



Artículo original / Original article

Actividad biocida *in vitro* del extracto de Barbasco contra *Boophilus microplus* del ganado bovino de trópico en la provincia de Tambopata

In vitro biocidal activity of Barbasco extract against *Boophilus microplus* of tropical cattle in Tambopata province

Juli Roxana Nina-Condori ¹; Carmen Chaico-Cahuana ¹; Mauro Vela-DaFonseca ¹
Jimmy Flores-Mendoza ^{1*}

¹Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Puerto Maldonado, Perú

Recibido: 13/04/2022

Aceptado: 26/06/2022

Publicado: 25/07/2022

*Autor de correspondencia: jflores@unamad.edu.pe

Resumen: Con el objetivo de validar la actividad biocida del extracto de Barbasco contra *Boophilus microplus* en el ganado bovino de trópico en la provincia de Tambopata, se analizó por cromatografía líquida de alta performance la concentración de Rotenona como principio activo en el extracto raíces de Barbasco (*Lonchocarpus spp.*) y se evaluó el efecto biocida *in vitro* sobre las garrapatas extraídas de bovinos infestados. Los resultados mostraron que la cantidad de Rotenona en el extracto puro de Barbasco es del 25,6% lo que equivale a $256 \pm 12,54$ mg/ml, la dilución al 1% de Barbasco que contiene 2,56 mg/ml tiene mejor actividad biocida en todos los estadios parasitarios de *Boophilus microplus*, y es similar a los antiparasitarios externos comerciales como la Deltametrina; mientras que, diluciones con concentraciones inferiores mantienen actividad biocida aceptable en especial a nivel de los estadios adultos y ninfas. Concluyendo que el extracto de Barbasco contiene alta proporción de Rotenona y es útil para el tratamiento alternativo de ectoparásitos.

Palabras clave: actividad biocida; barbasco; *Boophilus microplus*; rotenona

Abstract: In order to validate the biocidal activity of Barbasco extract against *Boophilus microplus* in tropical cattle in the province of Tambopata, the concentration of Rotenone as active ingredient in the extract of Barbasco roots (*Lonchocarpus spp.*) was analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC), then was evaluated the *in vitro* biocidal effect on ticks extracted from infested cattle. The results showed that the amount of Rotenone in the pure extract of Barbasco is 25.6%, which is equivalent to 256 ± 12.54 mg/ml, the 1% dilution of Barbasco containing 2.56 mg/ml has better activity biocide in all parasitic stages of *Boophilus microplus*, and is similar to commercial external antiparasitic such as Deltamethrin; while, dilutions with lower concentrations maintain acceptable biocidal activity, especially at the level of adult and nymphal stages. Concluding that Barbasco extract contains a high proportion of Rotenone and is useful for the alternative treatment of ectoparasites.

Keywords: biocide activity; barbasco; *Boophilus microplus*; rotenone

1. Introducción

El Barbasco o Cube (*Lonchocarpus utilis*) es una planta nativa de la amazonía del Perú, el país cuenta con la mayor variedad y volumen de producción (Quispe Tippe, 2017), sus raíces contienen compuestos tóxicos entre las que destacan la Rotenona, Deguelina y Trefosina; de éstas, la Rotenona es la que presenta mayor actividad tóxica (Gupta, 2012); los pescadores artesanales eventualmente usan este arbusto para la pesca en ríos amazónicos, siendo los peces altamente susceptibles a los componentes tóxicos de la planta (Coelho-Ferreira, 2009); actualmente se conocen los valores referenciales de concentración de rotenoides en varios componentes de la planta y se ha demostrado la actividad biocida sobre artrópodos como arañas, hormigas y otros (Kalume et al., 2012; Rosado-Aguilar et al., 2017).

Por otro lado, el *Boophilus microplus* es un ectoparásito hematófago que afecta a muchos de los vertebrados terrestres, la enfermedad crónica que produce es de importancia económica para las explotaciones de bovinos en regiones tropicales y subtropicales debido a su alta morbilidad (Madder et al., 2005); los principales signos clínicos que genera incluyen afección traumática, acción tóxica, e infecciosa que conlleva a la disminución de la producción de carne o leche, daño de pieles, favoreciendo la aparición y transmisión de otros agentes infecciosos como la miasis (Zajac et al., 2021). El control de *Boophilus microplus* se basa principalmente en el uso de acaricidas convencionales y lactonas macrocíclicas; sin embargo, el uso intensivo de tales compuestos ha resultado en aparición de resistencia farmacológica y la generación de residuos químicos en carne y leche ocasionando serios problemas en salud pública (Rodríguez-Vivas et al., 2018); debido a esto, en las últimas décadas se han desarrollado diversos estudios en plantas nativas en un intento de encontrar extractos con propiedades acaricidas (Benavides-O. et al., 2001; Borges et al., 2011).

Por tanto, con la finalidad de conocer la actividad biocida del extracto de Barbasco contra *Boophilus microplus* en el ganado bovino del trópico en la provincia de Tambopata, se analizó la concentración de Rotenona en forma de principio activo presente en el extracto de Barbasco y se evaluó el efecto biocida *in vitro* sobre las garrapatas; con esto se pretende validar métodos antiparasitarios alternativos utilizando recursos botánicos disponibles y de fácil manejo en nuestra región.

2. Materiales y métodos

Se recolectaron raíces de Barbasco (*Lonchocarpus spp.*) de la comunidad nativa Delta 4 ubicado en la provincia de Tahuamanu – Madre de Dios, se transportaron al laboratorio de investigación de la escuela de Medicina Veterinaria - Zootecnia de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios (UNAMAD); las raíces se prensaron en morteros y se obtuvo el extracto puro, el que se almacenó refrigerado y protegido de la luz hasta los análisis de cromatografía y actividad biocida.

La concentración de Rotenona se determinó por cromatografía líquida de alta performance (HPLC) en el laboratorio de residuos tóxicos del Servicio Nacional de Sanidad Agraria - Lima (SENASA-Lima), se utilizó un estándar de Rotenona de la marca YMC-Triart®, y la lectura se realizó de acuerdo a los criterios dados por (Fang & Casida, 1999).

A partir del extracto puro de Barbasco obtenido se prepararon tres diluciones de: 0,25%, 0,5% y 1% que contuvieron 0,64, 1,28 y 2,56 mg/ml de Rotenona respectivamente y constituyeron los grupos de tratamiento con Rotenona (Tabla 1), las que se compararon con un grupo control de placebo y otro de Deltametrina (1/2000); las garrapatas se extrajeron de animales infestados y se cultivaron en placas petri; los tratamientos se aplicaron por aspersion sobre las unidades de muestreo y la actividad biocida contra *Boophilus microplus* se determinó por cantidad de garrapatas muertas al tratamiento aplicado.

La evaluación de las unidades de muestreo se realizó a partir de los 30 minutos hasta las 2 horas con ayuda del estereoscopio de la marca Leica®, se registraron los hallazgos por grupos de tratamientos y para el análisis de datos se empleó diseño bloque completo al azar (DBCA) con

seis tratamientos y tres bloques que corresponden a los estadios del *Boophilus microplus*; para comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey.

3. Resultados y discusión

La cantidad de Rotenona en forma de analito detectado en el extracto de raíces de Barbasco (*Lonchocarpus spp.*) en el presente estudio fue de 12,6 µL por 50 µL de muestra analizada; este valor indicó que el valor porcentual de la concentración de Rotenona en extracto puro es del 25,6% en las muestras analizadas (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de Rotenona en extracto puro y diluido de barbasco (*Lonchocarpus spp.*)

Rotenona	Extracto puro (n=5)	Diluciones		
		T2	T3	T4
Concentración (mg/ml)	256 ± 12,54	0,64	1,28	2,56
Porcentaje	25,6%	0,25%	0,5%	1%

Nota: n= número de muestras analizadas por HPLC. T1, T2, T3, tratamientos 1,2,3 respectivamente.

Con excepción del grupo control placebo, el efecto biocida *in vitro* fue observado en todos los grupos que contenían diluciones de extracto de Barbasco, la efectividad fue manera parcial a los 30 minutos y de forma completa a las 2 horas de exposición en todos los estadios parasitarios de *Boophilus microplus*; sin embargo, los grupos más sensibles se registraron principalmente a nivel de ninfas y adultos; mientras que, el grupo de teleonginas presentó ligera disminución al efecto antiparasitario del extracto de Barbasco con relación a los grupos predecesores.

Con respecto a las concentraciones de Rotenona, se observó que los mejores registros se observaron en las diluciones de Barbasco al 1% 0,5% y 0,25 % respectivamente, registrándose además diferencia significativa ($p \leq 0,05$) a nivel de las diluciones 0,25% y 0,5% (Tabla 2); por otra parte, se observó también diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre las diluciones de Barbasco con menor concentración y el tratamiento control placebo; mientras que, entre el tratamiento con dilución máxima de barbasco (1%) y el tratamiento control de Deltametrina solo se observó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) en el grupo de adultos y no así en los grupos de ninfa y teleonginas.

Tabla 2. Efecto biocida del extracto de barbasco (*Lonchocarpus spp.*) sobre *Boophilus microplus*

Tratamientos	Estadio parasitario		
	Adulto	Ninfa	Teleongina
T1, control placebo	2 ± 4,47 ^a	6 ± 5,48 ^a	2 ± 4,47 ^a
T2, dilución al 0,25%	58 ± 8,37 ^b	80 ± 7,07 ^b	60 ± 10,00 ^b
T3, dilución al 0,50%	82 ± 8,37 ^c	94 ± 8,94 ^c	62 ± 10,95 ^b
T4, dilución al 1%	92 ± 4,47 ^d	0,98 ± 4,47 ^d	0,68 ± 10,95 ^d
T5, control Deltametrina (1/2000)	100 ± 0,00 ^e	100 ± 0,00 ^d	80 ± 7,07 ^d

Nota: Superíndices diferentes a nivel de columna indica diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

4. Discusión

La proporción de Rotenona en el extracto puro en las raíces de Barbasco (*Lonchocarpus spp.*) en el presente estudio fue del 25,6%, este valor promedio es muy alto en comparación a estudios realizados por Kalume et al. (2012), que reportó 0,044% de Rotenona y 1,14% de Deguelina en hojas de dos variedades de *Tephrosia vogelii*; este valor indica el potencial tóxico de las raíces de Barbasco de la región de Tambopata. Por otro lado, la resina de la raíz de *Lonchocarpus utilis* y *urucu*, contiene además de Rotenona otros tres importantes ingredientes activos como la Deguelina, Rotenolona y Tefrosina las que representan el 77 % del peso total, identificándose al

menos 25 rotenoides menores probablemente relacionados con la descomposición de la Rotenona por aumento de radicales libres durante la preparación de la muestra (Zaman et al., 2012).

Los diversos efectos tóxicos subletales que ocasiona la Rotenona están asociados a falla neuronal, renal y carcinogénesis en especies de laboratorio (National Toxicology Program, 1988), así 2 µg/L produce toxicidad aguda en diferentes especies de peces (Melo et al., 2015); en ratas la toxicidad renal está relacionada con el estrés oxidativo y del factor apoptótico en tejido renal; mientras que, en humanos se ha evaluado la toxicidad de la Rotenona en el sistema nervioso central, especialmente relacionado a la patogenia de la enfermedad de Parkinson (Jiang et al., 2017).

Por otra parte, el efecto biocida *in vitro* del extracto de Barbasco sobre *Boophilus microplus* fue significativamente letal ($p \leq 0,05$) para todos los grupos de tratamientos estudiados en el presente estudio, los estadios parasitarios más sensibles fueron los grupos de ninfas y adultos; mientras que, el efecto biocida es similar a la Deltametrina de uso comercial. Estos resultados coinciden con los hallazgos observados por Kalume et al. (2012) en África; así como por Mejía-Aguirre & Paredes-López (2014) en otras regiones tropicales del Perú. Sin embargo, Madder et al. (2005) reporta que existe influencia significativa de resistencia de garrapatas a los diversos tratamientos antiparasitarios relacionadas a las condiciones de medioambientales como clima, temperatura, humedad entre otros, así como al género de garrapatas; así el *Rhipicephalus appendiculatus* está más adaptado a condiciones más frías y húmedas, mientras que *Rhipicephalus zambeziensis* se adapta a áreas más cálidas y secas; por lo que, es necesario hacer pruebas midiendo el efecto de extracto de Barbasco con las variables medioambientales en trópico.

5. Conclusiones

La cantidad de Rotenona en el extracto puro de barbasco (*Lonchocarpus spp.*) es del 25,6% lo que equivale a $256 \pm 12,54$ mg/ml, la dilución al 1% de Barbasco que contiene 2,56 mg/ml tiene mejor actividad biocida en todos los estadios parasitarios de *Boophilus microplus*, y es similar a los antiparasitarios externos comerciales como la Deltametrina; mientras que, diluciones con concentraciones inferiores mantienen actividad biocida aceptable en especial a nivel de los estadios adultos y ninfas.

Financiamiento

Por la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios mediante resolución N° 152-2020-UNAMAD-VRI.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Contribución de autores

N-C, J. R., C-C, C., V-D, M. y F-M, J.: conceptualización, análisis formal, investigación, metodología, investigación, curación de datos, redacción (revisión y edición) y escritura (preparación del borrador final).

Referencias bibliográficas

- Benavides-O., E., Hernández-M., G., Romero-N., A., Castro-A., H., & Rodríguez-B., J. L. (2001). Evaluación preliminar de extractos del Neem (*Azadirachta indica*), como alternativa para el control de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Acari: Ixodida). *Revista Colombiana de Entomología*, 27(1), 1-8. <https://doi.org/10.25100/socolen.v27i1.9656>

- Borges, L. M. F., Sousa, L. A. D. de, & Barbosa, C. da S. (2011). Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20(2), 89–96. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612011000200001>
- Coelho-Ferreira, M. (2009). Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). *Journal of Ethnopharmacology*, 126(1), 159–175. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.07.016>
- Fang, N., & Casida, J. E. (1999). Cubé Resin Insecticide: Identification and Biological Activity of 29 Rotenoid Constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2130–2136. <https://doi.org/10.1021/jf981188x>
- Gupta, R. C. (2012). *Veterinary toxicology: basic and clinical principles* (2nd ed.). Elsevier.
- Jiang, X.-W., Qiao, L., Feng, X., Liu, L., Wei, Q.-W., Wang, X.-W., & Yu, W.-H. (2017). Rotenone induces nephrotoxicity in rats: oxidative damage and apoptosis. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(7), 528–536. <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1333553>
- Kalume, M. K., Losson, B., Angenot, L., Tits, M., Wauters, J. N., Frédérick, M., & Saegerman, C. (2012). Rotenoid content and in vitro acaricidal activity of *Tephrosia vogelii* leaf extract on the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Veterinary Parasitology*, 190(1–2), 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.015>
- Madder, M., Speybroeck, N., Bilounga, A., Helleputte, D., & Berkvens, D. (2005). Survival of unfed *Rhipicephalus appendiculatus* and *Rhipicephalus zambeziensis* adults. *Medical and Veterinary Entomology*, 19(3), 245–250. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00566.x>
- Mejía-Aguirre, Y., & Paredes-López, D. (2014). Control in vitro e in vivo de garrapatas (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) utilizando la raíz pulverizada del barbasco (*Lonchocarpus nicou* (Aublet) DC.). *Folia Amazónica*, 23(1), 1. <https://doi.org/10.24841/fa.v23i1.2>
- Melo, K. M., Oliveira, R., Grisolia, C. K., Domingues, I., Pieczarka, J. C., de Souza Filho, J., & Nagamachi, C. Y. (2015). Short-term exposure to low doses of rotenone induces developmental, biochemical, behavioral, and histological changes in fish. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 13926–13938. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4596-2>
- National Toxicology Program. (1988). NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Rotenone (CAS No. 83-79-4) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Studies). *National Toxicology Program Technical Report Series*, 320, 1–158. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12748733>
- Quispe Tippe, L. G. (2017). *Estudio de pre-factibilidad para la producción y exportación del barbasco en polvo como insumo de insecticidas y pesticidas naturales al mercado de los Estados Unidos* [Pontificia Universidad Católica del Perú]. <http://hdl.handle.net/20.500.12404/7758>
- Rodriguez-Vivas, R. I., Jonsson, N. N., & Bhushan, C. (2018). Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitology Research*, 117(1), 3–29. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>
- Rosado-Aguilar, J. A., Arjona-Cambranes, K., Torres-Acosta, J. F. J., Rodríguez-Vivas, R. I., Bolio-González, M. E., Ortega-Pacheco, A., Alzina-López, A., Gutiérrez-Ruiz, E. J., Gutiérrez-Blanco, E., & Aguilar-Caballero, A. J. (2017). Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. *Veterinary Parasitology*, 238, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.03.023>
- Zajac, A. M., Conboy, G. A., Little, S. E., & Reichard, M. V. (2021). *Veterinary Clinical Parasitology* (9th ed.). Wiley-Blackwell.

Zaman, M. A., Iqbal, Z., Abbas, R. Z., Khan, M. N., Muhammad, G., Younus, M., & Ahmed, S. (2012). In vitro and in vivo acaricidal activity of a herbal extract. *Veterinary Parasitology*, 186(3-4), 431-436. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.018>