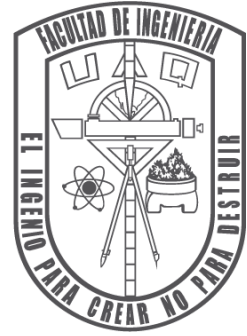




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE INGENIERÍA

INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Evaluación del efecto acaricida de *Plectranthus sp* mediante la prueba *in vitro* de paquete larval (LPT) para el control de *Rhipicephalus microplus*.

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Ingeniero Agroindustrial

**Presenta:**

Luis David Muñoz Contreras

**Dirigido por:**

M. en C. Alma Rosa Martínez Ramos

Concá, Arroyo Seco, Qro  
Mayo 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Evaluación del efecto acaricida de *Plectranthus sp* mediante la prueba *in vitro* de paquete larval (LPT) para el control de *Rhipicephalus microplus*.

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Ingeniero Agroindustrial

**Presenta:**

Luis David Muñoz Contreras

**Dirigido por:**

M. en C. Alma Rosa Martínez Ramos

**Co-dirigido por:**

Dr. Urso Dávila Montero

M. en C. Alma Rosa Martínez Ramos  
Director

Dr. Urso Dávila Montero  
Co-director

M. en C. Adán Mercado Luna  
Sinodal

Dr. Guillermo Abraham Peña Herrejón  
Sinodal

  
Firma

  
Firma

  
Firma

  
Firma

Concá, Arroyo Seco, Qro  
Mayo 2022

## RESUMEN

El control de garrapata es una actividad fundamental en la producción bovina en pastoreo. Estas garrapatas están desarrollando resistencia a diferentes plaguicidas provocando cuantiosas pérdidas en la producción ganadera debido al incremento en la mortalidad por efecto en la transmisión de babesiosis y anaplasmosis y el aumento en la población de garrapata, por tal razón, es importante explorar otras alternativas como el uso de extractos naturales para el control de este acaro. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto acaricida del extracto de la planta de vaporub (*Plectranthus sp*) en el control de garrapata (*Rhipicephalus microplus*). Se procedió obteniendo el aceite esencial mediante destilación por arrastre de vapor y el uso de un equipo rotavapor para evaluarlo posteriormente mediante una prueba *in vitro* de paquete larval (LPT, *por sus siglas en inglés*). Las garrapatas (larvas) *R. microplus* fueron amablemente proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Naturales campus Juriquilla de la Universidad Autónoma de Querétaro. Se evaluaron los tratamientos con las siguientes concentraciones del extracto: T1; 0.05%=0.019 mL, T2; 0.5%=0.19 mL y T3; 5%=1.9 mL, y el testigo (Control=tricloroetileno y aceite de oliva en una relación 2:1). A partir de 4.30 kg de materia fresca vegetal, se obtuvieron 38 mL de extracto de *Plectranthus*, lo cual representa un rendimiento del 0.97%. El tratamiento T3 representó el porcentaje de mortalidad más alto ( $9.64 \pm 0.88$ ) sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). Para representar el efecto acaricida en un mayor porcentaje de mortalidad se propone ser evaluado en un estadio diferente o si el tiempo de exposición de los tratamientos hacia las larvas es prolongado hasta 48 hrs.

**PALABRAS CLAVE:** *Rhipicephalus microplus*, *Plectranthus sp*, prueba de paquete larval (LPT), aceites esenciales, acaricida natural

## ABSTRACT

Tick control is a fundamental activity in grazing bovine production. These ticks are developing resistance to different pesticides causing large losses in livestock production due to increased mortality due to the transmission of babesiosis and anaplasmosis and the increase in the tick population, for this reason, it is important to explore other alternatives such as use of natural extracts to control this mite. The objective of this work was to evaluate the acaricidal effect of the vapour plant extract (*Plectranthus* sp) in the control of ticks (*Rhipicephalus microplus*). The essential oil was obtained by steam distillation and the use of a rotary evaporator to later evaluate it by means of an in vitro larval package test (LPT). The ticks (larvae) *R. microplus* were kindly provided by the Veterinary Microbiology Laboratory of the Faculty of Natural Sciences, Juriquilla campus of the Autonomous University of Querétaro. Treatments with the following extract concentrations were evaluated: T1; 0.05%=0.019 mL, T2; 0.5%=0.19 mL and T3; 5%=1.9 mL, and the control (Control=trichlorethylene and olive oil in a 2:1 ratio). From 4.30 kg of fresh plant matter, 38 mL of *Plectranthus* extract were obtained, which represents a yield of 0.97%. Treatment T3 represented the highest percentage of mortality ( $9.64 \pm 0.88$ ), however, no significant differences were found between treatments ( $P \leq 0.05$ ). To represent the acaricidal effect in a higher percentage of mortality, it is proposed to be evaluated at a different stage or if the time of exposure of the treatments to the larvae is prolonged up to 48 hrs.

**KEY WORDS:** *Rhipicephalus microplus*, *Plectranthus* sp, larval pack test (LPT), essential oil, natural acaricidal

## DEDICATORIAS

“Una tesis es como una partida de ajedrez, tiene cierto número de movimientos, pero desde el principio hay que estar capacitado para predecir los movimientos a efectuar con vistas a dar el jaque mate al adversario”

Umberto Eco

A la vida por dejarme disfrutar, admirar y conocer cada una de sus bellezas naturales (su flora, su fauna) así como permitirme encontrarme con personas que se convirtieron en pilares importantes en mi camino del cual les dedico el presente trabajo.

A mis padres Luis Muñoz Sánchez y María Magdalena Contreras Guzmán quienes siempre han sido mi guía y ejemplo en la vida , quienes han sido testigo de mis logros donde cada uno es para ellos , así mismo a mis hermanos: Ismael Muñoz Contreras, Harisaí Muñoz Contreras y Alondra Muñoz Contreras con quienes disfruto cada etapa de mi vida y agradezco su apoyo y compañía incondicional, a mis abuelitos paternos y maternos: Luis Muñoz Gonzáles , Ma. Del pilar Sánchez Palacios , Jesús Contreras Elías y Ma. Del Socorro Guzmán Botello de la misma forma a toda mi familia donde siempre dedicaré mis trabajos, mis logros, mis metas y mi profesión por nunca dejarme solo en este trayecto llamado vida.

A mis amigos Ricardo Reséndiz Pérez, Johana Rojas Medina, Aldair Hernández Díaz, Elías Daniel Trejo Rivas, Carlos Edrey Ramírez Maldonado, Andrea Rebollo López, Verónica Guadalupe Pérez Pérez y Adán Reséndiz Aguillón por demostrar su apoyo en todo momento, que siempre serán personas especiales que considero como mi segunda familia y que a lo largo de este trayecto me han acompañado en momentos buenos y no tan buenos, es por eso que se ganaron un gran lugar en mi vida y en este apartado.

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento, a las siguientes personas y campus de mi universidad que, con su apoyo emocional, intelectual y económico, han hecho posible la realización de esta tesis, cumpliendo así uno de los objetivos más importantes para mí.

Principalmente a la Universidad Autónoma de Querétaro campus Conca por convertirse como un segundo hogar quien ha sido y será una guía importante que me impulsará con la preparación adecuada para enfrentar al obstáculo llamado vida, gracias a todo su equipo de trabajo (docentes y alumnos) donde cada uno me dejó una nueva enseñanza.

Agradecer principalmente a M. en C. Alma Rosa Martínez Ramos por ser mi directora de tesis y apoyarme en todo momento en la realización de este proyecto y guiarme con su inteligencia y experiencia.

Al M.V.Z MSc PhD Urso Martín Dávila Montero por aceptar ser parte de este proyecto de tesis y guiarme con sus conocimientos como profesional en el área pecuaria (bovinos y sus cuidados).

Al M en C Adán Mercado Luna por aceptar ser mi uno de mis sinodales de tesis y guiarme con su profesionalismo en el área de la agronomía, así como sus conocimientos en el tema del funcionamiento de los metabolitos que se encuentran en la planta de Vaporub.

Al Dr. Guillermo Abraham Peña Herrejón por ser parte de este proyecto de tesis y apoyarme en todo momento en la realización de éste, además su forma de guiarme con su inteligencia, paciencia y experiencia estricta para así poder redactar con profesionalismo este proyecto de tesis.

A la Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú y al M.V.Z Aldo Josué Pavón Rocha por su profesionalismo y conocimientos sobre las garrapatas y así gracias a su ayuda guiarme para que este trabajo se realizara de la manera más correcta y profesional.

Al Dr. Octavio Roldan Padrón por su profesionalismo y conocimientos en el laboratorio y sobre los extractos, gracias a su ayuda guiarme para que este trabajo se realizara de la manera más correcta y profesional.



## ÍNDICE

RESUMEN .....	I
ABSTRACT .....	II
DEDICATORIAS .....	III
AGRADECIMIENTOS .....	IV
INDICE DE FIGURAS .....	VI
INDICE DE TABLAS .....	VII
1. INTRODUCCIÓN .....	1,2
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Importancia del ganado bovino .....	3
2.2 Enfermedades en bovinos.....	4
2.3 Garrapata del bovino ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ).....	5
2.4 Control químico de Garrapata ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ).....	7
2.5 Control biológico de Garrapata ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ) .....	9
2.6 Control natural de Garrapata ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ): uso de extractos de plantas.....	10
2.7 Vaporub ( <i>Plectranthus sp</i> ).....	12
2.8 Técnicas de evaluación <i>in vitro</i> de actividad acaricida.....	14
2.9 Prueba de paquete larval (LPT, por sus siglas en inglés) .....	15
3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS .....	16
4. METODOLOGÍA.....	16
4.1 Obtención de materia vegetal para la elaboración del extracto natural.	17
4.2 Obtención del aceite esencial de <i>Plectranthus sp</i> .....	17
4.3 Diseño de tratamientos para la evaluación <i>in vitro</i> .....	18
4.4 Modelo “paquete de larvas” in vitro .....	19
4.5 Análisis estadístico.....	20
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	21
5.1 Obtención del aceite esencial de <i>Plectranthus</i> .....	21
5.2 Porcentaje de mortalidad mediante la prueba LPT .....	22
6. CONCLUSIONES.....	24
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Morfología general de la garrapata .....	5
Figura 2 . Ciclo de vida de la garrapata.....	7
Figura 3. Mecanismo de acción de los productos sintéticos .....	9
Figura 4 Ciclo de desarrollo de un hongo entomopatógeno.....	10
Figura 5.Hoja de la planta de vaporub ( <i>Plectranthus sp.</i> ) .....	13
Figura 6. Recolección del material vegetal.....	17
Figura 7. Pesaje de material vegetal fresco .....	18
Figura 8 Aplicación de los tratamientos preparados al papel filtro .....	19
Figura 9. Paquetes preparados para la incubación .....	20
Figura 10. Conteo de larvas vivas y muertas .....	20
Figura 11 Solución final del extracto del <i>Plectranthus</i> .....	21

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Productos utilizados en México para el control químico de garrapatas en el ganado bovino. ....	8
Tabla 2 Diseño de tratamientos <i>in vitro</i> .....	18
Tabla 3 Resultados y porcentaje de mortalidad .....	22

## 1. INTRODUCCIÓN

Los ectoparásitos, principalmente las garrapatas, son una de las mayores amenazas que enfrenta la ganadería bovina en los trópicos. La garrapata *Rhipicephalus microplus* y las enfermedades que transmite, causan cuantiosas pérdidas económicas a la producción bovina (Mayahua, 2015). Las pérdidas económicas causadas por garrapatas *R. microplus* están calculadas en México y en el mundo por el orden de los 573 millones( Rodríguez-Vivas et al., 2017) y 2.5 billones de dólares americanos anuales, respectivamente.

Los daños que provocan las garrapatas sobre la salud de los animales se clasifican en directos e indirectos, los daños directos se deben a lesiones en la piel causadas por la picadura del ácaro, pérdida de sangre (dado que la garrapata es hematófaga) y muerte por toxicidad, como reacción a la picadura; también pueden ocasionar disminución de los parámetros productivos (producción de leche y carne) y reproductivos. Los daños indirectos se deben a la transmisión de diversos agentes patógenos como *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale*, causantes de la babesiosis y anaplasmosis bovina, respectivamente (Inés et al., 2010).

Los métodos para el control de garrapatas se fundamentan en la utilización intensiva de acaricidas sintéticos, como los organofosforados y piretroides (Araque et al. 2014).

En México, existen productos acaricidas disponibles en el mercado y uno de los principales es la ivermectina (lactonas macrocíclicas) que se obtiene por la fermentación de *Streptomyces spp* y posee efectos tanto nematicidas como acaricidas (Olmedo et al., 2015). Este es el producto de más amplia distribución y uso; fue introducido como fármaco en 1981 (Leite et al., 2018). Una de las ventajas de este producto es que funciona para combatir garrapatas y moscas al mismo tiempo; sin embargo, el riesgo de generar poblaciones de garrapatas resistentes es mayor, por lo que su uso debe ser de manera estricta siguiendo

las indicaciones establecidas en la etiqueta del producto. El uso indiscriminado de estos productos ha provocado la selección de poblaciones de garrapatas resistentes, así mismo disminuyendo progresivamente el efecto y elevando los costos de desarrollo de nuevos acaricidas ( Rodríguez-vivas et al. 2006). Hoy en día los productos sintéticos son los principales autores en la problemática del medio ambiente, debido a que los residuos generan diversos daños al planeta como: contaminación del suelo, del aire y del agua. Además, si éstos son empleados de forma incorrecta pueden causar toxicidad para el aplicador. La aplicación de lactonas macrocíclicas (LM) tiene un impacto ambiental negativo y se ha demostrado que en fincas donde los animales han sido tratados con LM, disminuye la diversidad y abundancia de las poblaciones de escarabajos estercoleros, que se consideran fundamentales por su actividad en la desintegración de la materia fecal, la cual posteriormente se reintegra al suelo (Basto-estrella et al. 2012).

Por otro lado, los extractos que obtenemos de las plantas como *Plectranthus sp* (vaporub) han demostrado tener un efecto acaricida, no afectan al medio ambiente y disminuyen el desarrollo de resistencia por parte de la garrapata. Además, los productores han recurrido a opciones de bajo costo en prácticas de higiene animal por lo que esta planta, se convierte en una alternativa para el control de este acaro (Njoroge & Bussmann, 2006). Siendo así, esta investigación está enfocada en evaluar el extracto de dicha planta para el control de garrapata, con el objetivo de identificar la dosis adecuada y ofrecer así la posibilidad de que el productor prepare sus propios acaricidas, teniendo así también, un impacto económico.

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Importancia del ganado bovino**

En muchos países, la ganadería es una actividad multifuncional. Más allá de su papel directo en la generación de alimentos e ingresos, el ganado es un activo valioso, que actúa como reserva de riqueza, garantía en los créditos y constituye una red de seguridad esencial en tiempos de crisis. El sector ganadero aporta un 40 por ciento del valor de la producción agrícola mundial y sostiene los medios de vida y la seguridad alimentaria de casi 1 300 millones de personas. El sector ganadero es uno de los sectores que más rápido crece en la economía agrícola. El crecimiento y la transformación del sector ofrecen oportunidades para el desarrollo agrícola, la reducción de la pobreza y la mejora de la seguridad alimentaria (FAO, 2020) .

Actualmente, la carne y la leche se han convertido en productos básicos para la alimentación humana. A nivel mundial, la producción de carne bovina se encuentra ubicada en el tercer lugar en su tipo con 22%, equivalente a 67.5 millones de toneladas, quedando por debajo de la carne porcina y la aviar. La leche bovina se encuentra en el primer lugar de producción de su tipo representada con 88% a nivel mundial, es decir, se producen 549 millones de toneladas, por encima de la leche de búfalo y de cabra (Hernández, 2014).

La carne puede formar parte de una dieta equilibrada, aportando valiosos nutrientes beneficiosos para la salud. La carne y los productos cárnicos contienen importantes niveles de proteínas, vitaminas, minerales y micronutrientes, esenciales para el crecimiento y el desarrollo. Para evitar de manera eficaz la malnutrición deben suministrarse 20 g de proteína animal per cápita al día, o 7,3 kg al año (FAO, 2014). Alrededor de 150 millones de hogares en todo el mundo se dedican a la producción de leche. En la mayoría de los países en desarrollo, la leche es producida por pequeños agricultores y la producción lechera contribuye a los medios de vida, la seguridad alimentaria y la nutrición de los hogares (FAO, 2021).

## 2.2 Enfermedades en bovinos

Las alteraciones reproductivas son uno de los principales problemas que presentan las ganaderías y son el resultado de enfermedades asociadas con factores de manejo, medidas sanitarias, genética animal y nutrición. La falta de información epidemiológica impide desarrollar programas de control, que garanticen la salud de los animales y la productividad. Múltiples enfermedades causadas por agentes patógenos (virus y bacterias) y ácaros (garrapatas), pueden afectar la reproducción en el ganado bovino (Rivera *et al.*, 2018).

Entre las enfermedades virales, se encuentra la diarrea viral bovina (DVB), que genera pérdidas económicas en las producciones bovinas (Moreno *et al.*, 2017), ya que se estima que, aproximadamente, el 60% del ganado en zonas endémicas se infecta con el virus durante su vida. La DVB es capaz de permanecer latente en su hospedero, debido a que puede infectar fetos y causar tolerancia inmune (Ostachuk, 2016). Otro agente etiológico de tipo viral es el herpes virus bovino tipo 1, que produce la rinotraqueitis infecciosa bovina, una enfermedad que genera alteraciones respiratorias y reproductivas en el ganado (Parreño *et al.*, 2010). Además, *Brucella abortus* es un agente de carácter bacteriano, que afectan la salud animal (Rivera *et al.*, 2018). La brucelosis es una zoonosis bacteriana que afecta la salud pública y la producción ganadera en todo el mundo (Foster *et al.*, 2018). Los organismos pertenecientes al género *Brucella* son cocobacilos gramnegativos o bacilos cortos pequeños, inmóviles, aeróbicos (Taleski *et al.*, 2002). En la actualidad, hay 12 especies conocidas de *Brucella*, incluidas cuatro nuevas especies aisladas de mamíferos (Hofer *et al.*, 2012) pero solo *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. canisson* son patógenos para los seres humanos y tienen un profundo impacto en la salud pública y el bienestar animal (Kamal *et al.*, 2013).

Por otro lado, la babesiosis bovina es una enfermedad parasitaria, que se caracteriza por ocasionar una lisis eritrocítica extensiva que genera anemia y finalmente conlleva a la muerte (Bravo, 2013), mientras que la anaplasmosis bovina es una enfermedad infecciosa, aguda o crónica, caracterizada por presentar anemia e hipertermia, entre otros síntomas (Río, 2019). Dichas

enfermedades son transmitidas por un vector principal; *Rhipicephalus microplus* conocida comúnmente como “garrapata del bovino”.

### 2.3 Garrapata del bovino (*Rhipicephalus microplus*)

Las garrapatas son ácaros artrópodos, comprendidas en dos familias: *Ixodidae* o garrapatas duras y *Argasidae* o garrapatas blandas (Barker & Murrell, 2004). Los artrópodos son el grupo más numeroso de animales que habitan la tierra y las garrapatas son pertenecientes a este phylum y a su vez son caracterizados por tener apéndices articulados. El cuerpo y los apéndices están cubiertos por una cutícula, la cual contiene un polisacárido nitrogenado llamado quitina y una proteína llamada esclerotina que le da dureza a la pared o escudo corporal (Benítez, 2006) (Figura 1).

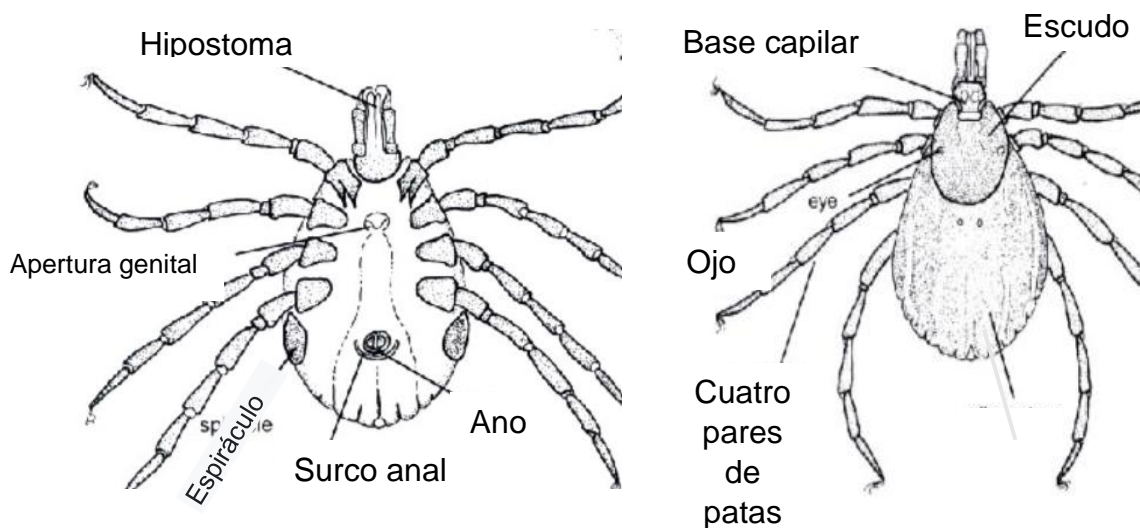


Figura 1 Morfología general de la garrapata (Smith, 2012)

Debido a su gran capacidad de adaptación y propagación las garrapatas del género *Rhipicephalus* perteneciente a la familia *Ixodidae*, se extienden en diversas áreas geográficas de todo el mundo (Venzal, 2006). De las cinco especies que integran a nivel mundial el género *Rhipicephalus*, *R. microplus* presenta mayor importancia por su amplia distribución en gran parte de América (excepto Estados Unidos de Norte América, donde se encuentra erradicado), África, Asia y Australia (Rodríguez-Vivas et al. 2014). *Rhipicephalus microplus* provoca pérdidas relacionadas con la mortalidad de bovinos, reducción en los niveles de producción, alteraciones reproductivas, altos costos

de control, transmisión de diversos agentes patógenos como virus, bacterias, rickettsias y protozoos. Esto puede conducir a enfermedades agudas, crónicas o incluso, a la muerte de los animales.

Entre los efectos de la actividad patógena de esta garrapata, se encuentran la pérdida de peso, disminución en la producción de leche, daños en la piel favoreciendo la aparición de miasis y como ya se mencionó anteriormente, la transmisión de agentes productores de enfermedades como babesiosis y anaplasmosis (Araque et al., 2014). Se ha estimado que el 80% de la población bovina del mundo está expuesta a la infestación por garrapatas. Una garrapata adulta provoca la pérdida, aproximadamente, de 1 g diario de peso vivo en el animal (Jonsson, 2006) y puede llegar a ingerir de 2 a 3 mL de sangre, durante toda su vida parasitaria (Araque et al., 2014) favoreciendo la presentación de alteraciones en la productividad y en la salud de los bovinos, se ha observado que animales infestados con garrapatas reducen su consumo de alimento (consumen 4.37 kg/día), en comparación con animales no expuestos a garrapatas (consumen 5.66 kg/día).

El ciclo de vida de las garrapatas comprende tres fases, la primera conocida como no parasitaria, la cual se inicia cuando la garrapata hembra repleta se desprende de su hospedero hasta que surge una nueva generación de garrapatas en estadio larvario. En esta etapa ocurre la ovoposición, donde cada garrapata oviposita entre 2000 y 3000 huevos (Fernandez, 2015). La incubación y eclosión de los huevos dura alrededor de 30-33 días, teniendo en cuenta que esto puede alargarse, dependiendo de las condiciones ambientales (Fernandez, 2015). La segunda fase se conoce como fase de encuentro y es en esta donde las garrapatas en estado larvario se adhieren al hospedero y logran la detección del mismo debido a quimiorreceptores que detectan gases como el dióxido de carbono, amoníaco, ácido láctico, entre otros olores corporales (Cruz et al. 2009). Finalmente está la fase parasitaria, donde las larvas se encuentran adheridas al hospedero alimentándose de sangre y fluidos, permitiéndoles mudar al estadio de ninfas (Gutiérrez, 2006) donde si continúan alimentándose vuelven a mudar para diferenciarse en machos y hembras jóvenes (Fernandez, 2015) y así seguir



alimentándose de sangre ya sea en el mismo hospedero o en uno nuevo (Figura 2).

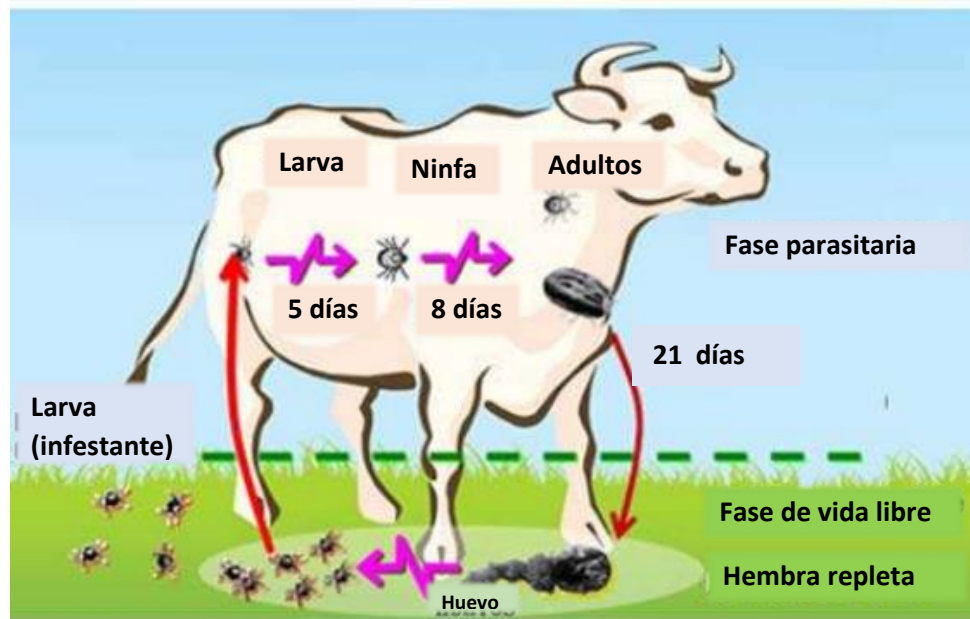


Figura 2 . Ciclo de vida de la garrapata. (senasica, 2018)

Los métodos de control de garrapatas se pueden clasificar en químico, que incluyen el uso de productos sintéticos tales como los organofosforados, piretroides, amidinas, fenilpirazolonas y LM; biológico, que contemplan el uso de agentes microbianos y natural que hace uso de extractos de diferentes plantas (Rodríguez-Vivas et al., 2014).

#### 2.4 Control químico de Garrapata (*Rhipicephalus microplus*)

Se le denomina control químico al uso de productos sintéticos como son los ixodicidas (llamado así por la familia al cual pertenece las garrapatas). Los acaricidas sintéticos o ixodicidas son la estrategia más utilizada para el control de *R. microplus* (Rodríguez-vivas, 2006). En México existen más de 50 productos para el control químico de las garrapatas los cuales pertenecen a 6 grupos distintos entre los que se encuentran las LM (Rodríguez-vivas et al., 2010). En la Tabla 1 se representa algunos de estos productos.

Tabla 1. Productos utilizados en México para el control químico de garrapatas en el ganado bovino.

Familia	Sustancia activa	Forma de aplicación
Organofosforados	Coumafos Clorpirifos Clorfenvinfos	Inmersión, aspersion
Piretroides sintéticos	Cipermetrina Deltametrina Flumetrina Alfacipermetrina Lambdacyalotrina	Inmersión, aspersion, derrame dorsal  Derrame dorsal
Amidinas	Amitraz	Inmersión, aspersion
Lactonas macrocíclicas	Ivermectina Moxidectina Doramectina	Inyectable, derrame dorsal Inyectable
Fenilpirazolonas	Fipronil	Derrame dorsal
Inhibidores del desarrollo	Fluazurón	Derrame dorsal

(Rodríguez, 2014)

Estos acaricidas se aplican sobre el cuerpo de los animales infestados a intervalos específicos determinados por la región ecológica, especies a las que se va a combatir y por la eficacia residual del producto empleado (Rodríguez-Vivas et al., 2014).

En México en el año de 1992, la norma NOM-003-STPS permitió el uso de los siguientes productos químicos para el control de la garrapata: Coumafos, Clorfenvinfos, Flumetrina, Deltametrina y Cipermetrina. Éstos actúan sobre la membrana de las células de sistema nervioso, perturbando la transmisión correcta del estímulo nervioso (Figura 3). Con una concentración baja el acaro sufre de una hiperexcitación y a altas concentraciones una parálisis y la muerte (Treviño, 2013).

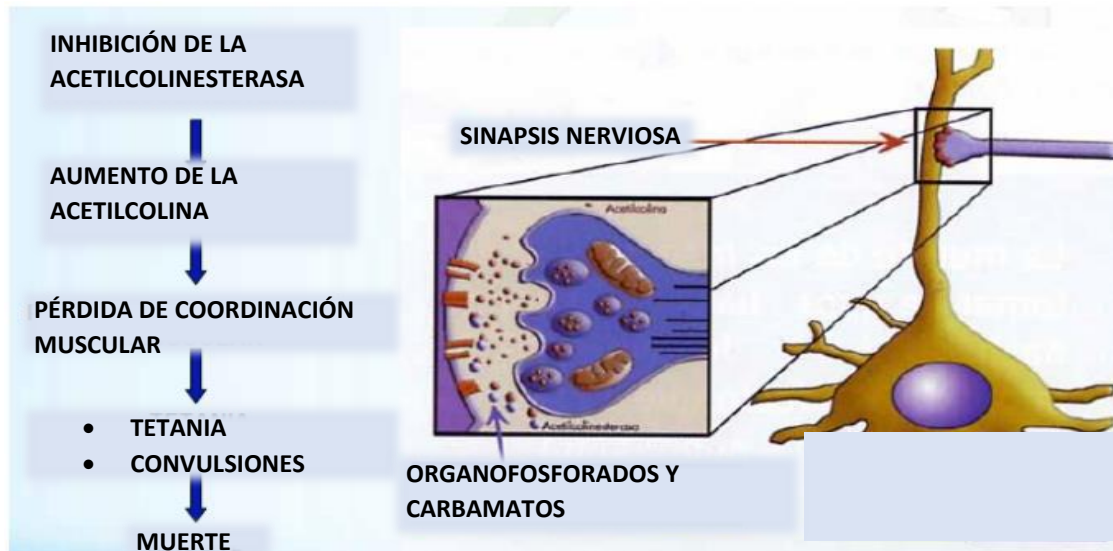


Figura 3. Mecanismo de acción de los productos sintéticos (Olguín, 2016)

## 2.5 Control biológico de Garrapata (*Rhipicephalus microplus*)

El control biológico ha demostrado ser una alternativa promisoriosa y económicamente prometedora para el control de garrapatas en los bovinos (Rot et al., 2013). Estas alternativas se clasifican en hongos entomopatógenos (*Metarhizium* sp; *Beauveria* sp), bacterias (*Cedecea lapagei*, *Escherichia coli* y *Enterobacter agglomerans*), nematodos entomopatógenos (*Heterorhabditidae* y *Steinernematidae*), y hormigas reguladoras (*Solenopsis germinata*, *S. saevissima*, *Camponotus rengira* y *Ectatomma quadridens*) (Ojeda-Chi et al., 2010). Todos estos agentes afectan principalmente los estadios de vida libre de las garrapatas (Fernández-Salas et al., 2012).. Así mismo, existen reportes del uso de otros hongos como: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*, *Verticillium lecanii*. En condiciones *in vitro* e *in vivo* *Metarhizium anisopliae* ha demostrado eficacia del 50 al 100% en el control de todas las fases de desarrollo de las garrapatas, afectando su índice reproductivo, longevidad, eclosión, entre otros (Rodríguez-Alcocer et al., 2014).

En los últimos cuatro años se han desarrollado aproximadamente 171 productos alrededor del mundo, de los cuales únicamente tres contienen *M. anisopliae* y *B. bassiana* para el control de garrapatas. Uno de ellos es Baubassil®. Por otra parte, se ha implementado el uso de la nanotecnología para desarrollar formulaciones fúngicas, por ejemplo, la microencapsulación de las conidias para

protegerlas de las condiciones climáticas adversas (radiación solar, temperatura, humedad, etc.) e incrementar su eficacia (Fernández-Salas et al., 2012). Diversos estudios revelan efectividad de *B. bassiana* como control biológico sobre poblaciones de garrapatas de la familia Ixodidae (Ojeda-Chi et al., 2010). La efectividad de los entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* ha sido estudiada ampliamente en hatos ganaderos del mundo, considerándolos inocuos para el medio ambiente y la salud humana, tomando gran interés en su uso como acaricidas (Martín et al., 2015).

*Beauveria bassiana*, al igual que otros hongos entomopatógenos, antes de matar a su hospedero, al activarse el mecanismo de acción le causa síntomas importantes como son: pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, letargo, inapetencia, melanización y parálisis (Figura 4). Con la muerte del insecto, el beneficio se incrementa pues la esporulación y posterior dispersión del hongo, permite un control más allá de la aplicación (Malpartida-zevallos, 2013).



Figura 4 Ciclo de desarrollo de un hongo entomopatógeno (González, 2011)

## 2.6 Control natural de Garrapata (*Rhipicephalus microplus*): uso de extractos de plantas

En la agricultura y ganadería se utilizan cada vez más productos orgánicos obtenidos de plantas con fines antimicrobianos o antisépticos. Estos productos

tienen las ventajas de no ser dañinos para humanos y animales, no contaminan los ecosistemas y garantizan la inocuidad de los productos agropecuarios (García, 2012).

Las plantas han sido utilizadas durante miles de años en muchas partes del mundo por sus propiedades nutritivas y medicinales y con el desarrollo de la industria farmacéutica ha ido creciendo el interés por parte de los investigadores en estudiar sustancias naturales que tengan alguna propiedad antimicrobiana que pudiera resultar útil a la medicina actual (Jordán et al., 2013).

En México, Rosado-aguilar et al. (2010) evaluaron la eficiencia de 45 extractos metanólicos de los extractos de plantas de *Petiveria alliacea*, en larvas de *R. microplus* reportando eficacias de 5 - 99%; y en adultas del 86%, así como el 91% de reducción en el índice de eficiencia reproductiva. Además, en estos extractos se identificaron, mediante cromatografía de gases, al benciltrisulfuro y bencildisulfuro como los posibles compuestos responsables del efecto acaricida. Martínez-Velazquez et al. (2011) reportaron 100% de eficiencia para el control de larvas aplicando aceites esenciales extraídos de *Cuminum cyminum* y *Pimenta dioica*. Por otro lado, los mismos autores estudiaron, el efecto acaricida de aceites esenciales de hojas de orégano (*Lippia graveolens*), hojas de romero (*Rosmarinus officinalis*) y bulbos de ajo (*Allium sativum*) encontrando eficiencias de 85 a 100 % contra larvas de *R. microplus*. Los aceites esenciales y los extractos vegetales comprenden propiedades acaricidas y repelentes complejas contra las garrapatas (Ellse & Wall, 2014). El uso de extractos de plantas son una opción como método natural de control de garrapatas (Dantas et al., 2015).

Una gran variedad de especies evaluadas por su efecto acaricida pertenece a la familia Lamiaceae. Las especies de esta familia se caracterizan por variedades de metabolitos secundarios antiparasitarios, que se utilizan principalmente en estudios de etnomedicina (Tariq et al., 2016). La mayoría de los artículos publicados recientemente son de Brasil y otros países tropicales, donde las condiciones climáticas favorecen la supervivencia de las garrapatas (Adenubi et al., 2016). Las hojas fueron las partes más utilizadas para la extracción de compuestos ya que debido a la presencia de varios constituyentes bioactivos de éstas ,se derivan diversos usos y productos (Tangjitman et al., 2015).

## 2.7 Vaporub (*Plectranthus sp*)

La familia *Lamiaceae* contiene varios géneros con una rica diversidad de usos etnobotánicos (el uso y aprovechamiento de las plantas en los diferentes espacios culturales y en el tiempo), uno de ellos es *Plectranthus*, el cual contiene alrededor de 300 especies. Encontrado en África tropical, Asia y Australia. Algunas especies de *Plectranthus* son difíciles de identificar debido a la falta de criterios morfológicos claros para discriminar no solo entre especies dentro del género sino también entre los géneros estrechamente relacionados. Esto ha resultado en numerosos problemas taxonómicos en el nombramiento de especies y a menudo se tienen colocadas en varios géneros estrechamente relacionados como *Coleus*, *Solenostemon* y *Englerastrum*. Además, algunas especies relacionadas formalmente en *Plectranthus*, ahora son reconocidos como *Isodon* más lejanamente relacionado (Lukhoba et al. 2006).

En más del 85% de la literatura, la documentación de *Plectranthus* se basa en los valores terapéuticos de este género, seguidos de sus propiedades nutricionales y hortícolas atribuidas a su naturaleza aromática y capacidad de producción de aceite esencial (Alasbahi & Melzig, 2010). *Plectranthus amboinicus* (Loureiro) Sprengel es una de las especies más documentadas de la familia *Lamiaceae*. *Plectranthus amboinicus*, también conocida comúnmente como borraja india, es una hierba carnosa y suculenta famosa por su distintivo sabor y olor a orégano. Es una de las especies más citadas de la familia *Lamiaceae*, especialmente por sus propiedades medicinales, y representa el 68% de todas las aplicaciones habituales de este género (Lukhoba et al., 2006)

La naturaleza aromática del género *Plectranthus* se atribuye a la producción de aceites esenciales (Alasbahi & Melzig, 2010). Los diterpenoides en *Plectranthus* pueden estar involucrados en la resistencia contra insectos y microorganismos Grayer et al. (2010).

*Plectranthus sp* es un arbusto suculento con tendencia a trepar o arrastrarse. Puede alcanzar más de 1 m de altura y aún más de ancho en la naturaleza (Patel et al., 2010). Esta enorme y suculenta hierba es carnosa y muy aromática. Los tallos carnosos crecen entre 30 y 90 cm, ya sea con pelos largos y rígidos, o cubierto de pelos suaves, cortos y erguidos (Prasad et al., 2020). Las hojas del



vaporub son indivisas (simples), ampliamente ovadas a suborbiculares con una punta ahusada (ovadas) y muy gruesas; ellos son pubescentes (densamente tachonados con pelos), con la superficie inferior que posee los más numerosos pelos glandulares, que dan un aspecto helado (Figura 5) (Spreng, 2010). El olor de esta hoja es agradable y refrescante, además, éstas contienen una mezcla de esteroides y triterpenos, campesterol,  $\alpha$ -amirina y  $\beta$ -amirina, aceites esenciales y compuestos tipo salvinatorina de estructuras químicas desconocidas (Osman, 2013).



Figura 5. Hoja de la planta de vaporub (*Plectranthus* sp.)

El aceite de *Plectranthus* sp es rico en monoterpenos oxigenados, hidrocarburos monoterpénicos, hidrocarburos sesquiterpénicos y sesquiterpenos oxigenados (Lukhoba et al., 2006). El aceite esencial de hoja de *Plectranthus* sp es particularmente rico en monoterpenos fenólicos como el timol y carvacrol, que se especula que ejerce varias propiedades farmacológicas (Spreng, 2010).

En algunos reportes se ha señalado que los aceites esenciales o sus componentes monoterpenoides producen intoxicación neurotóxica, similar a la producida por los organofosforados y carbamatos, mediante la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (Ochoa et al., 2017), lo cual ofrece una posibilidad de utilizarlos como acaricida. El efecto neurotóxico se produce cuando, en la

transmisión del impulso nervioso, la acetilcolina es liberada de las vesículas de las terminales nerviosas cuando estas son despolarizadas y, a continuación, la acetilcolina ingresa a la sinapsis y se une al receptor postsináptico. Esta posee una vida media corta debido a la presencia de la acetilcolinesterasa, una enzima que hidroliza la unión éster de la molécula, con lo cual se interrumpe la actividad estimuladora. La inhibición de la acetilcolinesterasa prolonga la transmisión eléctrica, ya que la acetilcolina está estimulada (Houghton et al., 2006). A pesar de esto, *Plectranthus sp* no ha sido evaluada como acaricida.

## **2.8 Técnicas de evaluación *in vitro* de actividad acaricida**

Para el adecuado diagnóstico de resistencias a acaricidas químicos en garrapatas, se han desarrollado: métodos químicos, bioensayos y pruebas moleculares (FAO, 2004). Son tres los bioensayos desarrollados, dos de ellos para estadio larval y uno para estadio adulto.

- Prueba de Inmersión de adultos: Fue desarrollada por Drummond en 1973 es usada para determinar la eficacia de acaricidas en poblaciones de garrapatas, en estadio adulto (Junte, 2008). Para teleoginas (garrapatas hembras ingurgitadas) es la referencia a nivel mundial aprobada por la FAO para la detección de resistencia (FAO, 2004). El criterio de esta técnica para diagnosticar susceptibilidad o resistencia a un acaricida es la producción de huevos después del tratamiento. Se basa en la inmersión de teleoginas en varias concentraciones del acaricida incluyendo la dosis terapéutica recomendada por los fabricantes, obteniendo el peso de la masa total de huevos, porcentaje de eclosión, eficacia y factor de resistencia al producto (Drummond et al., 1976) .
- Prueba de Paquete larval (*LPT*: por sus siglas en inglés): fue descrita por primera vez por Stone & Haydock en 1962 y modificada para el amitraz por (Santos et al., 2013), esta prueba ha sido reconocida por la FAO para diagnosticar resistencia, y es promovida por esta organización. Consiste en exponer larvas de garrapatas en una superficie de papel filtro que se impregnó de forma previa con ixodicidas. La mortalidad larval se cuantifica entre las 24 y 72 horas.



- Prueba de Inmersión de larvas: fue descrita por Shaw (1966) ha tenido varias modificaciones; sin embargo, no ha sido estandarizada, pero ya ha sido usada especialmente para acaricidas de acción sistémica (Klafke et al., 2012). se emplea como bioensayo para evaluar la eficacia de compuestos sintéticos y extractos de origen natural sobre garrapatas. La parte crítica de este bioensayo en la evaluación de extractos naturales, es el uso de disolventes que permitan la completa disolución de las muestras y que no sean tóxicos para el organismo a evaluar (Chagas et al., 2003). Los compuestos más utilizados para disolver extractos crudos vegetales son el etanol, metanol y dimetilsulfóxido (DMSO); sin embargo, estos compuestos presentan cierta toxicidad en el organismo a evaluar. El detergente Tween es un compuesto inocuo que tiene la propiedad de disolver grasas y es utilizado en la industria farmacéutica y alimentaria, por lo que podría ser utilizado como disolvente de extractos de plantas en bioensayos.

## **2.9 Prueba de paquete larval (LPT, por sus siglas en inglés)**

Un estudio realizado por Pérez (2019) mediante la prueba LPT, mostró la presencia de resistencia a los diferentes productos químicos en las garrapatas y va entre 67 y el 75% para el amitraz; entre 42 al 50% para el alfa-cipermetrina y, entre 25 a 50% para la ivermectina. En varios países se han realizado pruebas LPT para determinar la resistencia a acaricidas en *R. microplus*, por ejemplo, en Brasil 19 de 20 poblaciones de garrapatas, fueron resistentes al amitraz (Santos et al., 2013).

El reporte descrito por Pajuelo (2011) muestra la mortalidad de larvas utilizando la aplicación de las diferentes dosis de extractos de *Sapindus saponaria* como son 6%, 8%, 10%, 15% y 25% para el control de larvas de *Boophilus microplus*; al análisis estadístico mostró que existe dependencia significativa a ( $p < 0.0001$ ) entre concentraciones lo que indica que existe relación directa entre la concentración del extracto con el efecto larvicida.

Romario (2020) reporta que la mortalidad de larvas de las poblaciones de *R. microplus* tuvieron diferencias significativas evaluando los acaricidas sintéticos en las diferentes fincas ubicadas en el estado de Veracruz y Nuevo León. También se evaluó cipermetrina, la cual presentó muy baja mortalidad en la población de Veracruz (6.03%) y una mortalidad elevada en la población de Nuevo León (97.38%), coumafós (antiparasito externo) presentó mortalidades del 100% en ambas poblaciones y la asociación clorpirifós + permetrina presentó elevadas mortalidades para ambas poblaciones (Veracruz = 97.5%) (Nuevo León = 100%), el control (Aceite de Oliva +Tricloroetileno) presentó una mortalidad por debajo del 5%, observándose diferencia significativa con todos los tratamientos, excepto con la cipermetrina en la población de Veracruz.

### **3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS**

#### **Objetivo general:**

- Evaluar el efecto acaricida de *Plectranthus sp* contra *Rhipicephalus microplus*.

#### **Objetivos específicos:**

- Obtener el aceite esencial de *Plectranthus sp*.
- Evaluar tres dosis diferentes del aceite esencial de *Plectranthus sp*, en una prueba *in vitro* de paquete larval (LPT, por sus siglas en inglés).

#### **Hipótesis:**

La aplicación del aceite esencial de la planta *Plectranthus sp* tiene efecto acaricida sobre el porcentaje de mortalidad de larvas de *R. microplus* en una prueba *in vitro* LPT.

### **4. METODOLOGÍA**

El proyecto se llevó a cabo en una colaboración entre la Facultad de Ingeniería y la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro,

campus Concá y campus Juriquilla respectivamente. Esta investigación fue aprobada por el comité de ética de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro, con la clave **CEAIFI-158-2019-TL**.

#### **4.1 Obtención de materia vegetal para la elaboración del extracto natural.**

La planta a utilizar para la elaboración del extracto se obtuvo de la comunidad de Embocadero, Jalpan de Serra, Querétaro en la finca “El Tigre”.

- a) Materia prima vegetal: Se utilizó la planta de vaporub (*Plectranthus sp*).
- b) Selección: La selección del material vegetal se realizó visualmente. Se retiran las hojas de vaporub que presenten pardeamientos producidos por el transporte (excesivo apisonamiento), partículas extrañas, insectos y/o plantas de naturaleza ajenas al vaporub.
- c) Recolección: Se llevó a cabo una recolección manual, cortando el arbusto. El recojo se realizó a primeras horas de la mañana, para evitar una exudación excesiva de la planta (Figura 6).



*Figura 6. Recolección del material vegetal*

#### **4.2 Obtención del aceite esencial de *Plectranthus sp*.**

La metodología para la extracción del aceite esencial se llevó a cabo en el laboratorio de biología molecular del campus Juriquilla de la Universidad Autónoma de Querétaro, la cual se ejecutó de la siguiente manera:

- a) Pesaje de material fresco: Se pesó el material vegetal fresco con una báscula digital obteniendo 4.30 kg de material vegetal fresco (Figura 7).



Figura 7. Pesaje de material vegetal fresco

- b) Se deshidrató el material vegetal fresco en una estufa a 40°C durante 3 días.
- c) Posteriormente se maceró hasta obtener un polvo.
- d) Se obtuvieron 5 g de polvo de la muestra seca a la cual se le agregó una solución de agua y metanol al 80% en una relación de 1:10. La solución se agitó por 16 hrs y se filtró con un papel filtro de 0.22  $\mu\text{m}$ .
- e) Finalmente se realizó la extracción del aceite esencial mediante el uso de un rotavapor a una temperatura de 40°C, una presión de 180 milibares y una temperatura del agua de 2-5°C.

#### 4.3 Diseño de tratamientos para la evaluación *in vitro*

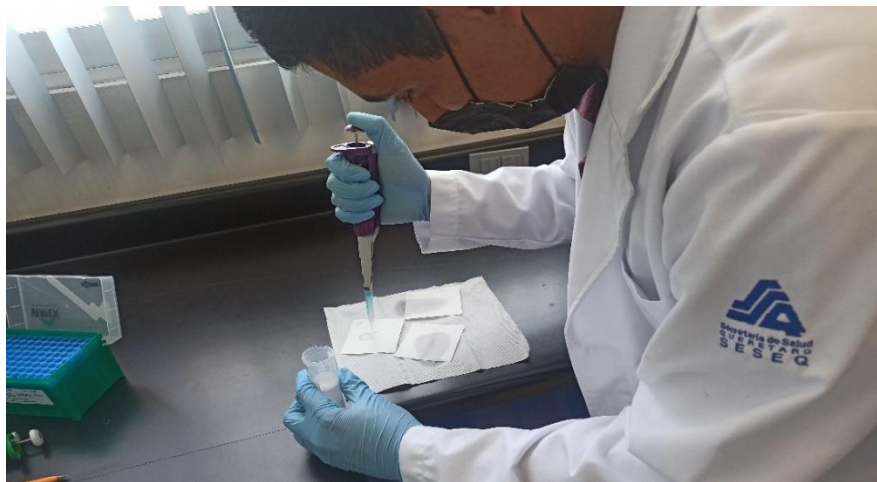
De acuerdo a Jyoti et al. (2019) se evaluaron tres concentraciones del extracto obtenido, estos tratamientos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Diseño de tratamientos *in vitro*

Tratamiento	Concentración del extracto (%)
T1=Vaporub	0.05%
T2=Vaporub	0.5%
T3=Vaporub	5%
T4=Testigo	0

#### 4.4 Modelo “paquete de larvas” in vitro

Las larvas utilizadas en el experimento pertenecen a la cepa media joya (cepa de referencia nacional susceptible a ixodicidas) que fue proporcionada por el Laboratorio de Artropodología del CENID-PAVET del Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA) al Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. La prueba de paquete larval se realizó de acuerdo a Jyoti et al. (2019). En resumen, se recortaron 12 cuadros (para los tratamientos y sus repeticiones) de papel filtro de 8.5 cm de largo y 7.5 cm de ancho, los tratamientos se prepararon diluyendo tricloroetileno y de aceite de oliva con una relación (2:1) a las concentraciones ya mencionadas en la Tabla 2. Se agregó un volumen de 0.7 ml de cada dilución preparada a cada papel filtro (Figura 8).



*Figura 8 Aplicación de los tratamientos preparados al papel filtro*

Se dejaron evaporar los cuadros de papel filtro con los tratamientos durante 2 h, posteriormente éstos se doblaron por la mitad y se colocaron clips metálicos (Clips redondos, Deli No. 8532, Deli Group Co., Ltd., Condado de Ninghai, Zhejiang, China) a los lados, formando paquetes para la recepción de las larvas. Se colocaron 100 larvas en cada paquete, y la parte superior se selló con un tercer clip. Los paquetes con las larvas se incubaron a  $28 \pm 1$  °C y  $85 \pm 5\%$  HR durante 24 hrs (Figura 9).

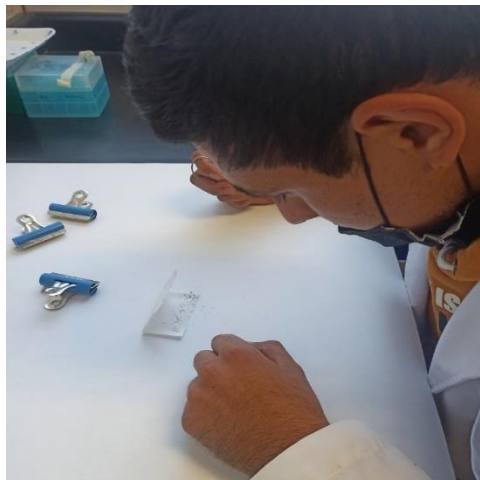


*Figura 9. Paquetes preparados para la incubación*

Transcurridas las 24 hrs se abrieron los paquetes y se contó el número de larvas vivas y muertas con un contador manual 4 dígitos (Figura 10) las larvas que movían las patas, pero no caminaban se contaban como muertas.

Los resultados se compararán con el tratamiento control (Tricloroetileno y aceite de oliva). De acuerdo a Avinash et al., (2017), el porcentaje de mortalidad de larvas se realizó aplicando la fórmula de Abott (Abott, 1925).

$$\text{porcentaje de mortalidad} = \frac{\% \text{ mortalidad tratamiento} - \% \text{ mortalidad en control}}{100 - \% \text{ mortalidad en control}} \times 100$$



*Figura 10. conteo de larvas vivas y muertas*

#### **4.5 Análisis estadístico**

Los datos experimentales se sometieron a un análisis de ANOVA utilizando el paquete estadístico Minitab con una prueba de  $P \leq 0.05$  y para detectar la

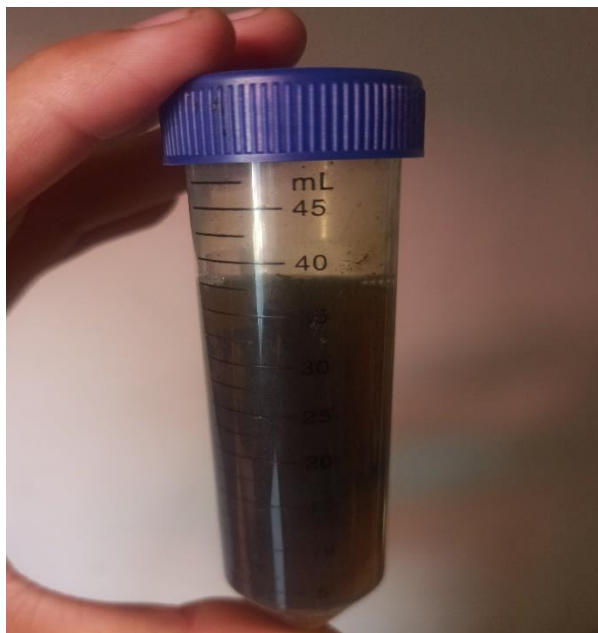
diferencia significativa entre tratamientos se aplicó una prueba de Tukey. Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  la desviación estándar.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1 Obtención del aceite esencial de *Plectranthus*

A partir de 4.30 kg de materia fresca vegetal, se obtuvieron 38 mL de extracto de *Plectranthus*, lo cual representa un rendimiento del 0.97% (

Figura 11).



*Figura 11 Solución final del extracto del Plectranthus*

El rendimiento de los aceites esenciales obtenidos a partir de las plantas puede variar dependiendo del método utilizado para realizar la extracción. Comúnmente se emplea el método de hidroddestilación para extraer el aceite esencial de *Plectranthus*, sin embargo, existen otros métodos como la destilación por arrastre de vapor, extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico y extracción con hexano, donde se han obtenido resultados, y rendimientos de 0.55%, 1.40% y 6.52%, respectivamente (Arumugam et al., 2016). Por otro lado, Dao et al. (2019) realizaron la extracción de los aceites esenciales de *Plectranthus* mediante hidroddestilación asistida por microondas, obtuvieron un rendimiento de 0.1374%. Samad et al. (2019) también utilizó la tecnología de microondas para optimizar el rendimiento de la extracción, un equipo rotavapor y etanol como



solvente. Ellos observaron que la concentración del solvente influía en el resultado y obtuvieron un rendimiento del 39.81%.

El método utilizado en el presente trabajo fue la destilación mediante el uso de un equipo rotavapor y utilizando metanol como solvente. El funcionamiento de este equipo consiste en evaporar sustancias para luego ser condensadas y separadas en sus diferentes componentes. El equipo reduce la presión atmosférica, lo que permite que los solventes se separen del soluto y luego sean destilados en el tubo de condensación a baja temperatura y recolectados en el matraz correspondiente, es similar a la destilación por arrastre de vapor, pero con la reducción de la presión. De esta manera, el rendimiento obtenido de este método fue de 0.97%. De acuerdo a lo anterior, es posible que utilizando el equipo rotavapor asistido por la tecnología de microondas y el hexano como solvente, se pueda obtener un mejor rendimiento en la extracción de los aceites esenciales de *Plectranthus*. Es importante considerar y evaluar los factores mencionados anteriormente para lograr un mayor rendimiento en la extracción.

## 5.2 Porcentaje de mortalidad mediante la prueba LPT

Los resultados por cada tratamientos son representados en porcentajes de mortalidad en un paquete de 100 larvas en la Tabla 3.

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO (%)	MORTALIDAD DE LARVAS EN LA PRUEBA LPT (%)
T1	0.05	(8.36 <sup>a</sup> ± 4.35)
T2	0.5	(7.12 <sup>a</sup> ± 1.20)
T3	5	(9.64 <sup>a</sup> ± 0.88)
CONTROL	0	(0.22 <sup>b</sup> ± 0.37)

<sup>1</sup>Los resultados se presentan como la media ± la desviación estándar



<sup>2</sup>Letras diferentes indican diferencia significativa utilizando la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Todos los tratamientos (T1, T2 y T3) presentaron resultados similares. La concentración de 5% (1.9 ml) fue la que representó la mortalidad más alta en comparación de los demás tratamientos, sin embargo, no existe diferencia significativa entre ellos.

En las últimas décadas, extractos de plantas han sido aprovechados por sus actividades antimicrobianas y acaricidas sobre las garrapatas (Andreotti et al., 2016; Sharma et al., 2017). Romario (2020), evaluó la actividad acaricida *in vitro* de tres extractos metanólicos en una población de garrapatas del estado de Nuevo León (N.L.) y otra de Veracruz (Ver.). Los extractos fueron obtenidos a partir de la semilla de *Litchi chinensis* y de hojas de *Artemisia ludoviciana* y *Cordia boissieri*. Tres concentraciones diferentes de los extractos (5, 10 y 15%), fueron evaluadas y como parte de sus resultados, el extracto de *L. chinensis*, mostró alta eficacia acaricida, 99.44% en N.L. y 99.73% en Ver., en el extracto de *A. ludoviciana*, la eficacia fue del 89.34% y 89.21% y en el de *C. boissieri*, fue del 33.04% y 10.33% respectivamente. Se concluye, que el extracto de semilla de *L. chinensis*, mostró potencial para ser utilizado como fuente alternativa en el control de garrapatas.

El estudio elaborado por Pajuelo, (2011) reporta que el porcentaje de mortalidad de larvas utilizando “prueba de inmersión de larvas” fue de 78.3%, 82.5%, 88.3% y 100% utilizando las diferentes dosis de extractos de *Sapindus saponaria* como son 6%, 8%, 10%, 15% y 25% para el control de larvas de *Boophilus microplus*. Las concentraciones del extracto también son superiores a las que se utilizan en este estudio, lo cual es un factor clave que mostró desventaja en los resultados de este trabajo.

Jyoti et al. (2019) evaluó los aceites esenciales de *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum* y *Cymbopogon citratus* en una prueba LPT y utilizando concentraciones en un rango de 0.05 – 5%, mismas concentraciones utilizadas en el presente trabajo. Entre sus resultados reportaron un valor LC50 de 0.301%, 0.086% y 0.246% respectivamente. El valor LC50 determina la concentración letal de una sustancia para cierto organismo en un 50% de la población total expuesta a dicha sustancia, en otras palabras, a concentraciones

de 0.301%, 0.086% y 0.246% lograron alcanzar el 50% de mortalidad de las larvas. Además, reportaron una mortalidad dependiente de la concentración, lo cual tampoco fue observado en el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

Otros estudios como el elaborado por Thorsell et al. (2006), muestran acción repelente de algunas plantas sobre ninfas de la garrapata *Ixodes ricinus* L. Los autores evaluaron extractos etanólicos de abedul, citronella, trébol, eucalipto, geranio, lavanda, hierbabuena y girasol a una concentración del 10%, dando como resultado un porcentaje de mortalidad en un rango de 80 al 90%, después de 8 h de la aplicación. Además del uso de una concentración más alta, en el estudio elaborado por Thorsell et al. (2006) se utilizó un estadio de la garrapata distinto. Previo a la evaluación *in vitro* realizada en este trabajo, se había observado de manera empírica, un efecto acaricida potencial de *Plectranthus* sp en las cepas de garrapatas que se encuentran en Jalpan de Serra, Querétaro; sin embargo, fue en un estadio distinto al de esta evaluación, no fue sobre larvas. Esto podría indicar que los bajos porcentajes de mortalidad obtenidos en este estudio, no estén relacionados solo con la concentración si no con el estadio de las garrapatas utilizado.

El efecto acaricida del aceite esencial de alguna planta, depende de diversos factores como la concentración del extracto, el estadio de la garrapata, las especies de plantas y el tipo de compuestos bioactivos que contienen, el método de evaluación del efecto acaricida y el tiempo en el cual las larvas se dejan expuestas a los tratamientos. Estos factores representaron una gran desventaja en el porcentaje de mortalidad de las garrapatas durante este estudio.

## **6. CONCLUSIONES**

En el presente trabajo se observa un efecto acaricida representado en un análisis estadístico, sin embargo existen factores como mejora, por ejemplo: el tiempo de exposición de los tratamientos hacía las larvas donde se puede prolongar hasta 48 hrs, concentraciones del extracto con porcentajes más altos, así como aplicar los tratamientos en los diferentes estadios de la garrapata. Modificando y

utilizando los factores mencionados anteriormente podría representar un mayor porcentaje de mortalidad de larvas en la prueba LPT.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Abott, W. (1925). *THE VALUE OF THE DRY SUBSTITUTES FOR LIQUID LIME*. 265–267. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Adenubi, O. T., Fasina, F. O., McGaw, L. J., Eloff, J. N., & Naidoo, V. (2016). Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. *South African Journal of Botany*, 105, 178–193. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.010>
- Alasbahi, R. H., & Melzig, M. F. (2010). *Plectranthus barbatus : A Review of Phytochemistry , Ethnobotanical Uses and Pharmacology – Part 1*. 653–661.
- Andreotti, R., Koller, W. W., & Garcia, M. V. (2016). *Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo*. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/196905/1/Carrapatos-protocolos-e-tecnicas.pdf>
- Araque, A., Ujeta, S., Bonilla, R., Gómez, D., & Rivera, J. (2014). *RESISTENCIA A ACARICIDAS EN Rhipicephalus GANADERAS DE COLOMBIA ACARICIDAL RESISTANCE OF Rhipicephalus ( Boophilus ) microplus IN SOME COLOMBIAN CATTLE FARMS*. 161–170.
- Arumugam, G., Swamy, M. K., & Sinniah, U. R. (2016). *Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance*. *Molecules*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/molecules21040369>
- Avinash, B., Venu, R., Alpha Raj, M., Srinivasa Rao, K., Srilatha, C., & Prasad, T. N. V. K. V. (2017). In vitro evaluation of acaricidal activity of novel green silver nanoparticles against deltamethrin resistance *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology*, 237, 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.02.017>

- Barker, S. C., & Murrell, A. (2004). *Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. February.*  
<https://doi.org/10.1017/S0031182004005207>
- Basto-estrella, G. (2012). *Escarabajos estercoleros ( Coleoptera : Scarabaeidae : Scarabaeinae ) de ranchos ganaderos de Yucatán , México*  
*Dung beetles ( Coleoptera : Scarabaeidae : Scarabaeinae ) from cattle ranches of Yucatán , Mexico.* 380–386.
- Benítez, J. (2006). *EYELID TICK BITE.* 173–175.  
[https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-66912006000300011](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-66912006000300011)
- Bravo, S. (2013). *Babesiosis bovina (tesis de licenciatura)* [Universidad De Cuenca].  
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/452/1/TESIS.pdf>
- Chagas, A. C. de S., Leite, R. C., Furlong, J., Prates, H. T., & Passos, W. M. (2003). Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. *Ciência Rural*, 33(1), 109–114. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782003000100017>
- Cruz, R., Almazan, C., Miller, R., Dominguez, D., & Hernandez, R. (2009). *Table of contents 1.* 2657–2665.
- Dantas, A. C. S., Machado, D. M. R., Araujo, A. C., Oliveira-Junior, R. G., Lima-Saraiva, S. R. G., Ribeiro, L. A. A., Almeida, J. R. G. S., & Horta, M. C. (2015). Acaricidal activity of extracts from the leaves and aerial parts of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Research in Veterinary Science*, 100, 165–168. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.04.012>
- Dao, T. P., Nguyen, D. C., Nguyen, D. T., Tran, T. H., Nhan Nguyen, P. T., Hong Le, N. T., Le, X. T., Nguyen, D. H., N. Vo, D. V., & Bach, L. G. (2019). Extraction Process of Essential Oil from *Plectranthus amboinicus* Using Microwave-Assisted Hydrodistillation and Evaluation of It's Antibacterial Activity. *Asian Journal of Chemistry*, 31(5), 977–981. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2019.21667>

- Drummond, R. O., Ernst, S. E., Trevino, J. L., Gladney, W. J., & Graham, O. H. (1976). Tests of acaricides for control of *Boophilus annulatus* and *B. microplus*. *Journal of Economic Entomology*, *69*(1), 37–40.  
<https://doi.org/10.1093/jee/69.1.37>
- Ellse, L., & Wall, R. (2014). The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: A review. *Medical and Veterinary Entomology*, *28*(3), 233–243.  
<https://doi.org/10.1111/mve.12033>
- FAO. (2004). Resistance management and integrated parasite control in ruminants. *Animal Production and Health Division*. FAO.
- FAO. (2014). *FAO - División de Producción y Sanidad Animal*.  
<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>
- FAO. (2020). *Producción animal | FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. <http://www.fao.org/animal-production/es/>
- FAO. (2021). *FAO - Noticias: La leche y los productos lácteos pueden mejorar la nutrición de los pobres del mundo*.  
<http://www.fao.org/news/story/es/item/207819/icode/>
- Fernández-Salas, A., Rodríguez-Vivas, R. I., & Alonso-Díaz, M. A. (2012). First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, *183*(3–4), 338–342. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.028>
- Fernandez, J. (2015). *CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE SECUENCIAS ESTs CODIFICANTES DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA CON POTENCIAL INMUNOPROTECTOR EN LA GARRAPATA DEL GANADO BOVINO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus**.  
<http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/101>
- Foster, G., Nymo, I. H., Kovacs, K. M., Beckmen, K. B., Brownlow, A. C., Baily, J. L., Dagleish, M. P., Muchowski, J., Perrett, L. L., Tryland, M., Lydersen, C., Godfroid, J., McGovern, B., & Whatmore, A. M. (2018). First isolation of *Brucella pinnipedialis* and detection of *Brucella* antibodies from bearded seals *Erignathus barbatus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, *128*(1), 13–20.

<https://doi.org/10.3354/dao03211>

García, G. (2012). *Ra Ximhai*.

Grayer, J., Eckert, M. R., Lever, A., Veitch, N. C., Kite, G. C., & Paton, A. J. (2010). *Distribution of exudate flavonoids in the genus Plectranthus*. 38, 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.01.014>

Gutiérrez, J. (2006). *Identificación De Órganos Blanco En Garrapatas De La Especie Boophilus Microplus Para Anticuerpos–Antigarrapata De Bovinos Inducidos Por El Inmunógeno Tick-Vac MK® Del Laboratorio Limor De Colombia S.A Mediante Métodos De Inmunoperoxidasasa (tesis de lice [PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA]*.  
<http://hdl.handle.net/10554/8285>

Hernández, A. (2014). *Volumen XXVII - Número 2 - Revista: La ciencia y el hombre - Universidad Veracruzana*.  
<https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol27num2/articulos/bovinos-mas-ciencia.html>

Hofer, E., Revilla-Fernández, S., Al Dahouk, S., Riehm, J. M., Nöckler, K., Zygmunt, M. S., Cloeckart, A., Tomaso, H., & Scholz, H. C. (2012). A potential novel *Brucella* species isolated from mandibular lymph nodes of red foxes in Austria. *Veterinary Microbiology*, 155(1), 93–99.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.08.009>

Houghton, P. J., Ren, Y., & Howes, M. J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*, 23(2), 181–199.  
<https://doi.org/10.1039/b508966m>

Inés, D., Oaxaca, S., Alberto, J., Fuente, D., Biológicos, A., La, Y. M. D. E., Su, A. Y., En, I., & Salud, L. A. (2010). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*.

Jonsson, N. N. (2006). *The productivity effects of cattle tick ( Boophilus microplus ) infestation on cattle , with particular reference to Bos indicus cattle and their crosses*. 137, 1–10.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.010>

- Jordán, M. J., Lax, V., Rota, M. C., Lorán, S., & Sotomayor, J. A. (2013). Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, *30*(2), 463–468.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.029>
- Junte, R. D. (2008). *Acaricide resistance in the blue cattle tick in South Africa*. November, 41.
- Jyoti, Singh, N. K., Singh, H., Mehta, N., & Rath, S. S. (2019). In vitro assessment of synergistic combinations of essential oils against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Experimental Parasitology*, *201*(April), 42–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.007>
- Kamal, I. H., Al Gashgari, B., Moselhy, S. S., Kumosani, T. A., & Abulnaja, K. O. (2013). Two-stage PCR assay for detection of human brucellosis in endemic areas. *BMC Infectious Diseases*, *13*(1), 2–6.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-145>
- Klafke, G. M., Castro-Janer, E., Mendes, M. C., Namindome, A., & Schumaker, T. T. S. (2012). Applicability of in vitro bioassays for the diagnosis of ivermectin resistance in *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, *184*(2–4), 212–220.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.018>
- Leite, L. G., Shapiro-Ilan, D. I., & Hazir, S. (2018). Survival of *Steinernema feltiae* in different formulation substrates: Improved longevity in a mixture of gel and vermiculite. *Biological Control*, *126*(July 2017), 192–197.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.05.013>
- Lukhoba, C. W., Simmonds, M. S. J., & Paton, A. J. (2006). *Plectranthus* : A review of ethnobotanical uses. *103*, 1–24.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.09.011>
- Malpartida-zevallos, J. (2013). *PATOGENICIDAD DE Beauveria bassiana (Bals) Vuill., SOBRE EL GUSANO DEFOLIADOR DEL MARACUYÁ Dione juno (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) EN LABORATORIO*  
*PATHOGENICITY OF Beauveria bassiana (Bals) Vuill AGAINST THE “*

*PASSION FRUIT BUTTERFLY* Dione. 12(2).

Martín, O., Roger, I., Diego, J., Adriana, M., & Roy, J. (2015).

*Redalyc. Evaluación de la Eficacia de la Cepa MaF1309® de Metarhizium anisopliae en el Control Biológico de Garrapatas Adultas de Rhipicephalus microplus en Tunja, Colombia.*

Martinez-Velazquez, M., Castillo-Herrera, G. A., Rosario-Cruz, R., Flores-Fernandez, J. M., Lopez-Ramirez, J., Hernandez-Gutierrez, R., & del Carmen Lugo-Cervantes, E. (2011). 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). *Parasitology Research*, 108(2), 481–487. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2069-6>

Mayahua, L. (2015). *Universidad veracruzana.*

Moreno Figueredo, G., Benavides Ortiz, E., Guerrero, B., & Cruz Carrillo, A. (2017). Asociación entre Seropositividad al Virus de la Diarrea Viral Bovina, Leptospira interrogans y Neospora caninum, y la Ocurrencia de Abortos en Fincas de Pequeños Productores del Cordón Lechero de Boyacá, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 28(4), 1002. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.12850>

Njoroge, G. N., & Bussmann, R. W. (2006). *Herbal usage and informant consensus in ethnoveterinary management of cattle diseases among the Kikuyus ( Central Kenya ).* 108, 332–339. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.05.031>

Ochoa, S. A., Sánchez-Torres, L. E., Nevárez-Moorillón, G. V., Camacho, A. D., & Noguera-Torres, B. (2017). Essential oils and their components as an alternative in the control of mosquito vectors of disease. *Biomedica : Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 37, 224–243. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i0.3475>

Ojeda-Chi, M. M., Rodriguez-Vivas, R. I., Galindo-Velasco, E., & Lezama-Gutiérrez, R. (2010). Laboratory and field evaluation of Metarhizium anisopliae (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of



- Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 170(3–4), 348–354.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.022>
- Olmedo, O., Bohrer De Azevedo, ;, & Tobal, ; (2015). Efecto de la concentración de ivermectina sobre el control de parásitos internos y el desempeño productivo de bovinos. *Ciencia Veterinaria*, 17, 19–34.
- Osman, A. R. (2013). RTICLES Genetic Variability and Total phenolic Compounds among six. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(3), 1395–1400.
- Ostachuk, A. (2016). Bovine viral diarrhea virus structural protein E2 as a complement regulatory protein. *Archives of Virology*, 161(7), 1769–1782.  
<https://doi.org/10.1007/s00705-016-2835-6>
- Pajuelo, P. D. (2011). “Evaluación in vitro de los extractos crudos de sapindus saponaria sobre huevos y larvas boophilus microplus” (tesis de licenciatura) [Universidad Nacional Agraria de la Selva].  
<http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/778/TZT-544.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Parreño, V., López, M. V., Rodriguez, D., Vena, M. M., Izuel, M., Filippi, J., Romera, A., Faverin, C., Bellinzoni, R., Fernandez, F., & Marangunich, L. (2010). Development and statistical validation of a guinea pig model for vaccine potency testing against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) virus. *Vaccine*, 28(13), 2539–2549.  
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.01.035>
- Patel, R., Alam, G., M, N., PS, M., S, A., & S, S. (2010). Plectranthus Amboinicus ( Lour ) Spreng : an Overview. *The Pharma Research*, 4(December 2010), 1–15.
- Pérez, X. (2019). *Distribución de la resistencia a los acaricidas amitraz, ivermectina y alfacipermetrina en garrapatas Boophilus microplus y posibles factores de riesgo asociados, en la zona ±0.5 grados de latitud de la línea equinoccial de Ecuador.*
- Prasad, N., Basalingappa, K. M., Gopenath, T. S., & Razvi, S. M. (2020).

*Nutritional Significance of Indian Borage ( Plectranthus Nutritional Significance of Indian Borage ( Plectranthus Amboinicus ) : a Review. October.*

Río, D. (2019). *Evaluación de la actividad inmunogénica de una vacuna para profilaxis de la anaplasmosis bovina.* 30(1), 3–6.

Rivera, D. C., Rincón, J. C., & Echeverry, J. C. (2018). Prevalencia de algunas enfermedades infecciosas en bovinos de resguardos indígenas del Cauca, Colombia, 2017. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 21(2), 507–517. <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n2.2018.983>

Rodríguez-Alcocer, U. J., Rodríguez-Vivas, R. I., Ojeda-Chi, M. M., Galindo-Velasco, E., & Lezama-Gutiérrez, R. (2014). 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.

Rodríguez-vivas, R. I. (2006). *Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in Boophilus microplus ticks on cattle ranches from the State of.* 136, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.05.069>

Rodríguez-vivas, R. I., Arieta-román, R. J., & Pérez-cogollo, L. C. (2010). *Uso de lactonas macrocíclicas para el control de la garrapata Rhipicephalus ( Boophilus ) microplus en el ganado bovino Use of macrocyclic lactones to control the cattle tick Rhipicephalus ( Boophilus ) microplus.* 123, 115–123.

Rodríguez-Vivas, R. I., Grisi, L., De León, A. A. P., Villela, H. S., De Jesús Torres-Acostaa, J. F., Sánchez, H. F., Salas, D. R., Cruz, R. R., Saldierna, F., & Carrasco, D. G. (2017). Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 8(1), 61–74. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305>

Rodríguez-Vivas, R., Rosado-Aguilar, A., Ojeda-Chi, M. M., Carlos Pérez-Cogollo, L., Trinidad-Martínez, I., & Bolio-González, M. E. (2014). Integrated control of ticks in bovine livestock. *Ecosistemas y Recursos Pecuarios*, 1(3), 295–308. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Romario, G. (2020). *Evaluación de alternativas fitoterapéuticas y acaricidas sintéticos sobre rhipicephalus (boophilus) microplus (acarí: ixodidae) (tesis de maestría)* Universidad Autónoma de Nuevo León.  
<http://eprints.uanl.mx/19988/1/1080314471.pdf>
- Rosado-aguilar, J. A., Aguilar-caballero, A., Rodriguez-vivas, R. I., & Borges-argaez, R. (2010). Veterinary Parasitology Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Acari: ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 168(3–4), 299–303.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.022>
- Rot, A., Gindin, G., Ment, D., Mishoutchenko, A., Glazer, I., & Samish, M. (2013). On-host control of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* Latreille (Acari: Ixodidae) by *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae). *Veterinary Parasitology*, 193(1–3), 229–237.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.11.020>
- Samad, N. A., Zaidel, D. N. A., Salleh, E., Yusof, A. H. M., Dailin, D. J., & Zaidel, D. N. A. (2019). Optimization of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extraction process using microwave-assisted technique. *Chemical Engineering Transactions*, 72(August 2018), 397–402.  
<https://doi.org/10.3303/CET1972067>
- Santos, T. R. B., Klafke, G. M., Pappen, F. G., Nizoli, L. Q., Biegelmeier, P., & Farias, N. A. R. (2013). Comparison of three larval bioassays to evaluate susceptibility of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* to amitraz. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 22(4), 495–501.  
<https://doi.org/10.1590/s1984-29612013000400008>
- Sharma, A., Flores-Vallejo, R. del C., Cardoso-Taketa, A., & Villarreal, M. L. (2017). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 208, 264–329.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.045>
- Spreng, L. (2010). *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. December 2010.
- Taleski, V., Zerva, L., Kantardjiev, T., Cvetnic, Z., Erski-Biljic, M., Nikolovski, B.,

- Bosnjakovski, J., Katalinic-Jankovic, V., Panteliadou, A., Stojkoski, S., & Kirandziski, T. (2002). An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of Central and Southeast Europe. *Veterinary Microbiology*, *90*(1–4), 147–155. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00250-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00250-X)
- Tangjitman, K., Wongsawad, C., Kamwong, K., Sukkho, T., & Trisonthi, C. (2015). Ethnomedicinal plants used for digestive system disorders by the Karen of northern Thailand. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *11*(1). <https://doi.org/10.1186/s13002-015-0011-9>
- Tariq, A., Adnan, M., Amber, R., Pan, K., Mussarat, S., & Shinwari, Z. K. (2016). Ethnomedicines and anti-parasitic activities of Pakistani medicinal plants against Plasmodia and Leishmania parasites. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/s12941-016-0170-0>
- Thorsell, W., Mikiver, A., & Tunón, H. (2006). Repelling properties of some plant materials on the tick *Ixodes ricinus* L. *Phytomedicine*, *13*(1–2), 132–134. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2004.04.008>
- Treviño, M. R. (2013). *Evaluación de resistencia a ixodíidas y efectividad de la vacuna BM86 en el grado de infestación por garrapata Boophilus sp. en las razas de ganado bovino Charolais, Simmental, Brangus negro y Comercial*. 76. <http://eprints.uanl.mx/3731/1/1080256714.pdf>
- Venzal, J. M. (2006). *High-resolution predictive mapping for Boophilus annulatus and B. microplus (Acari: ixodidae) in Mexico and Southern Texas*. *142*, 350–358. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.07.003>

