

## Efecto larvicida *in vitro* de extractos de pastos nativos contra garrapatas (*Boophilus microplus*) (Canestrini 1888)

### *In vitro* larvicide effect of native grass extract in ticks (*Boophilus microplus*) (Canestrini, 1888)

Tapias V. M. del C.<sup>1</sup>, Farah C. K.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Docente Facultad Ciencias Pecuarias, Universidad Autónoma del Beni.

<sup>2</sup> Técnico, Departamento de Ganadería, Gobernación del Departamento del Beni.

#### RESUMEN

Se determinó el efecto larvicida de extractos de pastos nativos en garrapatas *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888). Las muestras de garrapatas fueron cosechadas al azar, provenientes de bovinos y cultivadas artificialmente para su reproducción en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias Pecuarias. Las larvas fueron sometidas a la acción *in vitro* de extractos provenientes de tres pastos nativos, *Leersia hexandra* (Arrocillo), *Paspalum virgatum* (Paja Toruna) y *Paspalum laxum* (Pasto de Bajío). Obtenidas las larvas y extractos se realizó la prueba de inmersión larvaria (PIL). Los resultados evidenciaron un efecto larvicida del extracto de *P. laxum* de 100%; *L. hexandra* 78% y *P. virgatum* 68%, comparado con el grupo testigo que presentó 59% de mortalidad larvaria ( $P < 0,05$ ). Se concluyó que, los extractos de los tres pastos nativos tienen un alto efecto larvicida *in vitro* en la especie *Boophilus microplus*. Se sugiere continuar con pruebas *in vivo* para el control de garrapatas en bovinos.

**Palabras clave:** Extracto de pasto, larvicida, *Boophilus microplus*

#### ABSTRACT

*In vitro* larvicide effect of native grass extract in *Boophilus microplus* (Canestrini 1888) ticks was determined. Ticks were random collected from bovines and artificially reproduced in the Pharmacology Laboratory of Animal Sciences Faculty, Universidad Autónoma del Beni.

Larvae were placed to the *in vitro* action of three native grass extracts, *Leersia hexandra* (Arrocillo), *Paspalum virgatum* (Paja Toruna) y *Paspalum laxum* (Pasto de Bajío). Larval immersion test was made. The results showed a 100% larvicide effect of *P. laxum*, 98.5% *L. hexandra* and 98% *P. virgatum*, compared with the witness group of 59% larvae mortality ( $P < 0,05$ ). Finally, it was conclude that the three native grass extract have a high *in vitro* larvicide effect in *Boophilus microplus*. It is recommended to continue with *in vivo* tests for bovine ticks control.

**Key words:** Grass extract, larvicide, *Boophilus microplus*.

#### INTRODUCCIÓN

Las garrapatas del género *Boophilus* son ectoparásitos que ocasionan cuantiosas pérdidas económicas directas e indirectas en los sistemas de explotación bovina a nivel mundial, como ser, menor cantidad de alimentos ingeridos por el ganado, pérdidas de peso por toxinas e irritación, anemias producidas por pérdidas de sangre y transmisión de agentes patógenos como bacterias, rickettsias y hemoparásitos, además de la considerable depreciación de las pieles.

El Beni es parte de la región tropical amazónica de Bolivia, cuya principal actividad económica es la cría de ganado bovino en sistemas de manejo extensivo, mayormente en pasturas

nativas, lo que otorga una ventaja comparativa para mantener un bajo costo de producción. Sin embargo, los índices productivos son bajos y uno de los factores negativos en la productividad de los animales, es la existencia de una diversidad de parásitos que gracias a las altas temperaturas del medio, encuentran su hábitat ideal. En esta región, estudios del Centro Nacional de Mejoramiento de Ganado Bovino han demostrado que las enfermedades más comunes en el ganado bovino son las hemoparasitosis causadas por *Babesia* y *Anaplasma*, las cuales son transmitidas por garrapatas y que además producen mayores pérdidas económicas por disminución en la producción y por muerte de los animales. Panduro y Tapias (2009), conjuntamente con Zeballos y Tapias (2009), determinaron la prevalencia de ixódidos *Boophilus* en ganado lechero de la Provincia Cercado de Beni, el cual fue de 64.92%.

El control sobre estos artrópodos se realiza mediante la aplicación sistemática de acaricidas, ocasionando resistencia a tales compuestos y además un impacto negativo en la salud pública debido a los residuos en el ambiente y los productos pecuarios. En años recientes se están usando medidas para apoyar el desarrollo de programas de manejo integrado como el control biológico, favoreciendo el pastaje en plantas con características garrapaticidas.

Las especies nativas *Leersia hexandra* (Arrocillo), *Paspalum virgatum* (Paja toruna) y *Paspalum laxum* (Pasto de Bajío) constituyen de las más abundantes en las sabanas benianas y contienen un alto valor nutritivo. Por ello, estas especies fueron seleccionadas con el objetivo de evaluar su efecto larvicida *in vitro* contra larvas de garrapatas *Boophilus microplus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se efectuó en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias

Pecuarias de la Universidad Autónoma del Beni "José Ballivián", Trinidad, Beni, a 64° 54' de longitud Oeste y a 14° 50' de latitud Sur, con una elevación de 156 m sobre el nivel del mar, temperatura promedio anual de 27.6°C, humedad relativa de 87% y precipitación pluvial de 1900 mm anuales (AASANA, 2009).

**Pastos.** Se seleccionaron plantas completas de las especies nativas de pasto, *Leersia hexandra*, *Paspalum virgatum* y *Paspalum laxum* del "Jardín de pasturas" de la Facultad de Ciencias Pecuarias. Se cortaron a 10 cm del suelo y luego se sometieron a un proceso de deshidratación en estufa a una temperatura de 65 °C por 72 horas, hasta obtener la materia seca (MS) que fue triturada y molida. En laboratorio se obtuvo el extracto vegetal por el método de destilación, utilizando como solvente agua destilada y etanol en igual proporción, para lo cual se utilizaron 20 g de MS molida de cada uno de los pastos y 100 mL de solución alcohólica (50 mL de agua destilada y 50 mL de etanol), la solución se colocó en un matraz Kitasato y se calentó en una hornilla. El vapor obtenido pasó por el refrigerante, donde después de la condensación, las gotas fueron recolectadas en un vaso colector.

**Garrapatas.** Hembras adultas de *Boophilus microplus* se colectaron de bovinos con el método descrito por Gallardo y Morales (1999), haciendo girar las teleoginas hasta que se desprendan y tratando de conservar la integridad de las mismas. Se incubaron a 28°C con 80% de humedad hasta la ovoposición y posterior eclosión. Luego, las larvas fueron incubadas en frascos de cristal por siete días hasta su maduración en las mismas condiciones de temperatura y humedad.

**Bioensayo.** Se utilizó el método de inmersión larvaria descrito por Shaw (1965) según los siguientes pasos: sobres de papel filtro Whartman N°1 conteniendo 100 larvas maduras de garrapatas se sumergieron en extractos de pastos nativos por dos minutos,

mientras que el grupo testigo recibió el mismo tratamiento con agua destilada (tabla 1). Posteriormente se cultivó el material biológico a 28°C y 80% de humedad relativa por un periodo de 48 horas.

**Tabla 1.** Tratamiento larvica de extractos de tres pastos nativos del Beni contra garrapatas *Boophilus microplus* (Canestrini 1888)

| ITEM                                | TRATAMIENTO 1                       | TRATAMIENTO 2                        | TRATAMIENTO 3                     | TESTIGO        |
|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|----------------|
| Solución                            | Extracto de <i>Leersia hexandra</i> | Extracto de <i>Paspalum virgatum</i> | Extracto de <i>Paspalum laxum</i> | Agua destilada |
| Cantidad                            | 100 ml                              | 100 ml                               | 100 ml                            | 100 ml         |
| Concentración                       | 20%                                 | 20%                                  | 20%                               | 20%            |
| N° de repeticiones                  | 4                                   | 4                                    | 4                                 | 4              |
| Cantidad de larvas por repetición   | 100                                 | 100                                  | 100                               | 100            |
| Tiempo de inmersión                 | 2 min                               | 2 min                                | 2 min                             | 2 min          |
| Tiempo de incubación post-inmersión | 48 horas                            | 48 horas                             | 48 horas                          | 48 horas       |

La lectura se realizó al término de la incubación y se tomó como criterio la mortalidad de las larvas, considerando larva muerta a la que no demostró ningún movimiento. La eficacia del extracto se midió con la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia} = \frac{\text{Larvas muertas}}{\text{Larvas totales}} \times 100$$

**Análisis de los datos.** Para evaluar la eficacia de extractos crudos de las especies de pasto nativo *L. hexandra*, *P. virgatum* y *P. laxum* contra larvas de *Boophilus*, se utilizó un diseño completamente al azar, realizando un ANDEVA, tomando un modelo estadístico lineal, cuya fórmula es la siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{(ij)}$$

$Y_{ij}$  = Variable respuesta (número de garrapatas muertas para el iésimo tratamiento que se encuentra en la jésima repetición).

$\mu$  = Efecto de los factores constantes.

$T_i$  = Efecto del tratamiento i (i = 1, 2, 3 y 4).

$\varepsilon_{(ij)}$  = Error experimental observado en el tratamiento i, que se encuentra en la jésima repetición.

Se tomaron en cuenta tres tratamientos y un testigo, cada uno de los tratamientos representó a una especie de pasto nativo. Además se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. Para la comparación entre medias se utilizó la Prueba de Student, descrita por Moreno (2009).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 2 muestra el efecto larvica de las tres especies de pastos nativo del Beni, donde el extracto de *Paspalum laxum* demostró 100% de efecto larvica. Rosado-Aguilar *et al.* (2009) encontraron que la especie *Phytolaccaceae alliacea* mostró un efecto larvica de 86% y un efecto bloqueador de la oviposición de 91%, siendo nuestros resultados mayores a estos. También, el extracto de *Leersia hexandra* produjo la muerte al 98.5% de las larvas. Existen varios ensayos de plantas que mostraron efecto larvica, tal como menciona Cleves (2005)

en un trabajo que se realizó en el municipio de Boyacá, Colombia donde se probaron extractos de varias especies de plantas, mostrando eficacia el tabaco (*Nicotina tabacum*) con un 85% y la Altamisa (*Ambrosia cumanenses*) con 60%.

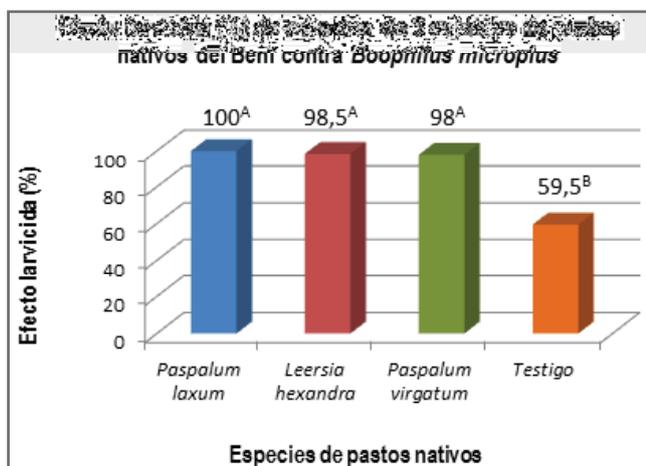
**Tabla 2.** Efecto larvicida *in vitro* de extractos de tres pastos nativos del Beni contra garrapatas *Boophilus microplus* (Canestrini 1888)

| Repeticiones | Porcentaje de larvas muertas           |   |   |                          |
|--------------|--|---|---|--------------------------|
|              | <i>Leersia hexandra</i><br>(Arrocillo) | <i>Paspalum laxum</i><br>(Pasto de Bajío) | <i>Paspalum virgatum</i><br>(Paja Toruna) | Testigo                  |
| 1            | 99                                     | 100                                       | 100                                       | 40                       |
| 2            | 97                                     | 100                                       | 100                                       | 80                       |
| 3            | 100                                    | 100                                       | 95  | 88                       |
| 4            | 98                                     | 100                                       | 97  | 30                       |
| <b>media</b> | <b>98,5<sup>A</sup></b>                | <b>100<sup>A</sup></b>                    | <b>98<sup>A</sup></b>                     | <b>59,5<sup>B*</sup></b> |

\*p<0.05

Se encontró una eficacia similar en el efecto larvicida contra *Boophilus microplus* en el extracto de *Paspalum virgatum* con un 98% (figura 1). Barros y Evans (1998) mencionan un trabajo realizado en plantas completas de tres *Brachiarias*, a las que se adicionó larvas de esta especie de garrapata, encontrándose “potencialmente muy letal” el efecto de *Brachiaria brizantha*. Lo que demostraría que existen numerosas especies de pastos que poseen este efecto.

Mérida y Tapias (2010) en la misma zona y utilizando los mismos métodos, midieron la acción larvicida de extractos de tres especies de *Brachiaria* contra *Boophilus microplus*, encontrando un porcentaje promedio de letalidad de 60,5%. Si comparamos estos resultados con los de la presente investigación, se observa una ventaja comparativa de las tres especies nativas que poseen mayor efecto larvicida *in vitro* contra *Boophilus microplus*.



**Figura 1.** Efecto larvicida de extractos de tres especies de pastos nativos del Beni, *P. laxum*, *L. hexandra* y *P. virgatum* contra *Boophilus microplus*. Letras distintas indican diferencias significativas (P < 0.05)

Comparando los resultados de las tres especies de pastos nativos entre sí, existe similar eficacia larvicida (P>0.05) contra *Boophilus microplus*, en contraste con el grupo testigo, donde el porcentaje de mortalidad fue de 59.5% (P<0.05).

## CONCLUSIONES

Los extractos de pastos nativos *Leersia hexandra*; *Paspalum virgatum* y *Paspalum laxum* muestran un alto efecto larvicida *in vitro* en garrapatas de la especie *Boophilus microplus*. Se sugiere continuar con investigaciones con pastos nativos *in vivo* para el control de garrapatas en bovinos.

## REFERENCIAS CITADAS

AASANA. (2009). Datos climatológicos y de referenciación geográfica. Trinidad, Beni, Bolivia : s.n.

Barros, A.T.M. de; Evams. D.E. (1998). Acao de gramineas forrageiras em larvas infestantes do carrapato dos bovinos *Boophilus microplus*. Recuperado el 12 de Agosto de 2010, de [www.ciat/controlbiologicosobrelagarrapata.com](http://www.ciat/controlbiologicosobrelagarrapata.com)

Cleves, V. (2005). Garrapatas. Recuperado el 12 de Agosto de 2010, de [www.ergomix.com](http://www.ergomix.com)  
Gallardo, J. M.; Morales, J. (1999). *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) preovoposición, ovoposición, incubación de huevos. *Bioagro* 11, 77-87.

Jiménez, E. (2002). Establecimiento y manejo de pasturas. Centro Nacional de Mejoramiento de Ganado Bovino, Santa Cruz, Bolivia.

Mérida, M., y Tapias, V. M.. (2009). Evaluación del efecto ixodicida de pastos del género *Brachiaria* contra larvas de *Boophilus microplus*. Tesis de grado. Trinidad, Beni, Bolivia: Universidad Autónoma del Beni “José Ballivián”.

Moreno, J. R. (2009). Texto de Metodología de la Investigación. En el curso de Doctorado

en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma René Moreno. Santa Cruz de la Sierra.

Panduro, M. y Tapias, V. M. (2009). Prevalencia de ixódidos en bovinos de grandes productores de la cuenca lechera del Área de Trinidad, departamento Beni, Bolivia. Tesis de grado. Trinidad, Beni: Universidad Autónoma “José Ballivián”.

Rosado-Aguilar, J. A.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Aguilar Caballero, A.; Borgas Argaez, R.; García Vasquez, Z; Méndez Gonzáles, M. y Cáceres, F. (2009). Acaricidal activity of extracts form *Petivera alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae), *Veterinary Parasitology*, 1:1-5

Shaw, R. (1965). Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Can) and an assessment of its resistance spetrum. 56:389-405.

Zeballos, J. I. y Tapias, V. M. (2009). Prevalencia de ixódidos (garrapatas) en bovinos de medianos y pequeños productores de la cuenca lechera del área de Trinidad, Departamento Beni, Bolivia. Tesis de grado. Trinidad, Beni, Bolivia: Universidad Autónoma del Beni “José Ballivián”.