



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**

*La Universidad Católica de Loja*

**ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA**

**BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO**

Evaluación in vitro del efecto acaricida del citral y pulegón sobre la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

TRABAJO DE TITULACIÓN

**Autora:** Sanmartín Puglla, Leidy Fernanda

**Directora:** Guzmán Ordoñez, Lucía Teresa

LOJA – ECUADOR

2020



*Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>*

2020

## Aprobación del director del trabajo de titulación

Loja, 09 de noviembre, de 2020

Lucía Teresa Guzmán Ordoñez

**Coordinador(a) de carrera**

Ciudad.-

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado: **Evaluación in vitro del efecto acaricida del citral y pulegón sobre la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*** realizado por **Leidy Fernanda Sanmartín Puglla**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo. Así mismo, doy fe que dicho trabajo de titulación ha sido revisado por la herramienta antiplagio institucional.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Firma

Lucía Teresa Guzmán Ordoñez

### **Declaración de autoría y cesión de derechos**

“Yo, **Leidy Fernanda Sanmartín Puglla**, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente: Ser autor(a) del Trabajo de Titulación denominado: Evaluación in vitro del efecto acaricida del citral y pulegón sobre la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, de la Titulación Bioquímica y Farmacia, siendo Lucía Teresa Guzmán Ordoñez, directora del presente trabajo; y, en tal virtud, eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual. Además, ratifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de mi exclusiva responsabilidad.

Que mi obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

Autorizo a la Universidad Técnica Particular de Loja para que pueda hacer uso de mi obra con fines netamente académicos, ya sea de forma impresa, digital y/o electrónica o por cualquier medio conocido o por conocerse, sirviendo el presente instrumento como la fe de mi completo consentimiento; y, para que sea ingresada al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma: .....  
Autor: Leidy Fernanda Sanmartín Puglla  
C.I.: 1106056110

### **Dedicatoria**

Este proyecto de tesis se lo dedico a mis padres René y Norma por ser los pilares fundamentales en mi vida; a mi padre por su apoyo incondicional, por darme siempre ánimos para seguir adelante, por ser mi guía en toda mi vida y sobre todo por ser mi héroe; a mi madre por ser mi compañera durante mi vida estudiantil, gracias por ser mi fortaleza y por sus sabios consejos

A mi hermana quién me ayuda en cada instante y está conmigo en los momentos más difíciles motivándome a cumplir mis metas.

A mis abuelitos Lorenzo y Rosa, Medardo y Amada quienes me han motivado a alcanzar mis sueños dándome fuerza y apoyo en cada uno de mis tropiezos y brindándome interés en cada proyecto de mi vida.

*Leidy Fernanda Sanmartín Puglla*

## **Agradecimiento**

Agradezco infinitamente a Dios por haberme dado la oportunidad de haber alcanzado una meta más en mi vida y principalmente por darme la sabiduría y el conocimiento para alcanzar mis propósitos y celebrarlos junto con mis seres queridos.

Mis padres por haber puesto su confianza en mí, por su esfuerzo con el único fin de darme la oportunidad de ser mejor día a día a través de mis estudios y de crecer como persona.

La directora de tesis Lucía Guzmán, por brindarme sus conocimientos para el desarrollo de este proyecto, sobretodo paciencia y confianza para culminar con este tema de investigación.

Los miembros del tribunal Jorge Ramírez y Rubén Carrera quienes aportaron sus conocimientos en la revisión de este Trabajo de fin de Titulación.

Mi hermana Tatiana por ser quien me inspira y me da fuerzas en cada paso de mi vida.

A todas las personas quienes estuvieron conmigo en el constante desarrollo de mi vida como profesional, amigos y amigas, les quedo muy agradecida por su amistad y por las enseñanzas y apoyo dentro y fuera de las aulas.

Finalmente a la Universidad Técnica Particular de Loja por darme la oportunidad de formarme como una nueva profesional para hacer el bien a la sociedad con la que me encuentre y a través de sus profesionales poder capacitarme para empezar un nuevo inicio como profesional en el área de la salud.

*Leidy Fernanda Sanmartín Puglla*

## Índice de contenidos

|   |      |
|---|------|
| Carátula.....   | I    |
| Aprobación del director del trabajo de titulación.....                                  | II   |
| Declaración de autoría y cesión de derechos .....                                       | III  |
| Dedicatoria .....   | IV   |
| Agradecimiento.....   | V    |
| Índice de contenidos.....   | VI   |
| Índice de figuras .....   | VIII |
| Índice de tablas.....   | IX   |
| Resumen .....   | 1    |
| Abstract .....  | 2    |
| Introducción .....  | 3    |
| Capítulo I .....  | 5    |
| Marco teórico.....  | 5    |
| <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....  | 5    |
| 1.1. <b>Aspectos generales</b> .....  | 5    |
| 1.2. <b>Clasificación</b> .....   | 5    |
| 1.2.3 Ciclo biológico.....  | 8    |
| 1.2.4 Distribución geográfica.....  | 9    |
| 1.2.5 Importancia de la garrapata en el hospedador bovino .....                         | 10   |
| 1.3 <b>Mecanismos de control de garrapatas</b> .....                                    | 10   |
| 1.3.1 Acaricidas sintéticos.....  | 11   |
| 1.4 <b>Resistencia a acaricidas</b> .....   | 11   |
| 1.5 <b>Plantas aromáticas</b> .....   | 12   |
| 1.6 <b>Aceites esenciales</b> .....   | 12   |
| 1.7 <b>Compuestos mayoritarios presentes en aceites esenciales</b> .....                | 13   |
| 1.7.1 Citral .....  | 14   |
| 1.7.2 Pulegón.....  | 15   |
| 1.8 <b>Bioensayos</b> .....   | 15   |
| 1.8.1 Paquete de larvas .....   | 15   |
| Capítulo II .....   | 17   |
| Diseño metodológico .....   | 17   |
| 2.1 <b>Descripción del área de estudio</b> .....  | 17   |
| 2.2 <b>Recolección de las muestras biológicas</b> .....                                 | 18   |
| 2.3 <b>Determinación taxonómica de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i></b> ..... | 18   |
| 2.4 <b>Pruebas in vitro</b> .....   | 18   |
| 2.4.1 Prueba de paquete de larvas (PPL).....  | 18   |
| Capítulo III .....  | 20   |

|  |    |
|--|----|
| Resultados y análisis .....  | 20 |
| 3.1. <b>Actividad acaricida del citral en larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i></b> .....               | 20 |
| 3.2. <b>Actividad acaricida del compuesto pulegón sobre larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i></b> ..... | 21 |
| 3.3. <b>Eficacia acaricida de los compuestos citral y pulegón</b> .....  | 22 |
| 3.4. <b>Mortalidad en grupos control</b> .....   | 23 |
| 4. <b>Costes financieros</b> .....   | 25 |
| Conclusiones .....   | 27 |
| Recomendaciones .....  | 28 |
| Referencias .....  | 29 |

### Índice de figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Morfología externa de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....   | 6  |
| Figura 2. Ciclo biológico de la garrapata del ganado.....  | 8  |
| Figura 3. Área de recolección de los ejemplares de <i>R. (B). microplus</i> , en la parroquia Guachanamá en la provincia de Loja.....                        | 17 |
| Figura 4. Mortalidad de larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> tratadas con diferentes concentraciones de citral.....                          | 20 |
| Figura 5. Mortalidad de larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> tratadas con diferentes concentraciones del compuesto mayoritario pulegón ..... | 21 |

### Índice de tablas

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Diferencias estadísticas entre las concentraciones utilizadas del compuesto citral en la prueba de paquete de larvas .....               | 21 |
| Tabla 2. Diferencias estadísticas entre las concentraciones utilizadas del compuesto pulegón en la prueba de paquete de larvas. ....              | 22 |
| Tabla 3. Diferencias estadísticas entre las concentraciones utilizadas de los compuestos citral y pulegón en la prueba de paquete de larvas. .... | 23 |
| Tabla 4. Correlación entre las concentraciones y la mortalidad larvaria entre los compuestos citral y pulegón.....                                | 24 |
| Tabla 5. Concentración letal 50 y 90 (mg/ml), de los compuestos citral y pulegón.....   | 25 |

## Resumen

Los compuestos mayoritarios presentes en los aceites esenciales de extractos vegetales poseen diversas actividades biológicas. Aunque se ha encontrado que citral y algunos aceites que contienen pulegón tienen efecto acaricida sobre larvas y garrapatas adultas no existen evidencias utilizando el pulegón como compuesto contra estadios de garrapatas.

En este estudio, se analizó el efecto acaricida de citral y pulegón sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. En la parroquia Guachanamá, cantón Paltas de la provincia de Loja, se recolectaron manualmente garrapatas hembras repletas sobre bovinos. Se mantuvieron en incubación hasta alcanzar la oviposición. La prueba de paquete de larvas se ejecutó con larvas de 21 días con cinco concentraciones de citral y pulegón (2.5, 5, 10, 15 y 20 mg/ml) diluidos en una mezcla de agua + etanol (AE). La mortalidad larvaria fue de 65% con pulegón y 52% con citral. Las  $CL_{50/90}$  de citral fueron 3,02 y 4,29 y de pulegón, 35,58 y 119,44 respectivamente. La correlación fue fuertemente positiva con citral ( $r= 0.943$ ) y pulegón ( $r=0.957$ ). Los resultados obtenidos indican un efecto moderadamente acaricida sobre larvas de *Rh. microplus*.

Palabras clave: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, citral, pulegón.

### Abstract

The majority compounds present in essential oils from vegetable extract essential oils have various biological activities. Although citral and some oils containing pulegón found to have an acaricidal effect on larvae and adult ticks, there is no evidence using pulegon as a compound against tick stages.

In this study, the acaricidal effect of citral and pulegon on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae was analyzed. In the Guachanamá parish, Paltas canton of the Loja province, full female ticks were manually collected on bovines. They were kept in incubation until oviposition was reached. The larval pack test was carried out with 21-day-old larvae with five concentrations of citral and pulegon (2.5, 5, 10, 15 and 20 mg / ml) diluted in a mixture of water + ethanol (EA). Larval mortality was 65% with pulegon and 52% with citral. The LC50 / 90 for citral were 3.02 and 4.29 and for pulegon, 35.58 and 119.44 respectively. The correlation was strongly positive with citral ( $r = 0.943$ ) and pulegon ( $r = 0.957$ ). The results obtained indicate a moderately acaricidal effect on larvae *Rh. microplus*.

Keywords: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, citral, pulegone.

## Introducción

En los sistemas de producción animal de interés zootécnico ubicados en las zonas tropicales y subtropicales, los principales parásitos externos que impactan la productividad de los animales domésticos son las garrapatas; sus picaduras provocan irritabilidad e interfieren en la alimentación del animal, provocan daños en la piel y crean una puerta de entrada para enfermedades bacterianas, fúngicas y parasitarias que pueden llegar a ocasionar grandes pérdidas en el ganado vacuno (Tapia, 2017).

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* constituye un problema global a través del efecto directo en el animal parasitado e indirectamente en la transmisión de agentes de enfermedades infecciosas como *Babesia bovis* y *B. bigemina*. Por su amplia distribución se encuentra en gran parte de América, África, Asia y Australia (Benavides, Romero, y Villamil, 2016).

Algunos productos para el control de garrapatas incluyen grupos de controles químicos con diferencias en sus mecanismos de acción, los mismos que se pueden aplicar por aspersión, inmersión, de forma epicutánea y por vía parenteral a través de inyectables (Rodríguez, Pedroso, Olivares, Sanchez, y Arece, 2014).

El uso frecuente de acaricidas sintéticos ha provocado la selección de poblaciones de garrapatas resistentes creando principales problemas que afectan a los productores bovinos, donde las garrapatas, especialmente *Rh. (B.) microplus* y los agentes que transmiten, tienen un efecto costo-beneficio en la producción bovina (Alonso, Rodríguez, Fragoso, y Rosario, 2006).

Debido a la resistencia a los acaricidas convencionales los aceites esenciales presentes en las plantas constituyen una importante estrategia de defensa contra animales herbívoros y en particular contra plagas de insectos, ácaros y hongos patógenos (Mendoza y Taborda, 2010). Algunas especies como *Lavandula angustifolia*

y *Cymbopogon citratus* tienen buenos efectos acaricidas y larvicidas con una eficacia del 90-100% por la presencia de sus metabolitos secundarios, comparables a los de los acaricidas sintéticos utilizados actualmente, los cuales son una nueva estrategia para el control de plagas siendo una nueva alternativa prometedora amigable con el medio ambiente y el ser humano (Adenubi et al., 2018).

Este trabajo de titulación tiene como objetivo determinar la eficacia acaricida sobre las larvas de *Rh. (B.) microplus* a través la prueba del paquete de larvas utilizando citral y pulegón, compuestos presentes plantas de la región, a diferentes concentraciones.

El proyecto investigativo se encuentra constituido por 3 capítulos. El primer capítulo, o Marco Teórico consta de la información bibliográfica recopilada sobre la investigación abordada del tema planteado, el segundo capítulo, o materiales y metodología se enfoca en el desarrollo de la parte práctica del tema investigativo y el tercer capítulo, o resultados y discusión aborda los datos obtenidos a lo largo del proyecto comparándolos con otros autores incluyendo finalmente conclusiones y recomendaciones, las mismas que serán útiles para futuras investigaciones relacionadas con este tema.

## Capítulo I

### Marco teórico

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

#### 1.1. Aspectos generales

Los parásitos son organismos de vida libre que poseen contacto sistemático dependiendo metabólica y evolutivamente del hospedero; entre ellos se establece contacto biológico e intercambio macromolecular, mediante el que, de forma actual o potencial, ocasiona acciones patógenas o modificaciones del equilibrio homeostático del hospedero y de la respuesta adaptativa de su sistema inmune (Rodríguez et al., 2014).

Las garrapatas duras son artrópodos ectoparásitos hematófagos obligados, transmisores de enfermedades en humanos y animales domésticos y salvajes. Son consideradas como agentes disruptores de los sistemas ganaderos, que afectan a los bovinos en todas sus edades causándoles enfermedades parasitarias como anemia que perjudica la producción, irritación y malestar en los animales (Polanco y Ríos, 2016).

La garrapata del ganado bovino *Rh. (B.) microplus* es un parásito externo que constituye una gran amenaza para la industria ganadera en muchos lugares del mundo, causando enfermedades en los bovinos que son las responsables de pérdidas considerables en el ganado susceptible representando un grave problema para la salud pública y veterinaria (Gross et al., 2015).

#### 1.2 Clasificación

Las garrapatas son arácnidos que se dividen en dos familias, *Ixodidae* (garrapatas duras) y *Argasidae* (garrapatas blandas). La familia *Ixodidae* cuenta con 12 géneros en el que consta *Rhipicephalus* y el subgénero *Boophilus* y 683 especies, mientras la familia *Argasidae* está constituida por cuatro géneros y 183 especies (Márquez, Hidalgo, Contreras, Rodríguez, y Muniain, 2005).

La *Ixodidae* se denominan garrapatas duras, debido a que presentan un escudo duro localizado en la parte dorsal del cuerpo; que, en el caso de las hembras adultas, ninfas y larvas, ocupa el tercio anterior, mientras en los machos adultos cubre toda la superficie. Por lo contrario, la familia *Argasidae* se caracterizan por la ausencia del escudo dorsal (Márquez et al., 2005). *Rh. (B.) microplus* o llamada comúnmente como garrapata del ganado, pertenece a la familia *Ixodidae*. Anteriormente era conocida como *Boophilus microplus*, pero recientemente *Boophilus* se ha convertido en un subgénero del género *Rhipicephalus*. (Navarrete, Rodríguez, Valle, Vargas, y Romero, 2014).

### 1.2.1 Taxonomía

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Arachnida

Orden: Ixodida

Familia: *Ixodidae*

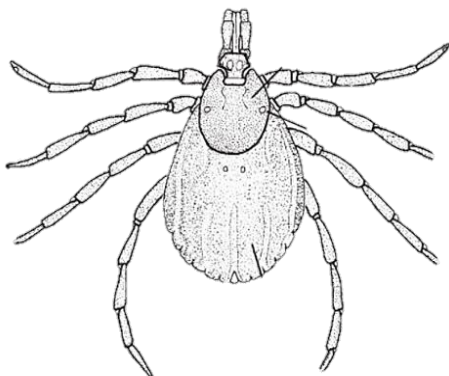
Género: *Rhipicephalus*

Subgénero: *Boophilus*

Especie: *Rh. (B) microplus* (Polanco y Rios, 2016).

### 1.2.2 Morfología

**Figura 1.** Morfología externa de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.



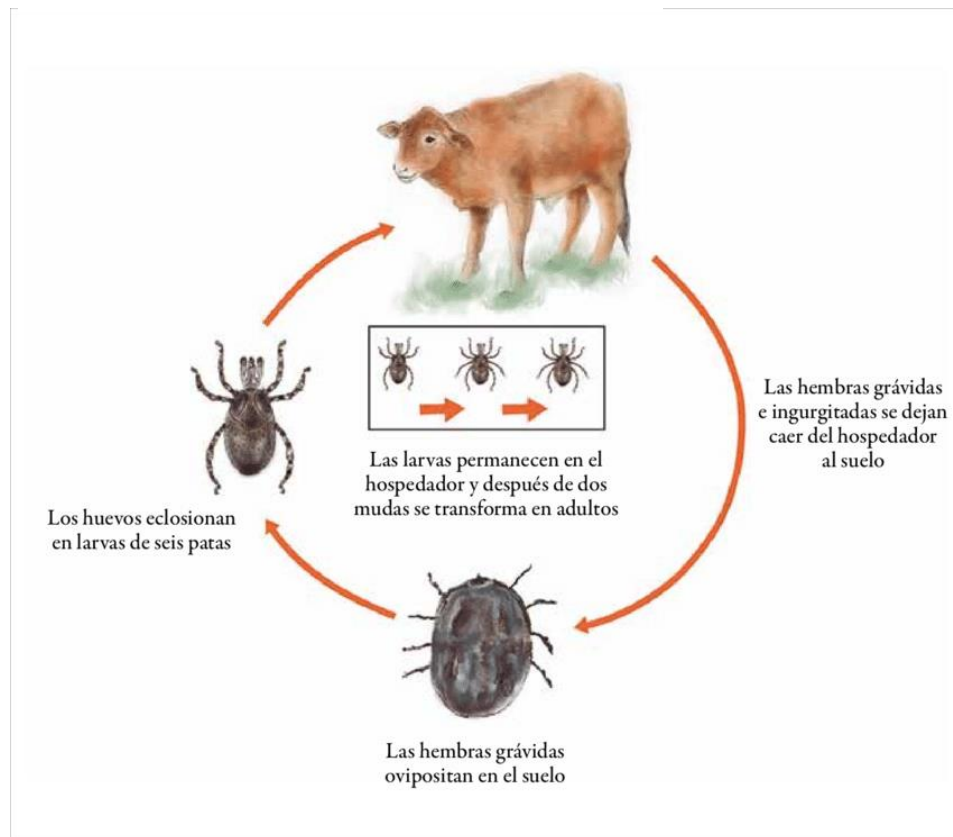
Fuente: (Pottinger, 2019).

Las garrapatas duras poseen un escudo dorsal (scutum), su aparato bucal (capitulum) sobresale cuando se lo observa desde arriba. Las hembras ocho patas a diferencia de las larvas que solo poseen seis patas poseen un capitulum con base hexagonal corto y derecho. La placa espiracular tiene forma redonda u ovalada en forma de coma y los pedipalpos son pequeños, comprimidos y acanalados dorsalmente y lateralmente. Los machos tienen placas adanales y accesorias. El surco anal está ausente o poco definido en las hembras, y levemente visible en los machos, no posee festones ni ornamentos (Alonso et al., 2006).

Las garrapatas adultas poseen ocho patas de color amarillo pálido con amplio espacio entre el primer par de patas y el hipostoma. El cuerpo tiene forma entre ovalada y rectangular y el escudo es ovalado y más ancho en la porción anterior. El hipostoma es corto y derecho. Las ninfas de esta especie poseen un scutum de color marrón anaranjado. El cuerpo tiene forma ovalada y es más ancho en la porción anterior. El color del cuerpo varía de marrón a azul grisáceo, con áreas blancas en la parte anterior y en los bordes. Las larvas de *R. (B.) microplus* poseen un capitulum corto y derecho y un cuerpo de color marrón o crema. Las larvas poseen seis patas en lugar de ocho (Alonso et al., 2006).

### 1.2.3 Ciclo biológico

Figura 2. Ciclo biológico de la garrapata del ganado.



Fuente: (Polanco, 2016).

Las garrapatas cumplen cuatro estados en su ciclo de vida: huevo, larva, ninfa y adulto y puede completarse en 40 días. La larva de garrapatas *R. microplus* se alimenta de la sangre del hospedador ya que infecta a un solo animal durante su vida, cae al suelo; dependiendo de la temperatura y la humedad, mudan después de un corto periodo de tiempo (Pérez, 2016).

Las ninfas desarrolladas después de la muda de la larva, tiene sus mismas características, excepto que pueden vivir por más tiempo y se alimentan de sangre del hospedador y muda sobre él en un corto periodo de tiempo (Polanco y Ríos, 2016).

En el estado adulto se presenta la diferenciación sexual de las garrapatas; en las especies que mudan en el estado de ninfa sobre el hospedador, unas salen de la piel de la ninfa y se unen a otro sitio del hospedador como hembras, mientras otras

garrapatas salen de la piel de la ninfa y se alimentan de sangre antes de diferenciarse a machos, proceso necesario para que ocurra la espermatogénesis (Pérez, 2016).

La cópula de las garrapatas duras se da sobre el hospedador, después de lo cual la garrapata hembra se repleta de sangre y cae a la vegetación, donde busca un lugar húmedo y protegido en el cual poner sus huevos, después de esto la garrapata hembra muere. La duración de este ciclo depende de la adaptación de las especies de garrapatas duras a la temperatura, la humedad y la disponibilidad de hospedadores (Polanco y Ríos, 2016).

Las hembras de las garrapatas duras, después de copular encima del hospedador, caen de él y buscan un sitio seguro donde ovipositar, generalmente en el suelo, cerca de la vegetación que les provee refugio y regulación de la temperatura y la humedad. Bajo condiciones climáticas óptimas de temperatura y humedad, oviponen dentro de los dos días siguientes, pero en épocas frías pueden tardar semanas o meses. Los huevos de las garrapatas duras son depositados en un solo grupo grande en sitios húmedos, cálidos y protegidos del calor extremo. Después de oviponer la hembra muere, por tanto, cada hembra solo ovipone una vez en el transcurso de su vida. La tasa de oviposición en este tipo de garrapatas varía de acuerdo con la especie, con un rango muy amplio que va desde 4.500 huevos en el género *Rhipicephalus* hasta 22.000 huevos en el género *Amblyomma* (Polanco y Ríos, 2016).

#### **1.2.4 Distribución geográfica**

*R. (B.) microplus* se encuentra distribuida a nivel mundial. Originaria del continente asiático y de la Isla de Java, fue introducida en la mayoría de los países tropicales y subtropicales a través de la importación de ganado. Su presencia ha sido descrita en varios países y en la región neotropical, exceptuando Chile (Cortés, Betancourt, Argüelles, y Pulido, 2010).

Esta especie está distribuida en el continente americano desde el norte de Argentina hasta México, incluyendo las Islas del Caribe y las Antillas. En Ecuador, se ha descrito la presencia de esta especie en Santo Domingo de los Colorados, Napo , Pichincha y Loja (Pérez, 2016).

### **1.2.5 Importancia de la garrapata en el hospedador bovino**

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos, prácticamente, de todos los vertebrados terrestres, aves y algunos anfibios; según su importancia han sido reconocidas por su impacto en la salud humana y animal, por el daño que causan al alimentarse y por la transmisión de diversos organismos patógenos.

*Rh. (B.) microplus* denominada la “Garrapata Común del Ganado”, es la especie de mayor importancia en el ámbito veterinario por su impacto en la salud bovina, debido a su papel como hospedador definitivo y trasmisor biológico de especies de *Babesia*.(Cortés et al., 2010).

## **1.3 Mecanismos de control de garrapatas**

Existe una creciente demanda de métodos de control seguros y una menor dependencia de los productos químicos sintéticos, que pueden causar intoxicación de animales , humanos, contaminación del medio ambiente y los alimentos (Lage et al., 2013).

En respuesta a estos problemas, las sustancias de origen vegetal se consideran alternativas atractivas para el control de plagas. Además de su fácil biodegradabilidad, que se traduce en un bajo impacto ambiental, estas sustancias pueden actuar en una variedad de acciones, dificultando el desarrollo de cepas resistentes (Lage et al., 2013). En los últimos años, la investigación de la actividad acaricida de los aceites esenciales se ha intensificado.

La resistencia a los pesticidas sintéticos convencionales se ha informado ampliamente en garrapatas, ácaros parásitos y otras plagas de importancia veterinaria y médica. Por lo tanto, se necesitan enfoques nuevos y novedosos para controlar estas plagas para garantizar programas de control eficientes que se puedan implementar ahora y en el futuro (Alonso et al., 2006).

### **1.3.1 Acaricidas sintéticos**

El control de *R. microplus* generalmente se realiza mediante el uso de acaricidas sintéticos, pero la mayoría de los productos comerciales tienen baja eficiencia debido al desarrollo de cepas resistentes, causadas por años de uso indiscriminado sin criterios técnicos adecuados. La mayoría de los acaricidas comerciales no tienen una eficacia superior al 70% (Lage et al., 2013).

En América Latina, el control de garrapatas se ha basado principalmente en el uso de acaricidas sintéticos, los mismos que presentan informes de resistencia a organofosforados, piretroides sintéticos, amidinas, lactonas macrocíclicas, fluazurón y fenilpirazol (fipronil) (Castro et al., 2010).

## **1.4 Resistencia a acaricidas**

La FAO define una población resistente, a la detección por medio de pruebas sensibles, de un aumento significativo del número de individuos de una población de una única especie que toleran drogas en dosis comprobadamente letales para la mayoría de los individuos de la misma especie (Rodríguez, Pulido, y García, 2017).

El desarrollo de la resistencia a los productos químicos depende de las presiones evolutivas y de constantes cambios, que involucran factores de variabilidad genética, causada por mutaciones al azar o rearrreglos genéticos que son producidos por el uso constante de los pesticidas; permitiendo la reproducción de individuos con el rasgo de resistencia (Rodríguez et al., 2017). En las últimas décadas, la resistencia a los

insecticidas ha constituido el principal problema técnico en los programas de control de plagas en la agricultura, la ganadería y la salud pública. La resistencia a los compuestos sintéticos apareció en 1960, a los organofosforados a fines de la década de 1970 y a los piretroides sintéticos a principios de la década de 1990 (Castro et al., 2010).

### **1.5 Plantas aromáticas**

Las sustancias de origen vegetal se consideran alternativas atractivas para el control de plagas, además de su fácil biodegradabilidad, que se traduce en un bajo impacto ambiental, estas sustancias pueden actuar en una variedad de acciones, dificultando el desarrollo de cepas resistentes (Lage et al., 2013).

El uso de plantas terapéuticas en medicina veterinaria se ha desarrollado progresivamente durante los últimos 10 años (Valente, Amorim, Castilho, Leite, y Ribeiro, 2014).

Las plantas medicinales han demostrado ser un método alternativo para el control de insectos y ácaros por los metabolitos secundarios producidos como un mecanismo de defensa contra las condiciones de estrés biótico y abiótico. Un número creciente de estudios realizados demuestran que los metabolitos secundarios de diferentes plantas pueden presentar diferentes mecanismos de acción como inhibir la alimentación, disminuir el crecimiento, el desarrollo y la reproducción. Además, algunos extractos de plantas estudiadas principalmente miembros de las familias Lamiaceae, Fabaceae, Asteraceae, Piperaceae, Verbenaceae y Poaceae tienen una alta efectividad contra los artrópodos que son resistentes a los insecticidas y acaricidas porque tienen diferentes mecanismos de acción (Rosado et al., 2017).

### **1.6 Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias que presentan alta volatilidad, evaporándose al contacto con el aire. Dependiendo de su concentración, estas

sustancias pueden ser divididas en principales (20-95%), secundarias (1-20%) o componentes traza (menos del 1%) Son obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas como yemas, flores, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces. La composición química de los aceites esenciales es alterada por varios factores como el medio ambiente, la procedencia de la planta y el método de extracción (Acevedo, Navarro, y Monroy, 2013).

Investigaciones recientes en esta área se han centrado en el potencial pesticida de los aceites esenciales de plantas. Estos productos son atractivos como candidatos a pesticidas debido a la baja toxicidad de los mamíferos, la corta persistencia ambiental y las químicas complejas lo que limita el desarrollo de resistencia a las plagas contra ellos (Adenubi et al., 2018).

Algunos metabolitos secundarios como terpenos, estilbenos, cumarinas, ácidos, alcoholes, compuestos sulfurados y aldehídos presentes en aceites esenciales y extractos de plantas han demostrado efectos acaricidas contra los géneros *Rhipicephalus*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma* y *Argas e Ixodes* (Rosado et al., 2017).

### **1.7 Compuestos mayoritarios presentes en aceites esenciales**

Los compuestos mayoritarios presentes en los aceites esenciales (AEs) de algunas especies de plantas han mostrado diversas actividades biológicas, reportadas como antioxidante, larvicida, antifúngica, acaricida, antimicrobiana, repelente y citotóxica (Muñoz, Álvarez, y Niño, 2011). El AE de *Origanum vulgare* posee propiedades antioxidantes, microbiológicas, control de plagas y conservantes de alimentos, debido a la presencia del compuesto mayoritario timol en 67.51%, seguido de p-Cimeno 11,66%,  $\gamma$ -Terpineno 5,51% (Acevedo et al., 2013).

El AE de *Verbena officinalis* presentó actividad ixodocida sobre *R. (B) microplus* *adultas*, causando 66,6% de mortalidad y no menos de 60% con el extracto puro demostrando actividad ixodocida (Pulido y Cruz, 2013). El AE de *Gynandropsis ginandra*, con compuestos mayoritarios como carvacrol 29.2%, trans-fitol 24,0% y linalol 13,3% mostró una importante actividad repelente y acaricida contra larvas, ninfas y estadios adultos de *Amblyomma variegatum* y *Rhipicephalus appendiculatus* (Nawaz et al., 2015).

### **1.7.1 Citral**

El citral o 3,7-dimetil-2,6-octadienal es un monoterpeno, formado por dos aldehídos monoterpenos acíclicos isoméricos geranial (trans-citral, citral A) y neral (cis-citral, citral B), se encuentra presente en una amplia variedad de plantas pero como compuesto mayoritario se encuentra en *Cymbopogon citratus*, conocida tradicionalmente como hierba de limón o hierba luisa en cantidades entre 65%- 85% (Saddiq y Khayyat, 2010).

La Comisión Europea ha reconocido al citral como un ingrediente condimento en los alimentos, aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) reconocido como un ingrediente seguro para su uso como sustancias aromatizantes, y es un compuesto aprobado para uso como aditivo alimentario y para consumo humano. Muchos estudios experimentales y clínicos han demostrado que el citral tiene buenos efectos antiinflamatorios, anticorrosivos, y existe una creciente evidencia que puede usarse como bacteriostato (Liu et al., 2019). Sin embargo, se han reportado casos de dermatitis alérgica por contacto y ha sido considerado como un potencial alérgeno (Sarkic y Stappen, 2018).

### **1.7.2 Pulegón**

El pulegón es un monoterpeno que se encuentra como compuesto mayoritario en el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*, conocida tradicionalmente como muña o poléo silvestre en un porcentaje de 36% (Cano, Bonilla, Roque, y Ruiz, 2006), mientras en la *Mentha pulegium* constituye del 1-3% del aceite, pero ha provocado convulsiones y muertes por intoxicaciones . El comité de Expertos en Aromatizantes del Consejo de Europa propuso que el uso de pulegón como saborizante en alimentos fuera limitado ya que posee un olor característico a menta y es de color transparente pudiendo causar toxicidad al estar en contacto en niveles altos de concentraciones de este metabolito (Thorup, Würtzen, Carstensen, y Olsen, 1983).

## **1.8 Bioensayos**

Se pueden realizar ensayos con larvas o teologinas a través de prueba de paquete de larvas (PPL) adoptada por la FAO como la principal prueba de diagnóstico de resistencia (Alonso et al., 2006).

La sensibilidad de la garrapata del ganado *R. (B). microplus* se puede medir con diferentes solventes como alcohol metílico, alcohol etílico, acetona, DMSO, acetato de etilo, mezcla de tritón, xilol entre otros, utilizando las técnicas de sensibilidad en papel impregnado como inmersión de larvas e inmersión de garrapatas ingurgitadas o garrapatas adultas (Iriarte, et al., 2012).

### **1.8.1 Paquete de larvas**

Se cuantifica la eficacia acaricida de los compuestos sobre la garrapata del bovino mediante bioensayos larvarios a través de la prueba de paquete de larvas, utilizando diferentes concentraciones. En el papel filtro externo previamente etiquetado y el otro papel filtro interno bañado con la solución se colocan aproximadamente 100 larvas, sellamos los papeles realizando cinco repeticiones por cada concentración. Los

sobres se colocan en bandejas y se mantienen en incubación durante 24 horas a  $27 \pm 2$  ° C y 80 a 90% de humedad, al término del bioensayo se realiza el recuento de larvas vivas y muertas (Rodríguez et al., 2014).

## Capítulo II

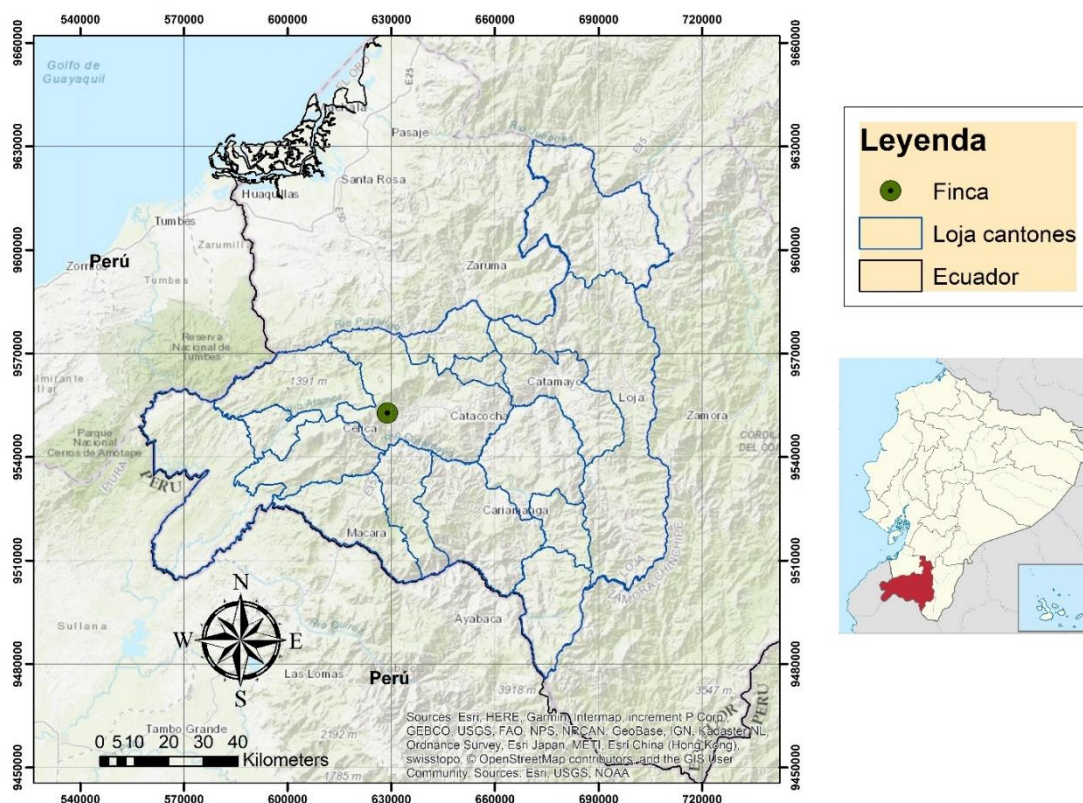
### Diseño metodológico

#### 2.1 Descripción del área de estudio

Las muestras biológicas para el desarrollo del estudio se recolectaron en una finca ganadera ubicada en la parroquia Guachanamá perteneciente al cantón Paltas de la provincia de Loja a 1707 m.s.n.m de altitud y coordenadas  $4^{\circ} 02' 36.36''$  en latitud Sur ( $17\text{ S } 628872.7, 9552800.9$ ) y  $79^{\circ} 50' 20.62''$  de longitud oeste.

Las pruebas se realizaron en las instalaciones del laboratorio de Sanidad Animal y Zoonosis perteneciente a la Universidad Técnica Particular de Loja para evaluar la eficacia acaricida de los compuestos mayoritarios citral y pulegón en larvas de *Rh. (B.) microplus*.

**Figura 3.** Área de recolección de los ejemplares de *R. (B.) microplus*, en la parroquia Guachanamá en la provincia de Loja.



Fuente: Autora

## **2.2 Recolección de las muestras biológicas**

En las primeras horas de la mañana se recogieron manualmente las garrapatas hembras adultas repletas de ganado bovino que no habían sido tratados con acaricidas en los 20 días previos a la recolección. Según las encuestas realizadas y el registro de datos de los animales de los que se obtuvieron las garrapatas. Aproximadamente, 90 hembras repletas se colocaron en un frasco previamente etiquetado, limpio y seco con agujeros para permitir la circulación de aire al momento de transportarlas al laboratorio.

## **2.3 Determinación taxonómica de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

En el laboratorio se lavaron las garrapatas con agua destilada, se secaron con papel absorbente y a través del estereomicroscopio se identificaron taxonómicamente a fin de utilizar solamente *Rh. (B.) microplus* con pesos homogéneos de alrededor de 200 mg.

Una vez identificadas, se adhirieron dorsoventralmente con ayuda de una cinta adhesiva a cajas de Petri colocando ocho garrapatas por caja. Éstas se, mantuvieron en incubación a  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$  de temperatura y 80-90% de humedad relativa en incubadora durante 15 días hasta su ovoposición. Transcurrido este tiempo, las masas ovígeras se pesaron en la balanza electrónica, se colocaron en tubos de ensayo tapándolos con algodón humedecido con agua destilada y se mantuvo en incubación con las mismas condiciones de temperatura y humedad antes mencionadas. Se utilizaron larvas de 21 días de nacidas en la prueba de paquete de larvas.

## **2.4 Pruebas in vitro**

### **2.4.1 Prueba de paquete de larvas (PPL)**

Se colocaron aproximadamente 100 larvas en el papel filtro cuadrulado de tamaño 7X13 cm, previamente etiquetado e impregnado con 100  $\mu\text{L}$  de las

concentraciones 2.5, 5, 10, 15 y 20 mg/mL de los compuestos mayoritarios citral y pulegón en solución (50% agua+ 50% etanol). El paquete fue doblado y guardado en otro papel filtro de mayor medida a manera de sobre para sellarlo con cinta y fueron guardados en cajas de Petri para ser incubadas durante 24 horas a  $27 \pm 2$  °C y 80-90% de HR. Se realizaron cinco repeticiones por cada concentración. A las 24 horas se realizó contaje manual de larvas vivas y muertas a través del estereoscopio asumiendo que las larvas que no tenían capacidad de locomoción se las consideraban como larvas muertas.

Al siguiente día realizamos el recuento manualmente.

Para evaluar la eficacia acaricida de cada una de las concentraciones utilizadas se calculó el porcentaje de mortalidad de larvas, coeficiente de correlación, análisis de varianza,  $CL_{90}$  y  $CL_{50}$  a través del análisis Probit.

El porcentaje de mortalidad larvaria fue calculado según Abbott (1925):

$$\% \text{Mortalidad} = \frac{\% \text{Mort. Tratados} - \% \text{Mort. Control}}{100 - \% \text{Mort. Control}} * 100$$

## Capítulo III

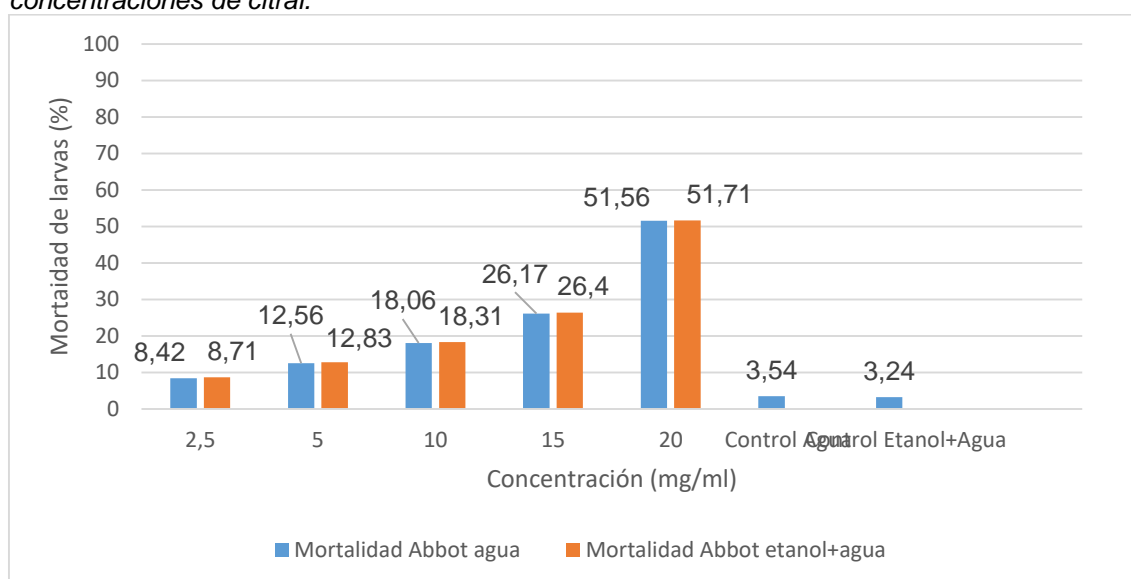
### Resultados y análisis

#### 3.1. Actividad acaricida del citral en larvas de *Rhipicephalus (Boophilus)*

##### *microplus*

Mediante la prueba de paquete de larvas se determinó que el efecto del citral es dosis dependiente, como se demostró por la correlación positiva entre las concentraciones de citral y los valores de mortalidad de larvas. La concentración de 20 mg/mL ocasionó 51,71% de mortalidad larvaria, casi el doble de la concentración inmediatamente inferior. (15 mg/mL) (Figura 4). No se observaron diferencias entre el uso de agua o la mezcla agua: etanol como diluyentes. Se determinaron diferencias significativas entre la mayoría de las concentraciones utilizadas (Tabla 1).

**Figura 4.** Mortalidad de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas con diferentes concentraciones de citral.



Fuente: Autora.

*Alves et al. (2015)* mencionan que los monoterpenos carvona, limoneno y citral fueron los compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de *Lippia alba* con actividad acaricida potente contra *R. (B). microplus*, en el que citral demuestra mayor eficacia larvicida en comparación a los otros compuestos mayoritarios. La eficacia

acaricida puede variar dependiendo de los diferentes aceites esenciales extraídos de otras especies como *Cymbopogon citratus* spp, formando parte la comúnmente conocida hierba de limón en el que consta como compuesto mayoritario citral con actividad acaricida contra larvas y garrapatas adultas (Santos y Vogel, 2012).

**Tabla 1.**

*Diferencias estadísticas entre las concentraciones utilizadas del compuesto citral en la prueba de paquete de larvas.*

| CONCENTRACIÓN | 2,5 | 5           | 10          | 15          | 20          |
|---------------|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 2,5           | -   | 0,165<br>NS | 0,006<br>S  | 0,0008<br>S | 4E-07<br>S  |
| 5             | -   | -           | 0,287<br>NS | 0,0175<br>S | 2E-05<br>S  |
| 10            | -   | -           | -           | 0,0532<br>S | 1E-05<br>S  |
| 15            | -   | -           | -           | -           | 0,0008<br>S |
| 20            | -   | -           | -           | -           | -           |

S= Significativo; NS=no significativo;  $p < 0,05$ .

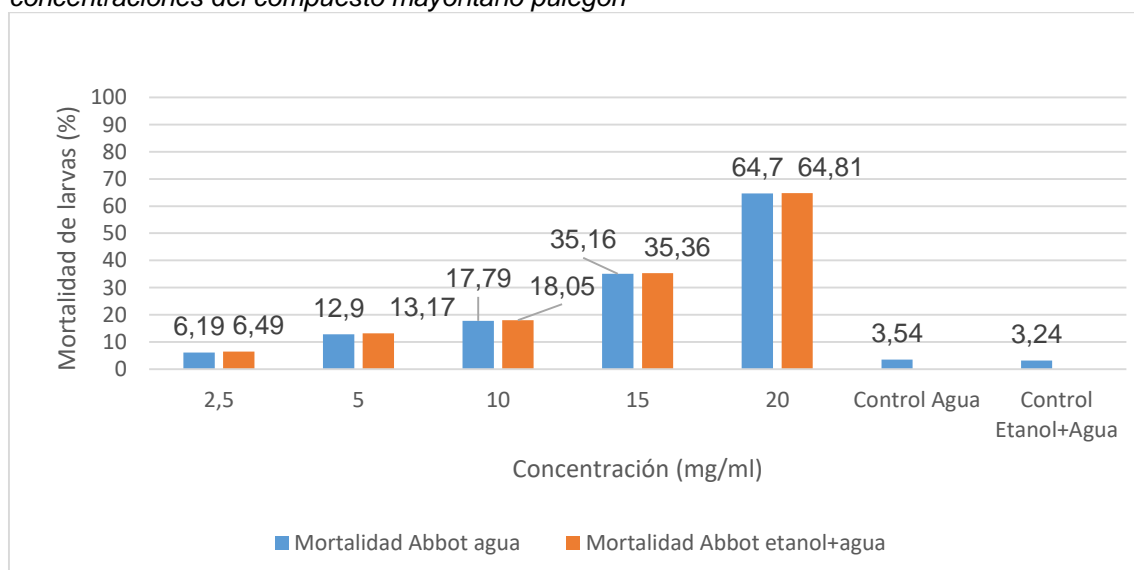
Fuente: Autora

### 3.2. Actividad acaricida del compuesto pulegón sobre larvas de

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus.*

Mediante la prueba de paquete de larvas se determinó que la concentración 20 mg/mL ocasionó 65% de mortalidad larvaria (Figura 5.), de manera similar al citral.

**Figura 5.** Mortalidad de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas con diferentes concentraciones del compuesto mayoritario pulegón



Fuente: Autora.

No existen reportes sobre la actividad biológica del pulegón. Sin embargo, Duru, Öztürk, Uğur y Ceylan (2004) reportaron que el pulegón es el mayor compuesto en el AE de *Micromeria cilicica* (66,55%), con una actividad antimicrobiana especialmente contra *Salmonella spp.* y *Staphilococcus aureus*.

Leyva, Marquetti, Tacoronte, Tiomno y Montada (2010) demostraron que al usar el aceite modificado de trementina o conocido tradicionalmente como árbol de pino modificado reporta actividad repelente que afecta el desarrollo y la ovoposición o reproducción en insectos atribuyendo al monoterpeno pulegón la alta capacidad de mortalidad a las 24 horas o a largo plazo de insectos como *Aedes aegypti*.

**Tabla 2.**

*Diferencias estadísticas entre las concentraciones utilizadas del compuesto pulegón en la prueba de paquete de larvas.*

| <b>CONCENTRACIÓN</b> | <b>2,5</b> | <b>5</b>   | <b>10</b>   | <b>15</b>   | <b>20</b>    |
|----------------------|------------|------------|-------------|-------------|--------------|
| <b>2,5</b>           | -          | 0,039<br>S | 0,384<br>NS | 0,0001<br>S | 3,6E-06<br>S |
| <b>5</b>             | -          | -          | 0,314<br>NS | 0,0005<br>S | 7,3E-06<br>S |
| <b>10</b>            | -          | -          | -           | 0,0008<br>S | 1,4E-05<br>S |
| <b>15</b>            | -          | -          | -           | -           | 0,0016<br>S  |
| <b>20</b>            | -          | -          | -           | -           | -            |

S= significativo; NS=no significativo;  $p < 0,05$

Fuente: Autora

### **3.3. Eficacia acaricida de los compuestos citral y pulegón**

Santos y Vogel (2012) demostraron que el AE de *C. citratus* posee 100% de efectividad con la concentración al 5% en garrapatas adultas de *R. (B). microplus* considerando altamente efectivo eliminar más del 95% de las garrapatas, con una eficiencia promedio entre 90-95%. Comparando con otros compuestos químicos el AE de *C. citratus* posee mayor mortalidad por lo que se puede atribuir a los diferentes diluyentes utilizados por los autores y la interacción con los componentes de la fitoterapia y el poder de penetración en las garrapatas.

**Tabla 3.**

Diferencias estadísticas entre las concentraciones utilizadas de los compuestos citral y pulegón en la prueba de paquete de larvas.

| CONCENTRACIÓN | 2,5         | 5           | 10          | 15          | 20          |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 2,5           | 0,344<br>NS | -           | -           | -           | -           |
| 5             | -           | 0,957<br>NS | -           | -           | -           |
| 10            | -           | -           | 0,075<br>NS | -           | -           |
| 15            | -           | -           | -           | 0,082<br>NS | -           |
| 20            | -           | -           | -           | -           | 0,013<br>NS |

S= Significativo; NS=no significativo;  $p < 0,05$

Fuente: Autora.

Algunos aceites esenciales presentes en especies vegetales como *Jatropha curcas* disuelto con Tween presentan eficacia acaricida sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* determinando la reducción de la eclosión, la reproducción estimada y la eficacia garrapaticida. El aceite del fruto de *J. curcas* presentó una marcada eficacia como acaricida en el control de *R. (B.) microplus*, con valores superiores al 91 %; los mejores resultados se hallaron con la menor concentración (5 %) (Fuentes, Soca y Hernández, 2017). Con la finalidad de controlar acaricidad contra garrapatas se utilizó el aceite esencial de una planta Lamiaceae, *Hesperozygis ringens*, que resultó inhibir la ovoposición en un 95% y reduce el número de huevos de las garrapatas en un 30%, al igual que se demuestra que el aceite esencial de *Lippia gracilis* y es un acaricida efectivo en *R. (B.) microplus* (Martínez et al., 2015).

#### 3.4. Mortalidad en grupos control

En los grupos control, la mortalidad larvaria fue  $< 3,5\%$  como se puede observar en las figuras 4 y 5 lo que indica que los disolventes usados no son los que actuaron como acaricidas sino el efecto se debió a los compuestos mayoritarios citral y pulegón. La correlación entre las concentraciones y la mortalidad larvaria se observan en la tabla 4 y la concentración letal en la tabla 5.

Los extractos de plantas tienen baja solubilidad en agua por lo tanto se usan varios disolventes orgánicos, sin embargo, puede causar efectos tóxicos. Es importante

identificar los solventes adecuados para determinar la mortalidad larvaria , como es el caso del estudio realizado por (Sharma et al., 2012), que afirma que el etanol como disolvente provoca bajo nivel de mortalidad larvaria frente a n-butanol, acetona, tween 20 y DMSO, lo que concuerda con nuestra estudio que la mortalidad se realizó por la actividad de los compuestos mayoritarios antes mencionados.

El etanol en comparación con el metanol es menos polar y altamente penetrable en la epicutícula de las garrapatas ixódidas que está compuesta por 3 capas, la capa de proteínas interna que contiene microfibrillas, la capa de cuticulina compuesta por lipoproteínas y la capa cerosa externa que se produce por secreciones glandulares siendo esta última capa la encargada de prevenir la pérdida de agua, protección contra los riesgos fisicoquímicos y producir feromona sexual, por lo tanto se menciona que metanol altamente polar y menos penetrable por lo tanto el solvente ideal y menos tóxico para realizar los bioensayos es etanol. En general, se puede concluir que cuanto mayor es la polaridad del solvente, menores son los efectos acaricidas (Ravindran et al., 2011).

**Tabla 4.**

*Correlación entre las concentraciones y la mortalidad larvaria entre los compuestos citral y pulegón.*

| COEFICIENTE DE<br>CORRELACIÓN<br>(Abbot) | COMPUESTOS<br>MAYORITARIOS |            |
|--|----------------------------|------------|
|  | CITRAL                     | PULEGÓN    |
| <b>Etanol + agua</b>                     | 0,9431239                  | 0,95734333 |
| <b>Agua</b>                              | 0,94315223                 | 0,95735523 |

F=Correlación positiva fuerte (>0.8); M=Correlación positiva moderada; D=Correlación positiva débil; \*=Correlación Negativa.

Fuente: Autora.

**Tabla 5.**

*Concentración letal 50 y 90 (mg/ml), de los compuestos citral y pulegón.*

|                           | COMPUESTOS MAYORITARIOS |      |            |            |
|---------------------------|-------------------------|------|------------|------------|
|                           | CITRAL                  |      | PULEGÓN    |            |
|                           | LD50                    | LD90 | LD50       | LD90       |
| <b>Abbot agua+ etanol</b> | 3,02                    | 4,29 | 35,5794885 | 119,436726 |
| <b>Abbot agua</b>         | 23,89                   | 65,5 | 35,5794885 | 110,73498  |

Fuente: Autora.

#### 4. Costes financieros

(Alonso y Acosta, 2019) mencionan que las plagas y enfermedades transfronterizas también conllevan consecuencias presupuestarias. Las medidas para combatirlas generalmente implican gastos que incluyen los costes de inspección, seguimiento, prevención y reacción. A continuación, se presenta de forma general el costo aproximado de citral y pulegón en una aplicación en bovinos:

##### **Citral.**

5 mL de citral al 95% cuestan 23,14\$.

100 mL de citral tienen 95 gramos de compuesto activo

Es decir, en 1 mL hay 0,95 gramos de citral, o 950 mg de citral.

La concentración óptima para matar el 52% de las larvas es 20 mg/ mL

$$20 \text{ mg} * \text{mL} = x * 950 \text{ mg} \text{ (V1. C1=V2. C2)}$$

Para obtener 20 mg de citral x mL de diluyente se necesita:

$$20/950 = 21 \text{ microlitros de citral por mL de diluyente}$$

Para una bomba de espalda de 20 litros (20.000 mL)

$$21 * 20000 \text{ mL} = 420 \text{ mL}$$

$$420 \text{ mL} * 23,14 \$ / 5 \text{ mL} = 1943,76\$$$

### ***Pulegón.***

5 mL de pulegón al 5% cuestan 73,19\$

100mL de pulegón tienen 5 gramos de compuesto activo

Es decir, en 1 mL hay 0.05 gramos de pulegón, o 50 mg de pulegón.

La concentración óptima para matar el 65% de las larvas es 20mg/ mL

$$20\text{mg} * \text{mL} = x * 50 \text{ mg} \text{ (V1.C1= V2.C2)}$$

Para obtener 20 mg de pulegón x mL de diluyente se necesita:

$$20/ 50= 400 \text{ microlitros de pulegón por mL de diluyente}$$

Para una bomba de espalda de 20 litros (20.000 mL)

$$400 * 20000 \text{ mL} = 8000 \text{ mL}$$

$$8000 \text{ mL} * 73,19 \$ / 5\text{mL} = 11714,00\$.$$

El costo de la posible aplicación de los compuestos mayoritarios para el control de las garrapatas en los bovinos sería alrededor de 1943,76\$ citral y pulegón 11714,00\$ por cada aplicación utilizando una bomba de 20 L para bañar aproximadamente 5 animales.

## Conclusiones

Mediante este proyecto se demostró que los compuestos mayoritarios citral y pulegón poseen un moderado efecto acaricida contra larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

El coeficiente de correlación entre las concentraciones de cada uno de los compuestos y la mortalidad de larvas se encuentra dentro del rango positivo fuerte.

Los valores obtenidos de los grupos control son bajos, lo que demuestra que el efecto acaricida fue debido a los compuestos citral y pulegón.

Aun cuando ambos compuestos pudieran ser utilizados en la formulación de sustancias acaricidas, la relación costo/efecto es muy alta.

## Recomendaciones

Efectuar el número de proyectos investigativos con diferentes compuestos mayoritarios sobre la garrapata del bovino, ya sea individualmente o utilizando dos o varios compuestos para comprobar la posibilidad de producir sinergia o antagonismo en los ácaros.

En los ensayos posteriores realizar las pruebas antes mencionadas como prueba de paquete de larvas, prueba de inmersión tanto en larvas como en hembras adultas para detectar los efectos acaricidas en las distintas etapas del ciclo de vida de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

## Referencias

- Acevedo, D., Navarro, M., y Monroy, L. (2013). Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*origanum vulgare*). *Informacion Tecnologica*, 24(4), 43–48. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000400005>.
- Adenubi, O., Ahmed, A., Fasina, F., McGaw, L., Eloff, J., y Naidoo, V. (2018). Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review and meta-analysis. *Industrial Crops and Products*, 123(May), 779–806. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.075>.
- Alonso, M., Rodríguez, R., Fragoso, H., y Rosario, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas Ixodicide resistance of the the *Boophilus microplus* tick to ixodicides. *Arch. Med.*, 38(2), 105–113. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2006000200003>.
- Alves, P., Blank, A., Menezes, S., Bacci, L., Arrigoni, M., Lima, A., y Cavalcanti, S. (2015). Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. *Veterinary Parasitology*, 210(1–2), 118–122. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.03.010>
- Benavidez, E., Romero, J., y Villamil, L. (2016). Las garrapatas del ganado bovino y los agentes de enfermedad que transmiten en escenarios epidemiológicos de cambio climático. *Guía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio climático*. Retrieved from: <http://repiica.iica.int/docs/B4212e/B4212e.pdf>.
- Cano, C., Bonilla, P., Roque, M., y Ruiz, J. (2006). Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* “Muña.” *Ciencia e Investigación*, 9(1), 27–31. Recuperado de:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S172646342008000300008](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342008000300008).

Cortés, J., Betancourt, J., Arguelles, J., y Pulido, L. (2010). Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11(1), 73. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol11\\_num1\\_art:197](https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num1_art:197)

Duru, M., Öztürk, M., Uğur, A., y Ceylan, Ö. (2004). The constituents of essential oil and in vitro antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(1), 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.0533>.

Fuentes, M., Soca, M., y Hernández, A. (2017). en teleoginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro acaricidal activity of the oil from *Jatropha curcas L*. in engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, 40(1), 49–54. Retrieved from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S08603942017000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S08603942017000100007)

Gross, A., Temeyer, K., Day, T., Pérez de León, A., Kimber, M., y Coats, J.(2015).Pharmacological characterization of a tyramine receptor from the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 63(May), 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2015.04.008>

Iriarte,P., Martínez, S., Aguirre, J.,Barajas, R., Romo, J., Loya, L., y Molina, J. (2012). Repelencia de algunas plantas forrajeras a la garrapata. *Abanico Veterinario*, 2(3), 47–57.

Lage, T., Montanari, R., Fernandes, S., Oliveira, C., Oliveira, T., Zeringota, V., y Daemon, E. (2013). Activity of essential oil of *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, 112(2), 863–869.<https://doi.org/10.1007/s00436-012-3209-y>.

Leyva, M., Marquetti, M., Tacoronte, J., Tiomno, O., y Montada, D. (2010). Efecto

- inhibidor del aceite de trementina sobre el desarrollo de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 62(3), 212–216. Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602010000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602010000300008).
- Liu, H., Wang, Y., Cao, J., Jiang, H., Yao, J., y Gong, G. (2019). Antimicrobial activity and virulence attenuation of citral against the fish pathogen *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture*, 734578. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734578>.
- Márquez, F., Hidalgo, A., Contreras, F., Rodríguez, J., y Muniain, M. (2005). Las garrapatas (Acarina: Ixodida) como transmisores y reservorios de microorganismos patógenos en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(2), 94–102. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0213005X05749156>.
- Martínez, R., Esther, M., Cerrilla, O., Guadalupe, J., Haro, H., Ramsy, J., y Robles, S. (2015). Uso de aceites esenciales en animales de granja. *Interciencia*, 40 (November), 744–750. <https://doi.org/10.15713/ins.mmj.3>
- Mendoza, D., y Taborda, M. (2010). Composición química y actividad acaricida del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* stapf contra el ácaro intradomiciliario *Dermatophagoides Farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *Biosalud*, (22), 21–31. Recuperado de: [https://pdfs.semanticscholar.org/bed5/9ffb33e22e792f0703e44d65bf1af633420c.pdf?\\_ga=2.113981839.961910686.1597950258-755159272.1595724706](https://pdfs.semanticscholar.org/bed5/9ffb33e22e792f0703e44d65bf1af633420c.pdf?_ga=2.113981839.961910686.1597950258-755159272.1595724706)
- Alonso, M., y Acosta, R. (2019). Estrategias de control de la garrapata *Boophilus microplus* en la ganadería bovina. Universidad Nacional Autónoma de México, Veracruz, México. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Nawaz, M., Sajid, S., Ahmed, Z., Waqas, M., Ahmed, T., Hussain, A., ... Khalid, I. (2015).

- Anti tick activity of leaves of *Azadirachta indica*, *Dalbergia sisso* and *Morus alba* against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae ). *Acta Parasitol. Glob.*, 6(1), 60–64. <https://doi.org/10.5829/idosi.apg.2015.6.1.93220>.
- Pérez, X. (2016). Resistencia a alfa-cipermetrina, ivermectina y amitraz en garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) colectadas en cuatro localidades. (Tesis de grado). Universidad central del Ecuador. Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10254/1/T-UCE-0014-011-2016.pdf>
- Polanco, D., y Rios, L. (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras Biological and ecological aspects of hard ticks Aspectos biológicos e ecológicos dos carrapatos duros. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria, Mosquera (Colombia)*, 17(1), 81–95. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol17\\_num1\\_art:463](https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num1_art:463).
- Pottinger, M. (2019). The distribution of *Rhipicephalus ( Boophilus ) microplus* and *Rhipicephalus ( Boophilus ) decoloratus* on a farm in the Eastern Cape Province South Africa, (January). University of Free State, South africa. Retrieved from: [https://pdfs.semanticscholar.org/fa11/8400262ac65b2f29a498aa52400473269ce0.pdf?\\_ga=2.43334317.961910686.1597950258-755159272.1595724706](https://pdfs.semanticscholar.org/fa11/8400262ac65b2f29a498aa52400473269ce0.pdf?_ga=2.43334317.961910686.1597950258-755159272.1595724706).
- Ravindran, R., Juliet, S., Kumar, K. G. A., Sunil, A. R., Nair, S. N., Amithamol, K. K., ... Ghosh, S. (2011). Toxic effects of various solvents against *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2(3), 160–162. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.04.001>
- Rodríguez, I., Aguilar, A., Ojeda M., Pérez, C., Martínez, I., y González, M. (2014). Integrated control of ticks in bovine livestock. *Ecosistemas y Recursos Pecuarios*, 1(3), 295–308. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Rodríguez, J., Pedroso, M., Olivares, J., Sánchez, Y., y Arece, J. (2014). La interacción hospedero parásito. Una visión evolutiva. *Revista de Salud Animal*, 36(1), 1–

6. Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2014000100001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000100001)

Rodríguez, J., Pulido, M., y García, D. (2017). Resistencia “in vitro” de la garrapata “*Rhipicephalus microplus*” a organofosforados, piretroides y amitraz en el Departamento de Boyacá, Colombia. *Revista de La Facultad de Ciencias Veterinarias*, 58(1), 17–23. Recuperado de: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-65762017000100003](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762017000100003)

Rosado, J., Arjona, K., Torres, F., Rodríguez, R., Bolio, M., Ortega, A., Aguilar, A. (2017). Productos vegetales y metabolitos secundarios frente a garrapatas. *Veterinary Parasitology*, 238, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.03.023>.

Saddiq, A., y Khayyat, S. (2010). Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: citral. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98(1), 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.05.004>

Santos, C., y Vogel, S. (2012). Avaliação in vitro da ação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14(4), 712–716. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400020>

Sarkic, A., y Stappen, I. (2018). Essential oils and their single compounds in cosmetics a critical review. *Cosmetics*, 5(1), 1–21. <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010011>.

Sharma, A. K., Kumar, S., Tiwari, S. S., Srivastava, S., Kumar, R., Ray, D. D., ... Ghosh, S. (2012). Comparative acaricidal properties of different solvents and surfactants on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Indian Journal of Animal Sciences*, 82(2), 154–158. Retraved from: [https://www.researchgate.net/publication/225082788\\_Comparative\\_acaricidal\\_](https://www.researchgate.net/publication/225082788_Comparative_acaricidal_)

properties\_of\_different\_solvents\_and\_surfactants\_on\_Rhipicephalus\_Boophilus  
\_microplus\_Acari\_Ixodidae

- Tapia, I. M. (2017). Control Integral de la Garrapata *Boophilus microplus* en Coyuca de Benítez, Guerrero. Universidad Autónoma de Guerrero. Guerrero, México. Recuperado de: <http://tlamati.uagro.mx/t82e/42.pdf>.
- Thorup, I., Würtzen, G., Carstensen, J., y Olsen, P. (1983). Short term toxicity study in rats dosed with pulegone and menthol. *Toxicology Letters*, 19(3), 207–210. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(83\)90120-0](https://doi.org/10.1016/0378-4274(83)90120-0).
- Valente, P., Amorim, J., Castilho, R., Leite, R., y Ribeiro, F. (2014). In vitro acaricidal efficacy of plant extracts from Brazilian flora and isolated substances against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, 113(1), 417–423. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3670-2>