

# ACCION REPELENTE Y ACARICIDA DEL *Melinis minutiflora* SOBRE EL *Boophilus microplus*

Libardo Hernández E., Químico Farmacéutico, Profesor Asociado, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional.

Danilo Parra G., Médico Veterinario, M.S., Laboratorio de Investigaciones Médico-Veterinarias, ICA.

Nancy Castañeda de Marín, Químico Farmacéutico, estudiante de posgrado.

## RESUMEN

Se determinó la actividad repelente y acaricida de tres fracciones ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ) del *Melinis minutiflora*, sobre larvas de *Boophilus microplus* de 14-16 días de edad en ensayos "in vitro". Para los ensayos "in vivo" se utilizaron bovinos de 6 meses con infestación artificial y natural. Se comparó la actividad repelente de las diferentes fracciones y del Cumafos observándose una acción el 100% para la fracción  $F_3$  y 40% para el Cumafos, en los ensayos "in vitro". La acción acaricida "in vitro" fue del 95% para  $F_3$  y 93% para Cumafos. Los resultados de la investigación artificial muestran una eficacia del 62% para la fracción  $F_3$  al 10% y de 95% para Cumafos. En la infestación natural la fracción  $F_3$  al 20% presentó una eficacia del 92%, igual al Cumafos.

Se concluye que la fracción  $F_3$  correspondiente al aceite de *Melinis* es la responsable de la actividad biológica, encontrándose una correlación entre la actividad "in vitro" e "in vivo".

## SUMMARY

The repellent and acaricide activity of three fractions ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ) obtained from the petroleum ether extracts of the grass *Melinis minutiflora* were determined in this work. The "in vitro" test were conducted on larvae of the tick *Boophilus microplus* aged 14 to 16 days. The fraction  $F_3$  showed 100% and 93% respectively for Cumafos. The "in vivo" tests were made on two groups of bovines; one group artificially infested and the other one naturally infested. Cumafos was also used as a reference standard. A 10% solution of  $F_3$  exhibited 62% efficacy in the artificially induced infection. A 20% solution of  $F_3$  reduced the natural infection by 92%. Cumafos showed 95% and 92% efficacy, respectively.

It can be concluded that the biological activity of the grass is due mainly to fraction  $F_3$ . There is a good correlation between the "in vivo" and "in vitro" activities.

## INTRODUCCION

Es conocido en el país el grado de contaminación ambiental que ocasionan los plaguicidas y en especial los órganofosforados, órganoclorados, carba-

matos y piretrinas, los cuales se usan indiscriminadamente, afectando así el ambiente, los animales y los operarios. Con el uso de productos de origen natural se puede contribuir a evitar parte del desequilibrio ecológico y la contaminación ambiental.

En la búsqueda de alternativas para el control de garrapatas ha surgido el interés científico en el pasto *Melinis minutiflora* basado en observaciones de campo en el sentido de que los ganados alimentados en praderas de este pasto presentan niveles muy bajos de infestación por garrapatas, en comparación con potreros vecinos con otro tipo de pasto, donde la infestación es mayor. Por la razón anteriormente expuesta surgió la inquietud de determinar si el *Melinis* realmente tenía o no una acción biológica sobre las garrapatas y en especial sobre el *Boophilus microplus*, por ser esta especie la que mayores problemas sanitarios y económicos presenta a la ganadería del país en las zonas tropicales y subtropicales.

## REVISION BIBLIOGRAFICA

La industria ganadera en el país es una actividad importante por sus aportes al producto interno bruto. En efecto el valor de su producción en 1978, alcanzó a \$177.801 millones, lo que equivale al 20.9% del valor bruto de la producción agropecuaria, y al 5.9% del valor bruto de la producción total del país. La población bovina en Colombia, se estimó en 1980, en 22 millones de cabezas (1).

Uno de los problemas graves que afectan la producción ganadera de las zonas tropicales y subtropicales del mundo, es la infestación por parásitos externos, dentro de los cuales se encuentra la garrapata. Estas pérdidas están representadas en muerte de animales, disminución en la producción de carne y leche, retardo en el crecimiento, daño en las pieles, las cuales pueden perder hasta un 50% de su valor, además de las enfermedades que pueden transmitir como son las babesiosis y la anaplasmosis (2,3,4,5,6,7).

El pasto *Melinis minutiflora* aunque es *nativo* del África del Sur donde se denomina pasto Melazas, se conoció por primera vez en Brasil. En Colombia se le distingue con los nombres de Chopin, Gordura y Yaraguá. Segundo el padre Enrique Pérez Arbeláez (8), fue el general Rafael Uribe quien lo introdujo en 1906, y la primera muestra que entró al Herbario Nacional de Colombia, fue hecha por Archer y colecciónada en Anolaima en 1935, con los nombres de Yaraguá y Gordura.

En la actualidad esta planta se encuentra ampliamente distribuida en terrenos fértilles y bien drenados, prospera en suelos pobres y crece en alturas comprendidas entre los 200 y 2.500 metros sobre el nivel del mar en climas cálidos y templados (9, 10).

Las investigaciones de campo realizadas por el Instituto Colombiano Agropecuario (Carimagua), durante el período 1978-1981, sobre cinco pastos: *Brachiaria decumbens*, *Andropogon gayanus*, *Melinis minutiflora* (Gordura) *Hyparrhenia rufa* (puntero), *Trachipogon vestitus* (Paja llanera), con el fin de determinar si las 5 gramíneas mencionadas eran igualmente receptivas a las larvas del *Boophilus microplus* reportan que las hojas verdes del pasto gordura (*Melinis minutiflora*) son inhóspitas para las larvas (11). Además existe información bibliográfica de experimentos realizados en Filipinas por Zácarías de Jesús, en 1934, cuyos resultados concuerdan con los trabajos realizados en Colombia (12).

El Programa de Parasitología y Entomología Veterinaria del ICA, realizó estudios sobre bioecología de las garrapatas *Boophilus microplus* en las condiciones de los Llanos Orientales, en 4 gramíneas (*Andropogon gayanus*, *Brachiaria decumbens*, *Melinis minutiflora* y *Trachipogon vestitus*), determinándose que en el pasto *Melinis* los niveles de infestación eran bajos y estables (13). Sin embargo, no estaba clara la interacción garrapata-*Melinis*.

Con base en estas observaciones de campo y de que los métodos actuales para el control de garrapatas no ofrecen garantía completa debido al desarrollo de cepas resistentes, como en el caso de *Boophilus microplus* (14), es necesario investigar sobre posibilidades de control. Por tal motivo se diseñó el presente trabajo cuyo objetivo fué determinar la acción repelente y acaricida de los extractos del pasto *Melinis minutiflora* sobre la garrapata *Boophilus microplus*.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Obtención de Fracciones

El pasto *Melinis minutiflora* se sometió a una extracción con éter de petróleo para obtener el extracto total que se denominó  $F_1$ . Del extracto total se precipitaron las ceras ( $F_2$ ) por tratamiento con metanol y se filtró al vacío obteniéndose una fracción aceitosa ( $F_3$ ).

Pruebas "in vitro" e "in vivo" se realizaron en las instalaciones del Centro Diagnóstico, Instituto Colombiano Agropecuario ICA, en Villavicencio, a una temperatura de 27°C y a una altura de 467 m.s.n.m.

### Larvas

Las teleoginas de *Boophilus microplus* para la obtención de larvas se recolectaron en el matadero de Villavicencio.

Viales con garrapatas ingurgitadas se colocaron al medio ambiente hasta su postura. Los huevos se incubaron también a medio ambiente para permitir la eclosión de las larvas, las cuales se emplearon para las diferentes pruebas a una edad de  $16 \pm 4$  días.

En el diseño experimental se utilizaron hojas de pasto *Brachiaria decumbens* de una longitud de 15 cm, las cuales se impregnaron en su extremo superior (5 cm) con las siguientes sustancias:

- Cumafo\* (Según recomendaciones de la casa productora)
- Cloroformo R.A.
- Extracto total de *Melinis* ( $F_1$ )
- Ceras del *Melinis* ( $F_2$ )
- Aceite del *Melinis* ( $F_3$ )

Hojas de *Brachiaria* sin acondicionar ninguna sustancia sirvieron como controles. Cada ensayo tuvo 10 replicaciones.

Las hojas impregnadas con las diferentes sustancias se colocaron en viales que contenían larvas de *Boophilus* y la prueba se observó a las 1, 6 y 24 horas.

Del aceite del *Melinis* se utilizaron 10 diluciones para determinar las concentraciones a las cuales se presentaba la acción repelente.

### Garrapatas

Las teleoginas se colocaron sobre una cinta adhesiva y se impregnaron con cumafo, el aceite de *Melinis* y otras sirvieron de control. Las observaciones se hicieron diariamente para determinar tanto la acción acaricida como la oviposición de las garrapatas.

### Pruebas "in vivo"

#### Infestación artificial

Se utilizaron 3 terneros de 6 meses de edad, de raza Holstein procedentes de la Sabana de Bogotá, los cuales no habían estado en contacto con garrapatas.

\* Nombre registrado Asuntol 0,0-Dietil-0-(3 cloro, 4 metil, 7 cumarinil) tiofosfato.

Los terneros se infestaron con aproximadamente 8.000 larvas de *Boophilus* por animal, después de haber sido bañados uno con cumafo, otro con aceite del *Melinis* el cual se dispersó en los mismos vehículos del cumafo, empleando una concentración del 10%. Al tercer animal no se le hizo tratamiento.

Después de la infestación se realizaron recuentos de garrapatas sobre la mitad derecha de los animales, a los 18, 20 y 22 días.

#### Infestación Natural

Se utilizaron 3 terneros con las mismas condiciones que para la infestación artificial. Un potrero de 1/4 de hectárea y sembrado con *Brachiaria decumbens*, se infestó con 1.050 garrapatas adultas. Dos meses más tarde, después de permitir la postura de huevos y la eclosión de las larvas y comprobarse la infestación de los pastos, se introdujeron los animales previamente tratados el día anterior así:

Un ternero se bañó con cumafo: otro ternero se bañó con una concentración del 20% del aceite del *Melinis*, disperso en los mismos vehículos del producto comercial. Al tercer animal no se le hizo ningún tratamiento.

El recuento de garrapatas se efectuó en la misma forma que para los animales con infestación artificial.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

El rendimiento de cada una de las fracciones obtenidas del *Melinis minutiflora* fue: Extracto total ( $F_1$ ) 19%, Ceras ( $F_2$ ) 0.89% y aceite ( $F_3$ ) 0.9%.

#### Ensayos "in vitro"

En la tabla 1, se muestran los resultados de la acción repelente de la fracción  $F_3$  del *Melinis minutiflora* sobre larvas de *Boophilus microplus* a diferentes concentraciones, se observa que este efecto es dependiente de la concentración y que sólo se presenta en forma notoria por encima del 15%, obteniéndose un 100% de repelencia a una concentración del 20%.

En la Tabla 2, se compara la acción repelente de las fracciones  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  y del cumafo sobre las larvas del *Boophilus microplus* después de 1, 16 y 24 horas. La fracción  $F_3$  presentó un efecto repelente del 100%, efecto que persistió por 7 días, mientras que con el cumafo se presentó una acción repelente inicial, 6 horas, pero un efecto repelente del 30% y con  $F_2$  no se presentó efecto.

Estos resultados demuestran un efecto repelente de la fracción  $F_3$  lo cual está de acuerdo con las observaciones de campo.

#### Ensayo sobre teleoginas

Los resultados de la acción acaricida de la fracción  $F_3$  al 20% comparada con el cumafo sobre las teleoginas se presentan en la tabla 3. Se observó con la fracción  $F_3$  una mortalidad del 100% entre el 3º y 4º días, mientras que con el patrón cumafo la mortalidad se presentó entre el 6º y 7º días y los controles entre el 8º y 10º días.

Esto nos indica una actividad más rápida para la fracción  $F_3$  comparada con la acción del cumafo.

En este ensayo también se determinó la inhibición de la oviposición la cual fué del 90% para el cumafo y de 92% para la fracción  $F_3$ .

**TABLA No. 1**

#### ACCION REPELENTE DE LA FRACCION $F_3$ SOBRE EL *BOOPHILUS MICROPLUS* A DIFERENTES CONCENTRACIONES

FRACCION $F_3$ (Concentración en %)	REPELENCIA
20	+++ +
19	++ +
18	++ +
17	++ +
15	++
10	+
5	-
1	-

+ + + + = Máxima repelencia (90-100%)  
 + + + = Repelencia apreciable (30-60%)  
 + + = Poca repelencia (10-30%)  
 + = Repelencia mínima (10% o menos)  
 - = No se presentó actividad

**TABLA No. 2**

#### ACCION REPELENTE DE LAS FRACCIONES $F_1$ , $F_2$ Y $F_3$ Y DEL CUMAFOS SOBRE LARVAS DE *BOOPHILUS MICROPLUS*

Sustancia	Hora	1 REPELENTE %	6 REPELENTE %	24 REPELENTE %
Blanco		0	0	0
Cloroformo		0	0	0
<i>Melinis F<sub>2</sub></i>		0	-	0
<i>Melinis F<sub>1</sub></i>		30	30	30
Cumafo		70	60	70 M
<i>Melinis F<sub>3</sub></i>		100	100	100

M = Mortalidad.

**TABLA No. 3**

**COMPARACION DE LA ACCION  
ACARICIDA E INHIBICION DE LA  
OVIPOSICION DE LA FRACCION F<sub>3</sub> Y  
EL CUMAFOS**

Días Sustancias	Total	Mortalidad		Inhibición Oviposición %
		Garrapatas	días	
Melinis F <sub>3</sub>	60	3-4	100	92
Cumafos	60	6-7	100	90
Control	60	8-10	0	0

**Infestación Artificial**

En la tabla 4, se comparan los resultados de la efectividad de la fracción F<sub>3</sub> a una concentración del 10% y la del cumafos 1:1000 en la infestación artificial con larvas de *Boophilus microplus*. Podemos observar que los mayores recuentos se presentaron el día 18 disminuyendo ligeramente el grado de infestación los días 20 y 22. De acuerdo con estos resultados y tomando como el 100% la infestación del control se calculó la efectividad encontrándose un 62% para la fracción F<sub>3</sub> y un 95.6% para el cumafos. Esto nos demuestra que la fracción F<sub>3</sub> presenta actividad sobre el *Boophilus microplus* cuando es aplicada sobre animales infestados en forma artificial por garrapatas susceptibles. Debido a que su efecto está en relación directa con la concentración como se demostró en los ensayos "in vitro" (tabla 1), se espera obtener una mayor eficacia al aumentar la concentración.

**TABLA No. 4**

**ACTIVIDAD DE LA FRACCION F<sub>3</sub> Y DEL  
CUMAFOS SOBRE LARVAS DE *BOOPHILUS  
MICROPLUS* EN UNA INFESTACION  
ARTIFICIAL**

Sustancia	RECUENTO DE GARRAPATAS				Efectividad
	18 días	20 días	22 días	Promedio (X)	
Cumafos	14	1.0	9	10	95.64%
Melinis F <sub>3</sub>	110	92	79	87	62.01%
Control	251	240	231	229	0

**Infestación Natural**

En la tabla 5, se compara la efectividad de la fracción F<sub>3</sub> al 20% y del cumafos sobre larvas de *Boophilus microplus* en animales previamente bañados con estos productos y expuestos a una infestación natural. Los recuentos de las larvas se efectuaron los días 18, 20 y 22, teniendo en cuenta el tamaño de las garrapatas, el cual no debía ser inferior de 4.5 mm. Los mayores recuentos se observaron el día 20 para los 3 grupos tomándose como 100% la infestación del grupo control. Tanto la fracción F<sub>3</sub> como el cumafos presentaron una eficacia del 92%.

**TABLA No. 5**

**COMPARACION DE LA EFECTIVIDAD DE  
LA FRACCION F<sub>3</sub> Y EL CUMAFOS EN LA  
INNFESTACION NATURAL CON LARVAS  
DEL *BOOPHILUS MICROPLUS***

Sustancia	RECUENTO DE LARVAS				EFFECTIVIDAD %
	18 días	20 días	22 días	Promedio (X)	
Cumafos	109	132	83	108	92
Melinis F <sub>3</sub> (20%)	103	128	117	116	92
Control	1335	1415	1415	1388	0

Se concluye que la fracción F<sub>3</sub> es activa en las condiciones del experimento de campo y que presenta actividad contra el *Boophilus microplus* comparable a la del cumafos.

**CONCLUSIONES**

En el presente trabajo se demostró la actividad repelente, acaricida y ovicida de una fracción del *Melinis minutiflora* sobre *Boophilus microplus* lo cual está de acuerdo con las observaciones de campo (2,10,11,14) en las cuales se reporta que los ganados que pastan en potreros de *Melinis minutiflora* presentan una menor infestación por *Boophilus microplus* que los que pastan en potreros vecinos con otros tipos de gramíneas. Por otro lado se creía que esta acción obedecía a un efecto de tipo físico, atribuida al contacto de los ácaros con los pelos de las hojas del *Melinis* impidiendo el avance de las larvas; al demostrar que la fracción presenta acción repelente, acaricida y ovicida podemos afirmar que los efectos observados son de naturaleza química y no de naturaleza física como se creía.

Se mostró también que la Fracción correspondiente al aceite del *Melinis minutiflora* es la responsable de la actividad biológica, encontrándose una correlación entre la actividad "in vitro" e "in vivo".

## BIBLIOGRAFIA

1. ALARCON M.E., BROCHERO B.M., BURITICA C.P., GOMEZ J.J., OROZCO L.R., PARRA F.D., VILLAMIL J.L.C. Sector Agropecuario Colombiano Diagnóstico Tecnológico, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Bogotá pp. 642-700. 1980.
2. PEÑA N.E., VILLAMIL L.C., PARRA F.D., LOBO A.C. Las enfermedades de los animales en Colombia, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Colombia. P. 41-44. 105-215. 1980.
3. LOPEZ V.G. Bioecología y distribución de garrapatas en Colombia en "Control de Garrapatas". Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. Compendio No. 39. p. 33-43. 1980.
4. THOMPSON K.C., ROA J., ROMERO T. Anti-Grasses As The bases for developing. Practical tropical tick control packager. Trop. Anim. Heth Produc 10; 179-182. 1940.
5. VIZCAINO G.O. Impacto económico de los Hemoparásitos y sus vectores en ganado de leche. I Simposio Colombiano sobre transtornos de la reproducción en ganado lechero. Bogotá, D.E., Colombia. p. 37-42. 1981.
6. VALDEZ A. Algunos aspectos económicos de la industria ganadera en América Latina. Seminario sobre el potencial para la reproducción de ganado de carne en América Tropical. p. 193-211. 1974.
7. PARRA F.D. Campaña Nacional de lucha contra la garrapata. Tercera Conferencia de la O.I.E. pp. 23-28. 1976.
8. PEREZ A.E. Plantas útiles de Colombia. Sucesores de Rivadaneira (S.A.) Onésimo Redondo. Tercera redacción. Madrid pp. 401-402.
9. ALARCON M.E., BERNAL E.J., BERMUDEZ L.A., BUSTAMANTE E. Gramíneas y Leguminosas Forrajeras en Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). pp. 104-107. Colombia 1970.
10. CHASE A., NILES C. Index to grass Species, Boston. G.H. Hahh. 1962.
11. AYCARDI E., BENAVIDES E., GARCIA O., MATEUS G., HENAO F. Bioecología de la garrapata, *Boophilus microplus* en novillas en cuatro pastos en los Llanos Orientales de Colombia. XIII Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Colombia p. 37. 1982.
12. DE JESUS Z. The Repellent and Killing EF-FETS of Gordura grass on the larvae of the cattle tick *Boophilus microplus australis*. The Philippine Journal of animal Industry 1: 193-207, 1934.
13. LOPEZ U.A., ALARCON M.E., BERNAL J.E., BERMUDEZ L.A., BUSTAMANTE E. Gramíneas y Leguminosas Forrajeras en Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. Colombia p. 204-205. 1970.
14. BETANCOURT E.A. Resistencia de garrapatas e insecticidas en "Control de Garrapatas". Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Compendio No. 39 p. 81-110. 1980.