



**UNIVERSIDAD DE MATANZAS**  
**ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PASTOS Y FORRAJES**  
*Indio Hatuey*

**Tesis en Opción al título de Master en Pastos y Forrajes**

**Efectos repelentes y acaricidas del aceite de las semillas de  
*Jatropha curcas* L. en larvas de *Rhipicephalus (Boophilus)*  
*microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae).**

**Autor**

***Lic. Alberto Rizo Borrego***

**Tutores:**

***Dra. C. Mildrey Soca Pérez***

***Dr. C. Danny Eugenio García Marrero†***

**Asesor:**

***Dr. C. Javier Arece García***

**Perico, Matanzas**

**2019**

**A la memoria del *Dr. Danny Eugenio García Marrero*<sup>†</sup>**

**“.... Conocer la ciencia es el resultado de la labor colectiva de gente común y no la inspiración de un grupo de talentosos...”**

***Clifford D. Conner***

## AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, la *Dra.C. Mildrey Soca Pérez* por su apoyo, paciencia y perseverancia.

Al *Dr.C. Danny Eugenio García Marrero*<sup>†</sup> por sus contribuciones a esta tesis

Al Comité Académico y al claustro de profesores de la Maestría de Pastos y Forrajes, que me dieron las herramientas necesarias para la actividad científica.

Al *MSc. Héctor L. Santana Armas* por su contribución y ayuda en la revisión de la bibliografía y la redacción del documento.

Al *Dr.C. Félix Ojeda García*, por sus sabios consejos y su apreciable colaboración en todo momento.

Al *Dr.C. Javier Arece García* y la *Dr.C. Tania Sánchez Santana* por su colaboración en el análisis estadístico.

A la *EEPF Indio Hatuey* que me acogió y me formó como un eterno estudiante.

A los colegas del laboratorio de parasitología de la *EEPF Indio Hatuey*, en especial a *Marisol Ramírez* y *Yaima Roche* por su colaboración en la realización de los experimentos.

Al Laboratorio Nacional de Parasitología de San Antonio de los Baños, Artemisa por haber donado el material biológico con el cual se desarrolló esta investigación, en especial al *MSc. Alier Fuentes Castillo*.

A los proyectos internacionales «*La biomasa como fuente renovable de energía para el medio rural*» (Agencia Suiza para el desarrollo y la cooperación – COSUDE) y «*Diagnóstico y estrategias de control de hemoparásitos transmitidos por garrapatas de bovinos e bubalinos*» (Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – CAPES, Brasil), quienes financiaron estos estudios.

Al *Lic. Dariel Morales Querol*, presto a colaborarnos en todo momento.

A los colegas del laboratorio de biotecnología de la *EEPF Indio Hatuey*, en especial a *Nancy Artunaga*; por su colaboración en la realización de las dosificaciones y preparación de las sustancias bioactivas con los que trabajamos.

Al *Dr.C. Aivaldo H. Fonseca* y la *Dr.C. Patricia Giuponi Cardoso* de la Universidad Federal Rural de Río de Janeiro por sus recomendaciones y sus enseñanzas.

Al *MSc. Luis Cepero Casas* y al *Dr.C. Jesús Suárez Hernández* por toda la información brindada.

A los trabajadores del módulo de producción bovina de la *EEPF Indio Hatuey*, por su ayuda en la ejecución de los experimentos de la tesis.

A la *MSc. Rosa María Rodríguez* y al *Lic. Dayron Martín Prieto* por su colaboración en los análisis de la caracterización química de la *Jatropha*.

A los trabajadores de LABIOFAM, mis compañeros de trabajo, por su apoyo incondicional, en especial a *Lázaro Menocal* y *Jaime Rodríguez*.

Al *Sr. Manuel Martínez* que me acogió como parte de su familia.

Al *Dr. Martín Bugarín* y su familia por tantas gentilezas.

A los amigos, que me apoyaron, mis enemigos, que me hicieron esforzarme, y aquellos que me ignoraron y ahora me reconocen.

**A todos muchas gracias.**

## DEDICATORIA

A la memoria de mi padre y mi hermano que, dondequiera que estén, siempre me apoyaron a seguir superándome.

A mi madre, por sus horas de desvelo.

A mis hijos, que son la fuente de mi inspiración y mi energía vital.

A mi esposa, que es mi puntal y mi apoyo.

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la actividad repelente y acaricida del aceite de las semillas de *Jatropha curcas* L., con diferentes períodos de almacenamiento en larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, se desarrolló la presente investigación en la EEPF *Indio Hatuey*. Se utilizó la cepa de garrapata Cayo Coco y se evaluaron aceites con dos períodos de almacenamiento: 1 año/extracción 2017 y 3 años/extracción 2014. Como control positivo se utilizó el acaricida Deltametrina (Butox®) y control negativo agua destilada. Para los estudios *in vitro* se utilizaron las técnicas de repelencia e inmersión de larvas, donde se evaluaron las concentraciones de 0,5; 1,75; 2,5; 5 y 10 mg/mL. La caracterización de la composición química se realizó a través de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa. Los porcentajes de repelencia fueron superiores al 89 % para los aceites de *J. curcas* L. (extracción 2014 y 2017). Pasada las 8 horas el Control Positivo (Butox®) disminuyó su actividad repelente hasta alcanzar valores del 64,20 % a las 16 horas. Mientras el agua destilada no mostró actividad repelente, ya que sus valores oscilaron entre 3 y 7 % durante la etapa experimental. El aceite mostró actividad acaricida con valores de eficacia (mortalidad) de 96 y 97 % el aceite 2014 y de 98,11 y 98,99 % para el aceite 2017, en concentraciones de 5 y 10 mg/mL, respectivamente. La composición química mostró una mayor representación de los ácidos grasos insaturados, los cuales estuvieron representados mayoritariamente por Linoleico y oleico. Mientras que los saturados fueron esteárico y palmítico, aunque estuvieron presentes otras sustancias en menor cuantía. Los resultados mostrarán que el aceite de la semilla de *J. curcas* L. posee actividad repelente y acaricida para las concentraciones evaluadas frente a larvas de la garrapata *R. (B.) microplus*.

Palabras claves: *garrapata, aceite, jatropha, acaricida, repelente.*

# ÍNDICE GENERAL

Acápites	Páginas
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	5
I.1. <i>Jatropha curcas</i> L., una planta con potencial para la producción y la salud animal.	5
I.1.1. Características agroproductivas de la especie.	5
I.1.2. Composición química.	6
I.1.3. Principales usos de la especie y sus derivados.	8
I.1.4. Propiedades medicinales y antiparasitarias.	10
I.2. <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> su impacto en los sistemas ganaderos.	12
I.2.1. Apuntes sobre la biología y epidemiología de la especie.	12
I.2.2. Control integrado de las garrapatas, principales estrategias.	16
I.3. Las plantas, su potencial acaricida.	18
I.4. Las técnicas <i>in vitro</i> , su contribución a las investigaciones en garrapatas.	21
<b>CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	25
II.1. Localización de las investigaciones.	25
II.2. Obtención del material biológico.	25
II.3. Procedencia, obtención y caracterización del aceite de <i>J. curcas</i> L.	26
II.3.1. Evaluación de los parámetros de calidad de los aceites.	27

<b>Acápites</b>	<b>Páginas</b>
II.4. Experimento 1. Determinación de la actividad repelente del aceite de la semilla de <i>J. curcas</i> L frente a larvas de <i>R. (B) microplus</i> con diferentes períodos de almacenamiento.	29
II.5. Experimento 2. Evaluación <i>in vitro</i> de la actividad acaricida del aceite de la semilla de <i>J. curcas</i> L. frente a larvas de <i>R. (B) microplus</i> con diferentes períodos de almacenamiento.	32
II.6. Análisis estadísticos.	34
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>36</b>
III.1. Actividad repelente del aceite de <i>Jatropha curcas</i> L. frente a larvas de <i>R. (B.) microplus</i> .	36
III.2. Actividad acaricida del aceite de <i>Jatropha curcas</i> L. frente a larvas de <i>R. (B.) microplus</i> .	46
III.3. Caracterización de la composición físico química del aceite de <i>Jatropha curcas</i> L.	50
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>58</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>59</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>60</b>
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Páginas
I.1. Composición química de la harina de las semillas de <i>Jatropha curcas</i> L.	8
I.2. Resultados de las investigaciones desarrolladas con las plantas y su eficacia en el control de garrapatas.	20
II.1. Normas ASTM/AOCS para la determinación de las propiedades físico-química del aceite.	28
III.1. Características físicas del aceite del fruto de <i>J. curcas</i> L.	50
III.2. Composición química del aceite de la semilla de <i>J. curcas</i> L. Extracción 2014.	53-54
III.3. Composición química del aceite de la semilla de <i>J. curcas</i> L. Extracción 2017.	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Páginas
III.1. Actividad repelente de las sustancias evaluadas frente a larvas de <i>R. (B.) microplus</i> .	37
III.2. Distribución del porcentaje de larvas de <i>R. (B.) microplus</i> a las 2 horas.	39
III.3. Distribución del porcentaje de larvas de <i>R. (B.) microplus</i> a las 4 horas.	40
III.4. Distribución del porcentaje de larvas de <i>R. (B.) microplus</i> a las 8 horas.	40
III.5. Distribución del porcentaje de larvas de <i>R. (B.) microplus</i> a las 16 horas.	41
III.6. Distribución del porcentaje de larvas de <i>R. (B.) microplus</i> a las 32 horas.	41
III.7. Eficacia del aceite de la semilla de <i>J. curcas</i> L. frente a larvas de <i>R. (B.) microplus</i> con diferentes períodos de almacenamiento.	48
III.8. Curva de cromatografía para el aceite de la semilla de <i>J. curcas</i> L., extracción 2014.	52
III.9. Curva de cromatografía para el aceite de la semilla de <i>J. curcas</i> L., extracción 2017.	53

## ÍNDICE DE IMÁGENES

Imágenes	Páginas
II.1. Colecta, lavado, incubación del material biológico para la obtención de las larvas.	26
II.2. Semillas y aceite crudo de <i>Jatropha curcas</i> L.	27
II.3. Procedimiento experimental para la determinación de la actividad repelente del aceite de <i>J. curcas</i> L. frente a larvas de <i>R. (B.) microplus</i> .	30
II.4. Procedimiento experimental para la determinación de la actividad acaricida del aceite de <i>J. curcas</i> L. frente a larvas de <i>R. (B.) microplus</i> .	34
III.1. Comportamiento biológico de las larvas de <i>R. (B.) microplus</i> en el test de repelencia.	44

## ABREVIATURAS

<b>Símbolo</b>	<b>Nombre</b>
%	Por ciento
TPB	Tristeza Parasitaria Bovina
EF	Ésteres de forbol
msnm	Metros sobre el nivel del mar
mm	Milímetros
°C	Grados Celsius
m	Metros
cm	Centímetros
t	Toneladas
kg	Kilogramos
N	Nitrógeno
K	Potasio
Mg	Magnesio
Zn	Zinc
Fe	Hierro
kcal/kg	Kilo calorías por kilogramo
eq	Equivalente
MS	Materia seca
mg	Miligramos
mL	Mililitros
Pb	Plomo
Cu	Cobre

<b>Símbolo</b>	<b>Nombre</b>
Cr	Cromo
Ni	Níquel
P	Fosforo
Ca	Calcio
Na	Sodio
OP	Organofosforados
PS	Piretroides sintético
Am	Amidinas
FN	Fenilpirazoles
RC	Reguladores del crecimiento
ML	Lactonas macro cíclica
CIP	Control integrado de parásitos
UV	Ultravioleta
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
SO <sub>2</sub>	Dióxido de azufre
NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrógeno
O <sub>2</sub>	Oxígeno
PQ	Preparación química
CC	Concentraciones
EAS	Extracto acuoso de la semilla
EAH	Extracto acuoso de las hojas
EP	Extracto puro

<b>Símbolo</b>	<b>Nombre</b>
AS	Aceite de la semilla
AE	Aceites esenciales
ET	Extracto del tallo
EC	Extracto crudo
EEF	Extracto etanólico del fruto
EHP	Extracto hexano puro
AHT	Aceite de hojas y tallos
AIT	Prueba de inmersión en teleoginas
LIT	Prueba de inmersión en larvas
LPT	Prueba de paquetes larvales
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura
WAAVP	Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria
CL <sub>50</sub>	Concentración media inhibitoria
CL <sub>99</sub>	Concentración máxima inhibitoria
IC	Intervalos de confianza
GC/MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa
EEPFIH	Estación Experimental de Pastos y Forrajes <i>Indio Hatuey</i>
BIOMAS	La biomasa como fuente renovable de energía para el medio rural
COSUDE	Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación
CAPES	Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nivel superior Brasil
kW	Kilowats
rpm	Revoluciones por minuto

---

<b>Símbolo</b>	<b>Nombre</b>
kg/m <sup>3</sup>	Kilogramos por metros cúbicos
mpa/seg	Milipoise por segundo
M	Molar

---

## INTRODUCCIÓN

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae), es considerado el ectoparásito de mayor importancia para la bovinocultura. Presenta una amplia distribución geográfica, encontrándose principalmente en los trópicos y subtrópicos, afectando hasta el 80 % de la población de esta especie en el mundo debido a su capacidad para adaptarse a las más variadas condiciones ecológicas (Grisi *et al.*, 2014; Aguilar-Tipacamú *et al.*, 2016; Ali *et al.*, 2016).

Constituyen ectoparásitos obligados, porque se alimentan exclusivamente de sangre (hematófagos) (Hurtado *et al.*, 2015) y son potenciales transmisores de agentes patógenos (protozoos, rickettsias, espiroquetas y virus), además de algunas antropozoonosis<sup>1</sup>, amenazando seriamente no solo la producción ganadera, sino también la salud del hombre (García-Corredor *et al.*, 2016).

Según Domínguez *et al.* (2013), Álvarez (2014), Dantas dos Santos *et al.* (2016) y Pavón-Leyva (2016) las garrapatas provocan cuantiosas pérdidas económicas por irritación y/o reacciones alérgicas en la piel, anemia, disminución en la ganancia de peso, la producción de carne y leche, a la transmisión de agentes patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale* y *Theileria parva*, al incremento de los costos de control y a los tratamientos de enfermedades y problemas reproductivos en los animales.

La presencia de altas infestaciones de la garrapata *R. (B.) microplus* en los bovinos puede causar cambios en el equilibrio enzoótico y la epidemiología de los patógenos y sus respectivas enfermedades, un ejemplo de ello lo constituye el cuadro conocido como Tristeza Parasitaria Bovina (TPB) (Ramires dos Santos *et al.*, 2019).

Las pérdidas por concepto de estas parasitosis, en América Latina, se estiman entre 32 a 500 millones de dólares anuales. Aunque en países como Brasil las cifras son superiores, todo ello por concepto de gastos con garrapaticidas, pérdidas de la producción, mortalidad y campaña sanitaria (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017; Miravalles *et al.*, 2018).

---

<sup>1</sup> Enfermedad que se transmite de los animales al hombre

Hasta la fecha los acaricidas de síntesis química constituyen el principal método de control para estas parasitosis a nivel mundial. Sin embargo, esta estrategia se ha tornado ineficaz en algunas regiones debido a la aparición y desarrollo acelerado de la resistencia al principio activo, en las poblaciones de garrapatas (Morais-Urano *et al.*, 2012; Castillo *et al.*, 2016; de Oliveira Souza Higa *et al.*, 2016).

La resistencia es uno de los mayores problemas, debido a que la disponibilidad de nuevos antiparasitarios es cada vez más escasa. El uso intensivo de estos productos químicos ha provocado la contaminación del suelo y el agua, la exposición de los trabajadores rurales y la presencia de residuos químicos en la leche y la carne, lo que causa preocupación en la sociedad y las agencias gubernamentales (Agnolin *et al.*, 2014; de Oliveira Souza Higa *et al.*, 2015; Hurtado *et al.*, 2015; Torres-Acosta *et al.*, 2015).

En este contexto, se hace necesaria la búsqueda de otras estrategias de control. Las plantas 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 bióticas y estrés abiótico (Arceo-Medina *et al.*, 2016; 2017).

Investigaciones desarrolladas desde la década de los 90 del siglo pasado han demostrado que las plantas con actividad acaricida pueden causar diversos efectos sobre los artrópodos como son: repelencia, inhibición de la alimentación o la síntesis de quitina, causan disturbios en su desarrollo (crecimiento o reproducción), deformaciones, infertilidad y mortalidad en diversas fases de su ciclo biológico (Campos *et al.*, 2012; Rosado-Aguilar *et al.*, 2017).

Los compuestos químicos derivados de plantas se presentan como una alternativa a los productos de síntesis química, ya que tienen baja toxicidad, son solubles en agua y se degradan mejor en el ambiente, por radiación solar y humedad. Estas propiedades permiten reducir el desarrollo de resistencia acaricida y el alto impacto ecológico en los sistemas ambientales (Chagas *et al.*, 2012; Parte *et al.*, 2014).

Entre las especies vegetales más estudiadas se encuentran: *Azadirachta indica* A. Juss., *Cymbopogon winterianus* Jowitt, *Petiveria alliacea* L., *Eucalyptus citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson, *Piper aduncum* L., *Nicotiana tabacum* L., entre otras (Chagas *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2012; Agnolin *et al.*, 2014; Soca-Pérez *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2017; Braga *et al.*, 2018).

Aunque se han utilizado diferentes partes de las plantas (tallos, hojas, raíz, corteza, frutos, flores y semillas), los aceites esenciales o no, presentes en las especies vegetales están siendo ampliamente utilizados por su actividad terapéutica, bactericida, fungicida e insecticida. Su eficacia podrá variar en función de la época del año, la concentración de los metabolitos y las condiciones ambientales en las que estén las plantas (Adenubi *et al.*, 2016; Cavalcante-Barros *et al.*, 2019).

Entre ellos se encuentran los provenientes de las semillas de *Jatropha curcas* L., la cual es una especie multipropósito, de origen tropical, perteneciente a la familia Euphorbiaceae. Esta planta es de rápido crecimiento, altamente resistente a la sequía, puede ser cultivada en áreas marginales, sin competir con la producción de especies para la alimentación humana y animal (Toral *et al.*, 2016).

Considerada como una planta oleaginosa por su alto contenido de aceite en las semillas. Sin embargo, no es comercializado por sus efectos tóxicos atribuidos a la presencia de ésteres de forbol (EF) y de una proteína tóxica llamada curcina (Lopera Vélez *et al.*, 2017).

La utilización de *Jatropha* en la medicina tradicional y el uso veterinario se ha reportado en Asia, África y América Latina. Todas las partes de la planta tienen usos medicinales, ampliamente utilizadas en el control de enfermedades por sus propiedades como insecticida y fungicida (Carrasco-Rueda *et al.*, 2013; Escobar, 2015; Valdés-Izaguirre *et al.*, 2018).

Por otra parte, Fuentes-Zaldivar *et al.* (2017) reportó efectos acaricidas *in vitro* del aceite frente a teleoginas y larvas de *R. (B.) microplus*, mientras que Lopera-Vélez *et al.* (2017) encontró resultados similares, pero al utilizar extractos vegetales de hojas y semillas de la misma especie.

Sin embargo, la mayor cantidad de reportes han estado vinculados a la salud humana y en menor cuantía a los estudios sobre sus usos en la medicina veterinaria. De ahí la importancia de continuar las investigaciones sobre las potencialidades de esta especie para la salud animal en condiciones tropicales.

### **Problema científico**

Se desconocen los efectos repelentes y acaricidas del aceite de semillas de *Jatropha curcas* L., con diferentes períodos de almacenamiento en el control de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

### **Hipótesis**

Las sustancias bioactivas presentes en el aceite del fruto de *Jatropha curcas* L., con diferente período de almacenamiento, presentan efectos repelentes y acaricidas sobre las larvas de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

### **Objetivo General**

Evaluar la actividad repelente y acaricida del aceite de las semillas de *Jatropha curcas* L., con diferente período de almacenamiento en larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

### **Objetivos Específicos**

Determinar de la actividad repelente del aceite de la semilla de *J. curcas* L. con diferente período de almacenamiento frente a larvas de *R. (B) microplus*.

Evaluar la actividad acaricida del aceite de la semilla de *J. curcas* L. con diferente período de almacenamiento frente a larvas de *R. (B) microplus*.

Caracterizar la composición química del aceite de la semilla de *J. curcas* L. con diferente período de almacenamiento.

## **CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **I.1. *Jatropha curcas* L., una planta con potencial para la producción y la salud animal**

#### **I.1.1. Características agroproductivas de la especie**

*Jatropha curcas* L. es un árbol pequeño, multipropósito de la familia de la Euphorbiaceae. El nombre del género *Jatropha* deriva del griego jatrós (doctor) y trophé (comida), que implica usos medicinales, mientras que *Curcas* es el nombre común para la nuez del *Phycis* en Malabar, India (Sotolongo-Pérez *et al.*, 2007).

A pesar de ser nativo de México y Centroamérica, crece en numerosas zonas climáticas en regiones tropicales y subtropicales del mundo, extendiéndose desde el continente americano hasta África y Asia (Igbinosa *et al.*, 2011). Recibe diferentes nombres comunes, en Cuba se le reconoce como: piñón botija, piñón de cercas, piñón purgante. Es llamada piñoncillo en México, piñol en Perú y tempate en Costa Rica (López-Sáez y Pérez-Soto, 2011; Machado, 2011).

Según Torres (2007) y Valderrama y Sánchez-Roldán (2016), esta planta resiste normalmente el calor, aunque también soporta bajas temperaturas y puede resistir hasta una escarcha ligera. Se le encuentra normalmente a bajas elevaciones, por debajo de los 1 200 msnm, en tacotales de áreas secas y húmedas, en planicies o colinas, con precipitaciones de 300 a 1 800 mm y temperaturas de 18 a 28 °C; aunque se planta también en sitios con temperaturas de hasta 34 °C.

Su requerimiento de agua es sumamente bajo y puede soportar períodos largos de sequía (de tres a seis meses); se adapta a una gran variedad de suelos, incluyendo los de bajo contenido de nutrientes. Aunque los prefiere livianos y bien drenados, se desarrolla normalmente en suelos áridos y semiáridos. En suelos pesados la formación de raíces se ve limitada (Rucoba y Mungia, 2013; Toral *et al.*, 2016).

Es una especie de rápido crecimiento, alcanza de 3 a 6 m de altura. Sin embargo, en la etapa de vivero, las plántulas pueden ver afectada su respuesta fisiológica y el crecimiento si son sometidos a estrés hídrico (Lama *et al.*, 2019).

Según Mejías *et al.* (2015), puede ser propagada tanto por semillas como por estacas. Las plantas multiplicadas por semillas son más resistentes y de mayor longevidad. Inician la

producción de frutos a los seis meses y alcanzan la estabilidad productiva en su madurez fisiológica, después de los cuatro años. Las plantas provenientes de estacas, en cambio, tienen un ciclo de vida más corto y un sistema radicular menos vigoroso, pero comienza a producir más temprano. Cuando es obtenida por vía sexual, en buenas condiciones de producción, la longevidad es de 30 a 50 años.

Los frutos son cápsulas drupáceas de 2 cm de diámetro, de color café claro, donde se encuentran de dos a tres semillas; del tamaño, forma y apariencia de una almendra, aunque más blancuzca, rodeadas por un material en forma de pulpa y la cáscara del fruto, que se convierte en un material pergaminoso al secarse (Sotolongo-Pérez *et al.*, 2007).

La producción de semillas puede iniciar desde el primer año, su rendimiento tiene una tendencia a incrementarse durante los primeros cinco años y a partir de este momento se estabiliza. El rendimiento por hectárea puede llegar a ser hasta de 5 t de semilla, de las cuales 2 t son de aceite y 1 t es de pasta residual, rica en proteína (60 %) (Martínez, 2005; Parsons, 2005). Estos rangos de producción de semilla pueden variar desde 0,4 t hasta 12 t/ha/año, después de cinco años de cultivo. Según Hooda y Rawat (2005), la variabilidad dependerá de las condiciones edafoclimáticas y el manejo de la plantación. Bajo condiciones adecuadas el rendimiento oscila alrededor de 2 kg de semilla por planta, mientras que, en suelos relativamente más pobres los valores varían entre 0,75 a 1 kg/planta.

### **I.1.2. Composición química**

*J. curcas* es una especie de gran diversidad en la composición química (metabolitos primarios y secundarios) en cada una de las partes de la planta. Se han identificado flavonoides, diterpenos, esteroides, triterpenos, saponinas, cumarinas, deoxipreussomerinas, ácidos orgánicos, iridioides, saponinas y taninos, entre otros. Esta diversidad influye en su funcionamiento e interviene en sus interacciones ecológicas con el ambiente (Igbinosa *et al.*, 2009; Oskoueian *et al.*, 2011a; Wei-Zhang *et al.*, 2015).

Las semillas han sido la parte de la planta más estudiada, contienen entre 30 y 32 % de proteína y de 60 a 66 % de lípidos. De ahí que sea considerada como una planta oleaginosa, la composición del aceite en las semillas es de 64 % de triacilglicerol, 12 % de compuestos

hidrocarbonados y 9 % de ácidos grasos libres, entre los que se encuentran el oleico, linoleico, palmítico y esteárico (Pabón y Hernández-Rodríguez, 2012).

Al respecto Campusano-Duque *et al.* (2016) señala que en el perfil lipídico de esta especie predominan cuatro ácidos grasos: oleico (40,3 %), linoleico (38,6 %), palmítico (12,9 %) y esteárico (6,6 %). Otros ácidos presentes manifestaron una concentración promedio no superior al 2,0 % (linolénico, mirístico, palmitoleico, eicosanoico y eicosenoico). A nivel mundial el perfil lípido de los genotipos de *J. curcas* está calificado como oleico-linoleico, con predominancia de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (Kumar *et al.*, 2016; Rodríguez-Ramos *et al.*, 2017).

Se han empleado diferentes métodos para optimizar los rendimientos de extracción, encontrándose que en el método de *Soxhlet* con hexano el rendimiento es de 49 % y por fluidos supercríticos es de 43 %. Por otra parte, Karaj y Müller (2010) demostraron que la extracción de aceite está influenciada por la generación de temperatura cuando se utilizan métodos mecánicos (prensa de tornillo). Sin embargo, Jain (2019) señala que el rendimiento del aceite no solo depende del tipo de método de extracción sino también de los contenidos de lípidos presentes en las semillas.

Aun cuando posee una composición similar a la de muchos aceites comestibles no se ha comercializado por sus efectos tóxicos atribuidos a los ésteres de forbol (EF) (Lopera-Vélez *et al.*, 2017) y de una proteína tóxica llamada curcina (Reddy *et al.*, 2012). Según Haas *et al.* (2012) reportan seis tipos de EF con una misma fracción diterpeno. Sin embargo, el más representado es el 4 B-12-O-tetracanoilforbol13-acetato.

La semilla y la torta, poseen sustancias antinutricionales como son: inhibidor de tripsina, lectina (curcina y curcusone B), saponina, ácido fítico, ácido curcalónico y los ésteres de forbol. La pulpa del fruto es rica en nitrógeno (N), potasio (K), magnesio (Mg), zinc (Zn) y hierro (Fe), mientras que, la cascarilla, posee un valor calórico de 4,155 kcal/kg. La torta tiene un contenido de proteína promedio de 59 % (López-Sáez y Pérez-Soto, 2011; Campusano-Duque *et al.*, 2016).

Los fitatos constituyen, otro de sus importantes componentes antinutritivos, los cuales no son lábiles al calor y que pueden tener efectos adversos, en especial, por la disminución en la biodisponibilidad de los minerales, particularmente, calcio, zinc y hierro. Sin embargo,

pueden ser mitigados mediante la adición de minerales en la dieta. (Saetae y Worapot, 2011).

En México han sido identificado variedades de *Jatropha* no tóxicas, por sus bajos contenidos de EF, lo cual puede abrir una ventana a su inclusión en la dieta animal. La tabla I.1 muestra la composición de las harinas de las variedades. Los resultados exponen los altos niveles de proteína, sin embargo, otros anti nutrientes tales como el inhibidor tripsina, la lectina y el fitato siguen estando presentes en cantidades significativas (Foidl *et al.*, 2001).

**Tabla I.1. Composición química de la harina de las semillas de *J. curcas*.**

<b>Componente</b>	<b>Variedad tóxica</b>	<b>Variedad no tóxica</b>
Ésteres de forbol	2,79	0,11
Fenoles totales (% ácido tánico eq)	0,36	0,22
Taninos (% ácido tánico eq)	0,04	0,02
Fitatos (% MS)	9,40	8,90
Inhibidor tripsina (mg de tripsina por g de muestra)	21,30	26,50
Lecitinas (1/mg de harina que produjo hemoaglutinación por mL de muestra de ensayo)	102	51

Todos los datos están en base a la MS; fuente: Makkar *et al.* (1998)

### **I.1.3. Principales usos de la especie y sus derivados**

*J. curcas* es un ejemplo de planta versátil, con atributos económicos y ecológicos, utilizada en varios países tropicales de América, África y Asia como energía alternativa gracias al aceite obtenido de las semillas. Presenta usos diversos, entre los que se destacan la farmacología, los biofertilizantes, la bioenergía, la alimentación animal y humana (Pabón y Hernández-Rodríguez, 2012; Campusano-Duque *et al.*, 2016).

El aceite del fruto es una fuente de energía renovable no convencional, de bajo costo y amigable con el ambiente. Puede reemplazar otros combustibles como el keroseno, el petróleo y a la leña/carbón con relativo éxito, para la iluminación y la cocina. Por lo que la producción de biomasa de esta especie y su conversión en energías limpias y útiles, puede

tener una influencia positiva en la matriz energética en el medio rural (Sotolongo-Pérez *et al.*, 2016).

Altamente resistente a la sequía, puede ser cultivado en áreas marginales, sin competir con la producción de especies para la alimentación humana y animal. Su establecimiento podría incrementar las áreas boscosas y la reforestación en los ecosistemas más frágiles, en especial, en las regiones semiáridas y secas. Contribuyendo a la regeneración de los suelos, al control de la erosión, el incremento de la biodiversidad, la captura de carbono de la atmósfera y su fijación al suelo (Rucoba *et al.*, 2013; Valderrama y Sánchez-Roldán, 2016; Silva *et al.*, 2019).

Según Warra *et al.* (2019) esta especie posee un enorme potencial para la fitorremediación en lugares contaminados por metales tóxicos y metaloides dada su plasticidad y capacidad de adaptación. Estudios realizados por Álvarez-Mateos *et al.* (2019) encontraron que *J. curcas* posee capacidad para la remoción de metales pesados, absorbiendo grandes cantidades de Fe y notables de Zn, plomo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr) y níquel (Ni), en algunos casos fueron eliminadas totalmente las concentraciones de estos compuestos en el suelo.

En muchos países tropicales se usa ampliamente como cerca viva, tutores de otros cultivos, y como árbol de sombra y ornato. Puede ser utilizada como cultivos alternativos en regiones donde otras especies han perdido el valor comercial. De ahí que su expansión podría proporcionar nuevas fuentes de empleo y mejorar el nivel y la calidad de vida de la población rural (Sotolongo-Pérez *et al.*, 2014).

Es una materia prima muy interesante para la producción de oleoquímicos porque tiene aproximadamente un 80 % de compuestos insaturados, que unidos a sus características fisicoquímicas: viscosidad, índice de yodo y de saponificación, tiene usos muy importantes para la producción de biodiesel, la fabricación de jabón, barnices, betunes y la extracción de glicerina con fines industriales (Garay *et al.*, 2012; Aguilar *et al.*, 2015; del Río *et al.*, 2015; Pazmiño-Sánchez, 2018).

Por su contenido de fibra, proteína y minerales (P, Ca, Mg, Na y K) en los frutos puede utilizarse como fertilizante y para la nutrición animal. La cascarilla, con un poder calorífico de 4,155 kcal/kg, tiene un uso potencial para la cogeneración de energía. La torta obtenida

por el prensado de la semilla para la extracción del aceite puede ser utilizada como alimento, después de un proceso de destoxificación, pues contiene altos niveles de proteína (55-58 %) y se distingue por sus contenidos de aminoácidos esenciales (Soca-Pérez, 2015; Córdova-Téllez *et al.*, 2016).

La torta sin destoxificar, puede emplearse como abono orgánico por sus contenidos en nitrógeno, similar al de la gallinaza. Considerada también como sustituto de productos para la estimulación del crecimiento en las plantas y la elaboración de aglomerados. Sus ramas y hojas tiernas se usan también como abono verde (Campusano-Duque *et al.*, 2016).

Los ésteres de forbol tienen aplicaciones potenciales como bio pesticidas, insecticida y molusquicida. Diferentes investigaciones han sido desarrolladas para evaluar extractos acuoso y metanólico de hojas, semillas y aceite, mostrando una alta toxicidad de estos compuestos (Rug y Ruppel, 2000).

Considerando la versatilidad y capacidad de adaptación de esta especie, Ovando-Medina *et al.* (2011) y Edrisi *et al.* (2015), señalan la necesidad de utilizar el mapeo genético, el cruzamiento asistido y la ingeniería genética para la obtención de cultivares de *Jatropha* que combinen el desarrollo agronómico de campos altamente productores de aceite y tortas, para transformarlo en cultivos de alimento industrial y biodiesel.

#### **I.1.4. Propiedades medicinales y antiparasitarias**

La utilización de *J. curcas*, en la medicina tradicional y el uso veterinario se ha reportado en Asia, África y América Latina. Todas las partes de la planta tienen usos medicinales (Sabandar *et al.*, 2013; Escobar, 2015). Se destacan sus propiedades como insecticida, acaricida, fungicida, antimicrobiana, antirreumática, antiinflamatoria, antipirética, diurética y antioxidante (Das-Gupta *et al.*, 2010; Kalimuthu *et al.*, 2010; Arekemase *et al.*, 2011; James *et al.*, 2011; Namuli *et al.*, 2011; Oskoueian *et al.*, 2011b; Rahman *et al.*, 2014; Sánchez-Sánchez *et al.*, 2015; Araiza-Lizarde *et al.*, 2015).

Las semillas eran exportaban de Cabo Verde a Portugal para emplear el aceite como purgante, aunque es un método muy drástico, ya que la ingestión de las semillas podría causar la muerte. Se han evidenciado usos medicinales, en el tratamiento de infecciones de la piel, enfermedades de transmisión sexual, ictericia, enfermedades bucales, tratamiento del herpes simple, fiebre, para procesos inflamatorios, reumatismo, dolores musculares,

curación de heridas, úlceras y como astringente en cortes y contusiones, para tratamiento de la neumonía, la sífilis y como abortivo (Pavón y Hernández-Rodríguez, 2012; Reddy *et al.*, 2012; Carrasco-Rueda *et al.*, 2013).

En las hojas se han identificado metabolitos como apigenina, vitexina e isovitexina, que pueden ser utilizados contra la malaria, entre otras enfermedades. Varios estudios han reportado la potencialidad antimicrobiana de extractos de diferentes partes de *J. curcas* (Lasalita-Zapico *et al.*, 2012; Araiza-Lizarde *et al.*, 2015). La acción bactericida de las diferentes partes de la planta, pudiera ser atribuida a la presencia de ácidos orgánicos, según Aidah *et al.* (2014).

Mientras que el látex se ha establecido que contiene compuestos con propiedades anticancerígenas como jatrofina, jatrofano, y curcaina. También se reporta actividad antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Saetae y Worapot, 2011; Devappa *et al.*, 2012; Gallardo-Vásquez *et al.*, 2019). Resultados similares han sido reportados por Castro *et al.* (2014) al evaluar la actividad antimicrobiana del aceite frente a *S. aureus*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, constatando un efecto inhibitorio en el crecimiento microbiano.

En estudios realizados con las proteínas de esta especie Gallegos-Tintoré (2012), señalaron que contienen péptidos antioxidantes y quelantes, lo cual pudiera tener un impacto positivo sobre el valor económico de este cultivo como fuente potencial de ingredientes funcionales. Por otra parte, la *Jatropha* es una buena fuente de fitatos, a los cuales se les atribuyen efectos benéficos que incluyen la prevención del cáncer, reducción del daño oxidativo inducido por el hierro y la prevención de la peroxidación lípida (Singh *et al.*, 2003).

Al evaluar la actividad acaricida de cuatro concentraciones (5, 10, 15, 25 %) del aceite obtenido de la semilla de *J. curcas* en *R. (B) microplus*, Fuentes-Zaldivar (2015) y Fuentes-Zaldivar *et al.* (2017), apreciaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos y las concentraciones utilizadas, con un marcado efecto bioacaricida *in vitro* sobre teleoginas y larvas.

Resultados similares fueron informados por Lopera-Vélez *et al.* (2017) al evaluar cinco concentraciones de extractos etanólicos de semillas de *Jatropha*, los resultados fueron mejores en la medida que aumento la concentración. Según los autores su capacidad

biocontroladora se debe a la presencia de ésteres de forbol (diterpenos), considerados como los compuestos más tóxicos de la especie y la presencia de terpenoides y taninos en la semilla.

Resultados similares fueron reportados por Juliet *et al.* (2012) quienes encontraron una reducción en el porcentaje de la postura de hasta el 90 % en *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* cuando fueron tratadas con extracto etanólico a partir de las hojas de *Jatropha*.

En otros estudios Rugama (2003), evaluó tres concentraciones de glicerol, obtenidas a través de los procesos de este aceite, para el control *R. (B.) microplus* y encontró resultados significativos con concentraciones de 20 y 30 %, con valores entre 90 y 95 % de eficacia a las 60 horas de aplicado el producto.

## **1.2. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* su impacto en los sistemas ganaderos**

### **1.2.1. Apuntes sobre la biología y epidemiología de la especie**

Las garrapatas son de gran interés en la comunidad científica, dado su importancia para la salud pública y su notable impacto económico en los sistemas ganaderos. La presencia de altos niveles de infestación puede causar alteraciones en el equilibrio enzoótico y la epidemiología de los patógenos y las enfermedades que ellas transmiten (Ali *et al.*, 2016; Garcia *et al.*, 2019).

Hasta el momento más de 920 especies se describen en el mundo, divididas en tres familias, de las cuales dos son las más importantes y abundantes: Ixodidae (garrapatas duras) y Argasidae (garrapatas blandas) (Guglielmone *et al.*, 2010; Barros *et al.*, 2017; Nava *et al.*, 2017).

Dentro de estas especies se encuentra *R. (B.) microplus*, conocida popularmente como la garrapata del buey, ya que tiene a los bovinos como el principal hospedero, aunque puede aparecer en otros animales (equinos, ovinos, cérvidos) (Luz *et al.*, 2016). Antiguamente era llamado como *Boophilus microplus*, pero investigaciones filogenéticas desarrolladas por Murrell y Barker (2003) lo reclasificaron en el género *Rhipicephalus*, pasando a denominarse con el nombre actual. Sin embargo, la palabra de *Boophilus* se ha mantenido como subgénero facilitando la recuperación de publicaciones en las que aparece con el antiguo nombre.

Según el National Center for Biotechnology Information de los Estados Unidos de América, citado por Garcia *et al.* (2019) la clasificación taxonómica de la especie es la siguiente:

- Reino - Metazoa
- Filo - Arthropoda
- Clase - Arachnida
- Subclase - Acari
- Superorden - Parasitiformes
- Orden - Ixodida
- Superfamilia - Ixodoidea
- Familia - Ixodidae
- Subfamilia - Rhipicephalinae
- Género - Rhipicephalus
- Subgénero - Boophilus
- Especie - *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

*R. (B.) microplus* probable tuvo su origen en la India y la isla de Java, en Asia. Las expediciones exploradoras del siglo XVI, así lo registraron en la historia. Según Garcia *et al.* (2019) el transporte de mercancías y animales fue la principal causa de la dispersión de las garrapatas a otros lugares donde originalmente no existían. De ahí su amplia distribución en los países tropicales y subtropicales donde encuentran condiciones ideales para su desarrollo y multiplicación, y es considerada como una especie nativa (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2015; Nava *et al.*, 2017).

Esta garrapata es una especie de un solo hospedero, con cuatro estadios en su desarrollo: huevo, larva, ninfa y adulto. En la etapa adulta poseen cuatro pares de patas y su cuerpo está dividido en dos regiones: cefalotórax y abdomen. Sus diferencias con respecto a las larvas, es que estas solo poseen tres pares de patas. Además cuenta con dos fases intermedias de desarrollo conocidas como fases mutantes, que se caracterizan por el desprendimiento de la cutícula (muda) de la larva en su paso a ninfa y de la ninfa en su paso a adulto (Mastropaolo *et al.*, 2014; Roque, 2015).

Poseen metamorfosis incompleta, puesto que sus estadios iniciales de desarrollo, presentan las mismas características morfológicas, de comportamiento y de alimentación que los estadios intermedios y de adulto. Son ectoparásitos obligados, que requieren alimentarse de fluidos tisulares y sanguíneos de forma exclusiva para desarrollarse durante todo su ciclo de vida. Para iniciar el proceso de alimentación, la garrapata se une al hospedero cortando su piel con unas estructuras bucales llamadas quelíceros y se ancla en el tejido con un órgano llamado hipostoma (Cruz, 2017) (La estructura de la garrapata podrá ser apreciado en el Anexo 1).

El ciclo de vida de *R. (B.) microplus* se divide en dos etapas: fase parasitaria y fase de vida libre (o no parasitaria) (Ver Anexo 2). La fase parasitaria comprende desde la fijación de la larva en un huésped sensible hasta llegar al estadio adulto (teleóginas o hembras ingurgitadas) y tiene una duración aproximada de 21 días, aunque puede variar entre 18 y 35 días. Algunas regiones del cuerpo del animal son más deseadas (barbilla, entre piernas, ubre, región posterior y perineo), debido a la temperatura, el grosor de la piel y para protegerse de la autolimpieza realizada por los huéspedes en el intento de eliminar estos ectoparásitos (Garcia *et al.*, 2019).

Después de la fijación de la larva en el hospedero ocurre el primer cambio entre los cuatro a siete días pasando a ninfa la cual alcanza el estado adulto de nueve a 16 días. Por su parte, los adultos realizan la cópula y las hembras repletas se desprenden del hospedero mientras, los machos permanecen por un período mayor de tiempo en busca de nuevas hembras para cópula (Roque, 2015).

Con el desprendimiento de las teleoginas ingurgitadas se da inicio a la fase de vida libre. Preferiblemente, el desprendimiento ocurre en las primeras horas de la mañana y/o el final de la tarde, períodos donde las condiciones climáticas son más favorables. La garrapata hembra grávida busca un sitio húmedo y protegido, tanto de los enemigos naturales como de la radiación solar para la ovipostura (maduración de los ovarios, producción y maduración de los huevos, y la postura), finalizando así su ciclo de vida con la posterior incubación de los huevos y la eclosión de las larvas (Sonenshine *et al.*, 2002).

Después de este proceso la hembra muere, ellas son capaces de revertir alrededor del 50 % de su peso corporal en masa de huevos, con una cantidad que varía aproximadamente entre 3 000 – 5 000 huevos (Quiroz *et al.*, 2011; Roque, 2015).

Las larvas, luego de la eclosión, se quedan en el suelo por un período de cuatro a siete días, próximas a las cáscaras de donde salieron, aguardando el endurecimiento de la cutícula o caparazón. Después de una semana suben en grupos para las puntas de las hojas del pasto, donde permanecen agrupadas a la espera de un huésped, este período de espera en el pastoreo puede durar hasta 80 días. Para ello utiliza sus órganos sensoriales que son estimulados por olores, el gas carbónico de la respiración de los animales, el desplazamiento del aire, la luz, la humedad y el calor que indican la presencia del hospedero (Andreotti *et al.*, 2019a).

Las condiciones climáticas tienen una influencia directa en la duración de la fase no parasitaria. Los estudios muestran que, en primavera y verano (meses más cálidos), el tiempo desde el desprendimiento de la teleógina hasta la aparición de sus larvas en el pastoreo es menor que durante las estaciones de otoño e invierno. Por su parte, en la fase parasitaria no se aprecian diferencias entre las estaciones dado que los hospederos mantienen una temperatura corporal constante (Campos-Pereira y Labruna, 2008).

Las garrapatas raramente viven más de dos años y regularmente menos de uno. La longevidad varía dependiendo la época climática, la región y las razas bovinas empleadas. En investigaciones realizadas en Brasil por Barros *et al.* (2017) y Cruz (2017) señalan que estos factores influyen directamente en las generaciones anuales de esta garrapata. En climas más fríos se pueden observar tres generaciones a lo largo del año, mientras que en las regiones más cálidas de cuatro a cinco. Así mismo señalan que regiones con sequías son menos favorables para la supervivencia de las larvas en pastoreo.

El 95 % de las garrapatas en un sistema de producción de bovinos se encuentran en el pastoreo, en las etapas de: huevos, larvas y/o teleóginas. Solo el 5 % de la población se encuentra parasitando los bovinos (Campos-Pereira y Labruna, 2008). Esto se convierte en un gran problema en relación al control de ese ectoparásito, dado a que la mayor parte de las acciones de combate están destinadas únicamente a la fase parasitaria que representan a la minoría de la población. Por otra parte, Grisi *et al.* (2014) señala que los animales de

razas taurinas (*Bos taurus*) y sus cruces son los más afectados por esta especie de garrapata.

En este sentido el conocimiento acerca de la biología y la epidemiología de las garrapatas en pastoreo constituye una valiosa información para el productor, ya que puede conducir de forma segura al control de estos ectoparásitos usando algunas herramientas y técnicas de manejo, y en consecuencia al éxito de la explotación pecuaria.

### **I.2.2. Control integrado de las garrapatas, principales estrategias**

El uso de acaricidas es el principal método, a nivel mundial, en el control de las garrapatas. Actualmente, existen más de 50 marcas comerciales distribuidas en varias familias de acaricidas: organofosforado (OF), piretroides sintéticos (PS), amidinas (Am), fenilpirazoles (FN), reguladores del crecimiento (RC) y Lactonas macrocíclicas (LM) (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2013; de Oliveira Souza Higa *et al.*, 2016; Benavides *et al.*, 2017; Barradas-Piña *et al.*, 2019). Además, se encuentran mezclas de ixodicidas que potencian la acción contra las garrapatas como por ejemplo la cipermetrina y deltametrina. Por otra parte, diferentes han sido las formas de aplicación, destacándose la aspersion, la inmersión, derrame dorsal (pour-on) y parenteral (inyectables), etc. (Ver Anexo 3) (Mendes *et al.*, 2013; de Oliveira Souza Higa *et al.*, 2019).

El uso excesivo y la aplicación incorrecta de los productos químicos han proporcionado una selección natural de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas (Raynal *et al.*, 2013; De Meneghi *et al.*, 2016; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017). Los informes de resistencia a los acaricidas se reportan desde la década de 1980, así como el desarrollo de la multirresistencia es reportado, en diferentes países (Fernández-Salas *et al.*, 2012; Miller *et al.*, 2013; de Oliveira Souza Higa *et al.*, 2016).

En la búsqueda por evitar el impacto sanitario y económico en las producciones ganaderas y crear mayor conciencia en los productores sobre la amenaza del proceso de resistencia, organizaciones encargadas de la sanidad animal, con patrocinios gubernamentales de conjunto con la académica, han desarrollado investigaciones en diferentes regiones geográficas, para actualizar el estado de la resistencia a los acaricidas (Corrêa *et al.*, 2013; Sepulveda *et al.*, 2017; Alcalá-Canto *et al.*, 2018; Barradas-Piña *et al.*, 2019; Werner-Koller *et al.*, 2019).

Ante esta problemática y los altos costos asociados al uso de los productos químicos surge la necesidad de la adopción de métodos alternativos para el control de estas parasitosis. Entre ellos el uso de razas bovinas resistentes a garrapatas (Cardoso *et al.*, 2014; Abor *et al.*, 2017), la rotación y descanso de praderas (Silveira *et al.*, 2013; Andreotti *et al.*, 2019b), el control biológico y depredadores naturales (Rodríguez-Alcocer *et al.*, 2014; García-Corredor *et al.*, 2016; Brunner-Mendoza *et al.*, 2019; Detogni *et al.*, 2019), el uso de vacunas (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2016) y el aumento de la resistencia de los hospedero a través de la nutrición e inmunización (Ali *et al.*, 2017; Andreotti *et al.*, 2018). Algunas de estas estrategias se han acompañado de estudios de transcriptoma y biología molecular como herramienta para la búsqueda de alternativas de control (Barnard *et al.*, 2012; Barrero *et al.*, 2017; Lowe *et al.*, 2017).

Sin embargo, el método más promisorio para reducir las poblaciones de garrapatas, es el control integrado de parásitos (CIP), el cual consiste en aplicar sistemáticamente dos o más métodos de control de plagas, que afecten negativamente a una especie hospedera. Esto resultará en un mejor control, disminuyendo el número de aplicaciones de productos químicos, el retraso en el avance de la selección para la resistencia y reduciendo los riesgos sobre la salud humana y ambiental (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

Para que el CIP sea eficiente, se deben considerar algunos aspectos, entre los cuales se encuentra:

- El conocimiento de la biología del parásito y su comportamiento estacional, para identificar cuando la población de garrapata está en la fase más vulnerable al control.
- Se deben realizar con frecuencia bioensayos para definir la eficacia de los productos químicos y la aparición de resistencia.
- Realizar el tratamiento contra garrapatas cuando éstas aún no estén totalmente ingurgitados, para evitar que las teleoginas caigan al suelo en condiciones de realizar la postura.
- Identificar los animales en el rebaño que cargarán la mayoría de las garrapatas (conocidos como animales de sangre dulce). Sólo estos animales deben ser tratados, esporádicamente, si se percibe en ellos poblaciones medias por encima de 25 hembras ingurgitadas.

- No utilizar formulaciones caseras hechas con productos destinados a plagas agrícolas.
- Respetar los períodos de carencia de cada producto para la posterior utilización de la leche y la carne en la alimentación humana.

Una alternativa que ha revolucionado el CIP lo constituye el uso de productos botánicos para conseguir de forma segura, eficaz y económica el control de garrapatas en la ganadería. La aplicación de productos derivados de las plantas es una práctica importante en la medicina veterinaria sobre todo en países en desarrollo (Ahmad *et al.*, 2012; Babar *et al.*, 2012; Abbas *et al.*, 2014; Rosado-Aguilar *et al.*, 2017).

### **I.3. Las plantas, su potencial acaricida**

Las plantas poseen cientos de principios activos que se agrupan en cinco categorías químicas: carbohidratos, lípidos, compuestos nitrogenados (aminoácidos, péptidos, proteínas, glicosidos cianogénicos y alcaloides), terpenoides y fenilpropanoides (Cavalcante-Barros *et al.*, 2019). Todos ellos poseen una importante actividad biológica, de forma independiente o en sinergia con otros compuestos, destacándose las funciones antiinflamatoria, citotóxica, antimicrobiana, fungicida, acaricida, insecticida y repelente, entre otras (Chagas, 2004; Adenubi *et al.*, 2016; Gakuubi *et al.*, 2016).

Según Campos *et al.* (2012), Chagas *et al.* (2016) y Rosado-Aguilar *et al.* (2017) la utilización de biogarrapaticidas procedentes del metabolismo secundario de las plantas tienen numerosas ventajas: se obtienen a partir de recursos renovables, presentan un desarrollo más lento de la resistencia por la presencia de varios compuestos con diferentes mecanismos de acción, no dejan residuos en los alimentos, se degradan más rápidamente, presentan baja toxicidad para animales y seres humanos, y son de fácil acceso y obtención.

Las plantas con actividad acaricida pueden causar diversos efectos sobre los parásitos, como repelencia, inhibición de oviposición y de la alimentación, disturbios en el desarrollo, deformaciones, infertilidad y mortalidad en las diversas fases. La extensión de los efectos y el tiempo de acción dependerán de la dosis utilizada. El uso de dosis subletales puede reducir las poblaciones a largo plazo (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010; Campos *et al.*, 2012; Arceo-Medina *et al.*, 2016).

La utilización de acaricidas botánicos puede dividirse de acuerdo con la forma de la preparación en: polvo, extracción acuosa o alcohólica, aceites esenciales, formulaciones concentradas comerciales y semi-comerciales, purificación y aislamiento de los compuestos puros obtenidos de extractos de plantas (Moreira *et al.*, 2007).

Entre las especies botánicas más estudiadas se encuentran las familias Lamiaceae, Meliaceae, Fabaceae, Asteraceae, Piperaceae y Poaceae (Godara *et al.*, 2014a, 2014b; Dantas dos Santos *et al.*, 2016; Muyobela *et al.*, 2016; Rosado-Aguilar *et al.*, 2017). El auge de las investigaciones relacionadas con el potencial acaricida de las plantas ocurrió a inicios del siglo XXI, aunque existen reportes anteriores. Las especies más representativas han sido *A. indica* (Chagas, 2004; Giglioti *et al.*, 2011), *E. citriodora* (Chagas *et al.*, 2002), *P. alliacea* (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010), *P. aduncum* (Ferraz *et al.*, 2010), y *Piper tuberculatum* L. (Lima *et al.*, 2014; Braga *et al.*, 2018), *Carapa guianensis* Abul. (Farias *et al.*, 2012), *Cymbopogon martinii* (Roxb.) W.Watson (Chagas *et al.*, 2012); *C. wynterianus* (Agnolin *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2015); *Pimienta dioica* L. (Martínez-Velázquez *et al.*, 2011) *Chenopodium ambrosioides* L. (Lmança *et al.*, 2013; Olivera *et al.*, 2017) y *Tagetes minuta* L. (Wanzala *et al.*, 2018; Cavalcante-Barros *et al.*, 2019), entre otras.

En la tabla I.2 se muestran algunos de los principales resultados de las investigaciones desarrolladas durante los últimos años relacionados con las partes de las plantas, las sustancias bioactivas y su eficacia en el control de garrapatas. A pesar de existir una amplia información que caracteriza la flora de las regiones tropicales y subtropicales, los resultados se corresponden aquellas que muestran efectos superiores al 50 % de eficacia.

El uso de biogarrapaticidas obtenidos a través de especies vegetales está llamado a mitigar los problemas económicos, sociales, ecológicos y ambientales derivados del uso de los productos químicos. Esta estrategia de control favorece especialmente al pequeño productor, por su menor costo, facilidad para su utilización, no necesita de personal calificado para su aplicación y no tiene impacto negativo en el ambiente. Además, las plantas pueden ser cultivadas en las propiedades facilitando su utilización (Campos *et al.*, 2012).

**Tabla I.2. Resultados de las investigaciones desarrolladas con las plantas y su eficacia en el control de garrapatas.**

Nombre científico	PQ	Compuestos químicos	CC	Eficacia	Referencia
<i>Azardachta indica</i> (Neem)	EAS	Azaridactina Limoneno	5 %	87,97 %	Hurtado <i>et al.</i> (2015)
	EAH		30 %	19 %	Pavón-Leiva (2016)
<i>Carapa guianensis</i> (Andiroba)	AS	Ácido Palmítico	20 %	100 %	Farías <i>et al.</i> (2012)
	EP	Ácido oleico	5 %	55,48 %	Chagas <i>et al.</i> (2012)
<i>Eucalyptus citridofora</i> (Eucalipto)	AE	Citronela Acetato de citonelila	17,5 %	100 %	Chagas <i>et al.</i> (2002)
<i>Petiveria alliacea</i> (Anamú)	ET	Dibenzyltrisulfide Dibenzyldisulfide	16,5 %	86 %	Rosado-Aguilar <i>et al.</i> (2010)
<i>Piper tuberculatum</i> (Candelillo)	EC	Piperine Piplartine	10 %	91,6%	Chagas <i>et al.</i> (2012)
	EEF		50 mg/mL	71,57 %	Braga <i>et al.</i> (2018)
<i>Piper aduncun</i> (Hierba del soldado)	EHP	Triterpenos Seponinas Safrol Fenoles	94,8 %	100 %	Silva <i>et al.</i> (2005)
<i>Cymbopogon nardus</i> (Citronela)	AHT	Citronela Geraniol	1,0 %	94,29 %	Olivo <i>et al.</i> (2008)
<i>Cymbopogon martinii</i> (Palmarosa)	AE	Geraniol Eugenol	5 %	75,81 %	Chagas <i>et al.</i> (2011)
<i>Cymbopogon wynterianus</i> (Hierba limón)	AE	Limoneno Citronellal Citroneliol Geraniol	100 %	100 %	Agnolin <i>et al.</i> (2014)
<i>Pimenta dioica</i> (Pimienta de Jamaica)	AE	Eugenol Metyl eugenol	20 %	100%	Martínez-Velázquez <i>et al.</i> (2011)
<i>Chenopogon ambrosoide</i> (Epazote)	EE	Fenoles, taninos, esteroides, triterpenos, alcaloides	40 % 60 %	99,7 % 100 %	Oliveira <i>et al.</i> (2018)
<i>Tagetes minuta</i> (Clavo de difunto)	AE	Limoneno Tagetone Dihydrotagetone	20 %	95 %	Cavalcante-Barros <i>et al.</i> (2019)

CC: Concentraciones; PQ: Preparación química

EAS: Extracto acuoso de la semilla; EAH: Extracto acuoso de las hojas; EP: Extracto puro; AS: Aceite de la semilla; AE: Aceites esenciales; ET: Extracto del tallo; EC: Extracto crudo; EEF: Extracto etanólico del fruto; EHP: Extracto hexano puro; AHT: Aceite de hojas y tallos.

Sin embargo, el principal desafío para el desarrollo de bioacaricidas está en la dificultad de transposición de la eficacia obtenida *in vitro* para el campo, y ello se debe, en parte, por la dificultad de estabilizar los diversos compuestos químicos presentes en el extracto, la alta volatilidad de productos naturales y su baja persistencia en el medio ambiente (Cavalcante-Barros *et al.*, 2019).

Por otra parte, el metabolismo secundario de las plantas puede variar considerablemente dependiendo de varios factores, como: la estacionalidad, el índice pluviométrico, la radiación UV, la composición atmosférica (CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>), herbívoros y ataque de patógenos, temperatura, ritmo circadiano, etc. Estos factores provocan variaciones fisiológicas en las partes de las plantas y con ellos modificaciones en las estructuras secretoras (Borges *et al.*, 2011).

La riqueza de sustancias bioactivas presentes en las plantas constituye una alternativa prometedora para el control de garrapatas susceptibles o resistentes a los acaricidas comerciales. De ahí la importancia de continuar las investigaciones con el propósito de identificar nuevos principios activos con actividad acaricida (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014; Rosado-Aguilar *et al.*, 2017; Wanzala *et al.*, 2018).

#### **I.4. Las técnicas *in vitro*, su contribución a las investigaciones en garrapatas**

Se han utilizado varias técnicas para evaluar la actividad acaricida de los productos vegetales o sus metabolitos secundarios contra garrapatas. Entre ellas se encuentran la prueba de inmersión en teleoginas (AIT), la prueba de inmersión en larvas (LIT) y la prueba de paquetes larvales (LPT) (FAO, 2004; Godara *et al.*, 2014a; Chagas *et al.*, 2016; Rosado-Aguilar *et al.*, 2017; Figueiredo *et al.*, 2018).

El origen de estas investigaciones se ha sustentado en las técnicas de Drummond *et al.* (1973), los cuales describieron los tests de laboratorio para determinar la eficacia de los acaricidas sintéticos frente a *Boophilus annulatus* y *Boophilus microplus*<sup>2</sup>. Estas pruebas han sido modificadas por varios autores para mejorar su uso y permitir resultados más confiables (Chagas, 2004; Sharma *et al.*, 2012; Guerrero *et al.*, 2014). Un aspecto importante en estas investigaciones es la selección del material biológico y la formación

---

<sup>2</sup> Nombre científico actual: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

adecuada de los grupos experimentales es esencial para lograr un alto grado de confianza de los resultados (Farias *et al.*, 2012; Torres-Acosta *et al.*, 2015).

La AIT es la prueba más utilizada para evaluar la actividad acaricida contra las garrapatas adultas. Esta técnica fue modificada por la FAO y la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP) (Holdsworth *et al.*, 2006). El bioensayo consiste en la utilización de teleoginas repletas (peso promedio de 200 mg). Algunas de las modificaciones han estado relacionadas con el tiempo de exposición de las garrapatas con las sustancias a evaluar, variando de uno a cinco minutos. Así mismo la utilización de placas de 24 pocillos o placas petry con cinta para colocar las garrapatas, de forma individual, durante el período de incubación (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010; Gazim *et al.*, 2011; Dantas do Santos *et al.*, 2016; Rodríguez-Molano *et al.*, 2018).

Según Rosado-Aguilar *et al.* (2017), en este bioensayo, los indicadores a evaluar son la tasa de mortalidad (indica la efectividad del extracto en las teleoginas tratadas), la tasa de oviposición (destaca el efecto del extracto sobre la producción de huevo de las teleoginas tratadas) y la inhibición de la eclosión de larvas (constituye la evidencia del efecto del extracto sobre la eclosión de los huevos). Además se incluyen otros indicadores como son: el índice de nutrición de las teleoginas, el índice de eficiencia reproductiva y la eficacia de la sustancia evaluada (Godara *et al.*, 2014b; Dantas dos Santos *et al.*, 2016).

Relacionado con las técnicas *in vitro* para larvas (LPT y LIT), se recomienda usar larvas que tengan entre 7 y 14 días de edad. La cantidad de larvas puede variar entre 100 y 300, así mismo se pueden emplear tubos de ensayos, placas Petri o papel de filtro dependiendo de la técnica empleada (FAO, 2004). En todos los casos las larvas deben ser colocadas en cámara de incubación (temperatura  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$  - humedad relativa 85 %) durante 24 h, estimando el número de larvas muertas (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010; Guerrero *et al.*, 2014).

Otras modificaciones han sido realizadas a la LIT, Pérez-Cogollo *et al.* (2010) y Torres-Acosta *et al.* (2015) refieren la utilización de viales de Eppendorf (1,5 mL) con las diluciones para la inmersión de las larvas. Esta prueba fue diseñada para obtener porcentajes de mortalidad a diferentes diluciones y para determinar el grado de susceptibilidad o resistencia de acuerdo con el análisis basado en las pruebas dosis/respuesta (análisis probit) y para

obtener las concentraciones letales ( $CL_{50}$  y  $CL_{99}$ ) de los extractos evaluados con respecto al control y sus respectivos intervalos de confianza del 95 % (IC 95 %).

Por su parte, Politi *et al.* (2012), sugiere bolsas textiles como el medio para la obtención de las larvas y el desarrollo del test. Estas investigaciones se desarrollaron evaluando la actividad acaricida frente a *Rhipicephalus sanguineus*.

Otra técnica importante lo constituye el test de repelencia sobre larvas de *R. (B.) microplus*, que no han sido tan evaluados, ya que la mayoría de las pruebas *in vitro* tienen por objeto la detección de la acción de mortalidad sobre las hembras ingurgitadas. Sin embargo, la acción repelente puede ser una estrategia para complementar la acción letal de algunos garrapaticidas comerciales disponibles en el mercado (Chagas y Dias, 2012).

Existen reportes de metodologías desarrolladas para determinar la actividad repelente como los estudios realizados por Wanzala *et al.* (2004) en *Rhipicephalus appendiculatus* y *Rhipicephalus evertsi*, igualmente los de Jaenson *et al.* (2005; 2006) en ninfas de Ixodes. Sin embargo, estos trabajos no siempre resultan útiles por tratarse de otras especies de garrapatas.

Con las larvas de *R. (B.) microplus* se han empleado metodologías como las de Novelino *et al.* (2007), quienes utilizaron vasos de polietileno que contenían arena y vástagos de madera de 12 cm de altura y las de Lima *et al.* (2010) colocando las larvas sobre la base de un bastón de vidrio de 22 cm y la sustancia de prueba se coloca en los 5 cm del extremo superior y en papel filtro impregnado.

En este sentido la propuesta de Chagas y Dias (2012) nos parece la más apropiada para evaluar este comportamiento. Entre los aspectos a tener en cuenta para alcanzar resultados satisfactorios al evaluar la actividad repelente se encuentran la altura y el tipo de sustrato que la larva tendrá que subir, el tiempo para alcanzar el extremo superior del vástago o palillo de madera y la edad de las larvas. En este último caso se recomienda trabajar con larvas de 14 días de vida, ya que ellas después de la eclosión necesitan algunos días para endurecer la cutícula y para tornarse más activas.

Las pruebas *in vitro* constituyen un avance significativo en torno a las investigaciones parasitológicas. Permiten el screening de una mayor cantidad de plantas, son técnicas que necesitan pocos recursos, se realizan en períodos de tiempo cortos y facilitan la selección

de las sustancias con mayor eficacia para estudios *in vivo*. Estas investigaciones han estado acompañadas, con estudios relacionados con la biología molecular. Ambas herramientas han sido utilizadas en la comprensión de aspectos de la biología de *R. (B.) microplus* y el desarrollo de nuevas estrategias de control del parásito (Giachetto, 2019).

El estudio *in vitro* para evaluar el potencial de las plantas se ha acompañado de investigaciones para la identificación de sustancias bioactivas o metabolitos secundarios con actividad acaricida. La técnica más utilizada es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC / MS) (De Oliveira-Cruz *et al.*, 2013; Koc *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2014; Rosado-Aguilar *et al.*, 2017).

La técnica GC/MS constituye una herramienta potente para identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas. Igualmente permite separar los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente para la síntesis de otras sustancias. Acoplada a la espectrometría de masas, permite una identificación inequívoca de los distintos componentes separados sin necesidad de disponer de patrones de los mismos (Gutiérrez y Droguet, 2002; Espadero *et al.*, 2019; Vivanco-Araujo, 2019).

Estos métodos requieren pequeñas cantidades de muestra, ofrecen información sobre las propiedades químicas de las moléculas: características, el peso y la estructura, de ahí su importancia para los estudios vinculados a la biología de los organismos y la medicina humana y veterinaria. Además, son ampliamente utilizadas en la industria química, farmacéutica y alimenticia (Cuevas-Román, 2019).

## **CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **II.1. Localización de las investigaciones**

Las investigaciones fueron desarrolladas en los laboratorios de parasitología y biotecnología de la EEPF *Indio Hatuey*. Ubicado en el municipio de Perico, provincia de Matanzas, Cuba. Con el financiamiento de los proyectos internacionales «La biomasa como fuente renovable de energía para el medio rural» (financiado por la Agencia Suiza para el desarrollo y la cooperación – COSUDE) y «Diagnóstico y estrategias de control de hemoparásitos transmitidos por garrapatas de bovinos e bubalinos» (financiado por la Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – CAPES, Brasil).

Los estudios se enmarcaron en dos experimentos:

Experimento 1. Determinación de la actividad repelente del aceite de la semilla de *J. curcas* L. frente a larvas de *R. (B) microplus* con diferentes períodos de almacenamiento.

Experimento 2. Evaluación *in vitro* de la actividad acaricida del aceite de la semilla de *J. curcas* L. frente a larvas de *R. (B) microplus* con diferentes períodos de almacenamiento.

### **II.2. Obtención del material biológico**

Se utilizaron larvas de la cepa Cayo Coco de *Rhipicephalus (B.) microplus*, obtenidas por el Laboratorio Nacional de Parasitología Veterinaria, ubicado en el municipio de San Antonio de los Baños, provincia Artemisa, Cuba. Para la obtención de las larvas se utilizaron animales donadores, infestados artificialmente y ubicados en condiciones de aislamiento sobre tableros de madera.

A partir de los 28 días las garrapatas repletas fueron colectadas, una vez se desprendieron por si solas. Se trasladaron al laboratorio y fueron lavadas con agua destilada clorada al 1 %, secadas con toallas de papel. Se ubicaron en la incubadora para realizar la postura, eclosión de los huevos y obtención de las larvas (Imagén II.1).

Se utilizaron larvas de 21 días de edad y para la selección se tuvieron en cuenta las características descritas por Farías *et al.* (2012), cuerpo íntegro, apariencia y motilidad normal.



**Imagen II.1. Colecta, lavado, incubación del material biológico para la obtención de las larvas.**

### **II.3. Procedencia, obtención y caracterización del aceite de *J. curcas* L.**

Se utilizaron frutos de *Jatropha curcas* L, de la procedencia Cabo Verde, colectados en la Granja Paraguay, ubicada la región semiárida de la franja costera, a 15 km al sur de la ciudad de Guantánamo, Cuba, establecida sobre suelos con características semidesérticas, secas y con altos niveles de salinidad.

Los frutos maduros fueron secados al sol y descascarados para la obtención de las semillas, según la metodología descrita por Sotolongo-Pérez *et al.* (2007). La imagen II.2, muestra las semillas y el aceite de la especie *J. curcas* L.

*Extracción del aceite:* las semilla fueron prensadas utilizando una máquina expeler con potencia de 7,5 kW, velocidad de 1 400 rpm y capacidad de 200 kg de semillas por hora.

*Filtrado del aceite:* El aceite en bruto obtenido fue filtrado a través de un filtro prensa, garantizando un filtrado de 25 micrones. Posteriormente el aceite fue sometido a un proceso de calentamiento a 105 °C para la extracción de todas las impurezas solubles y volátiles, incluyendo el agua.

Se utilizaron aceites con dos períodos de almacenamiento (extracción 2014/3 años extracción 2017/1 año, respectivamente), que habían sido conservados en envases plásticos, herméticamente cerrado a temperatura ambiente y en un lugar oscuro hasta el inicio de las investigaciones.



**Imagen II.2. Semillas y aceite crudo de *Jatropha curcas* L.**

### **II.3.1. Evaluación de los parámetros de calidad de los aceites**

#### ***Propiedades físico-químicas***

Las mediciones fueron desarrolladas en el Laboratorio de Biotecnología de la EEPFIH. Se consideraron para este análisis las características organolépticas: olor y color. Asimismo, fueron evaluadas las propiedades físico-químicas de los aceites: el pH, la densidad ( $\text{kg/m}^3$ ), la humedad (%), el índice de acidez (%) y la viscosidad ( $\text{mPa/seg}$ ). Los cuales se describen a continuación:

*Densidad:* se utilizó un densímetro para aceite que, por flotación, expresa el valor en kilogramos por metros cúbicos ( $\text{kg/m}^3$ ).

**Humedad:** Se utilizó una balanza de humedad, de la marca Sartorius MA-150, la cual en un tiempo determinado se encarga de deshumidificar una muestra de aproximadamente 10 g.

**Viscosidad:** Se utilizó un viscosímetro NDJ-5S.

**Índice de acidez:** Se determinó por titulación volumétrica con hidróxido de sodio al 0,1M como agente valorante y fenolftaleína como indicador.

Para la determinación de las propiedades físico químicas del aceite fueron consideradas las Normas ASTM/AOCS (Tabla II.1), según lo recomendado por Lafargue-Pérez *et al.* (2012).

**Tabla II.1. Normas ASTM/AOCS para la determinación de las propiedades físico-química del aceite.**

<b>Propiedades</b>	<b>Unidades</b>	<b>Norma empleadas</b>
Densidad	kg/m <sup>3</sup>	ASTM D 1298
Humedad	%	AOCS Método Oficial Ca 2 <sup>a</sup>
Viscosidad	mpa/seg	ASTM D 445
Índice de acidez	%	AOCS Método Oficial Ca 5 <sup>a</sup>

ASTM: Sociedad Americana para Pruebas y Materiales, por sus siglas en inglés

AOCS: Sociedad Americana de Químicos de Aceites, por sus siglas en inglés

### **Composición química de los aceites**

Para la determinación del perfil de compuestos químicos se utilizó la técnica de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), la cual fue realizada en la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de la Santísima Concepción, en Chile.

Los aceites fueron previamente metilados. Se utilizó un cromatógrafo gaseoso marca Thermo Scientific. Las condiciones del análisis fueron: la temperatura del inyector: 250 °C,

la temperatura del detector FID: 250 °C, la rampa de la columna: 150-200 °C, el flujo de la columna: 1 mL/min, el tamaño de columna: 100 m y el Split ratio: 100:1.

Los ácidos fueron identificados por comparación de sus tiempos de retención y sus espectros de masas, con una biblioteca de datos de espectros de masas de compuestos conocidos.

#### **II.4. Experimento 1. Determinación de la actividad repelente del aceite de la semilla de *J. curcas* L. frente a larvas de *R. (B) microplus* con diferentes períodos de almacenamiento.**

##### ***Tratamiento y diseño experimental***

Para la evaluación de la actividad repelente del aceite del fruto de *J. curcas* L. se utilizó un diseño experimental totalmente aleatorizado con cuatro tratamientos, tres réplicas por tratamientos y 100 larvas por cada réplica. El ensayo tuvo una duración de 48 horas.

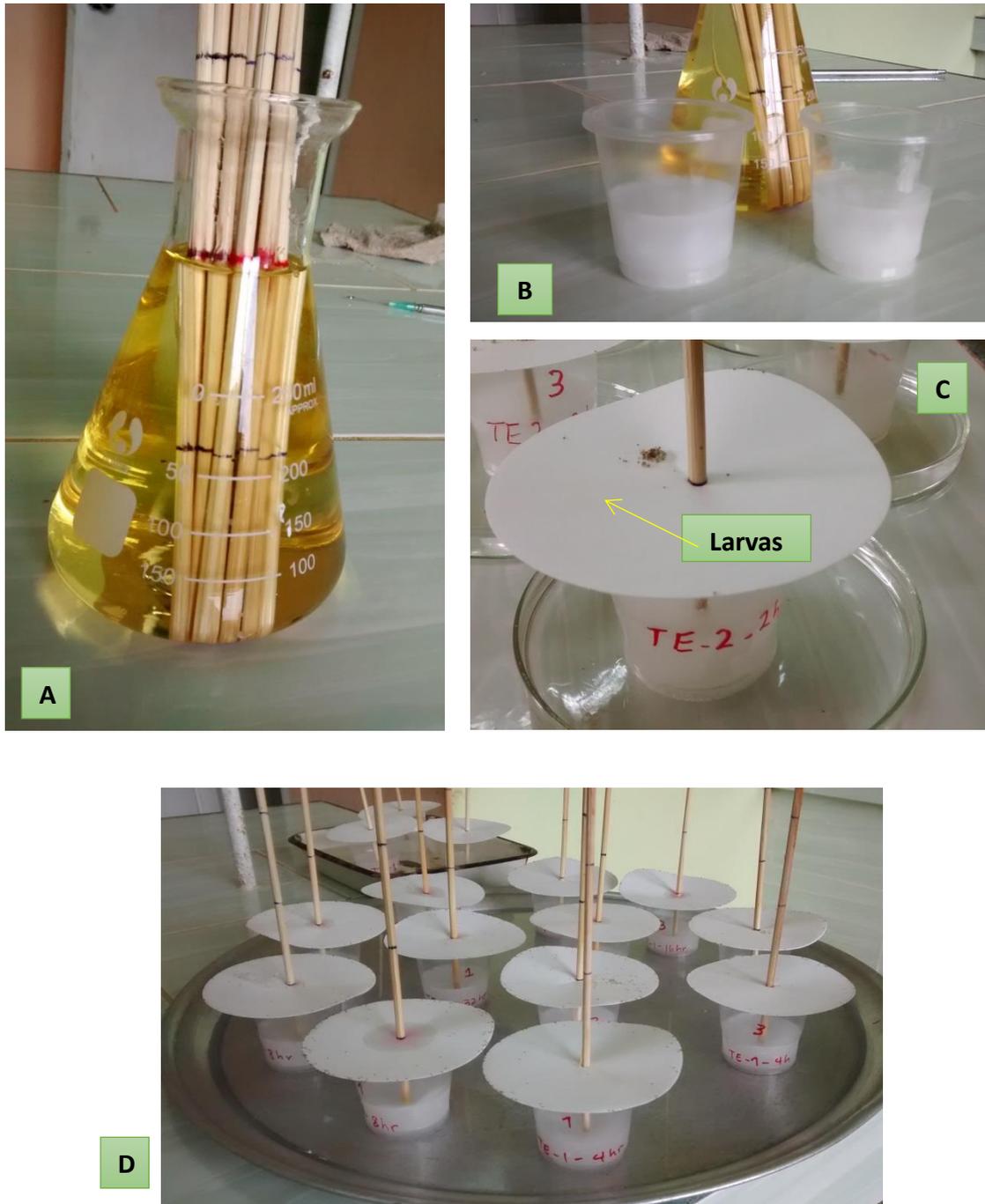
Los tratamientos evaluados fueron:

- A. Control negativo (Agua destilada).
- B. Aceite de *Jatropha curcas* extracción 2014, períodos de almacenamiento: 3 años.
- C. Aceite de *Jatropha curcas* extracción 2017, períodos de almacenamiento: 1 año.
- D. Control positivo Butox® (Deltametrina).

##### ***Procedimiento experimental***

Para este experimento se utilizó el test de detección de sustancias con actividad repelente sobre larvas descrito por Chagas y Dias (2012).

Se utilizaron palitos de madera de 25 cm de longitud, previamente ranurados a 5 cm, los cuales fueron embebidos en los 10 cm superiores utilizando un Erlenmeyer, durante 15 minutos, en cada una de las sustancias a evaluar (Imagen II.3, muestra el procedimiento para la determinación de la actividad repelente de los aceites).



A. Inmersión de los palillos de madera en las sustancias a evaluar. B. Vasos plásticos con parafina  
C. Ubicación de las larvas en el papel de filtro. D. Montaje de un tratamiento experimental.

**Imagen II.3. Procedimiento experimental para la determinación de la actividad repelente del aceite de *J. curcas* frente a larvas de *R. (B.) microplus*.**

Después de la inmersión, cada palito de madera fue insertado en vasos plásticos desechables de 50mL previamente fundidos con parafinas. Posteriormente se fijaron, sobre la base del vaso, un círculo de papel filtro cuantitativo. El conjunto fue acondicionado en placa de Petri con 5 mL de agua en el fondo para evitar la fuga de las larvas. Con la ayuda de un asa de siembra fueron ubicadas sobre el papel de filtro aproximadamente 100 larvas. En función de la volatilización de los bioactivos, los tratamientos quedaron separados por una distancia mínima de 2 m. Mientras que los controles negativos y positivos fueron ubicadas en otras salas, para evitar interferencia de los resultados. Siempre a temperaturas y humedad constantes. Además se limitó el acceso de las personas al laboratorio para evitar la mezcla de olores externos con los olores de las sustancias evaluadas.

### ***Mediciones experimentales***

La actividad repelente fue evaluada a las 2, 4, 8, 16 y 32 horas. El conteo de larvas se realizó a través del uso de una cinta adhesiva doble, colectando las larvas para cada área de manera independiente. La lectura se realizó de la siguiente forma:

- Área 1. Larvas que se encuentran en los primeros 5 cm del extremo de los palitos.
- Área 2. Larvas que se encuentran en los siguientes 5 cm (entre 5 y 10 cm) del extremo de los palitos.
- Área 3. Larvas que se encuentran en los 15 cm no impregnados de los palitos, en el papel de filtro y en la parafina.

Se determinó el porcentaje de distribución de las larvas para cada una de las áreas. A partir de la cantidad de larvas en el área 3 se calculó el porcentaje de repelencia en cada tratamiento, según la fórmula: % de repelencia = [(larvas del área 3/total de larvas) x 100].

## **II.5. Experimento 2. Evaluación *in vitro* de la actividad acaricida del aceite de la semilla de *J. curcas* frente a larvas de *R. (B) microplus* con diferentes períodos de almacenamiento.**

### ***Tratamiento y diseño experimental***

Para la evaluación de la actividad acaricida del aceite del fruto de *J. curcas* L. en larvas de *R. (B) microplus* se utilizó un diseño experimental totalmente aleatorizado con 17 tratamientos, a partir de las diferentes concentraciones evaluadas para los aceites (0,5; 1,75; 2,5; 5 y 10 mg/mL), el solvente (Tween-80) y los controles negativos y positivos utilizados.

Los tratamientos evaluados fueron:

- T1. Butox® (Deltametrina) (Control positivo)
- T2. Agua destilada (Control negativo)
- T3. Tween-80 0,5 mg/mL (Control negativo)
- T4. Tween-80 1,75 mg/mL (Control negativo)
- T5. Tween-80 2,5 mg/mL (Control negativo)
- T6. Tween-80 5 mg/mL (Control negativo)
- T7. Tween-80 10 mg/mL (Control negativo)
- T8. Ac. Jatropha 2017 0,5 mg/mL + Tween-80
- T9. Ac. Jatropha 2017 1,75 mg/mL + Tween-80
- T10. Ac. Jatropha 2017 2,5 mg/mL + Tween-80
- T11. Ac. Jatropha 2017 5 mg/mL + Tween-80
- T12. Ac. Jatropha 2017 10 mg/mL + Tween-80
- T13. Ac. Jatropha 2014 0,5 mg/mL + Tween-80
- T14. Ac. Jatropha 2014 1,75 mg/mL + Tween-80
- T15. Ac. Jatropha 2014 2,5 mg/mL + Tween-80
- T16. Ac. Jatropha 2014 5 mg/mL + Tween-80
- T17. Ac. Jatropha 2014 10 mg/mL + Tween-80

El ensayo tuvo una duración de 72 horas. Se realizaron 10 réplicas por tratamiento y cada una estuvo conformada por 100 larvas de 21 días de edad.

### ***Preparación de las sustancias a evaluar***

Una vez determinadas la densidad y pureza, de las sustancias a evaluar se calculó la concentración para cada tratamiento. La densidad se estimó a través del peso de 1 mL, repetido cinco veces.

Para el Butox® (control positivo) se utilizó la concentración estándar de 10 mg/mL, según la formulación química recomendada por los fabricantes para el uso de esta sustancia en el control de estas parasitosis.

Utilizando tubos Falcon, los aceites fueron mezclados con el solvente y luego se agregó agua destilada, para posteriormente ser agitados en un vórtex hasta lograr la homogenización de las sustancias. Este proceso fue repetido previo al montaje del experimento.

### ***Procedimiento experimental***

Para la prueba con larvas se utilizó la metodología descrita Leite (1998), modificada por Chagas *et al.* (2012), utilizando la técnica de inmersión en las sustancias evaluadas. Las larvas fueron colocadas en tubos de ensayos de cristal, numerados según el tratamiento y número de réplica.

A cada tubo se le agregó 5 mL de la sustancia a evaluar, posteriormente fueron tapado con gaza y algodón para evitar la salida de las larvas. Transcurrido 5 minutos los tubos fueron invertidos para escurrir el líquido a través del tapón y colocados en incubadora a temperatura y humedad relativa constante por espacio de 24 horas larvas (Imagen II.4, muestra el procedimiento para la determinación de la actividad acaricida de los aceites).

El procedimiento experimental inicio por el control negativo y los solventes, para después continuar con las diferentes concentraciones de los aceites y por último el control químico. Este proceder resulta imprescindible para evitar la contaminación de los tratamientos.



**Imagen II.4. Procedimiento experimental de la determinación de la actividad acaricida del aceite de *J. curcas* frente a larvas de *R. (B.) microplus*.**

### ***Mediciones experimentales***

Pasada las 24 horas las larvas se estimaron las variables viabilidad y mortalidad. Para determinar la viabilidad de las larvas se consideraron las características morfológicas y su capacidad para matener el movimiento cuando fueron observadas al estereoscopio.

Para el cálculo de la mortalidad se utilizó la formula: [Mortalidad (%) = larvas muertas /total de larvas x 100], y los valores fueron transformados a eficacia en mortalidad.

### **II.6. Análisis estadísticos**

Los datos fueron colectados en hojas de cálculo de Microsoft Excel para la realización de sus respectivos análisis. El porcentaje de repelencia (experimento 1) y la eficacia de la mortalidad de las larvas (experimento 2) fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del valor para lograr una distribución aproximada a la Normal.

A los resultados se les realizó las pruebas de homogeneidad de varianza (Test de Levene) y distribución normal (Kolmogorov-Smirnov) y para el análisis estadístico se utilizó el paquete IBM®SPSS®Statistics versión 22.

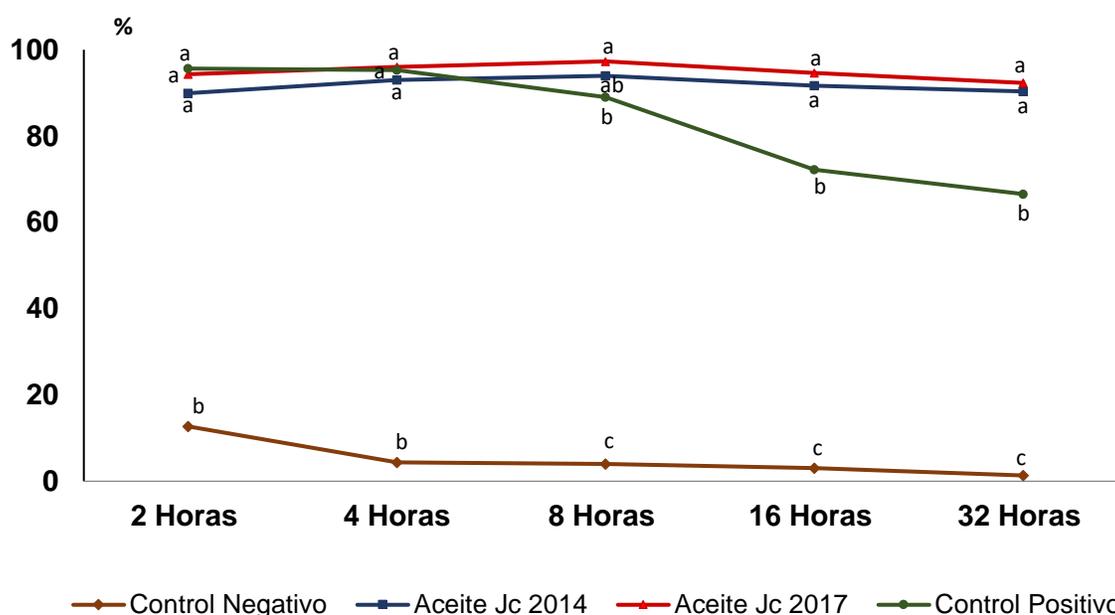
Para el análisis del porcentaje de repelencia se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, con un nivel de significación del 5 %. Mientras que para la eficacia en la mortalidad de las larvas se realizó un análisis de varianza utilizando la dócima de comparación de rangos múltiples de Duncan para el establecimiento de las diferencias entre medias.

Para el porcentaje de las larvas en las diferentes áreas (test de repelencia) se utilizó un análisis de distribución de frecuencia y se calcularon los estadígrafos de dispersión.

### CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### III.1. Actividad repelente del aceite de *Jatropha curcas* L. frente a larvas de *R. (B.) microplus*

La figura III.1 muestra los porcentajes de repelencia para las sustancias evaluadas a las 2, 4, 8, 16 y 32 horas respectivamente. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos experimentales, en los diferentes horarios, con respecto al control negativo (agua destilada).



Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

	2 horas	4 horas	8 horas	16 horas	32 horas
Valor P	0,0230*	0,0545*	0,0153**	0,0218*	0,0230*

**Fig. III.1. Actividad repelente de las sustancias evaluadas frente a larvas de *R. (B.) microplus*.**

La actividad repelente en los aceites fue elevada, siendo el intervalo 4-8 horas el de mejor resultados con valores de 93,96 y 97,31 % para el aceite 2014 y 2017, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos.

Pasada las 8 horas el Control Positivo (Butox®) disminuyó su actividad repelente hasta alcanzar valores del 66,5 % a las 32 horas, difiriendo significativamente ( $p < 0,05$ ) de los tratamientos experimentales (Aceites de *J. curcas*). Esto pudiera estar relacionado con la volatilización de los principios activos presentes en esta sustancia, ya que sus mayores efectos no son por actividad repelente sino a través del contacto directo y la penetración en los parásitos trayendo consigo afectaciones en el sistema nervioso, muscular, reproductor y digestivo (Díaz-Rivera, 2012; Roque, 2015).

El agua destilada no mostró actividad repelente, como se esperaba, ya que sus valores oscilaron entre 3 y 7 % durante la etapa experimental.

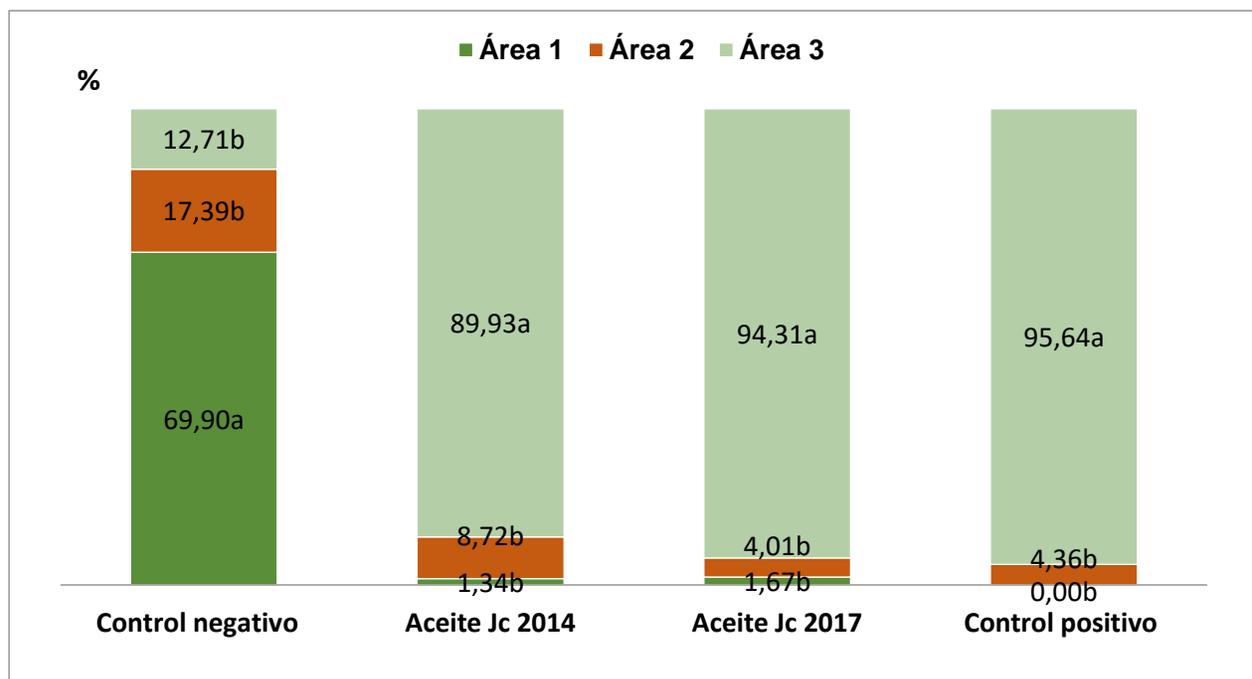
Los resultados alcanzados en la actividad repelente, para cada una de las sustancias evaluadas estuvo determinado por el movimiento y la concentración de las larvas en las diferentes áreas del palillo de madera y el papel filtro. Las figuras III.2, III.3, III.4, III.5 y III.6 muestran la distribución del porcentaje de las larvas de *R. (B.) microplus* para cada momento de evaluación (2, 4, 8, 16 y 32 horas respectivamente).

De manera general se observó una tendencia en las larvas a subir totalmente al Área 1 (0-5 cm) como fue el caso del Control Negativo (sin actividad repelente) o un proceso a la inversa (Área 3) cuando se correspondió con los aceites de *J. curcas* y el control químico. Mientras que, la cantidad de larvas encontradas en el Área 2 fueron variables y respondieron al propio proceso migratorio (geotropismo negativo) que realizan las larvas en su ciclo biológico, característica que permite definir la actividad repelente de las sustancias.

El Control Negativo presentó los valores más bajos de larvas en el Área 3: 12,71; 4,36; 4,04; 3,02 y 1,34 % a las 2, 4, 8, 16 y 32 horas respectivamente. Confirmando que el agua destilada es una sustancia de baja repelencia.

A las 2 y 4 horas (Fig. III.2 y III.3) la cantidad de larvas recuperadas en el control negativo mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las áreas, con el porcentaje más alto para el área 1 (69,90 y 70,81 % respectivamente). Sin embargo, en los tratamientos

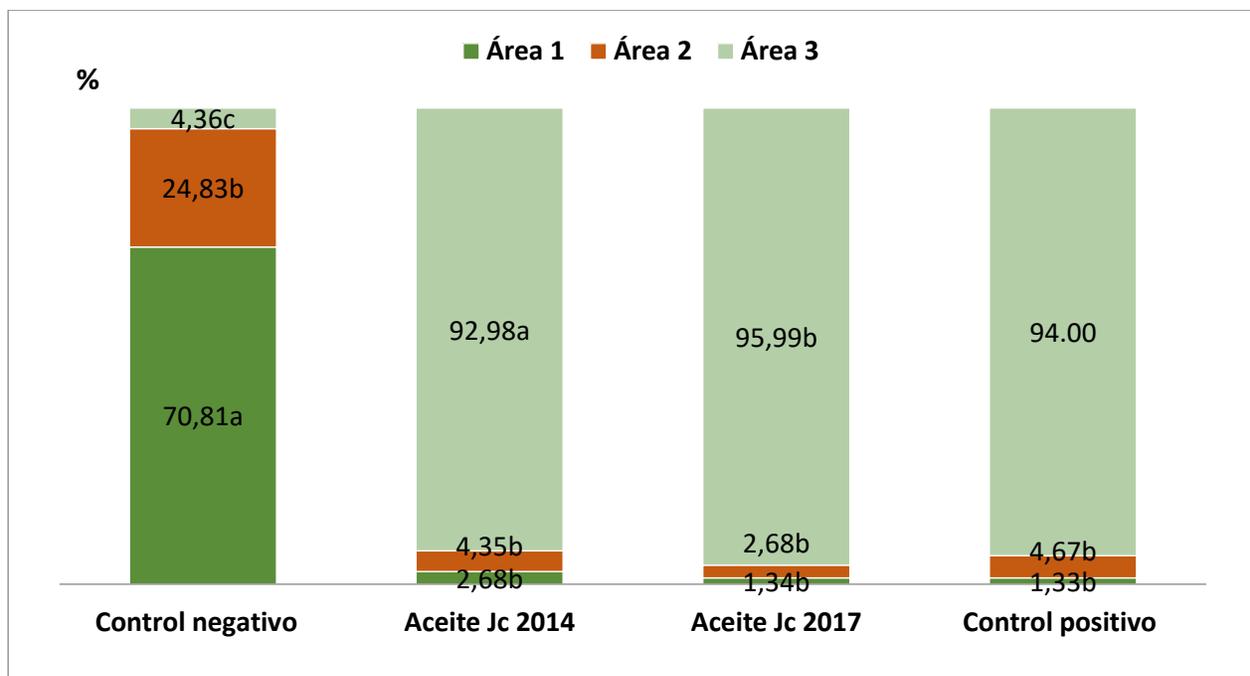
experimentales (Aceite Jc 2014 y 2017) y el producto químico no se encontraron diferencias entre las áreas 1 y 2, pero sí con respecto a la zona 3.



Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05^*$ )

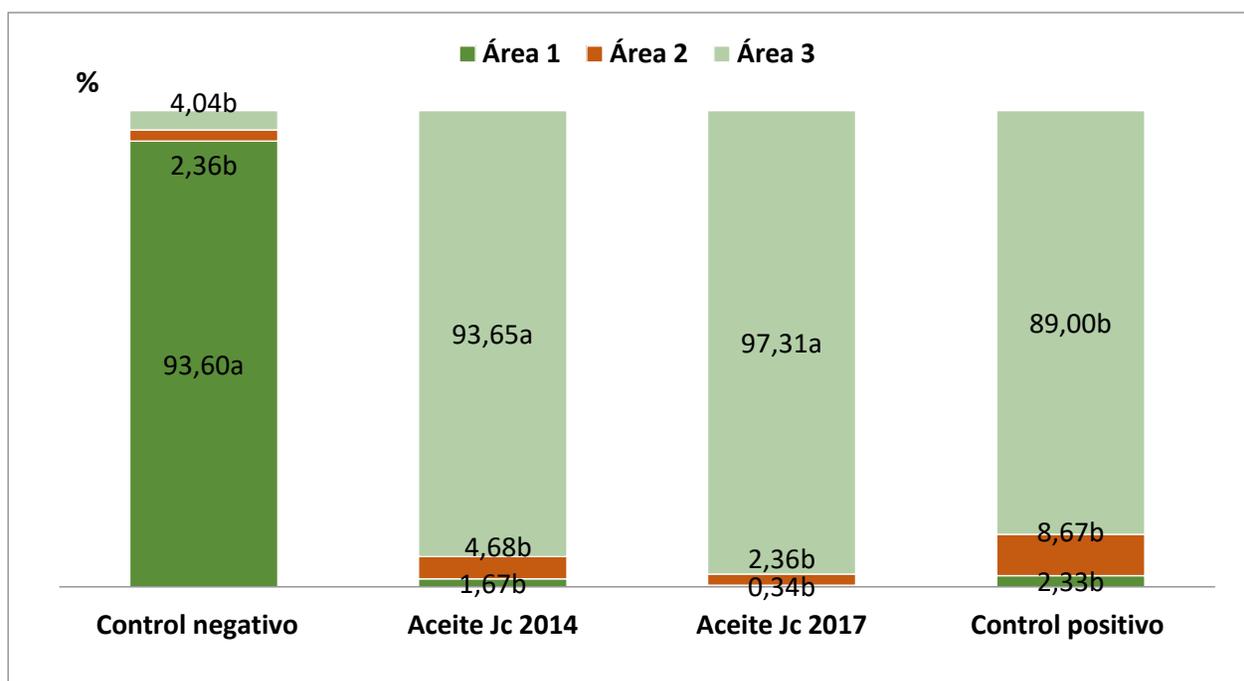
**Fig. III.2. Distribución del porcentaje de larvas de *R. (B.) microplus* a las 2 horas.**

Los resultados alcanzados a las 8, 16 y 32 horas mostraron un comportamiento similar para la migración de las larvas, a excepción del Control Positivo (Butox®) el cual fue incrementando el porcentaje de larvas con valores de 2,33; 10,37 y 10,03 % para el áreas 1 y 8,67; 17,39 y 23,41 % para el área 2, en los tres momentos. Esta tendencia indica una disminución de su actividad repelente, como ya había sido referido anteriormente.



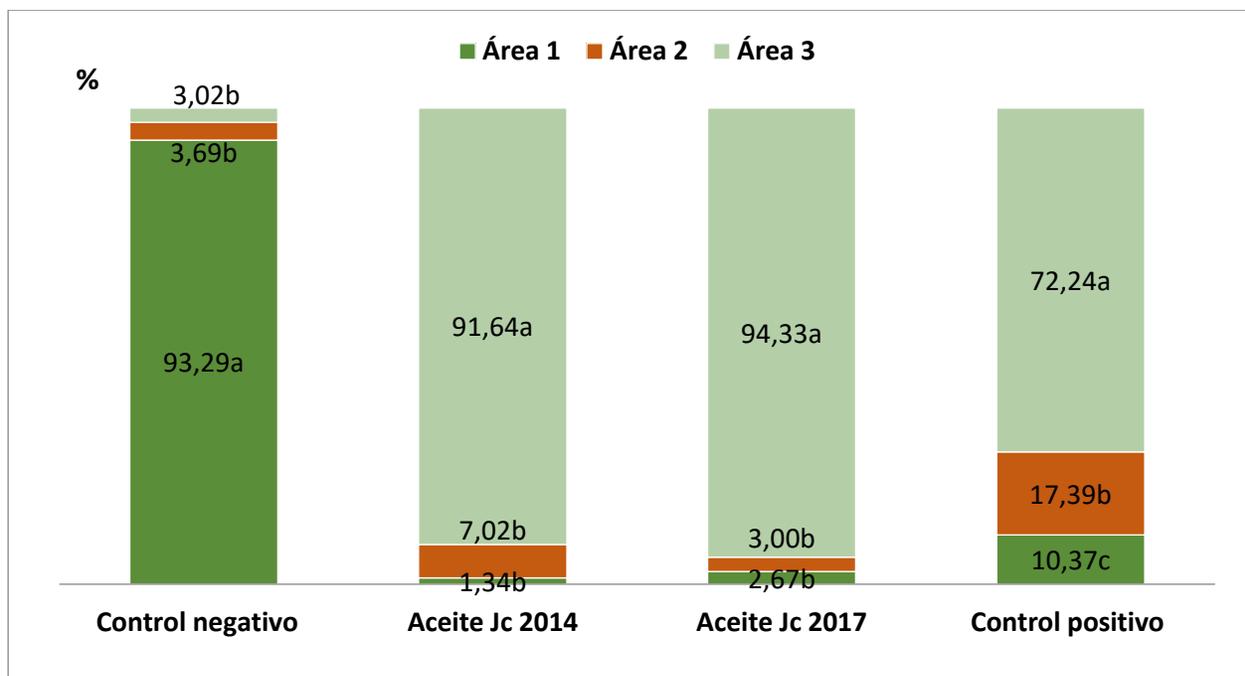
Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05^*$ )

Fig. III.3. Distribución del porcentaje de larvas de *R. (B.) microplus* a las 4 horas.



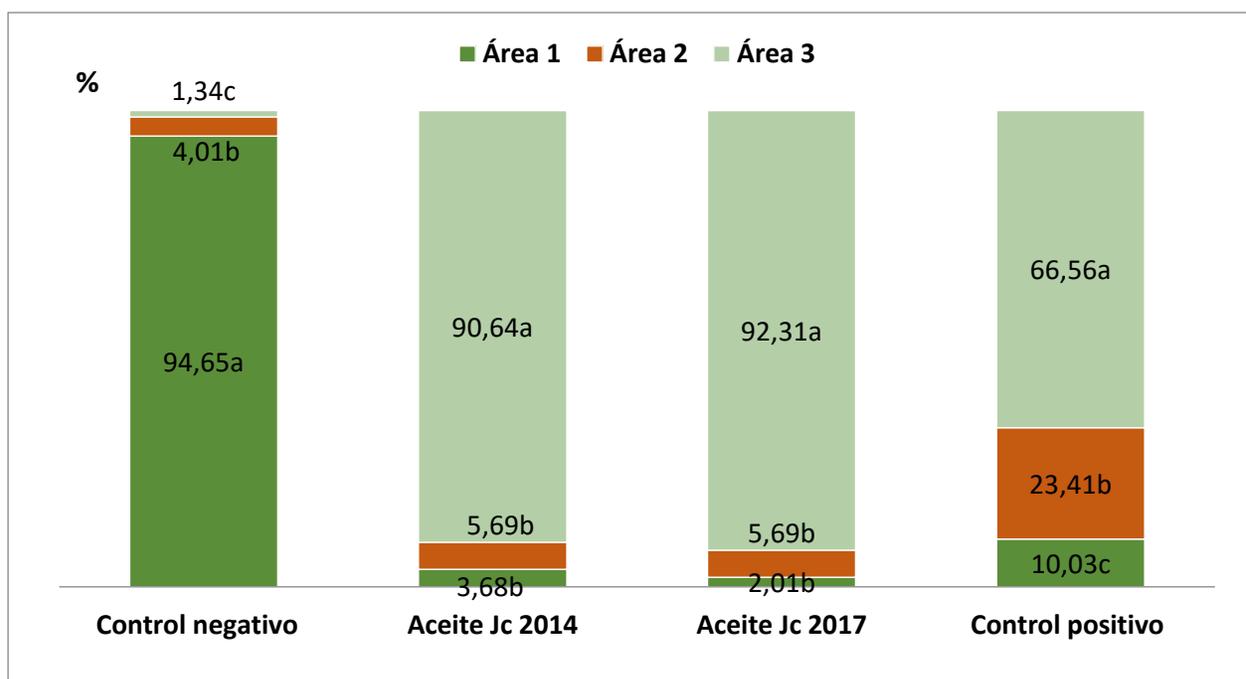
Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05^*$ )

Fig. III.4. Distribución del porcentaje de larvas de *R. (B.) microplus* a las 8 horas.



Letras distintas indican diferencias significativas (p<=0,05\*)

Fig.III.5. Distribución del porcentaje de larvas de *R. (B.) microplus* a las 16 horas.



Letras distintas indican diferencias significativas (p<=0,05\*)

Fig. III.6. Distribución del porcentaje de larvas de *R. (B.) microplus* a las 32 horas.

Según Chagas y Dias (2012) los trabajos que abordan los efectos repelentes sobre larvas de *R. (B.) microplus* no son muy comunes, ya que la mayoría de las pruebas *in vitro* tienen por objetivo la detección de la acción acaricida sobre las diferentes fases del ciclo biológico de las garrapatas (larvas y teleoginas). Sin embargo, la acción repelente puede ser una respuesta interesante, que vendría a complementar la acción letal de algunos garrapaticidas comerciales disponibles en el mercado, o de otros que están en fase de investigación y con ello alargar su vida útil.

Por otra parte, Adenubi *et al.* (2018) señala que unas 27 especies de plantas de 18 familias han demostrado tener actividad repelente en garrapatas pero relativamente poca investigación se ha realizado para determinar cómo estos parásitos detectan los repelentes. La mayoría de los ensayos de repelencia para las garrapatas no discriminan entre repelencia mediante quimiorrecepción táctil o quimiorrecepción sensorial.

Los principales resultados han estado relacionados con la evaluación de la actividad repelente de especies de gramíneas y leguminosas pero en condiciones de pastoreo. Muchas especies de garrapatas dependen de la presencia de vegetación de tamaño pequeño como pastos, matorrales y maleza, para mantener su balance de agua y utilizan las plantas como plataforma para aumentar sus posibilidades de alcanzar algún animal susceptible de ser parasitado. Esta relación puede ser aprovechada por el uso de plantas que tengan propiedades repelentes e interfieran la etapa del encuentro entre las larvas y el hospedero (ganado) (Fernández *et al.*, 2004b; Muro *et al.*, 2003; Iriarte *et al.*, 2012).

Investigaciones desarrolladas en plantas forrajeras determinaron que especies de gramíneas como *Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf<sup>3</sup>. (pasto insurgentes), *Melinis minutiflora* P.Beauv. (pasto gordura), *Andropogon gayanus* Kunth (pasto llanero) *Hyparrhenia rufa* (Nees) Stapf (jaragua); y las leguminosas como *Stylosanthes* spp. Sw.

(Stylo), *Gynandropsis gynandra* (L.) Briq. (Jazmín del río), *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit y *Macroptilium atropurpureum* (Moc. & Sesse ex DC.), presentan efecto repelente al

---

<sup>3</sup> Nombre científico actual: *Urochloa brizantha*

exponer la garrapata al forraje (Fernández *et al.*, 2004a; 2004b; Muro *et al.*, 2004; Mayahua, 2015).

Según los autores los efectos repelentes de estas especies se debe a diferentes factores entre ellos: la secreción de oleorresinas que producen olores fuertes que repele o ahuyenta a la larva impidiendo que trepe a la punta del pasto y las hojas de algunas especies producen condiciones desfavorables (temperatura y humedad) para el desarrollo de las larvas. Así mismo *B. brizantha* a través de sus pelos pequeños y finos que proliferan de su macollo, produce una secreción densa con un olor característico que repele a las larvas, mientras que el pasto llanero, tiene su efecto por la alta densidad de sus largos pelos no glandulares.

Estudios *in vitro* similares a los de esta investigación fueron desarrollados por Thorsell *et al.* (2006) quienes evaluaron la acción repelente de extracto etanólico de *Achillea millefolium* L. (milenrama), y aceites volátiles de abedul (*Betula pendula* Roth.) y/o extractos de pino (*Pinus* sp. L.), citronella (*Cymbopogon nardus* L. Rendle.), clavo (*Syzygium aromaticum* L.), eucalipto (*Eucalyptus citridofora* Hook.), geranio (*Geranium* sp. L.), lavanda (*Lavandula* sp. L.), lirio del valle (*Convallaria majalis* L.) y menta (*Mentha piperita* L.) frente a ninfas de la garrapata *Ixodes ricinus*. Los efectos repelentes más pronunciados se observaron para los aceites de citronela, clavo y lirio del valle.

De acuerdo con Jaenson *et al.* (2005), una sustancia repelente hace que un organismo realice movimientos en dirección opuesta a la fuente de estímulo. Las larvas muestran un aumento de su actividad ante la presencia de olores, que pueden ser percibidos a través del órgano de Haller, extremadamente sensible a esos estímulos y que se encuentra ubicado debajo del primer par de patas. Este comportamiento, propio de su condición de vida libre (ciclo biológico) permite distinguir cuales sustancias ejercen actividad repelente como en esta investigación muestran los aceites de *J. curcas* a diferentes períodos de almacenamiento.

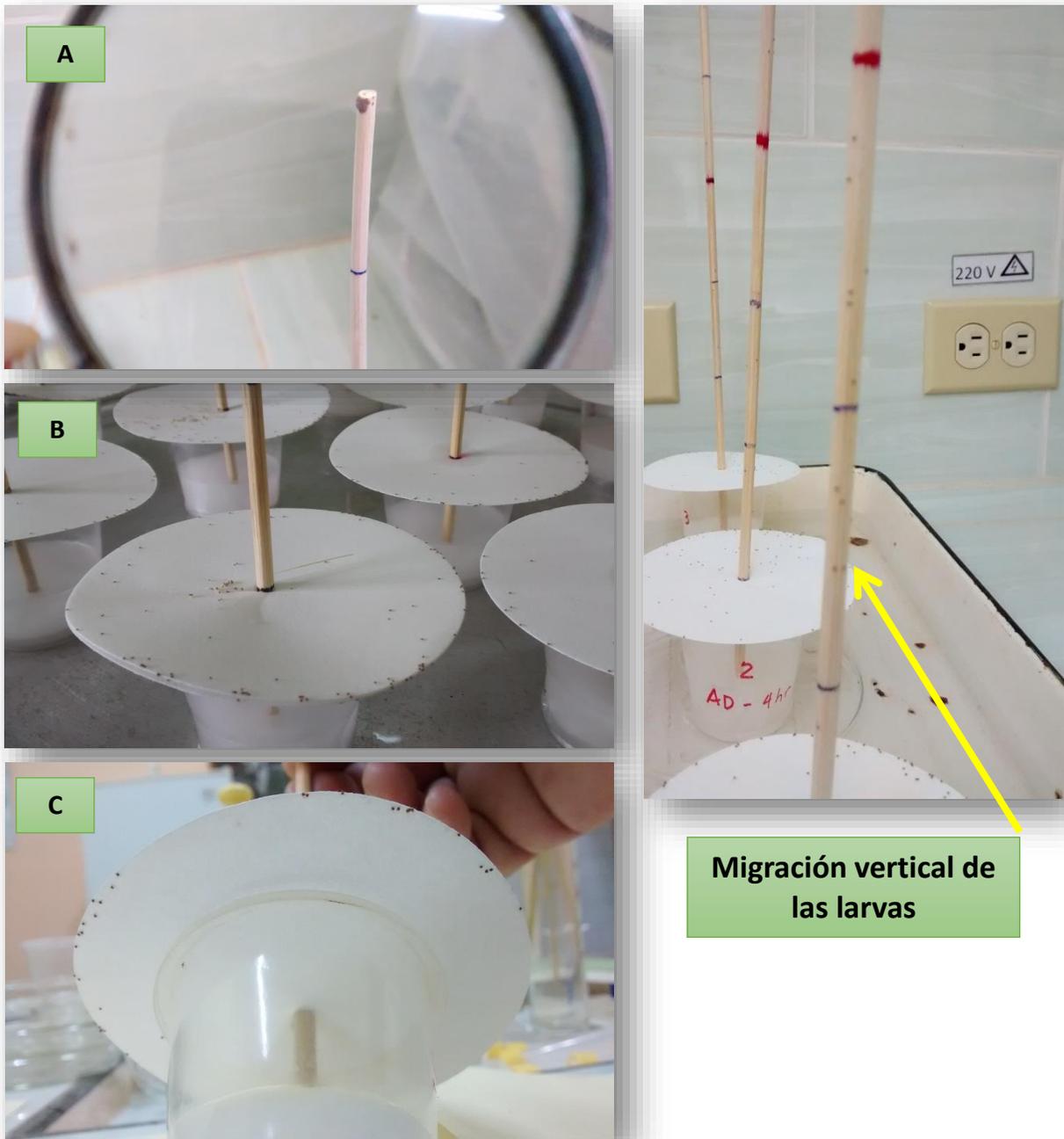
El geotropismo negativo de las larvas es un buen indicativo para la evaluación de la actividad repelente de las sustancias. Ellas, en condiciones naturales, migran hacia los bordes de las

hojas procurando el encuentro con el huésped. Este mismo comportamiento fue apreciado en el control negativo (agua destilada) demostrando que esta sustancia no tiene actividad repelente ya que las larvas en más de un 94 % se agrupan en el área 1 (Imagen III.1 A). Según Garcia (2019) esta característica de agrupamiento de las larvas son mecanismos que le permiten la supervivencia en condiciones ambientes.

Los aceites del fruto de *J. curcas* mostraron actividad repelente durante toda la etapa experimental para los dos períodos de almacenamiento. No solo se observaron bajos porcentajes de larvas en las áreas 1 y 2, sino que como parte de su comportamiento biológico, las larvas se ubicaron en el borde de las hojas de papel de filtro y en algunos momentos en la zona inferior (Imagen III.1 B-C).

Según Furlong *et al.* (2002a, 2002b), las larvas tienden a migrar verticalmente justo debajo del extremo de las hojas de los pastos para escapar de las condiciones adversas, evitando el gasto de energía y la desecación. Dado este comportamiento podemos inferir que estas sustancias tienen potencial para limitar la actividad biológica de las larvas en condiciones naturales.

Aunque los tratamientos experimentales no mostraron diferencias significativas, el Aceite/2017 expresó un valor superior en su actividad repelente, probablemente por un menor período de almacenamiento. Según Joshi *et al.* (2013), la calidad del aceite y la concentración de sus principios activos está directamente relacionada con las condiciones de almacenamiento y la pérdida de algunos de sus compuestos por volatilización, dado que la temperatura y la humedad relativa son de las variables que más influyen en este comportamiento.



A. Larvas en el control negativo B-C. Larvas en los tratamientos experimentales.

**Imagen III.1. Comportamiento biológico de las larvas de *R. (B.) microplus* en el test de repelencia.**

El efecto repelente de los aceites de *J. curcas* podría deberse a sus contenidos en ácidos grasos y la presencia de metabolitos secundarios los cuales le confiere un olor característico. Estos olores contribuyen a interrumpir la actividad de búsqueda que desarrollan las larvas y con ello podrían obstaculizar su ciclo biológico y el acceso a los huéspedes en condiciones de pastoreo. Efectos repelentes similares a los de este estudio fueron reportados por Camacho y Peralta (2019) para las especies orégano (*Origanum vulgare* L.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.).

Existen repelentes que han sido muy utilizados y se consideran efectivos en la prevención de la infestación por garrapatas, fundamentalmente en animales de compañía como son los que incluyen la N, N-dietil-meta-toluamida (DEET) y el ácido 1-piperidincarboxílico 2-(2-hidroxietil)-1-metilpropilester (picaridina), entre otros (Cisak *et al.*, 2012).

Sin embargo, el uso de productos químicos está siendo cuestionado por su residualidad e impacto negativo en el ambiente. De ahí que evaluar otras estrategias como las derivados de plantas han sido señalados por Parte *et al.* (2014), como una alternativa a los productos de síntesis química, ya que tienen baja toxicidad y se degradan mejor en el ambiente. Estas propiedades permiten reducir el desarrollo de la resistencia y el alto impacto ecológico en los sistemas ganaderos.

### III.2. Actividad acaricida del aceite de *Jatropha curcas* L. frente a larvas de *R. (B.) microplus*

La figura III. 7 muestra los resultados para la eficacia de las sustancias evaluadas en larvas de *R. (B.) microplus*. El aceite del fruto de *J. curcas* presentó una marcada acción larvicida en los dos períodos de almacenamiento, con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos experimentales, el control negativo y el solvente.

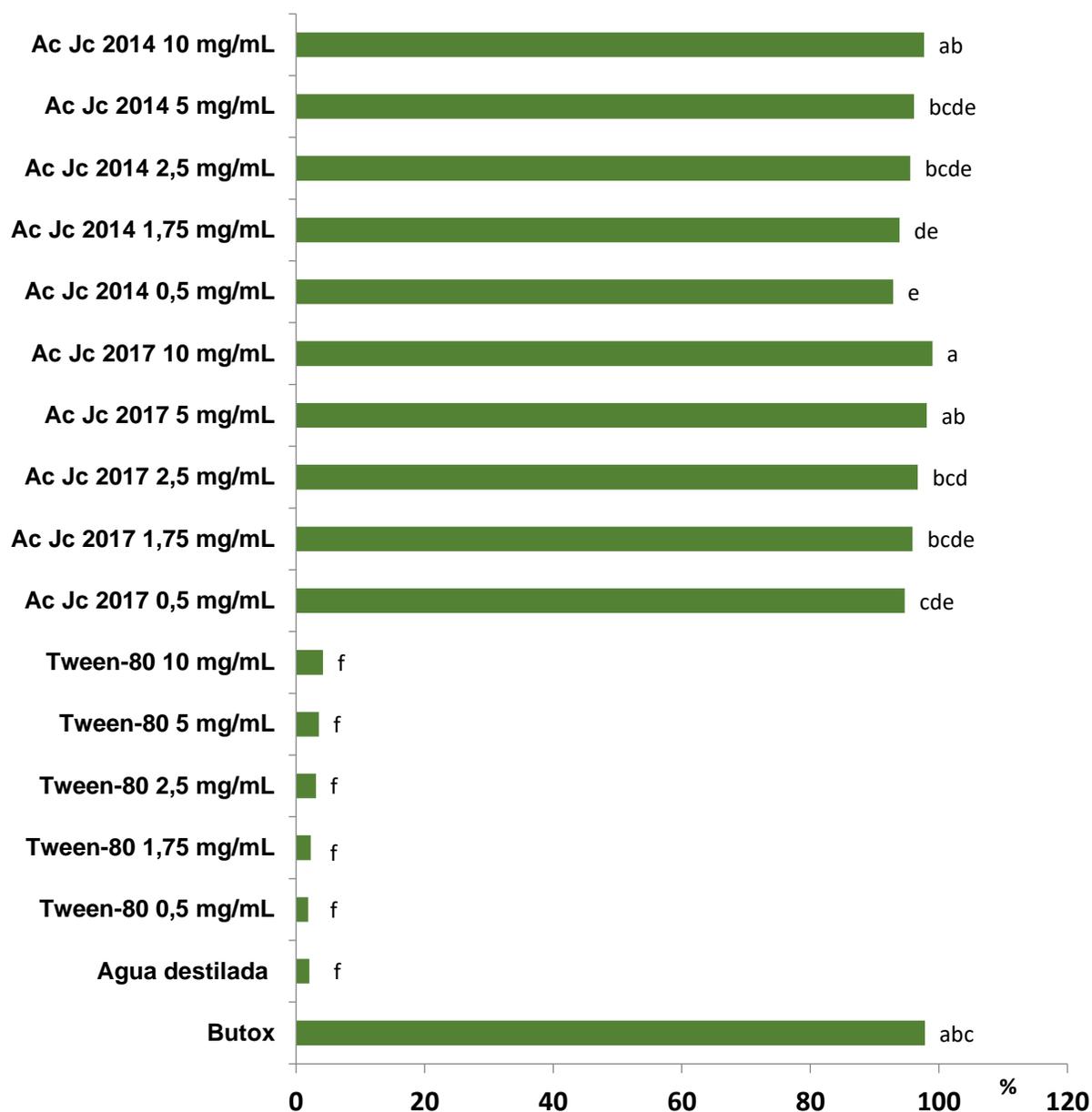
Todas las concentraciones evaluadas para los aceites de *Jatropha* mostraron valores de eficacia superiores al 93 %. Sin embargo, los mejores resultados fueron para las concentraciones de 10 mg/mL en el aceite extraído en el 2014 ( $97,72 \pm 0,58$  %) y de 10 y 5 mg/mL en el aceite del 2017 ( $98,99 \pm 0,33$  y  $98,11 \pm 0,30$  %, respectivamente), sin diferencias significativas con respecto al Butox® ( $97,83 \pm 0,45$  %).

Como se esperaba el control negativo (agua destilada) no mostró actividad acaricida en las larvas ( $2,07 \pm 0,40$  %). Un comportamiento similar se apreció en el solvente con valores de  $1,89 \pm 0,27$ ;  $2,28 \pm 0,33$ ;  $3,10 \pm 0,60$ ;  $3,55 \pm 0,41$  y  $4,19 \pm 0,57$  % para las concentraciones de 0,5; 1,75; 2,5; 5 y 10 mg/mL de Tween-80, respectivamente. Lo cual demostró que este solvente puede ser empleado en los test biológicos con *R. (B.) microplus*, ya que según Chagas *et al.* (2003) son de bajo peso molecular y de poca viscosidad no interfiriendo en la eficacia de las sustancias.

Resultados similares a los de este estudio fueron reportados Martínez-Velázquez *et al.* (2011), al evaluar los aceites esenciales de las semillas de *Cuminum cyminum* y del fruto de *Pimenta dioica*, señalando actividad acaricida y efectos tóxicos elevados que produjeron el 100 % de mortalidad en larvas de *R. (B.) microplus* con 10 días de edad.

Por su parte Chagas *et al.* (2012), en estudios realizados con larvas de esta misma especie de garrapatas, reportaron efectos acaricidas de los aceites esenciales y concentrado emulsionable de *Eucalyptus* ssp. Los autores informaron que el aceite esencial de *E.*

*citriodora* y *E. staigeriana* mostró una eficacia máxima (100 %) en la mortalidad de las larvas en concentraciones de 10 y 20 % para cada una de las especies respectivamente.



Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,01^{**}$ )

**Fig. III.7. Eficacia del aceite de la semilla de *J. curcas* frente a larvas de *R. (B) microplus* con diferentes períodos de almacenamiento<sup>4</sup>.**

<sup>4</sup> El análisis estadístico correspondiente a la eficacia de las sustancias en la mortalidad de las larvas se encuentra en el Anexo 4.

Otros aceites evaluados han sido los provenientes de las especies *Cymbopogon nardus* (Olivo *et al.*, 2008), *Piper aduncum* (Silva *et al.*, 2009), *Annona muricata* (Broglia-Micheletti *et al.*, 2009), *Cymbopogon martini* (Chagas *et al.*, 2011) y *Cymbopogon wynterianus* (Agnolin *et al.*, 2014). Estos autores observaron una alta mortalidad de las larvas al evaluar bajas concentraciones de las sustancias. Además, reportaron una disminución de la eficiencia reproductiva y el porcentaje de eclosión de los huevos cuando realizaron investigaciones con teleoginas ingurgitadas.

Varias han sido las investigaciones desarrolladas para evaluar la actividad acaricida de los aceites, esenciales o no, proveniente de diferentes partes de las plantas para determinar sus potencialidades como un valioso recurso natural en el control de las garrapatas (Campos *et al.*, 2012). Sin embargo, son escasos los informes sobre las propiedades acaricidas de *J. curcas* (Juliet *et al.*, 2012).

En Cuba los primeros reportes son de Fuentes-Zaldivar *et al.* (2017) al evaluar la actividad acaricida del aceite de *J. curcas* en teleoginas y larvas de *R. (B.) microplus* pero en concentraciones (5, 10, 15 y 25 %) superiores a las de este estudio, con valores de mortalidad que oscilaron entre 95 y 98 % para larvas y de 91 a 96 % en teleoginas. Según los autores las larvas son mucho más sensibles al efecto del aceite de *Jatropha* que las hembras ingurgitadas. Ello puede estar dado por su tamaño, ya que necesitan de menor cantidad del producto para apreciar su efecto, además que su estructura es más sensible y las capas que forman su tegumento son más delgadas, permitiendo la absorción del producto y su distribución en el organismo.

Por su parte, Lopera-Vélez *et al.* (2017), evaluaron el efecto de extractos vegetales de las semillas de *J. curcas* y *A. squamosa* reportando una actividad biológica importante sobre el índice de producción de huevos y la eficiencia reproductiva de garrapatas adultas. Apreciando una relación inversamente proporcional entre estos indicadores y la dilución de los extractos, posiblemente, por la relación dosis-respuestas en la cual la mayor concentración de las sustancias activas logra un efecto acaricida más notorio.

Juliet *et al.* (2012) señala efectos acaricidas y una disminución significativa de la eclosión de los huevos en la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* cuando fueron tratadas con extractos etanólicos de las hojas de *J. curcas* a diferentes diluciones: 60, 70, 80, 90 y 100 mg/mL, respectivamente.

Además, se ha identificado el aceite de *Jatropha* como eficaz para controlar la sarna sarcóptica en ovejas cuando se combina con ácido ascórbico (Dimri y Sharma, 2004), atribuido a la presencia de esteroides y alcoholes triterpenos. También se le han atribuido efectos antiovipositivos y ovicidas contra *Callosobruchus maculatus*<sup>5</sup>.

La investigación de plantas pesticidas en parasitología veterinaria es un área reciente de la investigación a nivel mundial en comparación con la detección de extractos de plantas para el tratamiento de enfermedades bacterianas. Los extractos de plantas contienen mezclas de sustancias que pueden actuar de manera sinérgica, de diferentes maneras, lo que hace que el desarrollo de la resistencia a los parásitos sea más difícil de lo que normalmente ocurre con los productos químicos (Adenubi *et al.*, 2018).

En este sentido *Jatropha curcas* se avisa como una planta con amplias posibilidades para ser evaluada integralmente para la salud animal, dadas sus propiedades no solo antiparasitarias y su capacidad de adaptación a climas vulnerables. Sin embargo, para transponer la eficacia obtenida del laboratorio al campo, será necesario desarrollar otras investigaciones para profundizar en la relación de los parásitos con los principios activos, evaluar el impacto de los factores ambientales en la estabilidad de las sustancias y realizar estudios de toxicidad para identificar riesgos para la salud animal y humana, que no pueden ser descuidados.

---

<sup>5</sup> *Callosobruchus maculatus* es una especie de escarabajo conocida comúnmente como el gorgojo del caupí o escarabajo de la semilla del caupí.

### III.3. Caracterización de la composición físico química del aceite de *Jatropha curcas* L.

El aceite obtenido de la semilla de *Jatropha curcas* presentó características organolépticas similares para ambos períodos de almacenamiento: color amarillo tenue, inodoro y grasiento al tacto.

En la tabla III. 1, se muestran los resultados de las propiedades físicas del aceite para las extracciones del 2014 y 2017. Los valores de densidad, humedad e índice de acidez son similares a los reportados por Lafargue-Pérez *et al.* (2012) al evaluar el aceite de jatropha (variedades nativas) en la región semiárida de la franja costera sur de la provincia de Guantánamo.

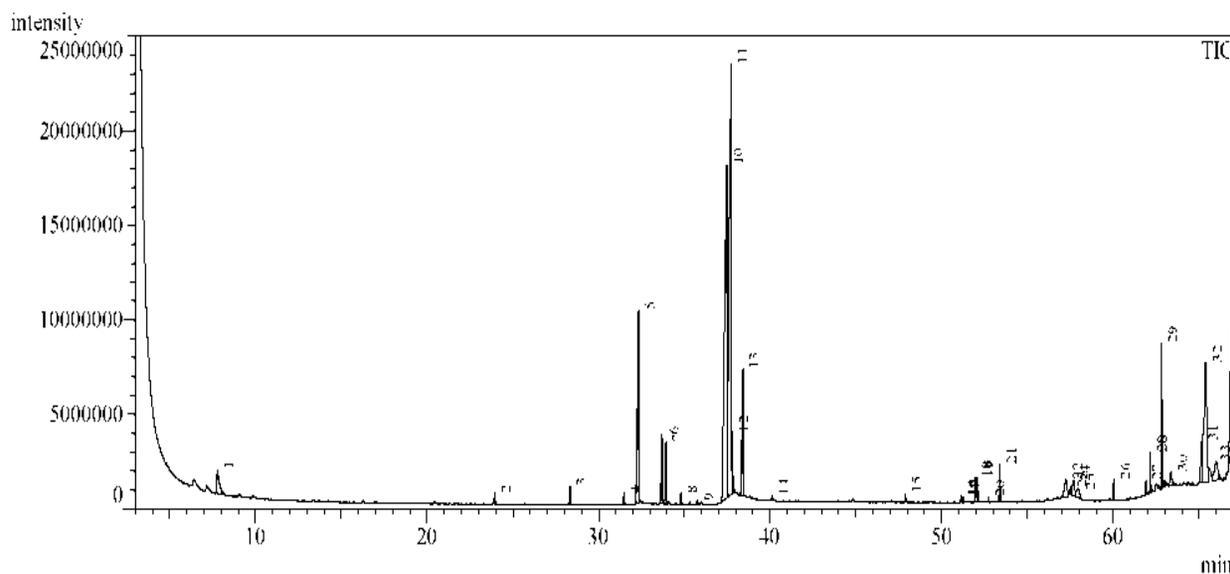
**Tabla III.1. Características físicas del aceite del fruto de *J. curcas* L.**

Tiempo de almacenamiento	pH	Densidad (g/mL)	Humedad (%)	Índice de acidez (%)	Viscosidad (mpa/seg)
2014	4,5	0,91	0,02	4,12	50,6
2017	4,78	0,91	0,05	5,08	41,5

Se aprecio un valor superior en cuanto a la viscosidad del aceite del 2014 con respecto al 2017, estos resultados son similares a los informados por Islam (2012) y García-Muentes *et al.* (2018). Según Rodríguez-Martínez *et al.* (2012), este aceite posee un alto índice de viscosidad comparado con el de los aceites comestibles como la soya, el girasol y la colza.

La figura III.8 y III.9 muestra los perfiles cromatográficos del aceite de *J. curcas* para los dos períodos de almacenamiento (2014 y 2017). La determinación de la composición química de los aceites se pudo estimar a partir de los picos cromatográficos que muestran la relación entre la abundancia de las sustancias (intensidad) y los tiempos de retención. En ambos aceites, los picos que muestran la abundancia de las sustancias (área bajo la curva) se observaron entre los intervalos de 0-10, 30-40 y después de 50 minutos. La mayor

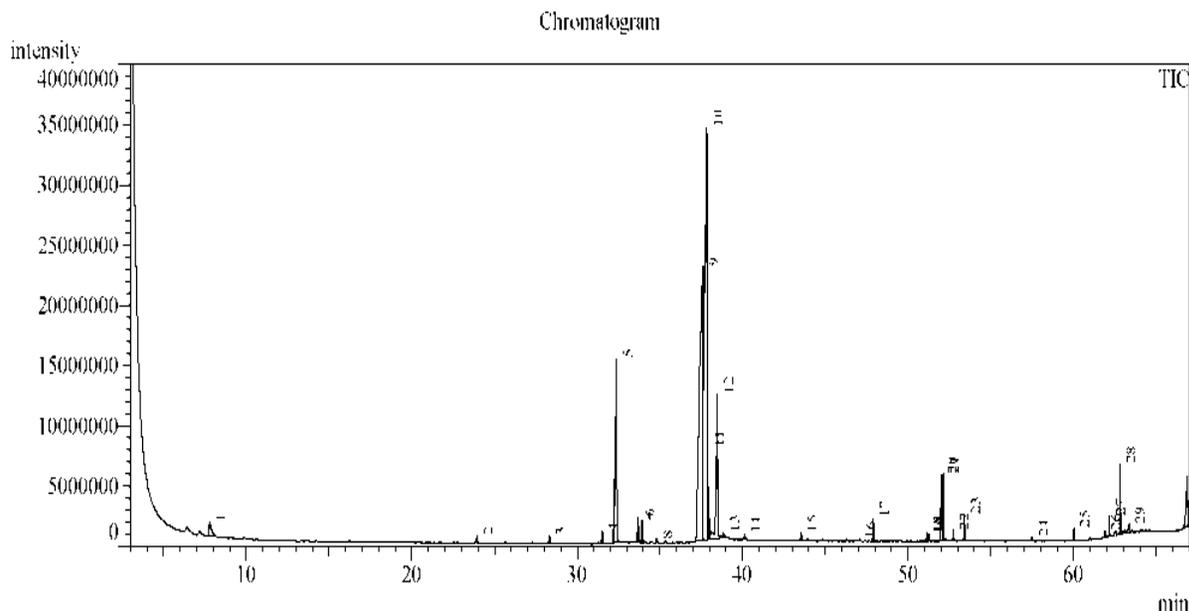
intensidad de los picos cromatográficos fue para el aceite extraído de la semilla en el 2017. Probablemente este comportamiento este relacionado con el proceso de almacenamiento y las posibles pérdidas de algunos compuestos.



**Fig. III.8. Curva de cromatografía para el aceite de la semilla de *J. curcas* L., extracción 2014.**

La cromatografía gaseosa acoplada a la espectrometría de masas son poderosas técnicas microanalíticas que permiten la identificación de compuestos desconocidos, la cuantificación de los conocidos, y sirven para esclarecer la estructura y las propiedades químicas de los compuestos que forman las sustancias evaluadas (Espadero *et al.*, 2019).

Estas técnicas han sido muy utilizadas en los últimos años para acompañar los test *in vitro* para determinar las propiedades acaricidas, insecticidas y repelentes de las plantas, a fin de identificar las sustancias con actividad antiparasitaria (Rosado-Aguilar *et al.*, 2017).



**Fig. III.9. Curvas de cromatografía para el aceite de la semilla de *J. curcas* L., extracción 2017.**

La GC/MS, permitió en esta investigación caracterizar y cuantificar la composición química de los aceites evaluados. Los resultados de los perfiles cromatográficos se muestran en las tablas III.2 y III.3.

Los ácidos grasos presentes en los aceites se corresponden a: oleico, linoleico, lignocérico, elaidico, palmítico, palmitelaidico y esteárico. En ambos aceites se confirmó que predominan los ácidos grasos insaturados, con valores de 54,01 y 68,79 % para el 2014 y 2017, siendo los más representativos en ambos casos el linoleico y el oleico. Mientras que, los ácidos saturados estuvieron representados mayoritariamente por el palmítico y esteárico. Los valores registrados en el estudio se encuentran dentro de los límites normales descritos para la especie según lo señalado por Saavedra *et al.* (2018).

**Tabla III.2. Composición del aceite de la semilla de *J. curcas* L. Extracción 2014.**

No	Formula Química	Nombre Compuesto	Índice Retención	Nombre Común	% Total en Muestra
1	C10H16O	2,4-Decadienal	1220	Alcanfor	1,70
2	C15H32O4Si2	Ácido Azelaico	1667	Ácido Azelaico	0,22
3	C17H34O2	Ácido Hexadecanoico	1878	<b>Ácido Palmítico</b>	<b>9,24</b>
4	C19H38O2Si	Ácido Palmitelaidico	1995	Ácido Palmitelaidico	0,26
5	C19H40O2Si	Ácido 9,12-Octadecanoico	2093	<b>Ácido Linoleico</b>	<b>25,45</b>
6	C19H36O2	11-Octadecenoico	2085	Ácido Vacénico	1,59
7	C19H38O2	Estearato de metilo	2077	Estearato de metilo	0,31
8	C15H28O	(Z-Z)-6,9-Pentadecadien-1-ol	1771	Pentadecadienol	0,08
9	C21H42O2Si	Ácido Oleico	2194	<b>Ácido Oleico</b>	<b>26,85</b>
10	C21H44O2Si	Ácido Octadecanoico	2186	<b>Ácido Esteárico</b>	<b>4,42</b>
11	C23H42O2Si	Ácido Cis-5,8,11-Eicosatrienoico	2409	Ácido mead	0,12
12	C27H56O4Si2	1-Monooleoilglicerol	2788	Monoleina	0,59
13	C30H50	Supraene	2914	Supraene	0,96
15	C38H76O5Si	1,3-Dipalmitin	4055	Glicerilester de ácido Palmítico	2,93
16	C31H56O2Si	g-Tocoferol	3113	Vitamina E	0,25

Continuación Tabla III.2

No	Formula Química	Nombre Compuesto	Índice Retención	Nombre Común	% Total en Muestra
17	C33H54O2	7-Dehidrocolesteril isocaproato	3080	Vitamina D <sub>3</sub>	0,50
18	C31H56OSi	Silane [[[3,beta.24R)-ergost-5-en-3-il]oxi]trimetil-	2689	Silane	0,31
19	C32H56OSi	Estigmasterol trimetil silil éter	2797	Estigmasterol	0,80
20	C32H58OSi	Beta-Sitosterol trinetileilil eter	2789	b-Sitosterol	2,77
21	C28H58O3Si	Ácido Tetracosanoico	2894	<b>Ácido Lignocérico</b>	<b>11,38</b>
22	C24H32N2O6	1,12-bis(2-niyofenoxi) dodecane	3503	Dodecano	1,89
23	C18H32O2	Ácido Ciclohexano	2031	Ácido Ciclohexano carboxílico	7,38

**Tabla III.3. Composición del aceite de la semilla de *J. curcas* L. Extracción 2017.**

No	Formula Química	Nombre Compuesto	Índice Retención	Nombre Común	% Total en Muestra
1	C10H16O	2,4-Decadienal	1220	Alcanfor	1,13
2	C15H32O4Si2	Ácido Azelaico	1667	Ácido Azelaico	0,18
3	C17H34O2	Ácido Hexadecanoico	1878	<b>Ácido Palmítico</b>	<b>11,5</b>
4	C19H38O2Si	Ácido Palmitelaidico	1995	Ácido Palmitelaidico	0,41
5	C19H34O2	Ácido Octadecadienoico	2093	<b>Ácido Linoleico</b>	<b>30,93</b>
6	C21H42O2Si	Ácido Oleico	2194	<b>Ácido Oleico</b>	<b>34,26</b>
7	C21H44O2Si	Ácido Octadecanoico	2186	<b>Ácido Estearico</b>	<b>8,67</b>
8	C16H34O4Si2	Ácido Sebacico	1766	Ácido Sebacico	0,25
9	C27H56O4Si2	Ácido 9-Octadecenoico	2788	Ácido Elaidico	2,89
10	C25H54O4Si2	Monopalmitoilglicerol	2581	Monopalmitoilglicerol	2,19
11	C30H5O	Supraene	2914	Supraene	0,83
12	C31H56O2Si	Tocoferol	3113	Vitamina E	0,11
13	C39H56O5	Acetato de Carpesterol	3979	Carpesterol	0,41
14	C33H54O3	7-Oxocolesterol isocaproato	3241	Keto-isocaproato	0,16
15	C29H46	Colestra-6,22,24-triene,4,4-dimetil	2572	Colesterol	0,39
16	C22H38O2Si	17beta-hidroxi-5.alfa.-androstano-3-one	2186	Testosterona	1,80
17	C38H78O5Si	1,3-Dipalmitín	4055	Dipalmitín	3,36
18	C18H32O2	Ácido Ciclohexano carboxílico	2031	Ácido Ciclohexano carboxílico	2,61

Estos resultados se corresponden con los descritos por Chitue *et al.* (2013), al evaluar el aceite de la misma plantación que el de esta investigación (franja costera sur de la provincia de Guantánamo). Sin embargo, Piloto Rodríguez (2011), denoto algunas diferencias al evaluar el mismo aceite, pero en lotes y épocas diferentes. Estos autores reportan un porcentaje mayor de ácido palmítico con respecto a este trabajo, pero similares para el ácido linoleico.

Según Lopera-Vélez *et al.* (2017) *J. curcas* es una especie vegetal promisoría, con una riqueza de compuestos bioactivos que le permiten controlar de manera eficiente bacterias, hongos, parásitos y otros organismos que afectan el crecimiento y la producción animal.

En este sentido, Rampadarath *et al.* (2016) reporta actividad antimicrobiana y antioxidante al evaluar extractos de esta planta dada la presencia de los ácidos hexadecanoico (palmítico), octadecanoico (estearico) y octadecadienoico (linolenico).

Además se reporta la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, esteroides, taninos, flavonoides, fenol y cumarinas, señalando efectos como agentes antimicrobianos y larvicidas, entre otros (Wei-Zhang *et al.*, 2015).

Su mayor actividad biológica se le atribuye a los ésteres de forbol los cuales son diterpenos que le confieren además una alta toxicidad al aceite. Aunque estos compuestos no pudieron ser cuantificados para esta investigación, otras sustancias expresadas en el análisis cromatográfico exponen una actividad biológica importante como ácido azelaico, perteneciente al grupo de los ácidos dicarboxílicos de cadena larga. Tiene una acción antibacteriana tópica, comedolítica y en menor grado antiinflamatoria (Lopera-Vélez *et al.*, 2017).

Por otra parte, contiene alcanfor (2,4-Decadienal) al que se le reconocen efectos como nematocida, insecticida y repelente. Según Carboni *et al.* (2012) al evaluar esta sustancia podrían considerarse como agentes nematocidas botánicos potentes.

También se encuentran presentes fitoesteroides como Estigmasterol y el  $\beta$ -sitosterol, clasificados como esteroides o terpenoides. Estas sustancias han sido reportadas con una importante actividad biológica no solo para la medicina animal sino también humana, dado su valor farmacéutico. Fundamentalmente por su acción larvicida e insecticida (Oliveira, 2007).

Aunque queda mucho por investigar sobre la actividad biológica de esta especie en el control de las garrapatas, especialmente en definir cuál o cuáles de sus sustancias poseen la mayor actividad biológica, los resultados alcanzados hasta la fecha indican que en su composición química existe una diversidad de principios y metabolitos, los cuales podrían actuar de forma individual, aditiva o en sinergia entre ellos, a favor del control de estos parásitos.

La necesidad de estrategias de control menos agresivos al hombre y al medio ambiente ha estimulado la búsqueda de nuevos acaricidas a partir de extractos vegetales. En este sentido *Jatropha curcas* se aprecia como una planta con alto potencial, dada su capacidad de adaptación a sistemas vulnerables. Como bioacaricida podría reducir la utilización de los garrapaticidas organosintéticos, y con ello disminuir el costo de los sistemas de control, la presencia de residuos en los productos obtenidos a partir de los animales (carne y leche), los impactos negativos de la intoxicación y la toxicidad a organismos blancos, la resistencia a los productos químicos y la contaminación del ambiente.

## CONCLUSIONES

- El aceite de las semillas de *Jatropha curcas* L. posee actividad repelente y acaricida frente a larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, sin diferencias significativas entre los períodos de almacenamiento y con valores que superaron el 90 % de eficacia.
- La mayor eficacia frente a larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* fue para el aceite extraído en el 2017 con valores superiores al 98 %, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los períodos de almacenamiento, siendo 5 y 10 mg/mL las concentraciones con mayor actividad acaricida.
- El aceite de *J. curcas* extraído en 2017 mostró una mayor diversidad de compuestos con respecto al 2014, aunque los más representativos (ácidos orgánicos) fueron similares en ambos casos.

## RECOMENDACIONES

- Evaluar diferentes solventes y sus combinaciones con el aceite en la actividad repelente y acaricida.
- Determinar la actividad acaricida de las mejores dosis (combinaciones aceite/solvente) en estudios *in vivo*.
- Continuar con los estudios relacionados con la caracterización del aceite y determinar los mecanismos de acción en la actividad acaricida.
- Continuar los estudios relacionados con el efecto de los períodos de almacenamiento en la actividad acaricida y el perfil cromatográfico de los compuestos químicos del aceite de *Jatropha curcas*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas, R. Z.; Colwell, D. D.; Iqbal, Z. & Khan, A. Acaricidal drug resistance in poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and approaches to its management. **Worlds Poult. Sci. J.** 70:113–124. 2014a.
2. Abor, A. E.; Ali, A.; Rehman, G.; Garcia, G. R.; Zangirolamo, A. F.; Malardo, T. & Jonsson, N. N. Cattle tick *Rhipicephalus microplus* - host interface: A review of resistant and susceptible host responses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.** 7(506):1–18. 2017.
3. Adenubi, O. T.; Ahmed, A. S.; Fasina, F. O.; McGaw, J.; Eloff, J. N. & Naidoo, V. Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review and meta-analysis. **Industrial Crops & Products.** 123:779–806. 2018.
4. Adenubi, O.; Fasina, F.; Mc. Gaw, L.; Eloff, J. & Naidoo, V. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: **A review. South African Journal of Botany.** 105:178–193. 2016.
5. Agnolin, C. A.; Olivo, C. J.; Parra, Carla L. C.; Aguirre, Priscila F.; De Bem, Claudia M.; Zeni, D.; *et al.* Eficácia acaricida do óleo de citronela contra o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** 15(3):604–612. 2014.
6. Aguilar, C. A.; Rodríguez, K.; González, S. C. & Ríos, L. A. Evaluación de la estabilidad oxidativa del biodiesel de *Jatropha (Jatropha curcas L.)* mediante el uso de antioxidantes sintéticos y biodiesel de Palma. **Información Tecnológica.** 26(2):51–60. 2015.
7. Aguilar-Tipacamú, Gabriela; Mosqueda-Gualito, J.; Cantó-Alarcón, Germinal J.; Klafke, G. M.; Arellano-Carvajal, F.; Alonso-Díaz, M. M. & Rodríguez-Vivas, R. I. Identificación de mutaciones en el canal de cloro dependiente de glutamato en *Rhipicephalus microplus* resistente y susceptible a las ivermectinas. **Quehacer Científico en Chiapas.** 11(2):20–26. 2016.
8. Ahmad, L.; Khan, A. & Khan, M. Z. Pyrethroid-induced reproductive toxico-pathology in non-target species. **Pak. Vet. J.** 32:1–9. 2012.
9. Aidah, N., Abdaullah, N.; Oskoueian, E.; Chin Chin, S. & Saad, W. Z. Membrane – active antibacterial compounds in methanolic extracts of *Jatropha curcas* and their mode of action against *Staphylococcus aureus* S1434 y *Escherichia coli* E216. **International Journal of Agriculture and Biology.** 16(4):723–730. 2014.
10. Alcalá-Canto, Y.; Figueroa-Castillo, J. A.; Ibarra-Velarde, F.; Vera-Montenegro, Y.; Cervantes-Valencia, M. E.; Salem, A. Z. M. & Cuéllar-Ordaz, J. A. Development of the first georeferenced map of *Rhipicephalus (Boophilus) spp.* in Mexico from

- 1970 to date and prediction of its spatial distribution. **Geospatial Health**. 13(1):110–117. 2018.
11. Ali, A.; Parizi, L. F.; Ferreira, B. R. & Junior, I. S. V. A revision of two distinct species of Rhipicephalus: *R. microplus* and *R. australis*. **Ciência Rural**. 46(7):1240–1248. 2016.
  12. Ali, A.; Rocha Garcia, G.; Fonseca Zangirolamo, A.; Malardo, T.; Jonsson, N. N. & Tabor, A. E. Cattle tick *Rhipicephalus microplus*-host interface: A review of resistant and susceptible host responses. **Frontiers of Cellular and Infection Microbiology**. 7:506. 2017.
  13. Álvarez, V. Pruebas *in vitro* para medir la eficacia de soluciones de tamarindo (*Tamarindus indicus*) y ácido oxálico contra la garrapata común del ganado bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Rev. Ciencias Veterinarias**. 32(2):37–45. 2014.
  14. Álvarez-Mateos, P.; Alés-Álvarez, F.J. & García-Martín, J.F. Phytoremediation of highly contaminated mining soils by *Jatropha curcas* L. and production of catalytic carbons from the generated biomass. **Journal of Environmental Management**. 231:886–895. 2019. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.10.052.
  15. Andreotti, R.; Garcia, M. V. & Koller, W. W. Controle estratégico dos carrapatos nos bovinos. Capítulo 9. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa**. p: 125–136. 2019a. ISBN: 978-85-7035-230-9.
  16. Andreotti, R.; Garcia, M. V.; Alvarenga Reis, F.; da Silva Rodrigues, V. & Cavalcante Barros, Jacqueline. Controle de carrapatos em sistemas de produção de bovinos associado ao manejo nutricional no campo. Capítulo 14. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa**. p: 183–136. 2019b. ISBN: 978-85-7035-230-9.
  17. Andreotti, R.; Giachetto, P. F. & Cunha, R. C. Advances in tick vaccinology in Brazil: from gene expression to immunoprotection. **Frontiers of Bioscience**. 10:127–142. 2018.
  18. Araiza-Lizarde, Nidia; Alcaraz-Meléndez, Lilia; Angulo-Escalante, M.A.; Reinoso-Granados, T.; Cruz-Hernández, P. & Ortega-Nieblas, Magdalena. Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de *Jatropha curcas* de poblaciones silvestres de México. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**. 47(1). 2015.
  19. Arceo-Medina, Giselly N.; Rosado-Aguilar, J. A.; Rodríguez-Vivas, R. I. & Borges-Argaez, Rocío. Synergistic and antagonistic action of fatty acids, sulphides and

- stilbene against acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* ticks. **Veterinary Parasitology**. 228:121–125. 2016. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.08.023.
20. Arceo-Medina, Giselly; Rosado-Aguilar, J. A.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Méndez-González, Martha; Borges-Argaez, Rocío; Cáceres-Farfán, Mirbella & Tamayo-Díaz, María. Effect of season and sampling location on acaricidal activity of *Petiveria alliacea* on larvae of *Rhipicephalus microplus* resistant to acaricides. **Journal of Veterinary Medicine and Allied Science**. 1(1):1–22. 2017.
21. Arekemase, M.; Kayode, R. M. & Ajiboye, A. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* plant against some selected microorganisms. **International Journal of Biology**. 3(3):52–59. 2011.
22. Babar, W.; Iqbal, Z.; Khan, M. N. & Muhammad, G. An inventory of the plants used for parasitic ailments of animals. **Pak. Vet. J.** 32:183–187. 2012.
23. Barnard, A. C.; Nijhof, A. M.; Gaspar, A. R.; Neitz, A. W.; Jongejan, F. & Maritz-Olivier, C. Expression profiling, gene silencing and transcriptional networking of metzincin metalloproteases in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**. 186(3-4):403–414. 2012.
24. Barradas-Piña, F. T.; Aguilar-Domínguez, Mariel; Romero-Salas, Dora & Pérez de León, A. Carrapatos na cadeia produtiva de bovídeos no México. Capítulo 3. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa**. p: 47–60. 2019. ISBN: 978-85-7035-230-9.
25. Barrero, R. A.; Guerrero, F. D.; Black, M.; Mccooke, J.; Chapman, B.; Schilkey, F.; et al. Gene-enriched draft genome of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*: assembly by the hybrid Pacific Biosciences/Illumina approach enabled analysis of the highly repetitive genome. **International Journal for Parasitology**. 47(9):569–583. 2017.
26. Barros, M. N. D. L.; Riet-Correa, F.; Azevedo, S. S. & Labruna, M. B. Off-host development and survival of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the Brazilian semiarid. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. 9:17–24. 2017.
27. Benavides, E.; Pablo-Jiménez, C.; Betancur, O.; Vélez, G.; Polanco, N. & Morales, J. Effect of the use of fluazuron for control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle. **Revista MVZ Córdoba**. 22(Supl.):6050–5061. 2017.
28. Borges, L. M. F.; Sousa, L. A. D. & Barbosa, C. S. Perspectivas para o uso de extratos de plantas para o controle do carrapato de bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Jaboticabal. 20(2):89–96. 2011.

29. Braga, Andrina G. S.; Souza, K. F. A.; Barbieri, F. S.; Fernandes, C. F.; Rocha, R. B.; Vieira Junior, J. R.; *et al.* Acaricidal activity of extracts from different structures of *Piper tuberculatum* against larvae and adults of *Rhipicephalus microplus*. **Acta Amazonica**, 48:57–62. 2018. DOI: 10.1590/1809-4392201700053.
30. Broglio-Micheletti, S. M. F.; Neves-Valente, E. C.; Souza, L. A.; Silva-Dias, N.; Girón-Pérez, K. & Prédes-Trindade, R. C. Control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) con extractos vegetales. **Rev Colombiana Entomol.** 135:145–149. 2009.
31. Brunner-Mendoza, Carolina; Reyes-Montes, María del Rocío; Moonjely, Soumya; Bidochka, M. J. & Toriello, Conchita. A review on the genus *Metarhizium* as an entomopathogenic microbial biocontrol agent with emphasis on its use and utility in México. **Biocontrol Science and Technology.** 29(1):83–102. 2019. DOI: 10.1080/09583157.2018.1531111.
32. Camacho, C. A. & Peralta, H. R. Inclusión de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre la infestación de garrapatas (*Rhipicephalus boophilus*) en bovinos del municipio de Los Santos, Santander. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD. Especialidad de Nutrición Animal Sostenible. Bucaramanga, Colombia. 42 p. 2019.
33. Campos Pereira, M. & Labruna, M. B. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: Campos Pereira, M.; Labruna, M. B.; Szabó, M. P. J.; Klafke, G. M. (Eds.). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biología, controle e resistência. Medicina Veterinária.* Chapter 3. São Paulo, Brasil. 2008.169 p.
34. Campos, R. N. S.; Bacci, L.; Araújo, A. P. A.; Blank, A. F.; Arrigoni-Blank, M. F.; Santos, G. R. A. & Roner, M. N. B. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. **Arch. Zootec.** 61(R):67–78. 2012.
35. Campuzano-Duque, L. F.; Ríos, L. A. & Cardeño-López, F. Caracterización composicional del fruto de 15 variedades de *Jatropha curcas* L. en el departamento de Tolima, Colombia. **Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria.** 17(3):379–390. 2016.
36. Caboni, P.; Ntalli, N.G.; Aissani, N., Cavoski, I. & Angioni, A. Nematicidal Activity of (*E,E*)-2,4-Decadienal and (*E*)-2-Decenal from *Ailanthus altissima* against *Meloidogyne javanica*. **J. Agric. Food Chem.** 60(4):1146-51. 2012.
37. Cardoso, C. P.; Silva, B. F.; Gonçalves, D. S.; Tagliari, N. J.; Saito, M. E. & Amarante, A. F. T. Resistência contra ectoparasitas em bovinos da raça Crioula Lageana e meio-sangue Angus avaliada em condições naturais. **Pesq. Vet. Bras.** 34(2):141–146. 2014.

38. Carrasco-Rueda, J. M.; Fartolino-Guerrero, A.; Sánchez-Chávez, Ángela; Lujan-Reyes, J.; Pachas-Quiroz, Alessandra & Castilla-Candela, Lucía del C.; *et al.* Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L. **Rev. Cubana Plant. Med.** 18(1):84–91. 2013.
39. Castillo, C. del; Pinedo, Rosa; Rodríguez, L. & Chávez, Amanda. Evaluación de tres formulaciones comerciales de aplicación pour on bajo condiciones de campo y su efecto *in vitro* en el control de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en bovinos de Ceja de Selva. **RIVEP.** 27(1):145–157. 2016.
40. Castro, Inelvis; Díaz, Maykelis; Fonte, Leydi; Milián, Y. E.; Lugo, Yudit; Altunaga, Nancy & Sande, Denise. Actividad antimicrobiana de los aceites de *Jatropha curcas* y *Azadirachta indica* frente a patógenos bacterianos. En: G.J. Martín (Presidente), **Memorias. III Convención Internacional Agrodesarrollo 2014.** EEPF Indio Hatuey, Matanzas, Cuba. p:1401–1404. 2014.
41. Cavalcante Barros, Jacqueline; Valerío Garcia, M. & Andreotti, R. Óleo essencial de *Tagetes minuta* como fitoterápico no controle dos carrapatos. Capítulo 13. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa.** p: 171–182. 2019. ISBN: 978-85-7035-230-9.
42. Chagas, Ana C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Rev Bras Parasitol Vet.** 13:156–160. 2004.
43. Chagas, Ana C. S.; de Barros, L. D.; Continguiba, F.; Furlan, M.; Giglioti, R.; Oliveira, M. C. S. & Bizzo, H. R. *In vitro* efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research.** 110: 295–303. 2012.
44. Chagas, Ana C. S.; Leite, R. C.; Furlong, J.; Prates, H. T. & Passos, W. M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. **Ciência Rural.** 33:109–114. 2003.
45. Chagas, Ana C. S. & Dias, M. Método para detecção de substâncias com atividade repelente sobre larvas do carrapato: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: revisão e recomendações. São Carlos, SP. Brasil. Editorial: **EMBRAPA** Sudeste. Documento 106. 2012. ISSN: 1980-6841.
46. Chagas, Ana C. S.; Katiki, Luciana M.; Riveiro-Bizzo, H. & Ferreira, J. F. S. Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different *in vitro* tests. **Veterinary Parasitology.** 183(1–2):103–108. 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.07.001.
47. Chagas, Ana C. S.; Oliveira, M. C. S.; Giglioti, R.; Santana, R. C. M.; Bizzo, H. R.; Gama, P. E. & Chaves, F. C. M. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality

- of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ticks Tick Borne Dis.** 7:427–432. 2016.
48. Chagas, Ana C. S.; Passos, W. M.; Prates, H. T.; Leitem, R. C.; Furlong, J. & Fortes, I. C. P. Acaricide effect of *Eucalyptus* spp. essential oils and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 39:247–253. 2002.
  49. Chitue, J.; Lafargue-Pérez, F.; Díaz-Velázquez, M.; Barrera-Vaillant, N.; Marrero-Delange, D. & Varela-Hernández, Katuska. Análisis cromatográfico del aceite vegetal de *Jatropha curcas* L. crudo y refinado **Revista Cubana de Química.** 25(2):143–149. 2013.
  50. Cisak, E.; Wójcik-Fatla, A.; Zajac, V. & Dutkiewicz, J. Repellents and acaricides as personal protection measures in the prevention of tick-borne diseases. **Ann Agric Environ Med.** 9:625–630. 2012.
  51. Córdova-Téllez, L.; Bautista-Ramírez, E.; Zamarripa-Colmenero, A; Rivera-Lorca, J. A.; Pérez-Vázquez, A.; Sánchez-Sánchez, O.M.; *et al.* Diagnóstico y Plan Estratégico de *Jatropha* spp., en México. *Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura.* México. 2016.
  52. Corrêa, R. R.; Lopes, W. D. Z.; Teixeira, W. F. P.; Cruz, B. C.; Gomes, L. V. C.; Felipelli, G.; Maciel, W. G.; *et al.* A comparison of three different methodologies for evaluating *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* susceptibility to topical spray compounds. **Veterinary Parasitology.** 207:115–124. 2015.
  53. Cruz, B. C. Aspectos ecológicos, biológicos e de resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) na região de Jaboticabal, São Paulo, Brasil. (Tese doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julho de Mesquita Filho. Jaboticabal, Brasil. 146 p. 2017.
  54. Cuevas-Román, F. J. Utilización de técnicas analíticas de cromatografía y espectrometría de masas para autenticar productos alimentarios de calidad diferenciada. Tesis de Doctorado. Universidad de Córdoba. España. 208p. 2019. <http://hdl.handle.net/10396/18247>
  55. Dantas dos Santos, Anne C.; de Carvalho Araujo, Andreina; Gomes Marques Pacheco, Alessandra; Branco, A.; Sangioni, L. A.; Guedes da Silva Almeida, J. R.; *et al.* Acaricidal activity of *Amburana cearensis* on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ciência Rural.** 46(3):536–541. 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150334>.

56. Das-Gupta, D.; Haque, E.; Islam, N.; Mondal, S. Y. & Alam, B. Antimicrobial and Cytotoxic activities of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**. 9(2):139–142. 2010.
57. De Meneghi, D.; De Meneghi, D.; Stachurski, F. & Adaka, H. Experiences in tick control by acaricide in the traditional cattle sector in Zambia and Burkina Faso: possible environmental and public health implications. **Frontiers in Public Health**. 4(239):1–11. 2016.
58. de Oliveira Souza Higa, L.; Garcia, M. V.; Barros J. C.; Koller, W. W. & Andreotti, R. Acaricide Resistance Status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: A Literature Overview. **Med chem**. 5:326–333. 2015. DOI: 10.4172/2161-0444.1000281.
59. de Oliveira Souza Higa, L.; Garcia, M. V.; Barros, J. C.; Koller, W. W. & Andreotti, R. Evaluation of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to different acaricide formulations using samples from Brazilian properties. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 25(2):163–171. 2016.
60. de Oliveira Souza Higa, L.; Garcia, M. V.; Vinicius Da Silva Rodrigues, V.; Bonatte Junior, P.; Barradas-Piña, F. T.; Barros, J. C. & Andreotti, R. Effects of cypermethrin, chlorpyrifos and piperonyl butoxide-based pour-on and spray acaricides on controlling the tick *Rhipicephalus microplus*. **Systematic and Applied Acarology**. 24(2). 2019. <https://doi.org/10.11158/saa.24.2.10>.
61. De Oliveira-Cruz, E. M.; Costa-Junior, L. M.; Oliveira-Pinto, J. A.; Santos, D. A.; Alves, S.; Arrigoni Blank, M. F.; *et al.* Acaricidal activity of *Lipia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Vet. Parasitol**. 195:198–202. 2013.
62. del Río, J. I.; Cardeño, F.; Ríos, L. A. & Peña, J. D. Hidrogenación de aceite crudo de *Jatropha* para aplicaciones industriales. **Información Tecnológica**, 26(6):3–12. 2015.
63. Detogni-Simi, L.; Valerio-García, M. & da Silva Rodríguez, V. Panorama do controle biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) pelo uso de entomopatógenos. Capítulo 12. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa**. p: 161–170. 2019. ISBN: 978-85-7035-230-9.
64. Devappa, R.K.; Makkar, H.P.S. & Becker, K. *Jatropha* diterpenes: a review. **J Am Oil Chem Soc**. 88:301–322. 2011.
65. Díaz-Rivera, E. Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos *Rhipicephalus microplus*. **Revista Colombiana de Ciencia Animal**. 5(1):72–82. 2012.

66. Dimri, U. & Sharma, M.C. Effects of sarcoptic mange and its control with oil of *Cedrus deodara*, *Pongamia glabra*, *Jatropha curcas* and benzyl benzoate, both with and without ascorbic acid on growing sheep: epidemiology; assessment of clinical, haematological, cell-mediated humoral immune responses and pathology. **J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.** 55:71–78. 2004.
67. Domínguez, I.; Román, R.; Fernández, J.; Figueroa, M. & Cardeña, A. Resistencia de *Rhipicephalus (boophilus) microplus* a ixodíidas en ranchos bovinos del municipio de San Juan Evangelista. Veracruz. MX. **Revista REDVET.** 14:2–7. 2013.
68. Drummond, R. O.; Ernst, S. E.; Trevino, J. L.; Gladney, W. J. & Graham, O. H. *B. annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **J. Econ. Entomol.** 66(1):130–133, 1973.
69. Edrisi, S. A.; Dubey, R. K.; Tripathi, V.; Bakshi, M.; Srivastava, P.; Jamil, S.; et al. *Jatropha curcas* L.: a crucified plant waiting for resurgence. **Renew Sustain Energy Rev.** 41:855–862. 2015. doi: 10.1016/j.rser.2014.08.082.
70. Escobar, D. A. Efecto insecticida de ésteres de forbol de la semilla de piñón (*Jatropha curcas*) para el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en tomate (*Solanum lycopersicum*). Trabajo para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 2015.
71. Espadero, M.; Avilés, H.; Armijos, L.; Ávila, L.; Idrovo, L.; Idrovo, M. & Oyola, C. Evaluación microbiológica y composición química de extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss sobre *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. **La Granja: Revista de Ciencias de la Vida.** 29(1):119–129. 2019. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.10>.
72. FAO. Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention, in Guidelines for resistance management and integrated parasite control in ruminants. p: 25–77. 2004. <http://www.fao.org/ag/aga.html>.
73. Farias, M. P. O.; Wanderley, A. G.; Alves, L. C. & Faustino, M. A. G. Calculation of  $CI_{50}$  (average inhibitory concentration) and  $CL_{50}$  (average lethal concentration) of seed oil of *Carapa guianensis* Aubl on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887), *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) and *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Arquivos do Instituto Biológico.** 79(2):255–261. 2012.
74. Fernández, R. M.; Preciado, T. F.; Cruz, V. C. & García, V. Z. Anti-tick effects of *Melinis minutiflora* and *Andropogon gayanus* grasses on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. **Experimental and Applied Acarology.** 32:293–299. 2004a.

75. Fernández, R. M.; Preciado, T. F.; García, V. Z.; Cruz, V. C. & Saltijeral, O. J. Evaluación estacional de la recuperación de larvas de *Boophilus microplus* en cuatro leguminosas forrajeras en parcelas experimentales infestadas. **Rev. Técnica Pecuaria México**. 42(1):97–104. 2004b.
76. Fernández-Salas, A.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Alonso-Díaz, M. A. & Basurto-Camberos, H. Resistance of *Rhipicephalus microplus* to amitraz and cypermethrin in tropical cattle farms in Veracruz, México. **Journal Parasitology**. 98(5):1010–1014. 2012.
77. Ferraz, A. B. F.; Balbino, J. M.; Zini, C. A.; Ribeiro, V. L.; Bordignon, S. A. & Von Poster, G. Acaricidal activity and chemical composition of the essential oil from three Piper species. **Parasitol Res**. 10:243–248. 2010.
78. Figueiredo, A.; Agnolon, I. C.; Lopes, L. G.; Giglioti, R. & de Souza Chagas, Ana C. Comparative study of hatching estimation methods of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* eggs. **Veterinary Parasitology**. 15(264):35–38. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.10.015>.
79. Foidl, N.; Makkar, H. P. S. & Becker, K. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In The miracle tree: the multiple attributes of *Moringa* (ed. LJ Fuglie). **CTA Publication**, Wageningen, The Netherlands. p:45–76. 2001.
80. Fuentes-Zaldívar, Maykelin. Efecto del aceite del fruto de *Jatropha curcas* L. en diferentes fases del ciclo biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (acarí: Ixodidae). Tesis presentada en opción al título de Master en Medicina Veterinaria Preventiva. Universidad Agraria de La Habana. 81p. 2015.
81. Fuentes-Zaldívar, Maykelin; Soca-Pérez, Mildrey; Arece-García, J. & Hernández-Rodríguez, Y. Actividad acaricida in vitro del aceite de *Jatropha curcas* L. en teleoginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Pastos y Forrajes**. 40(1):49–54. 2017.
82. Furlong, J.; Brovini, C. N. & Chagas, Ana C. S. Comportamento de larvas de *Boophilus microplus* em pastagem de *Pennisetum purpureum*. **Bioscience Journal**. 18:23–31. 2002a.
83. Furlong, J.; Chagas, Ana C. S. & Brovini, C. N. Behavior and ecology of *Boophilus microplus* tick larvae in *Brachiaria decumbens* pastures. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. 39: 213–217. 2002b.
84. Gakuubi, M. M.; Wanzala, W.; Wagacha, J. M. & Dossaji, S. F. Bioactive properties of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil. **A review. American Journal of Essential Oils & Natural Products**. 4(2):27–36. 2016.

85. Gallardo-Vásquez, G. J.; Chávez-Flores, Juana. E. & Contreras-Torvisco, Martha. Evaluación del efecto antibacteriano del látex de *Jatropha curcas* “piñón” frente a *Staphylococcus aureus*. **Revista Internacional de Ciencias de la Salud**. Duazary. 16(1): 105–114. 2019. <http://dx.doi.org/10.21676/2389783X.2533>.
86. Gallegos-Tintoré, S. M. Actividad antioxidante y quelante de los productos de hidrólisis de proteínas de *Jatropha curcas* L. **Instituto Politécnico Nacional**. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Yautepec, Morelos, México. 2012.
87. Garay, R.; Hidalgo, E.; Alegría, J.A. y Mendieta, O. Determinación de periodos fisiológicos en la maduración y calidad del aceite de piñón blanco (*Jatropha curcas* L.). **Información Tecnológica**, 23(4):53–64. 2012
88. Garcia, M. V.; Rodrigues, V. S.; Koller, W. W. & Andreotti, R. Biologia e importância do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Capítulo 1. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa**. p: 1–28. 2019. ISBN: 978-85-7035-230-9.
89. García-Corredor, D. J.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Pulido-Medellín, M. O.; Díaz-Anaya, Adriana M. & Andrade-Becerra, R. J. Evaluación *in vitro* de *Cordyceps bassiana* (Ascomycota: Sordariomycetes) en el Control Biológico de *Rhipicephalus microplus*. **Rev Inv Vet Perú**. 27(1):130–136. 2016. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i1.11467>.
90. García-Muentes, S. A.; Lafargue-Pérez, F.; Labrada-Vázquez, B.; Díaz-Velázquez, M. & Sánchez, Ana Estela. Propiedades fisicoquímicas del aceite y biodiesel producidos de la *Jatropha curcas* L. en la provincia de Manabí, Ecuador. **Revista Cubana de Química**. 30(1):142–158. 2018.
91. Gazim, Z. C.; Demarchi, I. G.; Lonardoni, M. V. C.; Amorim, A. C. L.; Hovell, A. M. C.; Rezende, C. M.; *et al.* Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). **Experimental Parasitology**. 129(2):175–180. 2011.
92. Giachetto, Poliana F. Transcriptoma do carrapato dos bovinos. Capítulo 16. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa**. p: 207–224. 2019. ISBN: 978-85-7035-230-9.
93. Giglioti, R.; Forim, M. R.; Oliveira, H. N.; Chagas, Ana C.; Ferrezini, J.; Brito, L. G.; *et al.* *In vitro* acaricida activity of neem (*Azadirachta indica*) seed extracts with known azadirachtin concentrations against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Paras**. 181(2-4):309–315. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.03.053.1873–2550. 2011.

94. Godara, R.; Parveen, S.; Katoch, R.; Yadav, A.; Katoch, M.; Khajuria, J. K.; *et al.* Acaricidal activity of ethanolic extract of *Artemisia absinthium* against *Hyalomma anatolicum* ticks. **Experimental & Applied Acarology**, 1–8. 2014b.
95. Godara, R.; Parveen, S.; Katoch, R.; Yadav, A.; Verma, P. K.; Katoch, M.; *et al.* Acaricidal activity of extract of *Artemisia absinthium* against *Rhipicephalus sanguineus* of dogs. **Parasitol Res.** 113(2):747–54. 2014a.
96. Gomes, G. A.; Monteiro, C. M.; Julião, L. de S.; Maturano, R.; Souza, T. O.; Zeringóta, V.; *et al.* Acaricidal activity of essential oil from *Lipia sidoides* on unengorged larvae and nymph of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Exp. Parasitol.** 137:41–45. 2014.
97. Grisi, L.; Leite, R. C.; Martins, J. R. S.; Barros, A. T. M.; Andreotti, R.; Cançado, P. H. D.; *et al.* Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 23(2):150–156. 2014.
98. Guerrero, F. D.; de León, A. A. P.; Rodríguez-Vivaz, J. N.; Miller, R.J.; *et al.* Acaricide research and development, resistance, and resistance monitoring. *Biology of Ticks*. (2nd ed.) Edited by Sonenshine DE, Roe RM, **Oxford University Press**. p: 353–374. 2014.
99. Guglielmone, A. A.; Robbins, G. R.; Apanaskevich, A. D.; Petney, N. T.; Estrada-Peña, A.; Horak, G. I.; *et al.* The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**. 2528:1–28. 2010.
100. Gutiérrez, M. C. & Droguet, M. La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. **Boletín intexter** (U.P.C.) Nº 122, p: 35–41. 2002.
101. Haas, W.; Sterk, H. & Mittelbach, M. Novel 12-deoxy-16- hydroxyphorbol diesters isolated from the seed oil of *Jatropha curcas*. **J Nat Prod.** 65(10):1434–1440. 2002.
102. Hernández Rodríguez, Y.; Fuentes Castillo, A.; Quintana Torrente, Yanet. Control integrado de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) en un pequeño rebaño bovino. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria.** 17(9):1–10. 2016.
103. Holdsworth, P. A.; Kemp, D.; Green, P.; Peter, R. J.; De Bruin, C.; Jonsson, N. N.; *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminants. **Vet. Parasitol.** 136:29-43. 2006.
104. Hooda, N. & Rawat, V. R. S. Role of bioenergy plantations for carbon dioxide mitigation with special reference to India. 2005. Disponible en: <http://www.accstrategy.org/simiti/Hooda Rawat.pdf>.

105. Hurtado, E. A.; Bravo Loor, J. D.; Arteaga Chávez, Fátima G.; Mejía Ordoñez, M. V. & García Álvarez, R.L. evaluación del extracto acuoso de semilla de neem (*Azadirachta indica*) como garrapaticida en bovino. **ESPAMCIENCIA**. 6(2):77–80. 2015.
106. Igbinosa, O. O.; Igbinosa, E. O. & Aiyegoro, O. A. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 3(2):058–062. 2009.
107. Igbinosa, O. O.; Igbinosa, I. H.; Chigor, V. N.; Uzunugbe, O. E.; Oyedemi, S. O.; Odjadjare, E. E.; *et al.* Polyphenolic contents and antioxidant potential of stem bark extract from *Jatropha curcas* (Linn). **International Journal of Molecular Sciences**. 12:2958–2971. 2011.
108. Iriarte, D. P.; Martínez, G. S.; Aguirre, G. J.; Barajas, C. R.; Romo, R. J.; Loya, O. L. & Molina, T. J. Repelencia de algunas plantas forrajeras a la garrapata. **Abanico Veterinario**, 2(3):47–57. 2012.
109. Islam, A. A. Physicochemical properties of *Jatropha curcas* seed oil from different origins and candidate plus plants (CPPs). **Journal of the American Oil Chemists' Society**. 89(2):293–300. 2012.
110. Jaenson, T. G. T.; Garboui, S. & Pålsson, K. Repellency of oils of lemon eucalyptus, geranium, and lavender and the mosquito repellent MyggA natural to *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. **Journal of Medical Entomology**. 43(4):731–736. 2006.
111. Jaenson, T. G. T.; Pålsson, K. & Borg-Karlson, A. K. Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants from Sweden. **Medical Veterinary Entomology**. 19(4):345–352. 2005.
112. Jain, S. The production of biodiesel using Karanja (*Pongamia pinnata*) and *Jatropha curcas* Oil. Capitulo 17. Biomass, Biopolymer-Based Materials, and Bioenergy. Construction, Biomedical, and other Industrial Applications. Deepak Verma, Elena Fortunati, Siddharth Jain, Xiaolei Zhang (Editores). **Editorial Woodhead Publishing**. p: 519–532. 2019. ISBN: 978-0-08-102426-3.
113. James, O.; Unekwojo, E. & Ojochenemi, A. Assessment of biological activities: a comparison of *Pergularia daemia* and *Jatropha curcas* leaf extracts. **British Biotechnology Journal**. 1(3):85–100. 2011.
114. Joshi, A.; Singhal, P. & Bachheti, R. K. Variation in Oil content and Physico-chemical properties of *Jatropha curcas* Seed collected from different areas of Garwhal, Uttarakhand India. **International Journal of ChemTech Research**. 5(6):2993–2999. 2013.

115. Juliet, S.; Ravindran, R.; Ramankutty, S. A.; Gopalan, A. K. K.; Nair, S. N.; Kavillimakkil, A. K.; *et al.* *Jatropha curcas* (Linn) Leaf Extracts Possible Alternative for Population Control of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. 2(3):225–29. 2012.
116. Kalimuthu, K.; Vijayakumar, S. & Senthilkumar, R. Antimicrobial activity of the biodiesel plant, *Jatropha curcas* L. **International Journal of Pharma and Bio-Sciences**. 1(3):1–5. 2010.
117. Karaj, S. & Müller, J. Determination of physical, mechanical and chemical properties of seeds and kernels of *Jatropha curcas* L. **Industrial Crops Products**. 32(2):129–138. 2010.
118. Koc, S.; Oz, E.; Cinbilgel, I.; Aydin, L. & Cetin, H. Acaricidal activity of *Origanum bilgeri* P.H. Dais (Lamiaceae) essential oil and its major component, carvacrol against adults *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). **Vet. Parasitol.** 193:316–319. 2013.
119. Kumar, P.; Srivastava, V. C. & Jha, M. K. *Jatropha curcas* phytotomy and applications: Development as a potential biofuel plant through biotechnological advancements. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 59:818–838. 2016.
120. Lafargue-Pérez, F.; Díaz-Velázquez, M.; Barrera-Vaillant, N.; Rodríguez-Martínez, C. & Chitue, J. Caracterización físico-química del aceite vegetal de *Jatropha curcas* L. **Revista SCIELO**. 32(2): *versión On-line*. 2012. ISSN 2224–6185.
121. Lama, A. D.; Klemola, T.; Tyystjärvi, E.; Niemelä, P. & Vuorisalo, T. Physiological and compensatory growth responses of *Jatropha curcas* (L.) seedlings to simulated herbivory and drought stress. **South African Journal of Botany**. 121:486–493. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.016>.
122. Lasalita-Zapico, F. C.; Aguilar, C. H. M.; Madas, J. B. & Eroy, M. N. Chemical composition, antimicrobial properties and toxicity of *Jatropha curcas* provenance from diverse origins. **International Journal of Agriculture and Biology**. 14(4):17–21. 2012.
123. Lima, A. S.; Sousa Filho, J. G. N.; Pereira, S. G.; Guillon, G. M. S. P.; Santos, L. S. & Costa Júnior, L. M. Acaricide activity of different extracts from *Piper tuberculatum* fruits against *Rhipicephalus microplus*. **Parasitology Research**, 113:107–112. 2014.
124. Lima, A. S.; Sousa-Filho, J. G. N.; Foglio, M. A.; Chagas, A. C. S. & Costa-Júnior, L. M. Avaliação do efeito repelente do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* sobre larvas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: **Congresso Brasileiro De Parasitologia Veterinária**, 16., 2010, Campo Grande. Anais. Campo Grande: CBPV, 2010. AR-44.

125. Lopera Vélez, J. P.; Hernández, G. L.; Guzmán, P. A. & Escobar Guerra, C. A. Efecto de los extractos vegetales de *Jatropha curcas* y *Annona muricata* sobre teleoginas de la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* bajo condiciones de laboratorio. **Rev. CES Med. Zootec.** 12(1):21–32. 2017.
126. López-Sáez, J. A. & Pérez-Soto, J. Potencial etnomedicinal de dos especies tropicales del género *Jatropha* L. **Medicina Naturista.** 5(1):8–12. 2011.
127. Lowe, R.; Shirley, N.; Bleackley, M.; Dolan, S. & Shafee, T. Transcriptomics technologies. **PLoS Computational Biology.** 13(5):e1005457. 2017.
128. Luz, H. R.; Muñoz-Leal, S.; Almeida, J. C.; Faccini, J. L. H. & Labruna, M. B. Carrapatos parasitando morcegos (Mammalia: Chiroptera) na Caatinga, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.** 25(4):484–491. 2016.
129. Machado, R. L. Caracterización morfológica y productiva de procedencias de *Jatropha curcas*. **Pastos y Forrajes.** 34(3):267-280. 2011.
130. Makkar, H. P. S.; Aderibigbe, A. O. & Becker, K. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. **Food Chemistry.** 62:207–215. 1998.
131. Martínez, J. El Piñón, una planta nativa de México con potencial alimentario y agroindustrial. 2005. Disponible en: <http://hypatia.morelos.gob.mx/No12/pinon.html>.
132. Martínez-Velázquez, M.; Castillo-Herrera, G. A.; Rosario-Cruz, R.; Flores-Fernández, J. M. & López-Ramírez, J. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitol Res.** 108: 481–487. 2011.
133. Mastropaolo, M.; Beltrán-Saavedra, L. F. & Guglielmone, A. A. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Bolivia. **Ticks Tick Borne Dis.** 5(2):186–194. 2014.
134. Mayahua, Liliana. Actividad acaricida de la semilla del árbol de neem (*Azadirachta indica*) sobre garrapatas *Rhipicephalus microplus*. Requerimiento parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencia Animal. Universidad Veracruzana. México. 65 p. 2015.
135. Mejías, Nelly; Mendoza, H.; López, J.; Cedeño, L. & Ponce, W. Rendimiento inicial de líneas de piñón (*Jatropha curcas* L.) bajo dos métodos de siembra. **Researchgate.** 2015. <https://www.researchgate.net/publication/299533915>.

136. Mendes, E. C.; Mendes, M. C. & Sato, M. E. Diagnosis of amitraz resistance in Brazilian populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) with larval immersion test. **Exp. Appl. Acarol.** 61:357–369. 2013.
137. Miller, J. R.; Almazán, C.; Ortiz-Estrada, M.; Davey, R. B.; George, J. E. & Pérez De León A. First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. **Veterinary Parasitology.** 191(2):97–101. 2013.
138. Miraballes, C.; Riet-Correa, F.; Fuellis, C. & Aráoz, V. Control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y la tristeza parasitaria. **Revista INIA.** Uruguay. 52:13–17. 2018.
139. Morais-Uranoa, Raquel P.; Chagas, Ana C. S. & Berlinck, R. G. S. Acaricidal action of destruxins produced by amarine derived *Beauveria felina* on the bovine tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Experimental Parasitology.** 132:362–366. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2012.08.011>.
140. Moreira, M. D.; Picanço, M. C.; Barbosa, I. C. A.; Guedes, R. N. C.; Barros, E. C. & Campos, M. R. Compounds from *Ageratum conyzoides*: isolation, structural elucidation and insecticidal activity. **Pest Manag. Sci.** 63:615–621. 2007.
141. Muro, C. M.; Cruz, V. C.; Fernández, R. M. & Molina, T. J. Efecto repelente de extractos de *Melinis minutiflora* sobre larvas de la *Boophilus microplus*. **Vet. Méx.** 35(2):153–159. 2004.
142. Muro, C. M.; Cruz, V. C.; Fernández, R. M.; Soria, C. J. & Ramos, M. P. Repelencia de larvas de *Boophilus microplus* en plantas *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata*. **Rev. Parasitología latinoamericana.** 58:3–4. 2003.
143. Murrell, A. & Barker, S. C. Synonymy of *Boophilus curtice*, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology.** 56(1):169–172. 2003.
144. Muyobela, J.; Nkunika, P. O. Y. & Mwase, E. T. *In vitro* acaricidal activity of *Bobgunnia madagascariensis* Desv. against *Amblyomma variegatum* (Fabricius) (Acari: Ixodidae). **Tropical Animal Health & Production.** 48(3):625–631. 2016.
145. Namuli, A.; Abdullah, N.; Sieo, C. C.; Zuhainis, S. W. & Oskoueian, E. Phytochemical compounds and antibacterial activity of *Jatropha curcas* Linn. Extracts. **Journal of Medicinal Plants Research.** 5(16):3982–3990. 2011.
146. Nava, S.; Venzal, J. M.; González-Acuña, D.; Martins, T. F. & Guglielmone, A. A. Ticks of the Southern Cone of América: Diagnosis, Distribution, and Hosts With Taxonomy, Ecology and Sanitary Importance. **Academic Press**, 339p. 2017.
147. Novelino, A. M. S.; Daemon, E. & Soares, G. L. G. Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus*

- microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 59(3):700–704. 2007.
148. Oliveira, Andrezza Beatriz. Microencapsulamento de estigmasterol proveniente de *Musa paradisiaca* L., Musaceae. Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Brasil. 127p. 2007
  149. Oliveira, E.; da Silva, Manoela; Spenger, L. & Pedrasani, Daniela. *In vitro* activity of the hydroalcoholic extract of *Chenopodium ambrosioides* against engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Arq. Inst. Biol.** 84:1–7, e0222016. 2017.
  150. Olivo, C. J.; Carvalho, N. M.; Silva, J. H. S.; Vogel, F. F.; Massariol, P.; Meinerz, G.; *et al.* Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**. 38(2):406–410. 2008.
  151. Oskoueian, E.; Abdullah, N.; Ahmad, S.; Zuhainis-Saad, W.; Rahman-Omar, A. & Wan Ho, Y. Bioactive Compounds and Biological Activities of *Jatropha curcas* L. Kernel Meal Extract. **Int. J. Mol. Sci.** 12(9):5955–5970. 2011a. doi:10.3390/ijms12095955.
  152. Oskoueian, E.; Abdullah, N.; Saad, W.; Omar, A.; Ahmad, S.; Bin, W.; *et al.* Antioxidant, antiinflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. **Journal of Medicinal Plants Research**. 5(1):49–57. 2011b.
  153. Ovando-Medina I, Espinosa-Garcia FJ, Nuñez Farfan JS, Salvador-Figueroa M. State of the art of genetic diversity research in *Jatropha curcas*. **Sci Res Essays**. 6:1709–1719. 2011.
  154. Pabón, Ludy C. & Hernández-Rodríguez, Patricia. Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. **Rev. Cubana Plant. Med.** 17(2):194–209. 2012.
  155. Parsons, K. *Jatropha* in Africa: fighting the desert & creating wealth. Eco World. 2005. Disponible en: <http://www.ecoworld.org/Home>.
  156. Parte, S. G.; Patil, R. D.; Patil, M. A.; Patel, N. S. & Chavan, J. A. Utilization of herbals for the managements of cattle ticks. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.** 3(10):228–232. 2014.
  157. Pavón Leyva, J. Efectos de acaricidas botánicos en el control de las garrapatas. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**. 17(5). 2016. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

158. Pazmiño Sánchez, J. A. Biorrefinería basada en *Jatropha curcas* L. (piñón de tempate) para obtener bioproductos con valor agregado en el contexto ecuatoriano. Universidad de Bogotá *Jorge Tadeo Lozano*. Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería Departamento de Ingeniería Maestría en Ingeniería de Procesos y Sistemas Industriales Bogotá – Colombia, p: 39. 2018.
159. Pérez-Cogollo, L. C.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Ramírez-Cruz, G. T. & Rosado-Aguilar, J. A. Survey of *Rhipicephalus microplus* resistance to ivermectin at cattle farms with history of macrocyclic lactones use in Yucatan, México. **Vet. Parasitol.** 172:109–113. 2010.
160. Piloto Rodríguez, R. Characterization of *Jatropha curcas* Oils and their Derived Fatty Acid Ethyl Esters Obtained from two Different Plantations in Cuba. **Biomass and Bioenergy.** 30:1–7. 2011.
161. Polanco-Echeverry, D. N. & Rios-Osorio, L. A. Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. **Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria.** 17(1):81–95. 2016.
162. Politi, F. A. S.; Figueira, G. M.; Araújo, A. M., Sampieri, B. R.; Mathias, M. I. C.; Szabó, M. P. J.; *et al.* Acaricidal activity of ethanolic extract from aerial parts of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) against larvae and engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Parasite and Vectors.** 5:295–306. 2012.
163. Quiroz, R.; Figueroa, C. J. A.; Ibarra, V. F. & María Eugenia, L. A. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Primera edición. México. 2011. ISBN: 978-607-00-4015-3.
164. Rahman, M. M; Ahmad, S. H.; Mohamed, M. T. M. & Rahman, M. Z. A. Antimicrobial Compounds from Leaf Extracts of *Jatropha curcas*, *Psidium guajava*, and *Andrographis paniculata*. **The Scientific World Journal.** ID 635240, 8 p. 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/635240>.
165. Ramires dos Santos, Lenita; Baldo-Gaspar, E.; Vieira-Benavides, Magda & Trentin, G. Tristeza Parasitária Bovina - Medidas de controle atuais. Capítulo 6. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. *Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller* (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa.** p: 87–100. 2019. ISBN: 978-85-7035-230-9.
166. Rampadarath, S; Puchova, D & Jeewon; R. *Jatropha curcas* L. Phitochemical, Antimicrobial and Larvicidal properties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.** 6(10): 858-865. 2016.

167. Raynal, J. T.; Silva, A. A.; Sousa T de, J.; Bahiense, T. C.; Meyer, R. & Portela, R. W. Acaricides efficiency on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from Bahia state North-Central region. Brazil. **J. Vet. Parasitol.** 22(1):71–77. 2013.
168. Reddy, D. M. P.; Amirah, I. & Maksudur, R. K. *Jatropha curcas*: Plant of medical benefits. **Journal of Medical Plant Research.** 6(14):2691–2699. 2012.
169. Rodríguez Molano, C.E; Pulido Suarez, N. J. & Moyano Bautista, Mónica A. Evaluación de varias especies vegetales para la inhibición de la oviposición y el control de la proliferación de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Rev. Cubana Plant. Med.** 23(1):194–209. 2018.
170. Rodríguez-Alcocer, U. J.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Ojeda-Chi, Melina M.; Galindo-Velasco, Edelmira & Lezama-Gutiérrez, R. Eficacia de la mezcla de dos cepas de *Metarhizium anisopliae* (*Deuteromycotina: Hyphomycetes*) para el control de *Rhipicephalus microplus* en infestaciones naturales en bovinos. **Tropical and Subtropical Agroecosystems.** 17(2):223–229. 2014.
171. Rodríguez-Martínez, C.; Lafargue-Pérez, F.; Sotolongo-Pérez, J. A.; Rodríguez-Poveda, A. & Chitue, J. Determinación de las propiedades físicas y carga crítica del aceite vegetal *Jatropha curcas* L. **Ingeniería Mecánica.** 15(3):170–175. 2012.
172. Rodríguez-Ramos, P. A.; Piloto-Rodríguez, R.; Melo-Espinosa, E. A.; Zulamacarregui de Cardenas, Lourdes; Pérez-Ones, O.; Verhelst, S.; *et al.* Combustibles alternativos de segunda y tercera generación para motores de combustion interna. **Revista Anales de la Academia de Ciencias de Cuba.** 8(1). 2017.
173. Rodríguez-Vivas, R. I.; Grisi, L., Pérez De León, A. A.; Villela, H. S.; Torres-Acosta, J. F. De J.; Fragoso H. S.; *et al.* Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. **Revista México Ciencia Pecuaria.** 8(1):61–74. 2017.
174. Rodríguez-Vivas, R. I.; Li, Y. A.; Ojeda-Chi, Melina M.; Trinidad-Martínez, I., Rosado-Aguilar, J. A., Miller, R. J. & Pérez De León, A. A. *In vitro* and *in vivo* evaluation of cypermethrin, amitraz, and piperonyl butoxide mixtures for the control of resistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. **Veterinary Parasitology.** 197:288–296. 2013.
175. Rodríguez-Vivas, R. I.; Pérez-Cogollo, L. C.; Rosado-Aguilar, J. A.; Ojeda-Chi, Melina M.; Trinidad-Martínez, I.; Miller, R. J.; *et al.* *Rhipicephalus microplus* resistant to acaricides and ivermectin in cattle farms of Mexico. **Braz J Vet Parasitol.** 23(2):113–122. 2014.
176. Rodríguez-Vivas, R. I.; Rosado-Aguilar, J. A.; Ojeda-Chi, Melina M.; Pérez-Cogollo, L. C.; Trinidad-Martínez, I. & Bolio-González, E. Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. **Ecosistemas y Recursos Agropecuarios.** 1(3):295–308. 2014.

177. Roque, E. *Fundamentos de parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. Mayabeque, Cuba: Editorial Félix Varela. 2015.
178. Rosado-Aguilar, J. A.; Aguilar-Caballero, A.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Borges-Argaez, R.; García-Vazquez, Z. & Mendez-Gonzalez, M. Acaricidal activity of *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**. 168(3):299–303. 2010.
179. Rosado-Aguilar, J. A.; Arjona-Cambranes, K.; Torres-Acosta, J. F. J.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Bolio-González, M. E.; Ortega-Pacheco, A.; *et al.* Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. **Veterinary Parasitology**. 238:66–76. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar>.
180. Rucoba, A. & Munguia, A. Rentabilidad de *Jatropha curcas* en Asociación con Cultivos y Monocultivos en Tierras de Temporal en Yucatán. **Revista Mexicana de Agronegocios**. 33 (1):565–575. 2013.
181. Rucoba, A.; Munguía, A. & Sarmiento, F. Entre la jatropha y la pobreza: reflexiones sobre la producción de agrocombustibles en tierras de temporal en Yucatán. **Revista de Estudios Sociales**. XXI(41):117. 2013.
182. Rug, M. & Ruppel, A. Toxic activities of the plant *Jatropha curcas* against intermediate snail hosts and larvae of schistosomes. **Tropical Medicine and International Health**. 5(6):423–430. 2000.
183. Rugama, Nubia Z. Evaluación in vitro e in vivo de tres concentraciones de fase glicerol de tempate (*Jatropha curcas*) de 20, 25 y 30 % como garrapaticida bovino. Tesis para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. 2003.
184. Saavedra S.; Valencia, J. A. R. & Palacios, J. R. Análisis del rendimiento en la extracción de aceite de *Jatropha curcas* L. por los métodos de extracción química y ultrasonido. **Avances: Investigación en Ingeniería**. 15(1):171–179. 2018.
185. Sabandar, C. W.; Ahmat, N.; Jaafer, F. M. & Sahidin, I. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha species* (*Euphrobiaceae*): a review. **Phytochemistry**. 85:7–29. 2013.
186. Saetae, D. & Worapot, S. Toxic compound, anti-nutritional factors and functional properties of protein isolated from detoxified *Jatropha curcas* seed cake. **International. J. Molecular Sciences**. 12(1): 66–77. 2011.
187. Sánchez-Sánchez, O. M.; Valdés-Rodríguez, Ofelia. A. & Sánchez-Herrera, Diana. E. Ecología y Etnobotánica de *Jatropha curcas* L. no tóxica. *Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias*. Delegación Coyoacán. México. 2015.

188. Santos, T. R. B.; Castro, N. A.; Bretanha, L. C.; Schuch, L. F. D.; Freitag, R. A. & Nizoli, L. Q. *In vitro* study of the effectiveness of citronella (*Cymbopogon wynterianus*) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Science and Animal Health**. 3:135–149. 2015.
189. Sepulveda, A. L.; Pulido-Medellín, M. O.; Rodríguez-Pacheco, J. E. & García-Corredor, D. J. Eficiencia *in vitro* de hongos entomopatógenos y productos químicos sobre *Rhipicephalus microplus*. **Vet y Zoot**. 11(2):67–80. 2017.
190. Sharma, A. K.; Kumar, R. & Kumar, S. Deltamethrin and cypermethrin resistance status of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from six agro-climatic regions of India. **Veterinary Parasitology**. 188(3-4):337–345. 2012.
191. Silva, E. N.; Silveira, J. A. G.; Aragão, R. M.; Vieira, C. F. & Carvalho, F. E. L. Photosynthesis impairment and oxidative stress in *Jatropha curcas* exposed to drought are partially dependent on decreased catalase activity. **Acta Physiol Plant**. 41:4. 2019. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2794-5>
192. Silva, W. C.; Martins, J. R. S.; Souza, E. M.; Heizen, H.; Cesio, M. V.; Mato, M.; *et al.* Toxicity of *Piper aduncum* L. (Piperales: Piperaceae) from the Amazon forest for the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Vet Parasitol**. 164:267–274. 2009.
193. Silva, W.C. Atividade inseticida de *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) e *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre cigarrinha (*Aetalion* sp.), praga de importância econômica no Amazonas. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia. Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas. Manaus-AM, Brasil. 2005.
194. Silveira, L. G.; Soares, M. A. & Silva, M. A. Rentabilidade do gado de corte na fase de recria: uso da simulação de Monte Carlo para planejamento e controle empresarial. **Custos e @gronegocio on line**. 9(4). 2013. Disponible en: <http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero4v9/rentabilidade%20gado.pdf>.
195. Singh, B.; Bhat, T. K. & Singh, B. Potential therapeutic applications of some antinutritional plant secondary metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51:5579–5597. 2003.
196. Soca-Pérez, Mildrey. Potencialidades de la *Jatropha curcas* para la producción animal. Conferencia. Taller sobre uso de la *Jatropha curcas*. Proyecto Agroenergía. EEPF Indio Hatuey-OIKOS. Varadero, Cuba. 2015.
197. Soca-Pérez, Mildrey; González, C. D.; Cardoso, P. G; Sanavria, A.; Fonseca, A.; Rizo, A. & Arece, J. 2015. Eficacia del extracto acuoso de *Petiveria alliacea* L. (Anamú)

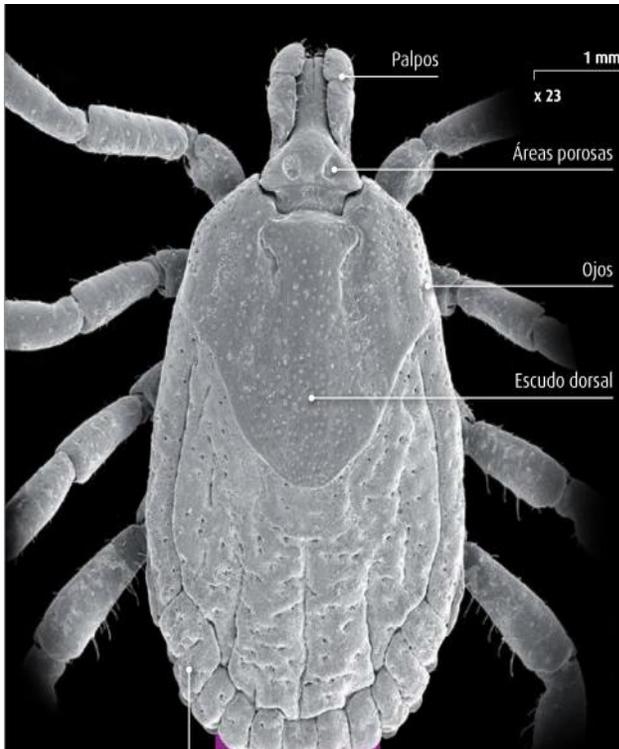
- en teleoginas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Memorias: **V Congreso Internacional de Producción Animal Tropical**. Palacios de las Convenciones de La Habana, Cuba.
198. Sonenshine, D. E.; Lane, R. S. & Nicholson, W. L. Ticks (Ixodida). *Medical and veterinary entomology*. En: Medical and Veterinary Entomology. Mullen G, Durden L. (Eds). Chapter 24: Amsterdam: **Elsevier Science**. 517–558. 2002.
  199. Sotolongo-Pérez, J. A.; Quesada-Sosa, C.; Martín-Martín, G. J. & Suárez-Hernández, J. Experiencias en la implementación del Programa Nacional de Biodiesel. En: G. J. Martín (Presidente). Memorias: **IV Convención Internacional Agrodesarrollo 2016**. EEPF Indio Hatuey, Matanzas, Cuba. p: 71–77. 2016.
  200. Sotolongo-Pérez, J. A.; Suárez-Hernández, J.; Martín-Martín, G. J. & Fraga-Castro, J. A. Principales resultados de los estudios para el aprovechamiento de la especie botánica *Jatropha curcas* para la producción de biocombustible en Cuba. **Revista LABIOFAM**. Cuba. 2014.
  201. Sotolongo-Pérez, J. A.; Díaz García, A. A.; Montes de Oca López, Sofía; del Valle Atala, Yadiris & García Pavón, Soraya. Potencialidades energéticas y medioambientales del árbol *Jatropha curcas* L en las condiciones edafoclimáticas de la región semiárida de la provincia de Guantánamo. **Tecnología Química, XXVII**. (2):76–82. 2007.
  202. Thorsell, W.; Mikiver, A. & Tunon, H. Repelling properties of some plant materials on the tick *Ixodes ricinus* L. **Phytomedicine**. 13:132–134. 2006.
  203. Toral-Pérez, Odalys C.; Iglesias-Gómez, J. M. & Machado-Castro, R. L. Colecta de *Jatropha curcas* y su comportamiento durante la primera fase de desarrollo. En: G. J. Martín (Presidente). Memorias: **IV Convención Internacional Agrodesarrollo 2016**. EEPF Indio Hatuey, Matanzas, Cuba. p: 164–167. 2016.
  204. Torres, C. *Jatropha curcas*: desarrollo fisiológico y técnico. En: Boletín **CUBAENERGÍA**. Centro de Gestión de la Información y Desarrollo de la Energía. La Habana, Cuba. 7 p. 2007. Disponible en: <http://www.cubaenergia.cu/>.
  205. Torres-Acosta, J. F. J.; Chan-Pérez, I.; López-Arellano, M. E.; Rosado-Aguilar, J. A.; Soberanes-Céspedes, N.; Neri-Orantes, S.; *et al.* Diagnóstico de resistencia a los antiparasitarios en rumiantes. En: Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. *Rodríguez-Vivas, R. I.* (Ed.). **AMPAVE-CONASA**. México. 2015.
  206. Valderrama, Brenda & Sánchez Roldán, B. *Jatropha* en Morelos: un ejercicio de sustentabilidad. En: B. Valderrama y B. Sánchez Roldan (Ed.). Consejo de Ciencia y Tecnología del estado de Morelos. Centro Moreleste de Innovación Agropecuaria. México. 2016. ISBN: 978-607-95261-1-5.

207. Valdés-Izaguirre, L. E.; Quirino Arias-Cedeño, Q.; Ramírez-Arzuaga, J. & Peña-Fuentes, D. Actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro* de extractos etanólicos de *Jatropha aethiopica* Müell Arg var *inermis*. **Rev. Cubana Quím.** 30(3):440–453. 2018.
208. Vivanco Araujo, Gabriela M. Determinación de la composición química, propiedades físicas y evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de la especie *Piper barbatum* (Cordoncillo) del cantón Macará, provincia de Loja. Trabajo para la obtención del Título de Bioquímico Farmacéutico. Universidad de Loja. Loja, Ecuador. <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/20.500.11962/23799>
209. Wanzala, W.; Hassanali, A.; Mukabana, W. R. & Takken, W. The effect of essential oils of *Tagetes minuta* and *Tithonia diversifolia* on-host behaviour of the brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus*. **Livestock Research for Rural Development.** 30:106. 2018.
210. Wanzala, W.; Sika N. F. K.; Gule, S. & Hasanali, A. Attractive and repellent host odours guide ticks to their respective feeding sites. **Chemoecology.** 14:229–232. 2004.
211. Warra, A. A.; Vara Prasad, M. N.; Tarakeswari, M. & Sujatha, M. Approaches for Genetic Improvement and Transformation of *Jatropha curcas* and *Ricinus communis* for Efficient Remediation of Toxic Metals and Metalloids. Transgenic Plant Technology for Remediation of Toxic Metals and Metalloids. Chapter 7. p:131–154. 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814389-6.00007-9>.
212. Wei-Zhang, L. W.; Fang-Yan, L. Y.; Xu, Y. & Chen, F. Extraction optimization of total triterpenoids from *Jatropha curcas* leaves using response surface methodology and evaluations of their antimicrobial and antioxidant capacities. **Electronic Journal of Biotechnology.** 18:88–95. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.12.005>.
213. Werner Koller, W.; de Oliveira Souza Higa, L.; Pinheiro Zimmermann, N.; Oshiro, Leandra Marla. & Andreotti, R. Resistência dos carrapatos aos acaricidas. Capítulo 11. En: Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. R. Andreotti, M. V. Garcia, W. Werner Koller (Editores Técnicos). Brasília, DF: **Embrapa.** p: 149–160. 2019. ISBN: 978-85-7035-230-9.

# ANEXOS

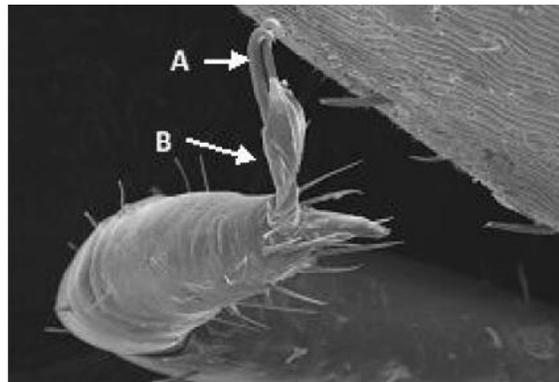
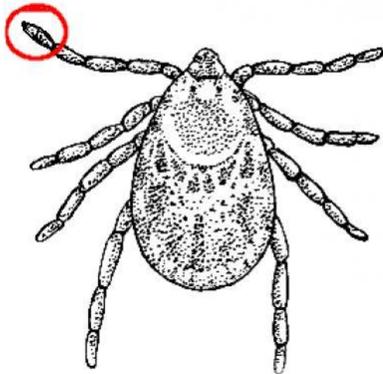


## Anexo 1. Estructura de las garrapatas.



## Ubicación del órgano de Haller

Haller'sches Organ



**Anexo 2. Ciclo biológico de *Rhipicephalus (Boophylus) microplus*.**

