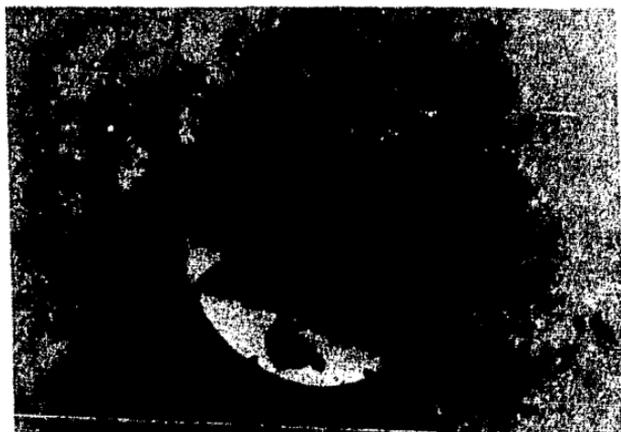
$n= 18.06$

$n-1= 18.53$

$\bar{X}= 1195$

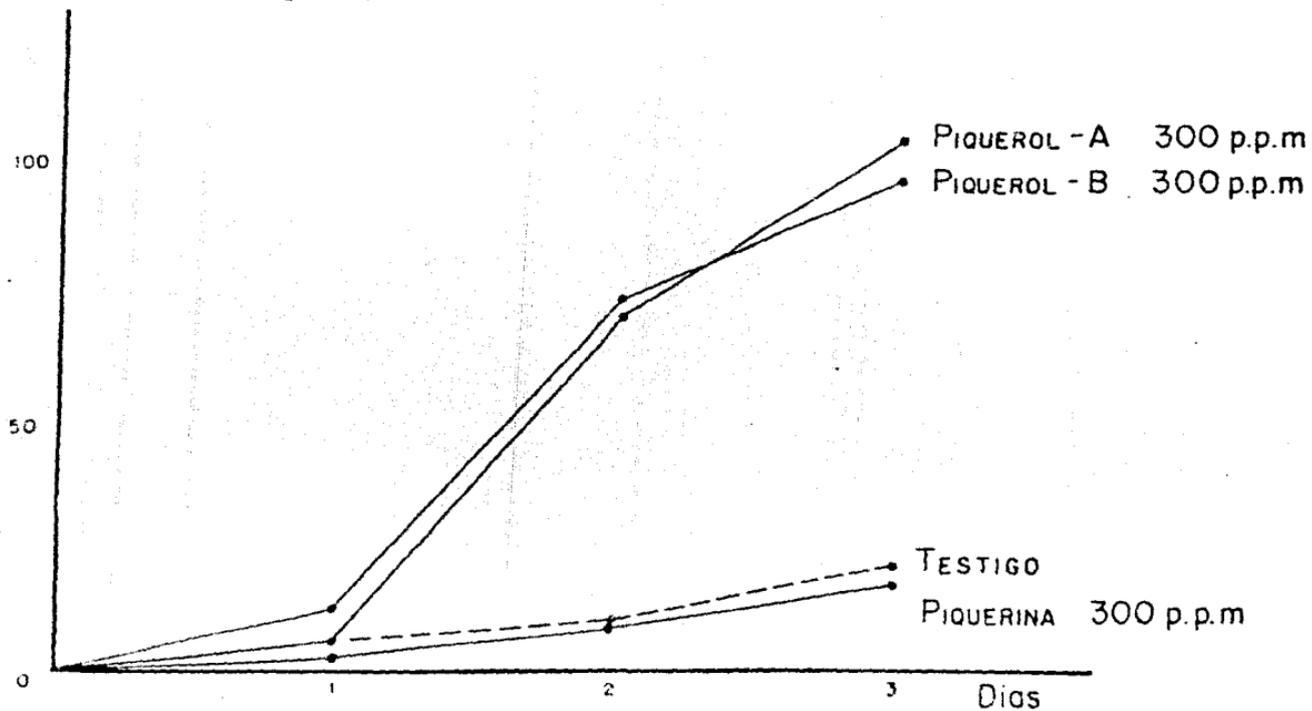


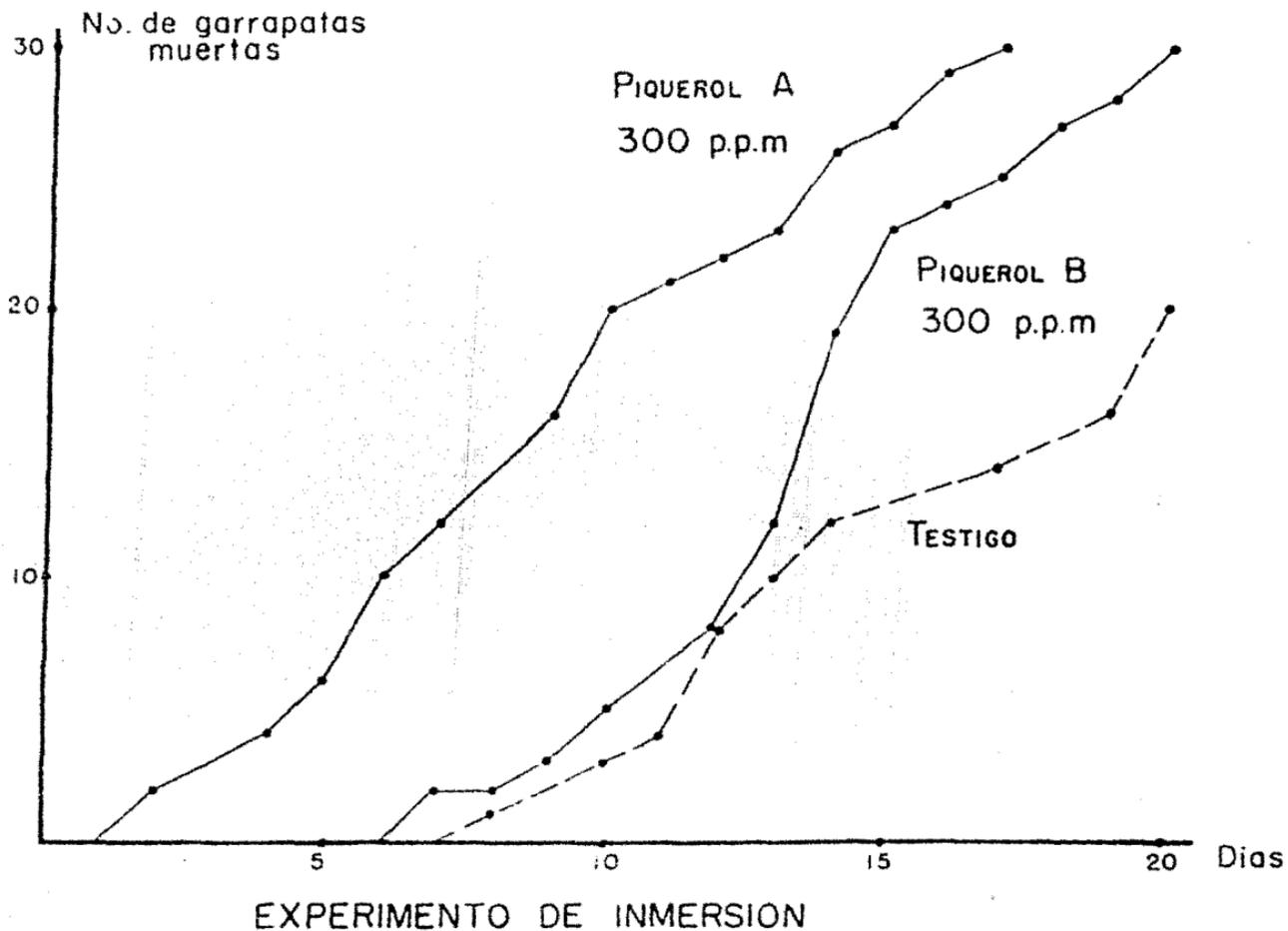
Hembras de *B. microplus* testigo- Hembras de *B. Microplus* muertas
con Piquerol-A (300 ppm).

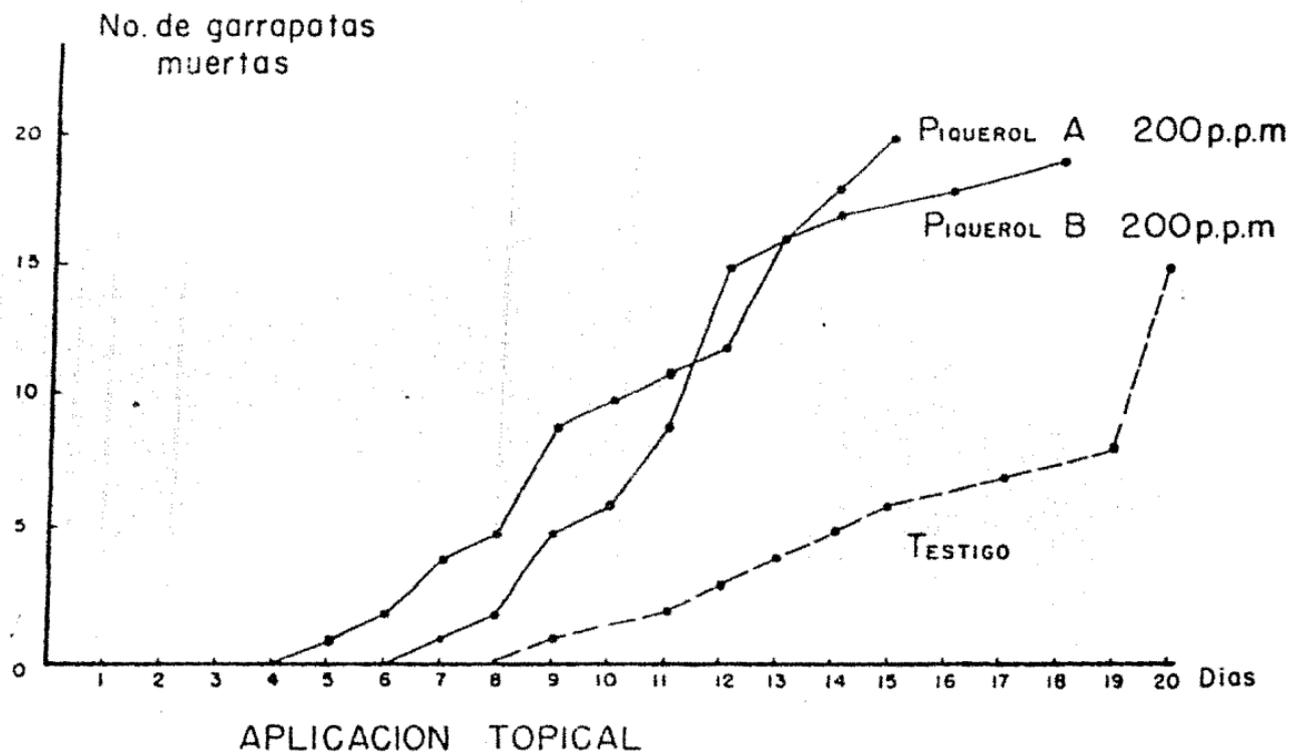


Hembras de *B. microplus* muertas por
la aplicación topical de Piquerol-A.

% de mortalidad de
larvas de garrapata



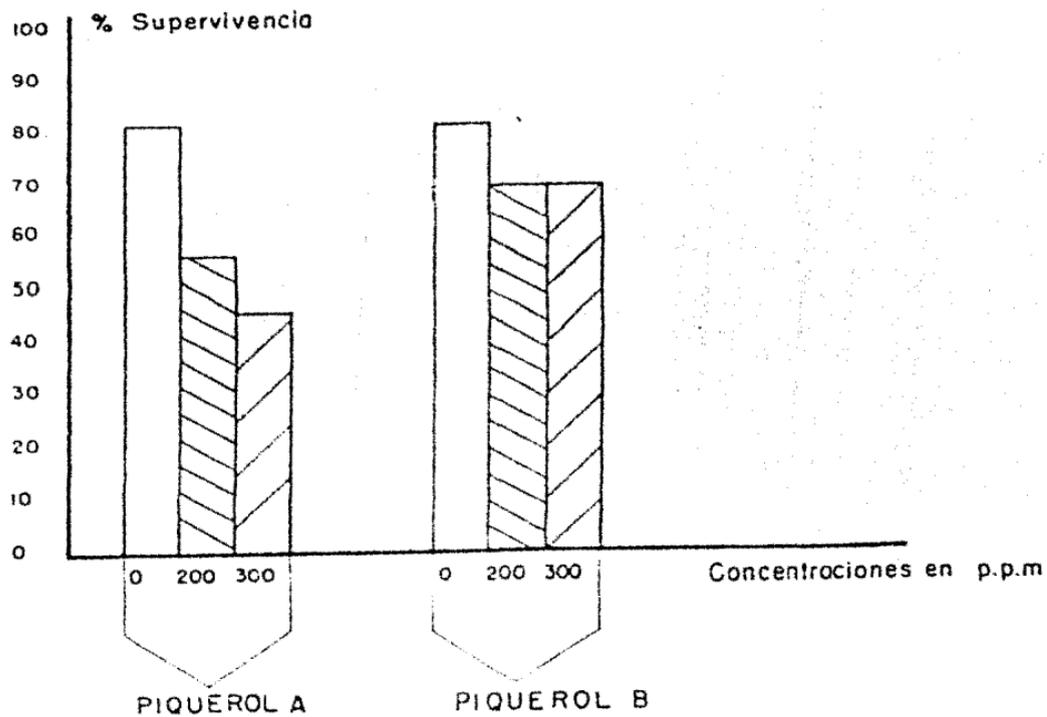




DANIEL CHAVEZ PESA

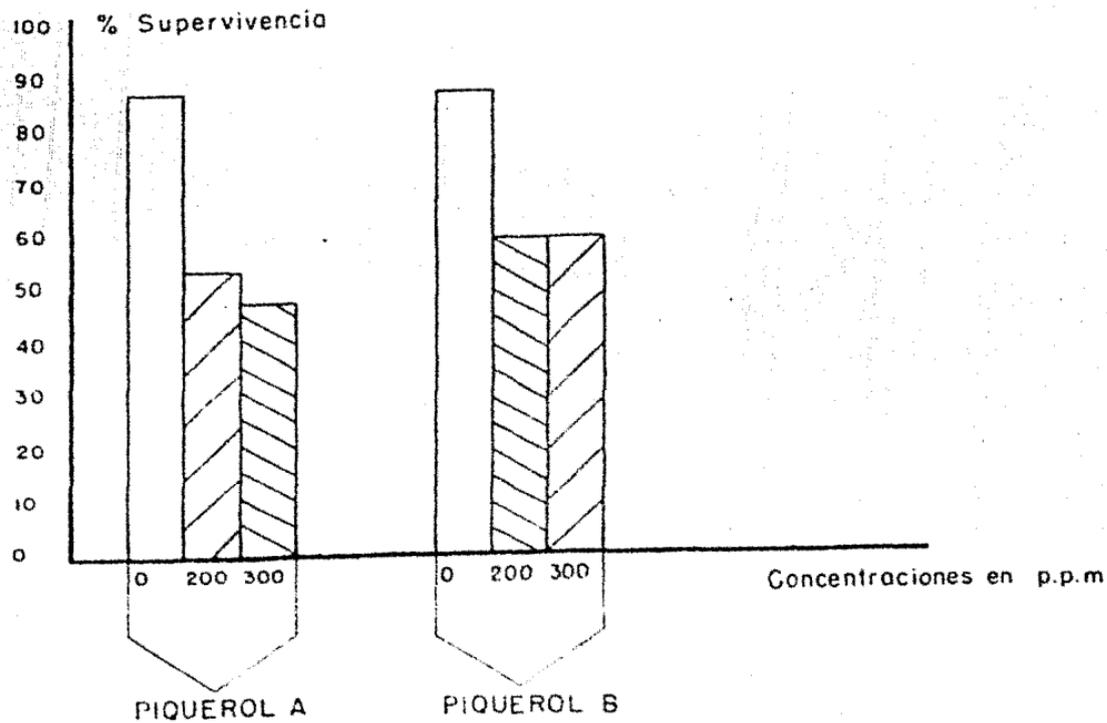
GRAFICA DE PORCIENTO DE SUPERVIVENCIA / DIA

TRATAMIENTO INMERSION



GRAFICA DE PORCIENTO DE SUPERVIVENCIA

TRATAMIENTO APLICACION TOPICAL



6. CONCLUSIONES:

El Piquerol-A y el Piquerol-B, se mostraron activos para hembras adultas (200 mg).

El Piquerol-A presentó más actividad que el Piquerol-B, en hembras adultas.

La actividad de los compuestos organofosforados comerciales y el Piquerol-A y el Piquerol-B, es similar en larvas.

El Piquerol-A no inhiben la oviposición.

El Piquerol-A no inhiben la eclosión.

El Piquerol-A no inhiben la acetilcolinesterasa en mamíferos.

El Piquerol-A es menos tóxico para mamíferos, que los compuestos organofosforados.

El Piquerol-A podrían ser productos interesantes para la erradicación de la garrapata, si se aplican con productos que inhiban la oviposición y/o como larvicidas estableciendo un calendario estacionario de desparasitación en la región.

7. BIBLIOGRAFIA:

1. Anónimo 1965, Manual of Livestock for animal disease erradication division personal, pp. 1 - 20 Ed. U.S. Department of Agricultural Research Service.
2. Anónimo 1973, V. Reunión Interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis, organización panamericana de la salud. Publicación Científica No. 256 pp. 50 Washington.
3. Anónimo 1971 Secretaría de Agricultura y Recursos Hídricos S.A.R.H. Estudios en pérdidas ocasionadas por la garrapata.
4. Barnett. S.F. 1961. Lucha contra las garrapatas del ganado Ed. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Roma, Italia.
5. Brown G.D. Radley M.P. Lenniger 9 (5) pp. 404-411 1975.
6. Cooper, Mc. Douglall Robertson. Beekmasted. 1970. Control de la Garrapata del Ganado vacuno. Ed. Martin Press, London. England.
7. Donald J. Koosis. 1974, Elementos de Interferencia Estadística. Ed. Limusa, México.
8. Fouad M.C. 1977. Biochem, Phisiol Comp. 56 (2) pp. 169-174.
9. Glandry C.C. Dawkins. 1976, Jou. Parasit. 1 (4) pp. 184-189.
10. González Origel A. 1976. Comunicación personal. Centro Nacional de Parasitología Animal. C.N.C.G. México.

11. González de la Parra. M. 1978. VII Congreso Mexicano de Botánica. Efectos de productos sobre el crecimiento de semillas. México.
12. González de la Parra M. 1978. XIII Congreso Mexicano de Química pura y aplicada. Trinervina un nuevo diterpeno obtenido de *P. trinervia*.
13. González de la Parra M. 1979. Trabajo por publicar.
14. González de la Parra M. Escamilla E. Trabajo por publicar.
15. Insecticidas para el control de insectos de importancia para la salud pública. 1963, Organización Panamericana de la salud. Washington.
16. Jacobson M. Crosby 1971. Naturally Occurring Insecticides p.p. 6-64. U.S.A.
17. Naufman William. Expo. Biolo. 64(3) pp. 727-742 1976.
18. Glimmer, O.R. 1968. Plaguicidas: Toxicología Sintomatología y Terapia. Editorial Oikos - Taw, pp. 71-95 Barcelona, España.
19. Marcellus. Cheler. Jou. Agric Food Chem. 24 (5) pp. 1949-1953. 1976.
20. Maurounand Karim. 1976. Jou. Med. 13 (2) 219-220.
21. O Sullivan. 1979. Chemical and Engineering News.
22. Radeleff, R.A. 1967. Veterinary Toxicology. Editorial Lea Febiger. Pennsylvania, pp. 175-211. U.S.A.
23. Romo J. Revista Latinoamericana de Química 1970.

24. Roulston Schunter. 1977. *Jou. Aust. Agric.* 28 (2) pp. 345-354.
25. Serdyukoua. 1960. *Publication of Entomological Society of America*. Ed. Ent. Soc. Amc. E.U.A.
26. Silverstein Plummer. 1976. *Jou. Med.* 63 (2) PP. 196-221.
27. Smith, C.N. Cole M.N. Gouck H. K. 1943. *Biology and control of american dog tick*. Washington D.C., U.S. Dept. of Agriculture pp. 74.
28. Treviño R. J. *Evaluación in-vitro de siete ixodicidas organofosforados comerciales contra Boophilus microplus*. México 1976. U.N.A.M.
29. Hupenskii 1975. *Parasitología Lenninger*. 9 (5) pp. 404-411.
30. Wilkel Skaud. *Rallen. Immunology*. 30 (4) pp. 479-484. 1976.

8. APENDICE

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA EN LARVAS

PIQUEROL-A

300 ppm.

200 ppm.

DIAS	VIVOS	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS
1	66	14	85	15
2	1	99	12	88
3	--	100	--	100
TOTAL	--	100	--	100
I	87	13	93	7
2	48	52	18	82
3	14	86	7	93
TOTAL	14	86	7	93
I	91	9	93	7
2	46	54	46	54
3	9	91	3	97
TOTAL	9	91	3	97
I	77	23	91	6
2	--	100	37	63
3	--	100	--	100
TOTAL	--	100	-	100
I	92	8	91	9
2	47	53	37	63
3	--	100	--	100
TOTAL	--	100	--	100

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA EN LARVAS

PIQUEROL-B

DIAS	300 ppm.		200 ppm.	
	VIVOS	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS
1	93	7	97	3
2	23	77	81	19
3	--	100	5	95
TOTAL	--	100	5	95
1	89	11	94	6
2	34	66	74	26
3	--	100	6	94
TOTAL	--	100	6	94
1	98	12	86	14
2	42	58	46	54
3	--	100	3	97
TOTAL	--	100	3	97
1	88	12	96	4
2	35	65	79	21
3	--	100	8	92
TOTAL	--	100	8	92
1	86	14	93	7
2	22	78	84	16
3	--	100	10	90
TOTAL	--	100	10	90

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA EN LARVAS

PIQUERINA

300 ppm.

200 ppm.

DIAS	VIVOS	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS
1	97	3	96	4
2	96	4	83	17
3	87	13	75	25
TOTAL	87	13	75	25
1	97	3	97	3
2	95	7	88	12
3	89	11	74	26
TOTAL	89	11	74	26
1	98	2	97	3
2	90	10	87	13
3	77	23	74	26
TOTAL	77	23	74	26
1	97	3	96	4
2	92	8	83	17
3	83	17	69	31
TOTAL	83	17	69	31
1	97	3	97	3
2	83	17	84	16
3	75	25	73	27
TOTAL	75	25	73	27

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA EN LARVAS

TESTIGO

DIAS	VIVOS	MUERTOS	VIVOS	MUERTOS
1	100	--	90	10
2	94	6	73	27
3	85	15	68	38
TOTAL	85	15	68	38
1			97	3
2			93	7
3			88	12
TOTAL			88	12
1			92	8
2			88	12
3			80	20
TOTAL			80	20
1				
2				
3				
TOTAL				
1				
2				
3				
TOTAL				

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA

PRODUCTO: PIQUEROL-A 300 ppm.

TRATAMIENTO: APLICACION TOPICAL

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T	
COLOR	2	4	2	1	3	5	5	1	1	2	1	1	1	1	-							
PERISTALTISMO	2	5	5	5	4	4	2	2	3	3	1	3	2	-	-							
OVIPOSICION	5	5	6																			20
MUERTE	-	-	-	-	1	2	2	1	0	1	1	3	1	1	1							20

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA

PRODUCTO: PIQUEROL-B 300 ppm.

TRATAMIENTO: APLICACION TOPICAL

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T
COLOR	2	2	2	3	2	3	4	1	1	3	2	3	2	-	-	2	2	-	-	-	
PERISTALITISMO	-	-	5	6	4	3	3	3	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1	1	-	
OVIPOSICION	0	14																			20
MUERTE	-	-	-	-	-	-	1	1	3	1	3	0	1	1	-	1	-	1	-	1	20

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA.

PRODUCTO: PIQUEROL-B 200 ppm.

TRATAMIENTO: APLICACION TOPICAL.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T
COLOR	3	3	6	3	4	3	3	1	3	2	1	2	2	2	1	2	1	2	-	-	
PERISTALTISMO	4	5	4	4	2	2	1	2	3	2	5	1	1	1	1	1	-	-	-	-	
OVIPOSICION	6	14																			20
MUERTE	-	-	-	-	-	-	1	1	3	1	3	6	1	1	-	1	-	1	-	-	19

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA

TRATAMIENTO TESTIGO

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T
COLOR	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1	-	1	-	1	7	
PERISTALITISMO	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1	-	1	-	1	7	
OVIPOSICION	12	8																			20
MUERTE	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1	-	1	-	1	7	15

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA

PRODUCTO: PIQUEROL-A 500 ppm.

TRATAMIENTO: INMERSION

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T
COLOR	5	5	2	8	5	4	2	2	2	2	1	1	1	-	1	1	-	-			
PERSITALTISMO	7	6	5	7	7	8	5	3	2	3	-	3	1								
OVIPOSICION	5	11	13	1																	30
MUERTE	-	2	2	2	2	1	2	1	3	4	1	1	1	3	1	2	1				30

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA

PRODUCTO: PIQUEROL-A 200 ppm.

TRATAMIENTO: INMERSION.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T	
COLOR	5	4	4	4	5	2	3	2	1	2	1	1	1	2	2							
PERISTALTISMO	5	5	4	6	4	5	4	1	5	3	-	5	2	2	2							
OVIPOSICION	5	15	10																			50
MUERTE	-	1	-	1	2	1	1	1	5	1	1	1	3	7	5	2						30

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA

PRODUCTO: PIQUEROL-B 500 ppm.

TRATAMIENTO: INMERSION

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T
COLOR	2	5	5	6	3	3	2	3	4	4	1	2	3	2	1	1	1	2	-	-	
PERISTALTISMO	5	3	9	5	6	6	5	4	2	2	1	3	2	3	2	1	1	2	1	-	
OVIPOSICION	10	12	8																		30
MUERTE	-	-	-	-	-	-	2	-	1	2	-	3	4	7	4	1	1	1	1	3	30

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA.

PRODUCTO: PIQUEROL-B 200 ppm.

TRATAMIENTO: INMERSION

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T
COLOR	2	2	3	2	4	5	5	5	4	2	2	1	3	3	1	5	2	1	-	-	
PERISTALTISMO	4	4	2	4	3	4	2	5	2	3	1	3	4	4	1	-	-	-	-	-	
OVIPOSICION	11	9	10																		30
MUERTE	-	-	-	-	-	-	2	-	1	2	-	3	4	7	4	11	1	1	1	-	27

PRESENTACION DE EFECTOS POR DIA

TRATAMIENTO FESTIGO

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T
COLOR	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	1	4	1	2	-	-	2	-	-	-	
PERISTALTISMO	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	1	4	1	4	-	-	2	-	-	-	
OVIPOSICION	10	18	2																		30
MUERTE	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	1	4	2	2	-	-	2	-	5	20