

Coloma, A., Zrostlíková J., Dellacassa, E. 2011. Advances in the identification and agrochemical importance of sesquiterpenoids from *Bulnesia sarmientoi* essential oil. *Ind Crops Prod* 33: 497-503.

Tunón, H., Thorsell, W., Mikiver, A., Malander, I. 2006. Arthropod repellency, especially tick (*Ixodes ricinus*), exerted by extract from *Artemisia abrotanum* and essential oil from flowers of *Dianthus caryophyllum*. *Fitoterapia* 77: 257-261.

Zrostlíková J., Rocha R., Rodilla, J. M., Martínez N., Stashenko E., Lorenzo D., Davyt, D., Dellacassa, E. 2005. Cromatografía gaseosa bidimensional aplicada al aceite de *Bulnesia sarmientoi*. V Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica y I Congreso de Fitoterápicos del MERCOSUR. Montevideo, Uruguay

Efectos garrapaticidas de algunos aceites esenciales

JUAN F. GIL^{1*}, JESUS BURILLO², ANA PASTOR³, JORGE RINGUELET⁴,
HERIBERTO ELDER⁵, FERNANDO ECHEVERRI¹

¹Grupo de Química Orgánica de Productos Naturales,
Instituto de Química-SIU, Universidad de Antioquia, Medellín, COLOMBIA

²CITA-Gobierno de Aragón, Zaragoza, ESPAÑA

³Departamento de Química, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, PERÚ

⁴Cátedra de Bioquímica y Fotoquímica. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.
Universidad Nacional de La Plata. La Plata, ARGENTINA

⁵CONICET. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ingeniería Química.
Ministerio de la Producción. Santa Fe, ARGENTINA

*Autor para correspondencia: jgromero@matematicas.udea.edu.co

Palabras clave. Aceites esenciales, garrapatas, ensayos *in vitro*, mortalidad, oviposición

RESUMEN

Soluciones acuo-etanólicas de aceites esenciales de Lippia (3 quimiotipos), *Schinus molle*, Tagetes, Lavandina (dos quimiotipos), Hisopo, Romero y Ciprés, fueron sometidas a ensayos *in vitro* para evaluar sus efectos sobre la supervivencia y reproducción de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Los aceites de Lippia, Tagetes e Hisopo mostraron buenos niveles de inhibición de la oviposición y de mortalidad superiores al 50%, a una concentración del 1%; no obstante, a concentraciones menores (0.5 y 0.1%) los resultados fueron inferiores. Especialmente activos fueron los aceites de varios quimiotipos de Lippia, que sorprendentemente mantuvieron niveles similares de actividad, lo cual indica un efecto sinérgico o la presencia de una sustancia muy activa a concentraciones muy pequeñas.

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas del ganado vacuno son un grupo de parásitos artrópodos hematófagos, causantes de enfermedades parasitarias externas que afectan a los bovinos en todas sus edades; además de esto causan una anemia perjudicial para la producción lechera y cárnica, que en ocasiones llega a ser mortal. Igualmente la succión de sangre por las garrapatas produce dolor e irritación que producen malestar en los animales y depreciación en los cueros, disminuyendo el valor agregado de la industria ganadera. Las especies más comunes de garrapatas en América son *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* y *Rhipicephalus (Boophilus) calcaratus*. La especie *R. (B.) microplus* transmite la piroplasmosis y la fiebre Q. Estas enfermedades pasan a través del huevo, de modo que las larvas al nacer son capaces de transmitir la enfermedad, por lo cual es de gran importancia el control de la oviposición, ya que cada garrapata puede colocar entre 2500 y 3000 huevos.

En el tratamiento contra las garrapatas del ganado se aplican sustancias, cuyo espectro de acción abarca a otros parásitos externos, ocasionalmente benéficos para el medio ambiente. Además dichas sustancias han sido aplicadas indiscriminadamente en altas concentraciones, lo que ha dado como resultado la aparición de poblaciones resistentes y serios problemas de contaminación de la leche y la carne.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto y la resistencia a los productos disponibles actualmente, se han buscado diferentes vías de control; en este campo se han destacado el uso de productos naturales vegetales para el control de artrópodos de importancia económica veterinaria (Borges y col. 2011, George y col., 2008). En especial, algunos aceites esenciales han mostrado que actúan disolviendo los lípidos de la cutícula del exoesqueleto de los artrópodos y mostrando actividad repelente (Lwande y col., 1999; Mägi et al., 2006; Tunón y col., 2006). En el presente trabajo se presentan los efectos garrapaticidas de varios aceites esenciales disponibles en el mercado.

PARTE EXPERIMENTAL

Garrapatas. Las garrapatas hembras de la especie *Rhipicephalus (B.) microplus* es su estado adulto, se obtuvieron directamente del ganado bovino que parasitan, en la Central de Sacrificio de Medellín (Colombia).

Ensayo de Inhibición de la Oviposición. Para evaluar la actividad garrapaticida de los compuestos y/o extractos se tomaron diez (10) garrapatas de peso similar por cada una de las tres (3) repeticiones realizadas, además de dos (2) grupos de diez (10) garrapatas por control. Luego estas fueron pesadas y sometidas a un proceso de limpieza y desinfección sumergiéndolas en 10 ml de hipoclorito de sodio al 1%, seguido de dos porciones de 10 ml de agua; el exceso de agua fue retirado con un papel absorbente. Los compuestos y/o extractos a evaluar se prepararon a una concentración de 1% (p/v) en etanol al 30%; posteriormente los compuestos y/o extractos que mostraron una actividad promisoriosa fueron evaluados a concentraciones del 0,5% y 0,1%. Como control positivo se usó cipermetrina 1000 ppm y control negativo etanol 30%. Paso seguido las garrapatas fueron sumergidas en las soluciones de prueba durante un periodo de 20 minutos; transcurrido este tiempo, fueron retiradas y puestas sobre cajas de petri, sujetas con cinta doble faz y dejadas en incubación a 26°C durante 8 días. En este término, se realizó el conteo del número de garrapatas que ovipositaron y se procedió a pesar los huevos de cada ensayo.

Aceites esenciales evaluados. Para la evaluación se utilizaron soluciones acuoso-etanólicas al 1% de los aceites esenciales de:

- *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britt. & Wilson cultivadas en la Estación Experimental J.A. Hirschhorn de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
Rendimiento de aceite esencial expresado en mL/100 gramos de hojas secas:
Quimiotipo Linalol, 1.44, Qt. Dihidrocarvona, 2.12, Qt. carvona, 1.43
Todos los aceites se obtuvieron por arrastre con vapor de agua en destilador a escala piloto con alambique de 30 litros de capacidad, con la siguiente composición (Tabla 1):
- *Lippia alba* qt. carvona fue analizada por el Dr. Arnaldo Bandoni quien identificó los siguientes

compuestos mayoritarios, carvona 48 % y limoneno 26 %.

- El aceite de *Tagetes minuta* fue analizado también por el Dr. Arnaldo Bandoni, con los siguientes resultados: cis-ocimeno (44,3 %), cis-ocimenona (12,2 %), trans-ocimeno (7,7 %), dihidrotagetona (7,2 %), trans-tagetona (5,3 %), limoneno (3,2 %), cis-tagetona (0,7 %), no identificados (19,4 %).

Los aceites ensayados están depositados en el Banco de Aceites Esenciales (Laboratorio de Fitoquímica, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-Universidad Nacional de La Plata, Argentina, bajo los siguientes números: *Lippia alba* qt. linalol N° F16, *Lippia alba* qt. dihidrocarvona N° F 17, *Lippia alba* qt. carvona N° F 25, T. minuta N° F26.

Tabla 1. Composición de los quimiotipos de *L. alba*

Componentes principales de los quimiotipos de <i>L. alba</i> empleados			
<i>L. alba</i> qt dihidrocarvona		<i>L. alba</i> qt linalol	
Compuesto	%	Compuesto	%
Limóneno	4,98	1,8-Cineol	6,50
t-dihidrocarvona	25,30	Linalol	47,25
c-dihidrocarvona	45,36	t-dihidrocarvona	2,74
β-farneseno	2,51	t-cariofileno	4,44
Acetato dihidrocarvona	9,74	α-Terpineol	1,49
Germacreno D	4,09	Germacreno D	7,17
b-cariofileno	1,71	β-elemento	1,55
Dihidrocarveol	0,67	t-óxido linalol (piranoide)	1,90
c-anetol	0,09		
Carveol	0,08		
Germacreno D-4-ol	1,85		

- Romero (*Rosmarinus officinalis* L.). Aceite esencial comercial procedente de cultivo ecológico producido por la Empresa Ecoaromuz.
- Lavandín Super (*Lavandula angustifolia* x *Lavandula latifolia*). Aceite Esencial procedente de cultivo convencional y producido por la Empresa Ecoaromuz.
- Ciprés (*Cupressus sempervirens* L.). Aceite esencial comercial procedente de cultivo ecológico producido por la Empresa Ecoaromuz.
- Salvia (*Salvia officinalis* L.). Aceite esencial comercial procedente de cultivo ecológico producido en Alacón-Teruel.
- Lavandín Abrial (*Lavandula angustifolia* x *Lavandula latifolia*). Aceite esencial comercial procedente de cultivo ecológico producido en Ibieca-Huesca.
- Hisopo (*Hissoopus officinalis* L.). Aceite esencial comercial procedente de cultivo ecológico producido en Calamocho-Teruel.

Datos analíticos de esos aceites se encuentran en Burillo-Alquézar (2003).

- Los aceites esenciales nombrados como M1, M2, corresponden a las fracciones más ligeras de los aceites esenciales de: M1 molle (*Shinus molle*) M2 muña (*Minthostachys mollis*), mientras que F1 y F2 son fracciones de extractos de la planta *Shiphocampilus tupaeformis*, siendo F1 fracción alcaloidal-1 y F2 fracción alcaloidal-2, obtenidas por cromatografía en columna con alúmina neutra (CH²Cl²/MeOH).

Posteriormente se procedió a evaluar los aceites *Lippia alba* quimiotipo Linalol; *Lippia alba* quimiotipo dihidrocarvona, *Lippia alba* quimiotipo carvona, Hisopo y *Lippia alba*, que presentaron la mejor actividad a menores concentraciones, 0,5% y 0,1%. Del mismo modo, debido a los buenos resultados mostrados por M1, M2, F1 y F2, se evaluaron a una menor concentración, 0,5%.

Ensayo de Eficacia Reproductiva. Este experimento se realizó tomando huevos depositados por las garrapatas del control positivo, negativo y compuestos evaluados y luego puestos a incubación durante 21 días en tubos de ensayo. La evaluación se realizó midiendo los parámetros de mortalidad, Inhibición de la oviposición (IO), Eficacia Reproductiva (ER) y Control de Reproducción (CR).
Donde: %IO = porcentaje de inhibición de la oviposición, WH= Peso Huevos, WG= Peso inicial de garrapatas, %ER = porcentaje de eficacia reproductiva, %E= Porcentaje de eclosión (Silva y col. 2009).

$$IO = \frac{WH}{WG}$$

$$\%IO = \frac{IO_{(control)} - IO_{(tratamiento)}}{IO_{(control)}} \times 100\%$$

$$\%ER = \frac{WH}{WG} \times \%E$$

$$\%CR = \frac{ER_{(control)} - ER_{(tratamiento)}}{ER_{(control)}} \times 100\%$$

Análisis Estadístico. Los experimentos fueron realizados aleatoriamente, con un tratamiento y tres réplicas para el análisis preliminar, además de dos grupos de controles con tres tratamientos y tres réplicas cada uno. En el caso de los compuestos más activos, se realizaron tres tratamientos con tres réplicas a cada una de las concentraciones evaluadas, además de dos grupos de control con tres tratamientos y tres réplicas. Con estos datos y usando un intervalo de confianza de 95% (IC95%) se realizó un análisis de varianza (ANOVA), usando el software GraphPadPrism® Versión 4.0b (GraphPad 2004) para Macintosh. Para cálculo del porcentaje de mortalidad se usó la fórmula de Abott para corregir la mortalidad natural ocurrida en el control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 muestra los efectos de los aceites ensayados; en cuanto a la supervivencia de la garrapata, se considera que ésta ha muerto (Figura 1A) cuando pierde completamente la capacidad de poner huevos (Figura 1B), como es el caso de los aceites de *L. alba*, qt carvona.

Tabla 2. Efecto preliminar de aceites esenciales.

Aceite	% PV	Peso garrapatas, g	Peso Huevos, g	Inhibición Oviposición, %	Mortalidad %
<i>L. alba</i> , qt linalol	1%	1,87	0,02	95,94	88,26
<i>L. alba</i> , qt dihidrocarvona	1%	1,71	0,16	64,54	64,38
<i>L. alba</i> , qt carvona	1%	2,26	0,00	100,00	100,00
<i>Tagetes minuta</i>	1%	2,55	0,13	80,68	52,00
<i>Lippia alba</i>	1%	2,15	0,11	80,61	76,00
<i>S. molle</i>	1%	2,06	0,66	-21,40	-8,00
<i>L. angustifolia</i> x <i>L. latifolia</i>	1%	2,51	0,9	-35,861	-7,89
<i>Hissopus officinalis</i> L	1%	2,31	0,00	99,83	76,00
<i>Rosmarinus officinalis</i> L	1%	2,09	0,65	-17,84	4,06
<i>Cupressus sempervirens</i> L	1%	2,33	0,47	23,56	40,06
<i>Lavandina abrial</i>	1%	1,98	0,33	36,84	52,46
<i>Salvia officinalis</i>	1%	2,07	0,46	15,79	28,00
M1	1,0%	2,37	0,00	100,00	100,00
M2	1,0%	2,02	0,00	100,00	100,00
F1	1,00%	2,69	0,81	-7,16	-6,08
F2	1,00%	2,64	0,65	12,46	-5,00
Blanco	30%	1,98	0,53	0,00	0,00
Cipemetrina	Recomendada	2,1375	0,012	97,66	96,99

Figura 1A

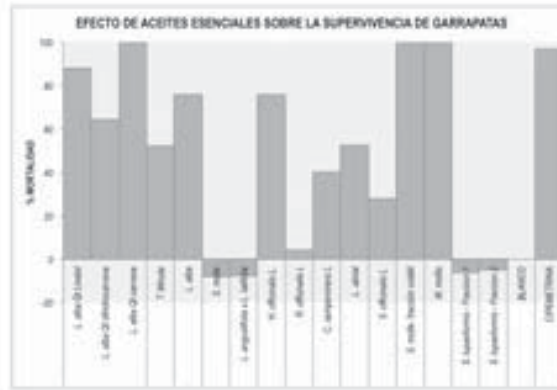


Figura 1B

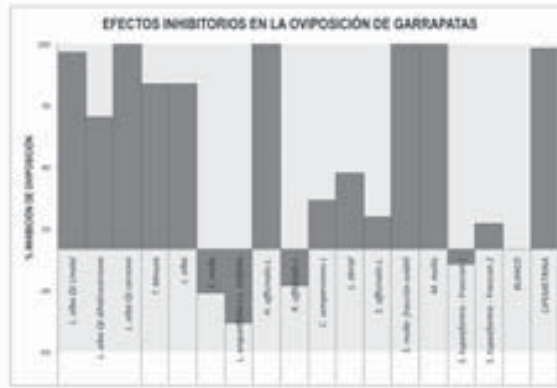


Figura 1. Índice de Mortalidad (A) e inhibición de la oviposición de garrapatas (B) causada por aceites esenciales.

Al evaluar únicamente los aceites de Hisopo y *Lippia alba* en varios quimiotipos, al 0.5 y 0.1%; se aprecia que en general hay una notable disminución del efecto, la cual es dependiente de la concentración, siendo más pronunciada para la inhibición de la oviposición que sobre la mortalidad (Figura 2A), aunque en el caso del Hisopo parece existir una respuesta inversa a ambas concentraciones (Figura 2B).

Figura 2A



Figura 2B



Figura 2. Índice de mortalidad (A) e inhibición de la oviposición de garrapatas (B) causadas por los aceites esenciales de Hisopo y *Lippia alba* (varios quimiotipos) al 0.5 y 0.1%.

CONCLUSIONES

Los aceites esenciales parecen ser las sustancias más prometedoras en cuanto a las posibilidades como potenciales acaricidas (Kiss y col., 2012, Kim y col., 2004) e insecticidas y repelentes (Bissinger y Rao, 2010), ya que siendo eventualmente activas, son volátiles, y su volatilidad se puede manipular

por medio de un vehículo adecuado o a través de encapsulación; ya existe en el mercado una buena oferta de ellos a precios razonables, excepto aquellos de un valor agregado muy alto por su destinación a la cosmética. Sin embargo, esta clase de sustancia tampoco está exenta de efectos secundarios, como por ejemplo citronelal y algunos aceites que lo contienen son fuertemente fototóxicos.

Por otra parte, los efectos encontrados con varios quimiotipos de *Lippia alba* podrían indicar que la sustancia responsable de la acción sobre la oviposición y la postura estaría en concentraciones muy bajas o bien que se presentan un fenómeno de sinergismo entre varios de sus componentes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CYTED (acción 308AC0334, Productos naturales contra parásitos externos del ganado (bovino y ovino) tales como mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*) y garrapatas (*Boophilus microplus*) y a la Universidad de Antioquia (Programa Sostenibilidad), la financiación de este trabajo. JFG agradece a COLCIENCIAS (Colombia) una beca de doctorado.

REFERENCIAS

- Bissinger, BW, Roe, RM. 2010. Tick repellents: Past, present, and future. *Pestic Biochem Physiol* 96: 63-79.
- Borges, LM., Sousa, LA., Barbosa, CS. 2011. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol Vet* 20: 89-96.
- Burillo-Alquézar J. (Ed.) 2003. Investigación y experimentación de plantas aromáticas y medicinales en Aragón. Cultivo, transformación y analítica. INO Reproducciones SA Zaragoza (España), p. 262.
- Kim, SYJ., Tak, J., Ahn, Y. 2004. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Vet Parasitol* 120: 297-304.
- Kiss, T., Cádár, D., Spínu, M. 2012. Tick prevention at a crossroad: New and renewed solutions. *Vet Parasitol* 187: 357-366.
- George, DR., Guy, JH., Arkle, S., Harrington, D., Luna, C. D., Okello, E.J., Shiel, RS., Port, G., Sparagano, O. A. E. 2008. Use of plant-derived products to control arthropods of veterinary importance: A review. *Ann N Y Acad Sci* 1149: 23-26.
- Lwande, W., Ndakala, A. J., Hassanali, A., Moreka, L., Nyandat, E., Ndungu, M., Amiani, H., Gitu, P. M., Malonza, M. M., Punyua, D. K. 1999. Gynandropsis gynandra essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) repellents. *Phytochemistry* 50: 401-405.
- Mägi, E., Jarvis, T., Miller, I. 2006. Effects of different plant products against pig mange mites. *Acta Vet Brno* 75: 283-287.
- Silva, W. C., de Souza Martins, J. R., de Souza, H. E. M., Heinzen, H., Cesio, M. V., Mato, M., Albrecht, F., de Azevedo, J. L., de Barros, N. M. 2009. Toxicity of Piper aduncum L. (Piperales: Piperaceae) from the Amazon forest for the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* 164: 267-274.
- Tunón, H., Thorsell, W., Mikiver, A., Malander, I. 2006. Arthropod repellency, especially tick (*Ixodes ricinus*), exerted by extract from Artemisia abrotanum and essential oil from flowers of *Dianthus caryophyllum*. *Fitoterapia* 77: 257-261.

Introducción a la biología de la mosca de los cuernos y a las estrategias utilizadas para su control

MARTÍN BREIJO

Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación
Facultad de Medicina- Universidad de la República
Montevideo- URUGUAY

Autor para correspondencia: mbreijo@fmed.edu.uy

Palabras clave. Mosca de los cuernos; ciclo biológico; fenotipos bovinos

RESUMEN

La mosca de los cuernos, *Haematobia irritans irritans*, es un parásito hematófago del bovino que en condiciones de altas cargas parasitarias, genera pérdidas económicas debido a caídas en la producción de carne y leche, y por ser vector de enfermedades virales y bacterianas. En la actualidad las estrategias de control dependen de la utilización de insecticidas sobre el animal o sobre sus heces, lo cual incide directamente en la contaminación del medio ambiente. Por otra parte, varios autores han reportado la generación de resistencia a estos productos. Muchos grupos de investigación vienen trabajando en el desarrollo de nuevas herramientas de control, tanto a través de la búsqueda de nuevos productos insecticidas (más amigables con el medio ambiente) o utilizando vacunas capaces de inducir el control de las cargas parasitarias. Para ello se hace necesario conocer el ciclo biológico del insecto, su comportamiento en distintos hospedadores, su distribución en las diferentes regiones y las bases inmunológicas de la interacción parásito hospedador.

El presente trabajo es una reseña introductoria sobre los aspectos más relevantes de la biología del parásito y algunos avances en la búsqueda de nuevas herramientas de control.

INTRODUCCION

La mosca de los cuernos (*Haematobia irritans irritans*) es un parásito hematófago de distribución mundial que afecta principalmente al ganado bovino causando importantes pérdidas económicas (Cupp y col., 2004). Las altas cargas parasitarias pueden causar en los bovinos un importante stress, generando así pérdidas en la ganancia de peso, en la producción lechera y en la calidad de los cueros obtenidos. También es importante considerar su rol como vector de enfermedades virales, bacterianas y parasitarias (Tarry y col., 1991). En Uruguay, se la ha asociado con importantes pérdidas en la industria del cuero (Vanzini y col., 1997), mientras que en EUA se considera que esta parasitosis genera pérdidas anuales por 1 billón de dólares. (Cupp y col., 2004).

Esta mosca es originaria de Europa e ingresó a América del Sur a través de Venezuela y Colombia por los años 1930; luego dicha población de moscas se desplazó hacia el sur diagnosticándose en Argentina y Uruguay en 1991. Este insecto tiene un tamaño de 2 a 3,5 mm y lo que