

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN IN VITRO DE LA DILUCIÓN DE ACEITE
ESENCIAL DE CITRONELA (*Cymbopogon winterianus*)
CON MAYOR EFECTO IXODICIDA SOBRE GARRAPATAS
*Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

DIANA LUCÍA PELÁEZ GUZMÁN

MÉDICA VETERINARIA

GUATEMALA, MAYO DE 2014

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN IN VITRO DE LA DILUCIÓN DE ACEITE
ESENCIAL DE CITRONELA (*Cymbopogon winterianus*) CON
MAYOR EFECTO IXODICIDA SOBRE GARRAPATAS
*Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

DIANA LUCÍA PELÁEZ GUZMÁN

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MAYO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Segio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez
VOCAL V:	Br. Juan René Fuentes López

ASESORES

M.A. Ludwig Estuardo Figueroa Hernández
M.A. Dora Elena Chang De Jó
M.A. Carlos Enrique Camey Rodas

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

**DETERMINACIÓN IN VITRO DE LA DILUCIÓN DE ACEITE
ESENCIAL DE CITRONELA (*Cymbopogon winterianus*) CON
MAYOR EFECTO IXODICIDA SOBRE GARRAPATAS
*Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

- A DIOS: Por darme la vida y permitirme disfrutar de ella, cuidándome en todo momento y ayudándome a cumplir mis metas y sueños.
- A la Virgen María: Por acompañarme siempre y velar por mi buena salud y la de mis seres queridos.
- A mis padres: Constantino Peláez y Rosa María Guzmán, por apoyarme tanto a lo largo de todos mis estudios y de toda mi vida, gracias por cuidarme, velar por mí y darme mucha fortaleza en los momentos más difíciles, son un gran ejemplo a seguir y los mejores papás que cualquiera pueda pedir, los quiero mucho.
- A mis hermanas: Anahí, Laura y Paola, por estar siempre pendientes de mí, por la ayuda que me brindaron a lo largo de la carrera y por el gran ejemplo que son, gracias por la confianza y cariño.
- A mis abuelitas: Uca y Mamelena (Q.P.D.), gracias por cuidar siempre de mí, ambas son un gran ejemplo de fortaleza y dedicación, las quiero mucho.
- A mis sobrinos: Marianne, María Elena, el bebé que está por venir y nuestro angelito Juan Diego quien desde arriba nos cuida siempre, les agradezco por inspirarme a ser mejor persona, y por darme ánimos diariamente, espero ser un gran ejemplo para ustedes, los quiero muchísimo, me hacen muy feliz.

A Emma: mi novio, gracias por todo lo que has hecho por mí, por acompañarme en esta linda carrera y ayudarme en todo momento, gracias por motivarme a ser cada día una mejor persona y por confiar siempre en mí, has sido mi apoyo incondicional. Quiero que sepas que todas nuestras anécdotas le traen algo positivo a mi vida. Te amo infinitamente, sos una excelente persona.

A mis cuñados: Juan Carlos y Víctor Hugo, por ser parte de nuestra familia, son un gran apoyo para mí.

A mis amigos: Karin, por ser una gran amiga y compartir momentos inigualables, te quiero mucho, tu linda amistad vale muchísimo para mí. Olson, gracias por el apoyo que me ha dado, sobre todo por la manera tan original de demostrarme su cariño, es definitivamente un amigo excepcional. Dulce y Ligia, cada una es muy especial para mí, gracias por apoyarme y escucharme siempre, las quiero. Abby y Abel, son dos personas a las que quiero y aprecio mucho, gracias por los buenos recuerdos. Luis y Diego, su amistad es muy valiosa para mi desde que nos conocimos, me han hecho reír y me han animado mucho, gracias.

A mis tíos y primos: Gracias a toda la familia Peláez, Guzmán y Lemus, por el apoyo de estos años de estudio, cada uno significa mucho para mí.

A mis asesores: Dra. Chang, Dr. Figueroa y Dr. Camey, por la paciencia y dedicación que le prestaron a la realización de mi estudio, infinitas gracias.

A mis padrinos: Adolfo Peláez y Karin Morales por apoyarme en todos mis años de estudio, son un gran ejemplo a seguir como profesionales y como personas.

A mis mascotas: Perdís, Boulette, Tucky e Iker, por enseñarme desde niña a querer tanto a los animales y acompañarme en los buenos y malos momentos. Gracias por la compañía en mis noches de estudio.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Al pueblo de Guatemala por brindarme esta gran oportunidad de estudio.

A toda mi familia y amigos

A la familia Palacios Piedrasanta por el apoyo.

Al Dr. Víctor Girón por la ayuda que me ha brindado.

A mis asesores, Dra. Chang, Dr. Figueroa y Dr. Camey

A mis compañeros de estudio

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVOS	
3.1 General.....	4
3.2 Específicos.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	
4.1 Garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i>	5
4.1.1. Distribución geográfica	5
4.1.2. Clasificación taxonómica.....	5
4.1.3. Morfología.....	6
4.1.4. Ciclo de vida.....	7
4.1.4.1. Fase parasitaria.....	7
4.1.4.2. Fase no parasitaria o de vida libre.....	7
4.1.5. Patología inducida por las garrapatas.....	8
4.1.5.1. Acción de las piezas bucales.....	8
4.1.5.2. Inyección de saliva.....	8
4.1.5.3. Consumo de sangre.....	8
4.1.6 Resistencia.....	9
4.1.6.1. Mecanismos de resistencia a pesticidas.....	9
4.2 La Citronela.....	10
4.2.1. Clasificación botánica.....	10
4.2.2. Usos generales.....	11
4.2.3. Aspectos generales.....	11
4.2.4. Cultivo.....	11
4.2.5. Cosecha.....	11
4.2.6. Poscosecha.....	12
4.2.7. Aceite esencial de Citronela.....	12

4.2.7.1 Producción a nivel mundial.....	12
4.2.7.2 Aspectos farmacológicos.....	13
4.2.7.3 Composición fisicoquímica del aceite.....	13
V. Materiales y métodos.....	15
5.1 Materiales.....	15
5.1.1. Recursos humanos.....	15
5.1.2. Recursos de laboratorio.....	15
5.1.3. Recursos de campo.....	15
5.1.4. Recursos biológicos.....	16
5.1.5. Centros de referencia.....	16
5.2. Metodología.....	16
5.2.1. Trabajo en campo.....	16
5.2.2. Trabajo de laboratorio.....	16
5.2.2.1. Método de inmersión de hembras repletas.....	17
5.3. Interpretación de resultados.....	18
5.4. Análisis estadístico.....	18
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
6.1 Resultados.....	20
6.2 Discusión de resultados.....	21
VII. CONCLUSIONES.....	23
VIII. RECOMENDACIONES.....	24
IX. RESUMEN.....	25
SUMMARY.....	26
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
XI. ANEXOS.....	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.....	17
Cuadro 2.....	20
Cuadro 3.....	20

I. INTRODUCCIÓN

Las garrapatas y las enfermedades que transmiten son uno de los grandes problemas en salud pública veterinaria y principalmente en ganaderías. La especie *Rhipicephalus microplus*, anteriormente llamada *Boophilus microplus*, se encuentra distribuida en las zonas tropical y subtropical del mundo. Esta especie es la que más impacta en el ganado bovino por los diversos problemas que ocasiona como daño a la piel del animal, transmisión de enfermedades (piroplasmosis y anaplasmosis entre otras), disminución en la ganancia de peso, baja en la producción y hasta la muerte. Desde el punto de vista económico, pueden cuantificarse grandes pérdidas no solamente por la disminución de la producción láctea o cárnica sino también por los costos en cuanto a tratamiento de las enfermedades transmitidas por las garrapatas y el tratamiento para la misma garrapatosis.

El principal método que se aplica para el control de *Rhipicephalus microplus* en el ganado es el uso de ixodicidas. Desafortunadamente, este control químico se ha vuelto ineficaz debido a la resistencia que presentan las garrapatas hacia estos productos comerciales. En Guatemala se hace notar este mismo problema, lo que ocasiona que se realicen cada vez más aplicaciones del ixodicida al año, o bien, que se incremente la dosis de éstos para poder obtener resultados eficaces.

Actualmente se están buscando métodos o productos alternativos para el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus*, que no incluyan productos de origen sintético exclusivamente. La Citronela (*Cymbopogon winterianus*) ha sido descrita en la literatura, principalmente como repelente de insectos coleópteros y lepidópteros, pero se desconoce con certeza el efecto que ésta pueda tener sobre las garrapatas. En los años 2006-2007 se realizaron dos estudios en Brasil sobre el uso de aceite esencial de Citronela sobre garrapatas *Rhipicephalus microplus*

(Martins, R. 2006-2007); sin embargo, no se tomaron en cuenta las propiedades ixodicidas del etanol (diluyente del aceite). En los mismos estudios se realizaron varias pruebas de inmersión de garrapatas hembras y se observó cierto porcentaje de mortalidad, aun así, no se puede determinar con certeza si tal mortalidad está causada por el aceite esencial de Citronela o por el etanol puro que se utilizó.

En Medicina Veterinaria y especialmente en Guatemala, resulta de gran importancia generar nueva información sobre el uso del aceite esencial de Citronela ya que es de carácter urgente encontrar un tratamiento para el control de la garrapatozosis por *Rhipicephalus microplus*. En este estudio se pretendió evaluar el efecto ixodicida “in vitro” de distintas diluciones de aceite esencial de Citronela sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus*.

II. HIPÓTESIS

Una de las diluciones de aceite esencial de Citronela tiene efecto ixodicida sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus*.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Aportar información sobre el efecto ixodicida del aceite esencial de Citronela sobre garrapatas *Rhipicephalus microplus*.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluar *in vitro* el efecto ixodicida de tres diferentes diluciones de aceite esencial de Citronela (1.25%, 1.5% y 1.75%) en garrapatas *Rhipicephalus microplus*.
- Determinar *in vitro* cuál de las tres diluciones de aceite esencial de Citronela con etanol y agua (1.25%, 1.5% y 1.75%) presenta mayor efecto ixodicida en garrapatas *Rhipicephalus microplus*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Garrapata *Rhipicephalus microplus*

Recientemente las garrapatas *Boophilus microplus* han sido reclasificadas dentro del género *Rhipicephalus* de acuerdo a su filogenia, por lo tanto, en todo el presente estudio se referirá a esta garrapata como *Rhipicephalus microplus*. (Ojeda-Chi M. 2011.) Esta especie de garrapata está clasificada como un hemoparásito específico del ganado bovino, sin embargo, accidentalmente puede encontrarse también en equinos, caninos, y otros animales domésticos. (Desquesnes, M. 1987.)

4.1.1 Distribución geográfica

Debido a su gran capacidad de adaptación y propagación, las garrapatas del género *Boophilus* se han podido extender en diversas áreas geográficas de todo el mundo, con diferencias significativas en su comportamiento biológico. *R. microplus* puede ser encontrada en regiones con clima tropical o subtropical. Esta garrapata es endémica en India, Asia, Noreste de Australia, Madagascar, sudeste de África, el Caribe y muchos otros países en Centro América, Sudamérica y México. (OIE. 2007.)

4.1.2 Clasificación taxonómica

La garrapata *Rhipicephalus microplus* es un miembro de la familia Ixodidae, anteriormente eran denominadas como *Boophilus microplus*, sin embargo, recientemente *Boophilus* se convirtió en un subgénero de *Rhipicephalus*. (OIE. 2007.)

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Chelicerata

Clase: Arachnida

Subclase: Acari
Orden: Acarina
Suborden: Ixodoidea
Familia: Ixodidae
Género: *Rhipicephalus*
Especie: *microplus*
(Márquez, D. 2003.)

4.1.3 Morfología

Las garrapatas pertenecientes a la familia Ixodidae se caracterizan por tener un escudo dorsal; este escudo es completo en el caso de los machos e incompleto en el caso de las hembras, lo cual permite que el abdomen de las hembras pueda agrandarse y crecer lo suficiente para contener hasta dos centímetros cúbicos de sangre. (Parra, M. et al. 1999). El tamaño corporal, al igual que la forma, también varía mucho (de 2 a 8 mm y de 1 a 2 cm) según el estado fisiológico de los ejemplares; la variación de este factor es más grande en las hembras que en los machos, en relación con la mayor cantidad de sangre que ingieren las primeras. (Cordero, M. et al. 1999.)

Asimismo, las garrapatas pertenecientes a esta familia no pueden sobrevivir por largo tiempo sin un ambiente adecuado. (Bazán, M. 2002.) La garrapata *Rhipicephalus microplus* solamente tiene un hospedador. Posee ojos, hipostoma corto, y a las hembras les falta el surco anal. Los machos poseen dos pares de placas anales. (Borchert. 1981) Esta especie de garrapatas también presenta espina caudal por el dorso, la coxa 1 presenta dos espolones en forma de triángulo; el interno es más ancho y largo que el externo. Las coxas II y III presentan dos espolones de borde redondeado con una escotadura profunda. Las placas adanales presentan en su borde posterior una escotadura de donde se origina una espina hacia el extremo interno. (Bazán, M. 2002.) Los apéndices de la

primera cadena no son tan largos como los de *Rhiphicephalus sanguineus* y las placas estigmáticas son casi circulares. (Borchert. 1981)

4.1.4 Ciclo de vida

4.1.4.1 Fase parasitaria

La fase parasitaria tiene una duración de 21 días. Cada etapa de la garrapata (larva, pupa y adulto) dura aproximadamente 7 días cada uno y se llevan a cabo en el mismo animal parasitado. El período de tiempo de esta fase es constante y no varía de acuerdo al clima. Al final de este período, la hembra engurgitada se cae al suelo y comienza la fase no parasitaria o período de vida libre. (Desquesnes, M. 1987.)

4.1.4.2 Fase no parasitaria o de vida libre

La hembra engurgitada busca un ambiente propicio para ovipositar, generalmente busca las partes más bajas del pasto y buenas condiciones de humedad. Se pueden describir varias etapas:

- Preoviposición: de 2 a 6 días.
- Oviposición: de 2 a 10 días. Una garrapata hembra oviposita de 2000 a 4000 huevos, esto ocurre únicamente a una temperatura por encima de los 15°C.
- Incubación: de 14 a 100 días. Una temperatura menor a 10°C inhibe el desarrollo embrionario
- Búsqueda del hospedero: las larvas suben a la parte más alta del pasto, generalmente donde hay más sombra y permanecen allí hasta que un hospedero llega cerca para poder subirse a él. Una larva puede sobrevivir

de 100 a 120 días en el pasto sin ningún alimento, siempre y cuando las condiciones de temperatura y humedad sean adecuadas. (Desquesnes, M. 1987.)

4.1.5 Patología inducida por las garrapatas

4.1.5.1 Acción de las piezas bucales

Luego de 1 a 2 días en el hospedero, la larva comienza a consumir sangre y lo sigue haciendo durante todo su ciclo de vida a excepción de adulta, cuando cae al suelo. Los problemas secundarios a la perforación de la piel del hospedero por las piezas bucales de la garrapata son: dolor, prurito y posibles infecciones secundarias. (Desquesnes, M. 1987.)

4.1.5.2 Inyección de saliva

Durante la ingestión de sangre por parte de la garrapata, se lleva a cabo una liberación regular de saliva por parte de esta misma para evitar que la sangre se coagule dentro de sus estructuras bucales. Además, se lleva a cabo un incremento del fluido sanguíneo hacia el lugar donde está lesionada la piel del hospedero. Los daños que ocasiona esta inyección de saliva son: irritación cutánea, alergia e inoculación de microorganismos como *Anaplasma* y *Babesia*. (Desquesnes, M. 1987.)

4.1.5.3 Consumo de sangre

La garrapata concentra la sangre y acaba por eliminar el suero. Al final ésta consume tres veces más el volumen de su cuerpo en sangre. Es por este motivo que si un animal presenta una carga parasitaria de moderada a grave, lo más probable es que sufra de anemia. (Desquesnes, M. 1987.)

4.1.6 Resistencia

El desarrollo de resistencia es un proceso evolutivo que aparece por selección genética. Contrastando con la lenta evolución a sustancias tóxicas producidas por plantas en la naturaleza, el desarrollo de resistencia a los insecticidas sintéticos ha sido extremadamente rápido. El desarrollo de la resistencia se divide en tres fases:

- Fase de establecimiento:

Es cuando surge el alelo resistente en una población, habitualmente este proceso se efectúa por mutaciones naturales y en forma independiente a la presión de selección.

- Fase de desarrollo:

Es el aumento del número de individuos resistentes y ocurre por la tasa de sobrevivencia preferencial sobre los individuos susceptibles después del uso de productos químicos.

- Fase de emergencia:

Ocurre por una elevada tasa de presión de selección, es una fase corta y el alelo resistente es lo suficientemente común en la población para manifestar una reducción de la efectividad del insecticida. (Díaz, M. et al. 2006)

4.1.6.1 Mecanismos de resistencia a pesticidas

De acuerdo al tipo de respuesta al plaguicida la resistencia ha sido agrupada en cuatro categorías:

- ✓ Resistencia del comportamiento:

Es cuando el insecto modifica su conducta para evitar el contacto con el insecticida.

✓ Resistencia de la penetración.

Es una modificación del exoesqueleto del insecto para inhibir o retardar la penetración del químico, y que en general tiene que ver con la concentración de lípidos que facilitan o retardan la penetración del pesticida a través de esta estructura.

✓ Resistencia metabólica.

Es la detoxificación del insecticida por procesos enzimáticos que radica en la modificación de las vías metabólicas del insecto.

✓ Insensibilidad del sitio de acción.

Es la modificación del sitio de acción del insecticida para disminuir la sensibilidad del químico. Cuando esta es la causa de resistencia, los niveles de resistencia regularmente son altos. (Díaz, M. et al. 2006)

4.2 La Citronela

La Citronela es una planta perenne y alcanza una altura de 1.50 metros. Su reproducción se realiza por mudas, obteniéndose su primera cosecha seis meses después de ser plantada. Las hojas contienen 0.35 a 0.50% del aceite esencial. (Sharapin, N. 2000.)

4.2.1 Clasificación botánica

Tipo	Espermatofitas
Subtipo	Angiospermas
Clase	Apétalas
Orden	Gramínidas
Familia	Gramináceas
Género	Cymbopogon
Especie	Winterianus
Nombre común	Citronela

(Pineda, W. 2005)

4.2.2 Usos generales

La Citronela es de poco valor en aromaterapia, siendo utilizado principalmente como repelente de insectos. Ésta se cultiva en grandes cantidades para emplearla en la fabricación de jabones, desinfectantes para el hogar, repelente, etc. (Davis, P. 2008.) Esta gramínea, ha sido descrita en la literatura como portadora de cualidad controladora de hongos, nematodos, y principalmente de insectos coleópteros y lepidópteros. Más recientemente se cita que “la mosca del cuerno” fue controlada por el uso de extractos de Citronela de Java. (Martins, R. 2006.)

4.2.3 Aspectos generales

La citronela es una especie herbácea, vivaz, rizomatosa, con numerosos macollos. Se presenta de dos metros de altura con hojas largas, anchas y lisas. (Tol, V. 2005) El principal componente de las hojas es un aceite esencial, líquido amarillo o amarillo parduzco que en contacto con el aire toma una coloración verdosa. El olor recuerda al del limón. Los suelos que resultan adecuados para la citronela son los lugares con clima tropical o sub tropical, con lluvias superiores a los 1.500 mm anuales. (Pineda, W. 2005)

4.2.4 Cultivo

Con respecto al cultivo y labores culturales, para esta especie se debe aumentar las distancias de plantación: de 1,20 a 1,50 m entre filas y 0,80-1 m entre plantas. (Pineda, W. 2005.)

4.2.5 Cosecha

El corte de las hojas se realiza con machete u hoces. En el primer año es posible realizar un solo corte, pero en los años sucesivos se pueden hacer dos,

uno en primavera y el otro en verano, dejando transcurrir, entre corte y corte, como mínimo cuatro meses.

En países situados en zonas tropicales, sin estaciones diferenciales, es posible realizar cuatro cortes. Como signo exterior indicativo para el momento de la cosecha puede tomarse el color amarillo marrón que adquieren las puntas de las hojas. El período de cosecha se extiende desde septiembre hasta marzo. (Pineda, W. 2005)

4.2.6 Poscosecha

- Rendimiento:
 - ✓ Hojas: 20,000-35,000 kg de material fresco, por hectárea.
 - ✓ Esencia: 0,3-0,5 % sobre material oreado; 90-140 kg por hectárea, en dos cortes.(Pineda, W. 2005)

4.2.7 Aceite esencial de Citronela

4.2.7.1 Producción a nivel mundial

El aceite esencial de Citronela es uno de los aceites esenciales naturales de más amplia utilización; el consumo mundial alcanzó varios miles de toneladas anuales hasta que hace unos años tuvo un descenso. Este aceite se obtiene principalmente en Indonesia, China, Taiwán, India y Guatemala. Vietnam y Brasil destacan entre los productores menores. Debido a la importante demanda interna en algunos de los principales países productores, se desconoce el volumen de la producción mundial, pero el comercio internacional alcanza actualmente la cifra de 1.600 a 1.750 toneladas anuales, a las que Indonesia y China contribuyen cada una con una proporción entre el 40 y el 45 por ciento, Taiwán y Guatemala con un poco menos del 3%. (Pineda, W. 2005)

4.2.7.2 Aspectos farmacológicos

- Descripción oftálmica: limón fresco, leñoso húmedo
- Apariencia: líquido amarillo
- Nota de perfume: alta
- Perfume: fresco con aroma a limón

El aceite esencial de Citronela es extraído por arrastre con vapor de sus hojas. El aceite es usado hoy en día por la medicina tradicional china para curar el reumatismo en humanos. Es un aceite estimulante que sirve eficazmente en un vaporizador, como repelente de insectos. Unas pocas gotas en agua, en velas y en quemadores son suficientes. El aceite es de un color amarillento con un olor parecido al del limón, peculiar, fresco, herbóreo y dulce. (Pineda, W. 2005)

4.2.7.3 Composición fisicoquímica del aceite

El aceite esencial de Citronela presenta las siguientes características fisicoquímicas:

Gravedad específica a 15°C	0.887 - 0.895
Rotación óptica	-0°35' a -5°6'
Índice de refracción	1.4685 – 1.4728
Geraniol total	82.3 – 89.4%
Aldehídos como citronellal	28.8 – 43.9%
Densidad (23°C)	0.9023 g/mL

(Pineda, W. 2005) (Tol, V. 2005)

El aceite de Citronela contiene citronellal (32 a 45%), geraniol (12-16%), Citronellol (11-15%), acetato de geranil (3-8%), acetato de citrone-lilil (2-4%), limoneno (2-5%), elemol y otros alcoholes sesquiterpenos (2-5%), β – elemeno y T-cadineno (2-5%) y trazos de cubebeno, calameneno, bourboneno, bisaboleno,

eugenol, metil eugenol, isopulgeol, nerol, linalol, geraniol, metil heptenone, myrceno y α -pineno. La alta calidad de citronela contiene más del 38% de citronellal, 16% de geraniol y 12% de citronellol. (Pineda, W. 2005)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Estudiante investigador
- 3 asesores profesionales

5.1.2 Recursos de laboratorio

- 3 pipetas de 1ml
- 3 pipetas de 10ml
- Pipeteador
- 3 Beackers
- Etanol
- Aceite esencial de Citronela
- Agua
- Papel absorbente
- Cajas de Petri
- Cinta adhesiva
- Incubadora
- Calculadora
- Cronómetro
- Agitadora magnética

5.1.3 Recursos de campo

- Frascos de vidrio con tapadera de rosca
- Cinta adhesiva
- Pinzas
- Lapicero

- Papel
- Vehículo
- Combustible
- Cámara fotográfica

5.1.4 Recursos biológicos

- Garrapatas *Rhipicephalus microplus* (hembras adultas)
- Bovinos con garrapatas

5.1.5 Centros de referencia

- Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Biblioteca personal del investigador
- Internet

5.2 Metodología

5.2.1 Trabajo en campo

Se recolectó en horas de la mañana garrapatas adultas, hembras repletas en buenas condiciones y similar tamaño de la especie *Rhipicephalus microplus*, provenientes de diferentes bovinos. Luego se transportó a las garrapatas en recipientes con tapadera y pequeños agujeros, para permitir la circulación del aire.

5.2.2 Trabajo de laboratorio

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas preliminares de diluciones (ver anexo 1), se trabajó con tres diluciones de aceite esencial de Citronela con etanol y agua a diferentes concentraciones (ver cuadro 1).

Cuadro 1.

Diluciones de aceite esencial de Citronela con etanol y agua con las cuales se realizó el presente estudio.

Dilución	Aceite esencial de Citronela (mL)	Etanol (mL)	Agua (mL)	Concentración
No.1	0.35	6.8	12.85	1.75%
No.2	0.3	6	13.7	1.5%
No.3	0.25	5	14.75	1.25%

Para determinar el efecto ixodicida de las diferentes diluciones, se realizó el método de inmersión de hembras repletas. (FAO.2004).

5.2.2.1 Método de inmersión de hembras repletas

- Las garrapatas hembras a utilizar fueron lavadas con agua destilada para remover cualquier huevo o suciedad que pudo presentar. Las hembras que estuvieran ovipositando al momento de llegar al laboratorio, no fueron utilizadas para el presente estudio.
- Luego de lavarlas, se colocaron en papel absorbente y se esperó un momento hasta que se secaron.
- En un beacker se preparó 20 ml de la dilución a evaluar y se le agregó 10 garrapatas, posteriormente, se colocó en el agitador magnético durante 30 minutos.

- Enseguida se retiraron las garrapatas de la dilución con ayuda de un colador y luego se colocaron de nuevo en papel absorbente para remover el exceso de dilución.
 - Con una cinta adhesiva, se colocaron las diez garrapatas dorsalmente en una caja de Petri, en diferente posición para luego incubarlas durante 7 días a una temperatura de 25 a 30°C.
- Para controlar la inocuidad de este método, se conformó un grupo control de garrapatas inmersas en agua. Además, se formaron tres grupos correspondientes a las concentraciones de etanol y agua utilizadas en las diluciones de aceite esencial de Citronela (1.75%, 1.50% y 1.25%) con el único fin de comprobar que el etanol no tuviera efecto ixodicida.
- Se llevó el control de las diluciones y sus resultados en hojas de registro.

(FAO.2004).

5.3 Interpretación de resultados

Siete días después de realizada la prueba de inmersión se procedió a observar el resultado en las cajas de Petri. Se observó que no hubo efecto ixodicida en aquellas garrapatas que ovipositaron luego de realizar la prueba de inmersión de hembras repletas. Sí hubo efecto ixodicida en las garrapatas que no ovipositaron luego de realizar dicha prueba.

5.4 Análisis estadístico

Para determinar la dilución de aceite esencial de Citronela con etanol y agua con mayor efecto ixodicida en garrapatas *Rhipicephalus microplus*, se realizó una comparación de los porcentajes de efectividad de los resultados finales obtenidos en cada una de las diluciones.

La unidad experimental fue la garrapata de la especie *Rhipicephalus microplus* y la variable a medir fue la capacidad de ovipositar posteriormente a cada tratamiento. El porcentaje más alto indicó que hay un mayor efecto ixodicida. El porcentaje de efectividad fue calculado como:

$$\frac{\text{No. de garrapatas que no ovipositaron}}{\text{Total de garrapatas en el grupo}} \times 100$$

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Resultados

Cuadro 2.

Resultados obtenidos de la prueba de inmersión de hembras repletas en las diluciones de aceite esencial de Citronela a diferentes concentraciones, en los laboratorios de Farmacología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria en la Universidad de San Carlos de Guatemala, Agosto-Septiembre del año 2013

Grupo	Concentración de la dilución	No. de garrapatas que ovipositaron	No. de garrapatas que no ovipositaron	% de efectividad
1	1.75%	0	10	100%
2	1.50%	2	8	80%
3	1.25%	3	7	70%

Cuadro 3.

Resultados obtenidos de la prueba de inmersión de hembras repletas en las diluciones control, en los laboratorios de Farmacología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria en la Universidad de San Carlos de Guatemala, Agosto-Septiembre del año 2013

Grupo	Etanol mL	Agua mL	No. de garrapatas que ovipositaron	% de efectividad
Control 1	6.8	13.2	10	0%
Control 2	6.0	14.0	10	0%
Control 3	5.0	15.0	10	0%
Control 4	-	20.0	10	0%

6.2 Discusión de Resultados

El aceite esencial de Citronela es mayormente utilizado en aromaterapia para la fabricación de jabones y velas ya que se describe en la literatura como un repelente natural para moscas y mosquitos, también es conocida por ser portadora de cualidad controladora de hongos. (Davis, P. 2008.) Conjuntamente, autores como Jansawan y Chungsamarnyart (2001) describen este aceite como una alternativa natural para el control de garrapatas. Los tres principales componentes del aceite esencial de Citronela, son el Citronelal, el Geraniol y el Citronelol; estos fueron utilizados en un estudio por Martins (2006) quien los utilizó separadamente para conocer su acción acaricida. Si bien no se pudo determinar el efecto del aceite esencial de Citronela sobre el organismo de la garrapata, los resultados de este estudio indicaron que el Citronelal y el Geraniol tienen una acción acaricida significativamente más fuerte que el Citronelol, indicando haber una acción sinérgica entre los tres compuestos para producir los efectos de acaricida.

Martins (2006), Natalia Castro, et al. (2009) y Gustavo López, et al. (2009) presentaron estudios en los cuales se realizaron varias pruebas “in vitro” utilizando aceite esencial de Citronela, combinado con otros compuestos para determinar su efecto en garrapatas *Rhipicephalus microplus*. Los resultados en estas investigaciones fueron positivos ya que en ellas se observó un buen efecto ixodicida. Sin embargo, las diluciones presentadas en estas investigaciones no permiten verificar si el aceite esencial de Citronela por sí solo fue el que presentó tal efecto.

El objeto del presente estudio fue brindar información sobre el uso del aceite esencial de Citronela como ixodicida en garrapatas de la especie *Rhipicephalus microplus*. Efectivamente, se logró demostrar la característica ixodicida del aceite esencial de Citronela utilizando tres concentraciones diferentes (1.75%; 1.5% y 1.25%). Los resultados obtenidos en la concentración 1.75% de

aceite esencial de Citronela, indican que la efectividad ixodícida sobre las garrapatas *R. microplus* fue de 100% (ninguna de las garrapatas en este grupo ovipositó). Por otra parte, la concentración 1.5% obtuvo una efectividad de 80% y la concentración 1.25% de 70% (ver Cuadro 2). Si bien estas últimas diluciones obtuvieron un menor porcentaje en comparación a la primera, podemos decir que aun así poseen un nivel alto de efectividad.

En todos los grupos utilizados como control, se obtuvo 0% de efectividad, esto significa que todas las garrapatas de cada uno de estos grupos sí ovipositaron, demostrando así que el etanol utilizado en estas diluciones no tuvo efecto ixodícida. (Cuadro 3) De acuerdo a los resultados obtenidos; podemos confirmar el efecto ixodícida del aceite esencial de Citronela, ya que se demostró que el etanol disuelto en agua por medio del método de inmersión de hembras repletas no afecta la oviposición en las garrapatas *Rhipicephalus microplus*. Finalmente, podemos decir que las tres concentraciones 1.75%; 1.5% y 1.25% de aceite esencial de Citronela tienen efecto ixodícida sobre las garrapatas *R. microplus*, siendo la concentración de 1.75% la que presentó mayor efecto ixodícida con un porcentaje de efectividad de 100%. La característica de ixodícida se le atribuye específicamente al aceite esencial de Citronela, convirtiéndose entonces en una alternativa natural para el control de garrapatas *Rhipicephalus microplus*.

VII. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de Citronela presentó efecto ixodicida sobre garrapatas de la especie *Rhipicephalus microplus*.
- Las tres diluciones de aceite esencial de Citronela con etanol y agua de concentraciones 1.75%; 1.5% y 1.25% presentaron efectividad.
- La dilución de aceite esencial de Citronela al 1.75% obtuvo un mayor efecto ixodicida sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus*.
- La dilución de aceite esencial de Citronela al 1.25% fue la que presentó menor efecto ixodicida sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus*.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio *in vivo* utilizando como ixodicida el aceite esencial de Citronela para evaluar su efecto a nivel de campo.
- Divulgar el presente estudio para dar a conocer esta nueva alternativa natural para el control de garrapatas.
- Continuar con la búsqueda de tratamientos naturales para el control de garrapatas.
- Se recomienda evaluar el efecto ixodicida del aceite esencial de Citronela sobre otras especies de garrapatas.

IX. RESUMEN

El presente estudio de investigación tuvo como objetivo principal la aportación de información sobre el efecto ixodicida del aceite esencial de Citronela sobre garrapatas de la especie *Rhipicephalus microplus*. Para poder cumplir con este objetivo, se realizaron 3 diluciones de aceite esencial de Citronela con etanol y agua con concentraciones de 1.75%; 1.5% y 1.25%. Además, se formaron 4 grupos control con el fin de que los resultados obtenidos al final de la investigación se debieran exclusivamente al aceite esencial de Citronela.

Con 10 garrapatas de la especie *Rhipicephalus microplus* por dilución, se realizó la prueba de inmersión de hembras repletas para determinar el porcentaje de efectividad de cada grupo. Los resultados obtenidos fueron: 100% de efectividad para la dilución de 1.75%; 80% de efectividad para la dilución de 1.5% y 70% de efectividad para la dilución de 1.25%.

La dilución que presentó mayor efecto ixodicida fue la de concentración de 1.75% ya que ninguna de las garrapatas de ese grupo ovipositó. Las diluciones de 1.5% y 1.25% también presentaron efecto ixodicida ya que el porcentaje de efectividad fue elevado (80% y 70% respectivamente). Los resultados obtenidos en los grupos control obtuvieron un 0% de efectividad, todas las garrapatas de estos grupos si ovipositaron. Esto nos demuestra que el efecto ixodicida de las diluciones previamente descritas, se debió a los principios activos que posee el aceite esencial de Citronela.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se demostró que el aceite esencial de Citronela es una alternativa natural efectiva contra las garrapatas *Rhipicephalus microplus*.

SUMMARY

The main purpose of this study was to generate information about the ixodicide effect of Citronella's essential oil on cattle tick *Rhipicephalus microplus*. In order to achieve this goal, three Citronella's oil dilutions with ethanol and water were made with the following concentrations: 1.75%; 1.5% and 1.25%. In addition, four control groups were formed to be sure of the veracity of the investigation's final results.

In each dilution, a total of 10 *Rhipicephalus microplus* ticks were used and they had all passed by the adult immersion test to get the percent effectiveness. The following results were found: 100% effectiveness on the 1.75% dilution, 80% on the 1.5% dilution and 70% on the 1.25% dilution.

The 1.75% dilution presented the highest ixodicide effectiveness percentage, none of the ticks of this group has laid eggs. The 1.5% and 1.25% dilutions also presented a high ixodicide effectiveness percentage (80% and 70% in the same order). All of the control groups presented a 0% ixodicide effectiveness, this means that all the ticks on this groups had laid eggs. We can finally say that the ixodicide effect was exclusively from the Citronella's essential oil components.

According to all of the results obtained from this study, we can assure that the Citronella's essential oil is an effective natural alternative against the cattle tick *Rhipicephalus microplus*.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bazán, M. 2002. Efecto de *Metarhizium anisopliae* (*Deuteromycotina: Hyphomycetes*) en el control biológico de *Boophilus microplus Canestrini* (Acari: Ixodidae) en ganado bovino estabulado. Universidad de Colima, México. 91 p.
2. Borchert, A. 1981. Parasitología Veterinaria. 3^{ra} edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 433-439 p.
3. Castro, N. et al. 2009. Estudio *in vitro* de la eficacia de la Citronela (*Cymbopogon winterianus*) sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. (en línea). Consultado el 05 sep. 2013 Disponible en http://www.ufpel.tche.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_01240.pdf
4. Cordero, M. et al. 1999. Parasitología Veterinaria. McGraw-Hill. Madrid, España. 420 p.
5. David, P. 2008. Aromaterapia de la A a la Z. 10^{ma} edición. EDAF. Madrid, España. 124-125 p.
6. Desquesnes, M. 1987. The Cattle Tick: *Boophilus microplus*. Georgetown, Guyana. CIRAD. 1-22 p.
7. Díaz, M, Rodríguez, R; Fragoso, H; Cruz, R. 2006. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch. Med. Vet. 38(2):105-113.
8. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, IT). 2004. Module 1. Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis,

management and prevention. (en línea). Consultado 31 oct. 2011. Disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ag014e/ag014e05.pdf>

9. Jansawan,W. Chungsamarnyart, N. 2001. Effect of *Tamarindus indicus* L. against the *Boophilus microplus*. Rev. Nat. Sci. 35:34-39.
10. López, G. et al. 2009. Evaluación de una mezcla de cipermetrina + clorpirifós sobre la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* en pruebas de campo y laboratorio en el predio Esteban Jaramillo Román Gómez del politécnico colombiano de Marinilla, Antioquia. (en línea). Consultado 05 sept. 2013 Disponible en http://www.revistamvzces.com/revistas/vol4no2/Articulo_6.pdf
11. Márquez, D. 2003. Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia: Epidemiología y control de las garrapatas en ganado bovino. Corpoica. Colombia. 86 p.
12. Martins, R. 2006. Estudio *in vitro* de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) en la garrapata *Boophilus microplus*. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu. 8(2):71-78.
13. _____. 2007. Uso del aceite de Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) (Panicoidideae) como acaricida frente a la garrapata *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu. 9(4):1-8.
14. OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2007. *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. (en línea). Consultado 10 ene. 2012. Disponible en http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/boophilus_microplus.pdf

15. Ojeda-Chi M. 2011. Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari : Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Merarhizium anisopiale* (Hypocreales: Clavicipitaceae). (en línea). Consultado 25 dic. 2011. Disponible en <http://www.tecnicapecuaria.org.mx/trabajos/201104084213.pdf>
16. Parra, M; *et al.* 1999. Manejo Integrado de garrapatas en bovinos. Colombia. Corpoica. 14 p.
17. Pineda, W. 2005. Comparación del rendimiento y caracterización del aceite esencial crudo de la citronela (*Cymbopogon winterianus*), variando el tamaño de la muestra y el contenido de humedad aplicando el método de extracción por arrastre con vapor a nivel laboratorio. Tesis Ing. Químico. Guatemala, GT, USAC. Facultad de Ingeniería. 59 p.
18. Sharapin, N. 2000. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. CAB (Convenio Andrés Bello). Bogotá, Colombia. 109-110 p.
19. Tol, V. 2005. Comparación de la calidad del aceite esencial crudo de citronela (*Cymbopogon winteriana jowitt*) en función de la concentración de geraniol obtenido por medio de extracción por arrastre con vapor y maceración. Tesis Ing. Químico. Guatemala, GT, USAC. Facultad de Ingeniería. 52 p.

XI. ANEXOS

Anexo 1

Prueba preliminar de diluciones, Septiembre, 2011.

Con el objetivo de obtener las diluciones a utilizar en este estudio (agua, aceite esencial de Citronela y etanol), se utilizaron distintas evaluaciones a nivel de laboratorio.

Se realizaron varias diluciones de diferentes concentraciones de aceite esencial de Citronela con etanol, para la obtención de una dilución final homogénea. Los resultados de estas pruebas se observaron en forma macroscópica, cuando se diluyeron los dos componentes (aceite esencial de Citronela y etanol) y luego se le agregó agua. La interpretación de resultados fue la presencia de burbujas en las diferentes diluciones. Se consideró la dilución óptima (dilución homogénea), aquella donde no se presentaron burbujas.

Se realizó la prueba de inmersión de hembras repletas con garrapatas de la especie *Rhipicephalus microplus* en las diluciones de etanol con agua, para descartar que el etanol presentara efecto ixodicida. Además se realizó esta misma prueba con las diluciones de aceite esencial de Citronela con etanol y agua para evaluar y confirmar si este aceite presentaba efecto ixodicida.

Las diluciones y la prueba de inmersión se realizaron en el laboratorio del Departamento de Farmacología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, la incubación de las pruebas y la lectura de los resultados se realizaron en el laboratorio del Departamento de Parasitología de esta misma Universidad.

Resultados:

Diluciones de aceite esencial de Citronela y etanol

No.	Aceite esencial de Citronela (mL)	Etanol (mL)	Agua (mL)	Resultados
1	0.5	0.5	19	Presencia de burbujas
2	5	5	100	Presencia de burbujas
3	2.5	5	50	Presencia de burbujas
4	2	8	50	Presencia de burbujas
5	1	9	30	Presencia de pocas burbujas
6	1	18	11	Dilución homogénea

Dilución de etanol con agua:

No.	Agua (mL)	Etanol (mL)	No. de garrapatas que ovipositaron	No. de garrapatas que no ovipositaron	[C] de etanol en la dilución
1	10	10	0	10	50 %
2	13	7	6	4	35 %
3	14	6	10	0	30 %
4	15	5	10	0	25 %
5	18	2	10	0	10 %
6	19	1	10	0	5 %

Dilución de Aceite esencial de Citronela con etanol y agua

No.	Aceite esencial de Citronela (mL)	Etanol (mL)	Agua (mL)	No. de garrapatas que ovipositaron	No. de garrapatas que no ovipositaron	[C] de Citronela en la dilución
1	0.7	14	5.3	0	10	3.5 %
2	0.6	12	7.4	0	10	3.3 %
3	0.5	9	10.5	2	8	2.4 %
4	0.3	5.9	13.8	3	7	1.6 %

En base a los resultados anteriores, se determinó que las concentraciones a evaluar en este estudio serán: 1.75%, 1.5% y 1.25%, conservando las proporciones adecuadas de etanol y aceite esencial de Citronela así como las de etanol y agua.

Anexo 2

Hojas de registro

Grupo	Concentración de las diluciones de aceite esencial de Citronela	Fecha de inmersión	Fecha de lectura de resultados	No. de garrapatas que ovipositaron	No. de garrapatas que no ovipositaron
1	1.75%	23/08/13	29/08/13	0	10
2	1.5%	26/08/13	02/08/13	2	8
3	1.25%	26/08/13	02/08/13	3	7

Grupos Control	Etanol mL	Agua mL	Fecha de inmersión	Fecha de lectura de resultados	No, de garrapatas que ovipositaron
Control 1	6.8	13.2	23/08/13	29/08/13	10
Control 2	6	14	26/08/13	02/08/13	10
Control 3	5	15	26/08/13	02/08/13	10
Control 4	-	20	23/08/13	29/08/13	10

Anexo 3

Gráficas de resultados

