

Veterinaria México

Volumen 35
Volume

Número 2
Number

Abril-Junio 2004
April-June

Artículo:

Efecto repelente de extractos de *Melinis minutiflora* sobre larvas de la garrapata *Boophilus microplus*

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



Medigraphic.com

Efecto repelente de extractos de *Melinis minutiflora* sobre larvas de la garrapata *Boophilus microplus*

Repellent effect of *Melinis minutiflora* extract on *Boophilus microplus* tick larvae

Francisco J. Muro Castrejón*
Carlos Cruz-Vázquez**
Manuel Fernández-Ruvalcaba***
Jorge Molina Torres***

Abstract

The objective of the present study was to investigate the repellence effect of *M. minutiflora* plant extracts on *B. microplus* larvae, and to identify the chemical compounds present in the extracts. The effect was evaluated by a repellence bioassay in an olfactometer using extracts from stems, leaves and whole plants treated with different organic solvents such as methanol, chloroform, hexane and acetone. The identification of the chemical compounds was carried out by a gas chromatography-mass spectrometry procedure using whole plant extract in acetone. The study demonstrated that all extracts evaluated showed a repellence effect that ranged from 43 to 90%. The best repellence percentages were observed from extracts obtained using acetone as the extraction solvent. Twelve chemical compounds were identified, the highest relative abundance corresponded to eicosane (18.53%), followed by methyl ester linolenic acid (16.08%) and hexadecanoic acid (14.20%). However, it is possible that the repellence effect was influenced by the additive action of all the compounds identified.

Key words: *MELINIS MINUTIFLORA*, **REPELLENCE**, **ANTI-TICK EFFECT**, **CHEMICAL COMPOUNDS**.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de repelencia de larvas de *B. microplus* en extractos del pasto *M. minutiflora* e identificar los compuestos químicos presentes en ellos. El efecto fue evaluado mediante un bioensayo de repelencia en olfactómetro, utilizando extractos de diferentes partes del pasto, tallos, hojas y planta completa, tratados con diferentes solventes orgánicos como metanol, cloroformo, hexano y acetona; la identificación de los compuestos químicos se realizó por cromatografía de gases-espectrometría de masas utilizando un extracto de planta completa en acetona. El estudio demostró que todos los extractos evaluados mostraron efecto de repelencia, el cual se ubicó en un margen de 43% a 90%. Los mejores porcentajes de repelencia se observaron en los extractos en los que se utilizó acetona como solvente de extracción. Se identificaron 12 diferentes compuestos químicos, la mayor abundancia relativa correspondió al eicosano (18.53%), ácido linolenico metil ester (16.08%) y ácido hexadecanoico (14.20%); es posible que la acción aditiva de todos los compuestos identificados influya en el efecto de repelencia.

Palabras clave: *MELINIS MINUTIFLORA*, **REPELENCIA**, **EFEECTO ANTI-GARRAPATA**, **COMPUESTOS QUÍMICOS**.

Recibido el 25 de febrero de 2003 y aceptado el 20 de agosto de 2003.

* Instituto Tecnológico Agropecuario de Aguascalientes, A. P. 74-2, Admón. Postal 2, C. P. 20041, Aguascalientes, Aguascalientes, México.

** Cenid-Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, A. P. 206, CIVAC, 62550, Jiutepec, Morelos, México.

*** Departamento de Fitoquímica, Cinvestav-Unidad Irapuato, A. P. 629, C. P. 36500, Irapuato, Guanajuato, México.

B*oophilus microplus* cattle tick infestations represent a very serious problem for meat and milk production in tropical and subtropical regions, where the production systems and the ecological environment favor the presence of the parasite.¹ The control measures that have been applied to these arthropods have been the systematic application of acaricides; this has caused the generation of resistance to such compounds and the potential impact on public health through the residues left in the environment and animal products.²

In recent years, the use of non-chemical control measures has received special attention, with the idea of promoting the development of integrated control programs. Amongst these non-chemical options, we have the application of measures that modify habitat, biological control, and plants that have anti-tick properties.^{3,4}

“Gordura” grass, *Melinis minutiflora*, is a foraging plant that grows in tropical and subtropical zones, characterized by the secretion of an oleoresin throughout its numerous and long trichomes found in its leaves and stems, that is responsible for the strong molasses smell. This secretion causes the anti-tick effect reported in the literature, as being a characteristic of this grass, that repels or drives away ticks, specially the larvae,⁵ in such a manner that they do not climb up the plant to try to achieve an encounter with their host. This repellent effect has been evaluated in *B. microplus* ticks, in experiments performed in parcels and in *Rhipicephalus appendiculatus*, a three host tick, under experimental and laboratory conditions, which suggests the presence of a volatile chemical compound as the possible element responsible for the repellence effect.^{5,6} Nevertheless, there is scarce information about the nature of the chemical compounds that are present in the extract of that plant and the intensity of the repellence that it may induce. This information may contribute to the development of a more complete knowledge of this anti-tick repellence effect and eventually a better use of this quality present in *M. minutiflora*.

The objective of this work was the study of the *B. microplus* larvae repellence caused by the extracts of the *M. minutiflora* grass and identify the chemical compounds that are present in them.

In the Animal and Plant Technological Institute of Aguascalientes, *M. minutiflora* grass was grown under greenhouse conditions in plastic flowerpots, 20 cm in diameter by 15 cm in depth, propagation was made with fresh vegetative material obtained from experimental parcels of the Cenid-PaVet (INIFAP) in Morelos, México, and stolons were placed

Las infestaciones ocasionadas por la garrapata del ganado *Boophilus microplus* representan un serio problema para la producción de carne y leche en las regiones tropicales y subtropicales, en las cuales los sistemas de producción y el entorno ecológico favorecen la presencia del parásito.¹ Las medidas de control ejercidas sobre estos artrópodos se han realizado mediante la aplicación sistemática de acaricidas, ello ha ocasionado resistencia a tales compuestos y el potencial impacto en la salud pública a través de sus residuos en el ambiente y los productos pecuarios.²

En años recientes el uso de medidas de control no químico ha recibido especial atención, con la idea de favorecer el desarrollo de programas de control integrado; entre estas opciones no químicas se encuentran la aplicación de medidas de modificación del hábitat, el control biológico y las plantas con características antigarrapata.^{3,4}

El pasto “gordura”, *Melinis minutiflora*, es una planta forrajera que crece en las zonas tropicales y subtropicales, caracterizada por secretar una oleoresina por sus largos y numerosos tricomas presentes en sus hojas y tallos, la cual es responsable de un fuerte olor a melaza; esta secreción propicia el efecto antigarrapata, informado en la literatura como la característica de este pasto, que ahuyenta o repele a las garrapatas, especialmente a las larvas,⁵ de manera que éstas no suben por la planta para tratar de concretar el encuentro con su huésped. Este efecto repelente ha sido evaluado en la garrapata *B. microplus* en experimentos realizados en parcelas y en *Rhipicephalus appendiculatus*, una garrapata de tres huéspedes bajo condiciones de parcelas experimentales y laboratorio, lo que sugiere presencia de un compuesto químico volátil como posible responsable del efecto de repelencia.⁵

⁶ Sin embargo, existe escasa información acerca de la naturaleza de los compuestos químicos que se encuentran presentes en extractos de esta planta y de la intensidad de repelencia que puedan inducir. Esta información puede contribuir al desarrollo de un conocimiento más completo acerca de este efecto de repelencia antigarrapata y eventualmente a un mejor aprovechamiento de esta cualidad presente en *M. minutiflora*.

El objetivo de este trabajo fue investigar la repelencia de larvas de *B. microplus* ocasionada por extractos del pasto *M. minutiflora* e identificar los compuestos químicos presentes en ellos.

En el Instituto Tecnológico Agropecuario de Aguascalientes se cultivó el pasto *M. minutiflora* bajo condiciones de invernadero en macetas de plástico de 20 cm de diámetro por 15 cm de profundidad, la propagación se realizó con material vegetativo

in 25 flowerpots that contained the commercial substrate Turba, that is proper for greenhouses. The plants were watered once a week and fertilized with ammonium sulphate, and they reached a height of 55 cm at 90 days after planting, at which time they were considered ready for the following stage of the study.

Arial parts of *M. minutiflora* were collected and three groups were formed: only stems, only leaves, and the complete plant, 60 g of each one of them. They were finely chopped and deposited immediately in jars that contained 50 ml of the following reagent grade organic solvents: methanol, chloroform, hexane and acetone, where they were maintained during 1 h. These extracts were later concentrated in a Soxleth* equipment at 80°C, during 2 h and stored in amber glass flasks at 4°C, until they were used. There was a control treatment with water for each group.

Through bovine passage, a colony of *B. microplus* ("Zapata" strain) ticks, free from *Babesia* spp and sensitive to acaricides was established in the facilities of the Cenid-PaVet (INIFAP), according to the previously described procedure.⁷ Larvae of 15 days of age were used for the bioassays that were performed, in the following stage of the study.

A repellence bioassay was performed applying a totally random model, with three repetitions per treatment, corresponding to the different combinations of grass extracts with solvents and the control with water. A "Y" shaped glass olfactometer was used, designed according to the proposal by Malonza *et al.*⁸ and Mwangi *et al.*⁶ The procedure for each evaluation was the following: a cotton swab was impregnated with 1 ml of the extract to be evaluated and air dried during 24 hours; after that, it was placed in an arm of the olfactometer; and in the other arm, a cotton swab impregnated with solvent that corresponded to the extract that was to be evaluated and the air of the olfactometer was eliminated by means of a water pump connected to the "Y" union. A package of 1 000 larvae of *B. microplus* was placed in the free opening of the olfactometer and they were allowed to climb the walls during 20 minutes, and after that the larvae that climbed each arm were counted. The olfactometer was washed with soap water and dried with hot air, after each assay. The repellence percentages were estimated applying the following formula:

$$\text{Repellence} = \frac{\text{Larvae in the arm with the swab impregnated only with the solvent corresponding the evaluated extract}}{\text{Larvae that climbed both arms of the olfactometer}} \times 100$$

The information generated in the repellence bioassay was analyzed by variance analysis and

fresco, obtenido de parcelas experimentales del Cenid-PaVet (INIFAP) en Morelos, México, y se colocaron estolones en 25 macetas que contenían el sustrato comercial Turba, propio para invernadero. Las plantas fueron regadas una vez por semana y fertilizadas con sulfato de amonio, alcanzaron una altura de 55 cm a los 90 días de la siembra, momento en que se consideraron listas para la siguiente etapa del trabajo.

Se colectaron las partes aéreas de *M. minutiflora*, y se formaron tres grupos: sólo tallos, sólo hojas y planta completa, 60 g de cada una de ellas; se picaron finamente y se depositaron de inmediato en frascos que contenían 50 ml de los siguientes solventes orgánicos en grado reactivo: metanol, cloroformo, hexano y acetona, donde se mantuvieron por una hora. Estos extractos fueron concentrados posteriormente en un equipo Soxleth* a 80°C por dos horas y almacenados en viales de vidrio ámbar a 40°C hasta su uso. Para cada grupo, hubo un tratamiento testigo con agua.

Se estableció por pasaje en bovino una colonia de garrapatas *B. microplus* (cepa "Zapata"), libre de *Babesia* spp y sensible a acaricidas, en las instalaciones del Cenid-PaVet (INIFAP), de acuerdo con el procedimiento descrito previamente.⁷ Se utilizaron larvas de 15 días de edad para los bioensayos realizados en la siguiente etapa del trabajo.

Se realizó un bioensayo de repelencia aplicando un modelo completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, correspondientes a las diferentes combinaciones de extractos del pasto con solventes y al testigo con agua. Se utilizó un olfactómetro de vidrio en forma de "Y", diseñado de acuerdo con lo propuesto por Malonza *et al.*⁸ y Mwangi *et al.*⁶ El procedimiento para cada evaluación fue el siguiente: se impregnó una torunda de algodón con 1 ml del extracto a evaluar, que se secó al aire por 24 horas; posteriormente, se colocó en un brazo del olfactómetro; en el otro se colocó una torunda de algodón impregnada con el solvente que correspondía al extracto a evaluar, y se eliminó el aire del olfactómetro mediante una bomba de agua conectada en la unión de la "Y". Se introdujo un paquete de 1000 larvas de *B. microplus* en la abertura libre del olfactómetro y se dejaron subir por las paredes durante 20 minutos, después se contaron las larvas que subieron a cada brazo; se lavó el olfactómetro con agua jabonosa y se secó con aire caliente después de cada ensayo. Se calcularon los porcentajes de repelencia aplicando la siguiente fórmula:

* Hewlett Packard.

Duncan test ($P < 0.05$). The repellence percentages were transformed by means of the arcsine function in order to normalize data.⁹ The analysis was performed by the SAS program.¹⁰

Chemical compounds were identified by means of gas chromatography (GC) and mass spectrometry (ME), using a system of GC connected to ME,* equipped with a mass selector number 5973; the complete *M. minutiflora* extract (leaves + stem) in acetone was used. The chromatographic separation was performed using a capillary column (HP number 19091-433, 30 m \times 0.2 mm) covered with methyl xyloxane (0.25 μ m thick), helium was used as the carrier gas. The initial temperature was 150°C and the maximum was 325°C with an initial time of 3 min and a gradient of 4°C per minute, the total run time was 60.5 min and a pressure of 13.28 psi was used. The compounds were identified by means of the electronic impact of their spectral mass, elution order and the relative retention time by GC, complemented with the comparison of its spectral mass and the retention times by GC with known compounds, by means of a computational package that is integrated into the equipment.

All the *M. minutiflora* extracts showed repellence effects during the bioassay that was performed, the percentages of repellence were found in a range between 43% to 90% (Table 1). Grass extracts had better repellence percentages with acetone as an extraction solvent, with either stems, leaves, or the complete plant. With 84, 80 and 90 repellence points for *B. microplus*, larvae, respectively. The smaller percentages corresponded to extracts that used hexane as the extraction solvent.

The chemical compounds identified by GC-ME from the complete plant extract (leaves + stems) of *M. minutiflora*, using acetone as the extraction solvent, are shown in Table 2, where 12 different compounds are shown; the higher relative abundance percentages corresponded to eicosane with 18.53%, methyl ester linolenic acid, with 16.08% and hexadecanoic acid with 14.20%, the rest of the compounds were located between 10.91% and 2.72%.

The anti-tick properties of the *M. minutiflora* grass have been related to the secretion that their trichomes in stems and leaves produce, therefore it has been considered that this substance, that has a strong molasses odor, could be responsible for the repellence effect in *B. microplus*, especially for larvae, since the cattle that is maintained in this grass has less adult ticks.⁵ On the other hand, in *R. appendiculatus*, it has been confirmed that the grass in its natural state, in parcels and cut green and fresh, contains a volatile substance, that is responsible for the repellence effect, that can be extracted with

Larvas en el brazo con la torunda
impregnada sólo con el solvente correspondiente al
extracto evaluado

$$\text{Repelencia} = \frac{\text{Larvas que subieron a los dos brazos del olfactómetro}}{\text{Larvas que subieron a los dos brazos del olfactómetro}} \times 100$$

La información generada en el bioensayo de repelencia se analizó mediante un análisis de varianza y prueba de Duncan ($P < 0.05$). Los porcentajes de repelencia fueron transformados mediante la función arcoseno para normalizar los datos.⁹ Se utilizó el paquete SAS para realizar los análisis.¹⁰

Se identificaron los compuestos químicos mediante cromatografía de gases (CG) y espectrometría de masas (EM), utilizando un sistema de CG acoplado a EM,* equipado con un selector de masas número 5973; se utilizó el extracto de *M. minutiflora* completo (hojas + tallo) en acetona. La separación cromatográfica se realizó usando una columna capilar (HP núm. 19091-433, 30 m \times 0.2 mm) cubierta con metil siloxano (0.25 μ m de grosor), utilizando al helio como gas de arrastre. La temperatura inicial fue de 150°C y una máxima de 325°C con un tiempo inicial de tres minutos y un gradiente de 4°C por minuto, el tiempo total de corrida fue de 60.5 minutos y se utilizó una presión de 13.28 psi. Los compuestos fueron identificados mediante los datos del impacto electrónico de su masa espectral, el orden de elusión y el tiempo de retención relativo por CG, complementados con la comparación de su masa espectral y los tiempos de retención por CG con compuestos conocidos mediante el paquete de cómputo que se encuentra integrado al equipo.

Todos los extractos de *M. minutiflora* mostraron efectos de repelencia en el bioensayo practicado, los porcentajes de repelencia se ubicaron en un margen de 43 a 90 (Cuadro 1). Los extractos del pasto tuvieron mejores porcentajes de repelencia con acetona como solvente de extracción, tanto tallos y hojas como la planta completa, con 84, 80 y 90 puntos de repelencia de larvas de *B. microplus*, respectivamente. Los porcentajes menores correspondieron a extractos que utilizaron el hexano como solvente de extracción.

Los compuestos químicos identificados por CG-EM a partir del extracto de planta completo (hoja + tallo) de *M. minutiflora* usando acetona como solvente de extracción, se muestran en el Cuadro 2, donde se observan 12 diferentes compuestos; los porcentajes de abundancia relativa más altos correspondieron al eicosano con 18.53, al ácido linolenico metil éster con

* Hewlett Packard 6890.

Cuadro 1
PORCENTAJE PROMEDIO DE REPELENCIA DE LARVAS DE LA GARRAPATA *B. microplus* EN EL BIOENSAYO DE REPELENCIA CON DIFERENTES EXTRACTOS DEL PASTO *M. minutiflora*
AVERAGE REPELLENCE PERCENTAGE OF *B. microplus* TICK LARVAE DURING THE REPELLENCE BIOASSAY WITH DIFFERENT EXTRACTS OF *M. minutiflora* GRASS

<i>Solvent</i>	<i>Stems</i>	<i>Repellence percentage</i>	
		<i>Leaves</i>	<i>Complete plant</i>
Methanol	67 ^b	52 ^b	72 ^b
Chloroform	66 ^b	50 ^b	76 ^b
Hexane	55 ^c	57 ^b	43 ^c
Acetone	84 ^a	80 ^a	90 ^a
Water	4 ^d	5 ^c	6 ^c

Values in the same column followed by the same letter are not statistically different $P < 0.05$.

different organic solvents, even though the most efficient one for this action is acetone; nevertheless, the chemical compounds that are involved were not identified.⁶ In this study, the repellence effect on the larvae of *B. microplus*, by the substance secreted by *M. minutiflora*, has been confirmed in agreement with the results that were obtained in the repellence bioassay with extracts of this plant; this effect reached up to 90% with the complete plant, value that is considered high and coincides with the repellence effect percentage observed in a similar test applied on *R. appendiculatus* larvae.⁶ Also, in that study, as well as in this one, acetone resulted as the most efficient solvent for the extraction. The chemical compounds identified by GC-ME in the extract of *M. minutiflora* had a relative individual abundance located between 2.72% and 18.53%, which suggests that it is improbable that one of them is the only one responsible for the repellence effect that was observed in the bioassay and that most probably each one of them contributes with an additive action, in a lesser or greater proportion, to the mentioned effect that has been recorded in other plants with anti-tick repellence effect, such as *Gynandropsis gynandra*.¹¹

The potential use of the foraging plant as part of an integral control program is very useful; nevertheless, it has several limiting factors that must be taken into consideration; one of them makes reference to the odor and flavor of the grass when cattle is grazed, since initially it is rejected, although this is a temporal effect; on the other hand, it is possible that this strong molasses odor may transfer unto meat and milk, although this has not been completely demonstrated. We should mention that this grass has been successfully used in beef and dairy cattle in tropical regions of Australia and Brazil.^{6,12,13} If its direct use, by grazing, is limited or restricted to strategic handling schemes that can be difficult to apply in the field; it is possible to sustain

16.08 y al ácido hexadecanoico con 14.20, el resto de los compuestos se ubicaron entre 10.91% y 2.72%.

Las propiedades antigarrapata del pasto *M. minutiflora* han sido relacionadas con la secreción que producen sus tricomas en tallos y hojas, por lo que se ha pensado que esta sustancia de fuerte olor a melaza es responsable del efecto de repelencia en *B. microplus*, especialmente a larvas, ya que el ganado mantenido en este pasto presenta menos garrapatas adultas.⁵ Por otra parte, en *R. appendiculatus* se ha confirmado que el pasto en estado natural, en parcelas y cortado en verde y fresco, contiene una sustancia volátil responsable del efecto de repelencia, que puede ser extraída con diferentes solventes orgánicos, aunque la más eficiente para esta acción es la acetona; sin embargo, los compuestos químicos involucrados no fueron identificados.⁶ En este estudio se ha confirmado que la sustancia secretada por *M. minutiflora* tiene un efecto de repelencia a larvas de *B. microplus* de acuerdo con los resultados obtenidos en el bioensayo de repelencia con extractos de esta planta; este efecto fue de hasta 90%, en la planta completa, valor considerado alto y coincidente con el porcentaje de repelencia observado en una prueba similar practicada en larvas de *R. appendiculatus*.⁶ Asimismo, tanto en aquel estudio como en el presente la acetona resultó el solvente más eficiente para la extracción. Los compuestos químicos identificados mediante CG-EM en el extracto de *M. minutiflora* tuvieron abundancia relativa individual ubicada entre 2.72% y 18.53%, lo cual sugiere que difícilmente uno de ellos sea el único responsable del efecto de repelencia observado en el bioensayo y que más bien es posible que cada uno de ellos contribuya aditivamente en mayor o menor proporción al efecto mencionado, tal como se ha registrado en otras plantas con efectos de repelencia antigarrapata, como *Gynandropsis gynandra*.¹¹

El uso potencial de esta planta forrajera como

Cuadro 2

COMPUESTOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS POR CG-EM A PARTIR DEL EXTRACTO
COMPLETO (HOJAS + TALLO) DEL PASTO *M. minutiflora*
CHEMICAL COMPOUNDS IDENTIFIED BY GC-ME IN A COMPLETE EXTRACT (LEAVES +
STEMS) OF *M. minutiflora* GRASS

<i>Compound</i>	<i>R T</i>	<i>Relative abundance (%)</i>
Hexadecanoic acid	13.92	14.20
Fitol	17.38	5.59
Methyl ester linolenic acid	17.56	16.08
3,7,11,15 -tetramethyl-2-2 hexadecene	19.52	2.72
Tetratriacontane	21.55	2.79
2,4-bis (dimethylbenzil) Phenol	24.19	2.86
2,4-bis (dimethylbenzil)-6-t-butophenol	24.88	2.83
9- octadecenamida (Z)	29.57	5.24
5-nitrobenzinfuran- 2 carboxylic acid	38.23	10.91
4' methyl-2 phenylindol	38.49	8.46
Eicosane	38.70	18.53
Hexamethyl-sterol, Cyclotrixyloxane	40.16	9.72

RT = Retention time (minutes).

the idea of using the extract, prepared adequately, to apply directly on hoofs and body of the animals to prevent the infestation with tick larvae, even though this potential use must overcome some inconveniences such as the rapid denaturing of the natural chemical compounds with the ultraviolet sun rays, phenomenon that commonly occurs with these compounds.

Acknowledgements

This study was performed with financing by the National Technological Education System Council of
1. the Public Education Ministry, Project 606.98-P.

2.

Referencias

3. Pegram RG, Tatchell RJ, de Castro JJ, Chizyuka HGB, Creek MJ, McCosker PJ, *et al.* Tick control: new concepts. *World Anim Rev* 1993;74-75:2-11.
4. Kunz SE, Kemp DH. Insecticides and acaricides: Resistance and environmental impact. *Rev Sci Tech* 1994;13:1249-1286.
5. Kaaya GP. Non chemical agents and factors capable of regulating tick populations in nature: a mini review. *Insect Sci Appl* 1992;13:587-594.
6. Kaaya GP. The potential for anti-tick plants as

parte de un programa de control integrado es de gran utilidad; sin embargo, se enfrenta a varias limitantes que deben considerarse; una de ellas se refiere al olor y sabor del pasto cuando se pastorea al ganado, que inicialmente provoca rechazo al consumo, aunque éste es temporal; por otro lado, es posible que este fuerte olor a melaza pueda transferirse a la carne y leche, aunque esto no ha sido plenamente demostrado; en contraparte, este pasto se ha utilizado con buenos resultados en ganado productor de carne y leche en regiones tropicales de Australia y Brasil.^{6,12,13} Su uso directo mediante el pastoreo puede verse limitado o restringido a esquemas de manejo estratégico que pueden ser de difícil aplicación en el campo; es posible sustentar la idea de utilizar su extracto, preparado de forma adecuada, para aplicación directa en patas y cuerpo de los animales para prevenir la infestación por larvas, aunque este potencial uso debe superar algunos inconvenientes como la rápida desnaturalización de los compuestos químicos naturales por los rayos ultravioleta del sol, fenómeno que sucede comúnmente en estos compuestos.

Agradecimientos

component of an integrated tick control strategy. *Ann NY Acad Sci* 2000;916:576-582.

7. Thompson KC, Roa E, Romero N. Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. *Trop Anim Health Prod* 1978;10:179-182.
Mwangi EN, Essuman S, Kaaya GP, Nyandat E,
8. Munyinyin D, Kimondo MG. Repellence of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* by the grass *Melinis minutiflora*. *Trop Anim Health Prod* 1995;27:211-216.
9. Fernández-Ruvalcaba M, Cruz-Vázquez C, García-
10. Vázquez Z, Saltigeral OJ. Estudio de seguimiento del efecto antigarrapata de las leguminosas tropicales
11. *Stylosanthes humilis* (L.) y *Stylosanthes hamata* (L.) de un año de edad. *Tec Pecu Mex* 1999;37:51-56.
Malonza MM, Dipelou OO, Amoo AO, Hassan SM. Laboratory and field observations on anti-tick
12. properties of the plant *Gynandropsis gynandra* (L.) *Brig. Vet Parasitol* 1992;42:123-136.
13. Pagano M, Gauvreau K. Principles of Biostatistics. 1st ed. New York:Duxbury Press, 1993.
SAS. SAS/STAT users guide. Version 6.12. 4th ed. Cary (NC):SAS Institute Inc., 1989.
Lwande W, Ndakala AJ, Hassanali A, Moreka L, Nyandat E, Ndungu M, *et al.* *Gynandropsis gynandra* essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) repellents. *Phytochemistry* 1999;50: