EFECTO OVICIDA Y LARVICIDA DE CIERTOS EXTRACTOS VEGETALES*

J. Valderrábano, J. Uriarte
Servicio de Investigación Agroalimentaria, Diputación General de Aragón
Apdo. 727, 50080 Zaragoza. E-Mail Jvalderrabano@aragob.es

INTRODUCCIÓN

La infección por nemátodos gastrointestinales (GI) es uno de los principales factores limitantes para el desarrollo de los sistemas de producción de rumiantes en base al pasto (Uriarte y Valderrábano, 1989), lo que ha dado lugar a que los tratamientos antihelmínticos se hayan convertido en una práctica rutinaria de manejo en las explotaciones ovinas. Sin embargo, numerosos informes (Waller, 1997) han puesto en evidencia la aparición de resistencias vinculadas al uso reiterado de fármacos, lo que exige la búsqueda de otros métodos alternativos para el control de los nemátodos que sean baratos y seguros para el consumidor.

El interés por reducir la aplicación de productos químicos de síntesis en agricultura, está llevando a intensificar el estudio de los productos naturales. El efecto vermífugo de extractos de ciertos plantas es conocido de antiguo (Font Quer, 1981). Aunque su modo de acción no es bien conocido todavía parece que sus propiedades antihelmínticas se deben a una inhibición de la acetilcolinesterasa, enzima que interviene en los procesos de transmisión del impulso nervioso (Korayen et al., 1993).

Este trabajo se realizó para valorar *in vitro* la capacidad de extractos acuosos de *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Punica granatum* (granado) y *Timus vulgaris* (tomillo) para inhibir la eclosión de huevos y la evolución a larvas infectantes de nemátodos gastrointestinales ovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los extractos acuosos se prepararon a partir de 10 g de hojas y flores de ajenjo (A) y tomillo (T) y de frutos de granado (G), previamente desecados en estufa a 60°C, mantenidos en maceración con 250 ml de agua destilada durante 48h. Tras este tiempo, el macerado se filtró, constituyendo este filtrado la solución que llamaremos S, a partir de la cual se prepararon diluciones al 50% (S/2), 25% (S/4), 12.5% (S/8) y 6.25% (S/16).

La potencialidad de estos extractos acuosos como antihelmínticos se valoró *in vitro* según el método descrito por Hubert y Kerboeuf (1992). Los efectos antiparasitarios fueron testados frente a una mezcla de huevos de nemátodos GI constituida principalmente por *Ostertagia* spp , *Haemonchus* spp. y *Trichostrongylus* spp. procedente de heces de una oveja adulta donante del rebaño experimental del SIA. La concentración de huevos obtenida tras sucesivos lavados y filtrados se estimó en 5 muestras de 50 µl. El efecto ovicida se estimó a partir del número de larvas desarrolladas sobre cantidades conocidas de huevos incubados en medio nutritivo a 27°C durante 48h a las que se les añadió la solución S en concentraciones del 100, 50, 25, 12.5 y 6.25% o agua destilada. El test de desarrollo larvario se llevó a cabo tras 48h de incubación cuando los parásitos habían alcanzado el 1er estadio larvario. Entonces, se añadieron las concentraciones de la solución S establecidas a los cultivos. El 3er

* Trabajo financiado por el proyecto INIA SC00-060

estadio larvario se alcanzó siete dias mas tarde, valorandose entonces el número de larvas vivas por tratamiento.

Se utilizaron como referencia los antihelminticos comerciales fenbendazol (F) (Panacur 25mg/ml de Hoechst Rousset Vet.) y levamisol (L) (Levamisol 100 de Industrial Veterinaria, S.A) a concentraciones de 10; 1; 0.1; 0.01 y 0.001µg/ml, por ser compuestos de uso habitual y representantes de dos grupos de fármacos con mecanismos de acción diferentes. La valoración de los tratmientos antihelmínticos a las distintas concentraciones empleadas y de las nuestras testigo se hizo por triplicado expresandose los resultados en % de huevos eclosionados o L3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mientras que el 69.4% de los huevos eclosionaron tras ser incubados *in vitro* durante 48 h en el tratamiento testigo, la proporción de huevos eclosionados se redujo significativamente ($p<0.05$) tanto cuando se incubaron en la solución standard (S) de ajenjo (4.6%), granado (0%) o tomillo (11.9%) como a concentraciones diluidas S/2 e incluso para las S/4 de ajenjo y granado (Fig 1) . A mayores diluciones la proporción de huevos eclosionados no difirió de la observada en el tratamiento testigo para ninguno de los extractos estudiados. El tratamiento con levamisol a 10 µg/ml presentó uno porcentaje de eclosión de huevos del 13.9% que fue creciendo con la dilución, aunque siempre se mantuvieron inferiores al testigo. Sin embargo, los tratamientos con fenbendazol no presentaron efectos ovicidas significativos.

En el tratamiento testigo un 65.7% de los huevos eclosionados evolucionaron a larvas infectantes (L3), no observandose ninguna larva viva en los cultivos tratados con la dosis standard de granado y unicamente un 32% en los de ajenjo. En cultivos tratados con diluciones mayores de estos extractos y en los de tomillo el porcentaje de larvas evolucionadas no difirieron del testigo. El efecto larvicida de los antihelminticos comerciales utilizados resultó muy evidente hasta concentraciones de 0.001 µg/ml en el caso del levamisol y de 0.1 µg/ml en el caso del fenbendazol a partir de las cuales el porcentaje de larvas L3 no difirieron de las encontradas en el testigo.

Fig 1. Huevos eclosionados (%)

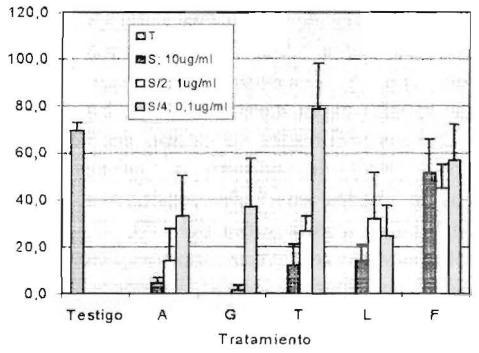
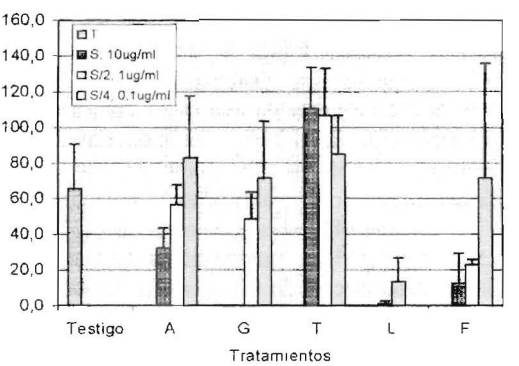


Fig 2. Evolución de L3 (%)



Los resultados obtenidos ponen claramente de manifiesto el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de ajenjo, granado y tomillo en el desarrollo del ciclo de los parasitos gastrointestinales del ganado ovino. Las propiedades ovicidas de los extractos estudiados se pusieron en evidencia tanto por la reducción, en relación al testigo del porcentaje de eclosión de huevos incubados en presencia de concentraciones S y S/2, como por la similitud de respuesta frente al levamisol y fueron claramente superiores a la respuesta frente al fenbendazol para las concentraciones utilizadas. Sin embargo, la capacidad de inhibición del desarrollo larvario únicamente difirió del testigo en el tratamiento S para el ajenjo y el granado (Fig 2) aun cuando las larvas parecen ser mas susceptibles a los antihelminticos que los huevos (Hubert y Kerboeuf, 1992). En este sentido es de destacar el aumento del porcentaje de evolución a L3 del tratamiento S de ajenjo respecto a ensayos anteriores (Bara et al., 1999) que se observaron evoluciones del 9% a larvas infectantes de *Trichostrongylus colubriformis*. Este incremento podría ser debido a que en el presente ensayo los extractos se testaron frente a una mezcla de parasitos cuya susceptibilidad frente al ajenjo podria diferir según la especie.

La eficiencia de metabolitos secundarios extraidos de algunas especies de plantas frente a la motilidad y eclosión de huevos de nemátodos parásitos de plantas, ya fue puesto en evidencia por Korayen et al., (1993). Aunque en el caso de parásitos animales los test *in vitro* no tienen en cuenta la metabolización del producto en el huesped, en estudios con fármacos convencionales se han observado buenas correlaciones entre la susceptibilidad de los estados libres y la de los parásitos (Kerboeuf, 1991), por lo que los extractos estudiados, sobre todo de ajenjo y granado ofrecen grandes posibilidades como antihelmínticos naturales de los nemátodos gastrointestinales.

REFERNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bara, S. Zaragoza, C., Valderrábano, J. 1999. Congr. Soc. Espaañola de Malherbología, 233-240.

Font Euer, P. 1981. Editorial Labor. 1033 pp.

Hubert, J. Kerboeuf, D. 1992. Vet. Rec. 130: 442-446.

Kerboeuf, D. 1991. Journees Toulousaines de Parasitologie Vet. 30-41.

Korayem, A.M., Hasabo, S.A., Ameen, W.W. 1993. Anz. Schadlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz 66: 32-36.

Uriarte, J., Valderrábano, J. 1989. Vet. Parasitol. 31:71-81.

Waller, P.J. 1997. Vet. Parasitol. 72: 391-412.