



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

TESIS DE LICENCIATURA

**ACTIVIDAD IXODICIDA *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL
DE *Syzygium aromaticum* CONTRA LARVAS DE *Rhipicephalus
microplus***

Para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

PRESENTA

Daniel Miranda Donaciano

Director

Dr. Adrian Zaragoza Bastida

Codirector

Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla

Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo, México, junio 2025



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

TESIS DE LICENCIATURA

**ACTIVIDAD IXODICIDA *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL
DE *Syzygium aromaticum* CONTRA LARVAS DE *Rhipicephalus
microplus***

Para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

PRESENTA

Daniel Miranda Donaciano

Director

Dr. Adrian Zaragoza Bastida

Codirector

Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla

Asesores

Dra. Nallely Rivero Perez

Dr. Agustín Olmedo Juárez

Dr. Edgar Castro Saines

Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo, México, junio 2025



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Institute of Agricultural Sciences

Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Academic Area of Veterinary Medicine and Zootechnics

Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hgo., a 29 de abril de 2025

Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado

Directora de Administración Escolar de la UAEH

Por este conducto y con fundamento en el Título Cuarto, Capítulo I, Artículo 40 del Reglamento de Titulación, le comunico que el jurado que le fue asignado al pasante de la Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia **Daniel Miranda Donaciano**, quien presenta el trabajo de Tesis denominado “**Actividad ixodicida *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* contra larvas de *Rhipicephalus microplus***”, que después de revisarlo en reunión de sinodales, ha decidido autorizar la impresión de este, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los miembros del jurado:

PRESIDENTE Dr. Adrian Zaragoza Bastida

SECRETARIO Dra. Nallely Rivero Perez

VOCAL 1 Dr. Agustín Olmedo Juárez

VOCAL 2 Dr. Rodolfo E. Lagunes Quintanilla

SUPLENTE 1 Dr. Edgar Castro Saínes

Sin otro particular por el momento, me despido de usted.

Atentamente

“Amor, Orden y Progreso”

Dra. Maricela Ayala Martínez
Coordinadora de Programa
Educativo de Medicina Veterinaria
y Zootecnia.

Avenida Universidad #133, Col. San Miguel Huatengo,
Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo,
México. C.P. 43775.
Teléfono: 7717172001 Ext. 42105
mvzjefatura@uaeh.edu.mx

“Amor, Orden y Progreso”



uaeh.edu.mx

DEDICATORIAS

A mis padres, Eleuterio y Esther, quienes son mi mayor motivación y admiración y a quienes agradezco su amor, sacrificio y apoyo durante mi formación como Médico Veterinario Zootecnista, inspirándome y motivándome día a día para alcanzar mis metas y cumplir mis sueños.

A mi hermano, José Manuel, por todo el cariño, apoyo y palabras de aliento que me brindó durante mi formación.

Con cariño, Daniel.

AGRADECIMIENTOS

A los doctores, Adrian y Nallely, por el apoyo y la confianza que me han brindado durante el tiempo que tengo de conocerlos, alentándome a alcanzar mis metas y motivándome a no rendirme y a conseguir más logros.

A los doctores, Agustín, Edgar y Rodolfo, por haberme dado la oportunidad de trabajar con ellos durante mi estancia en el INIFAP para la realización de esta tesis.

Al INIFAP, por abrirme las puertas y permitirme usar sus instalaciones para la realización y obtención de resultados presentes en esta tesis.

A la familia Alejo Avila, por todo el apoyo y calidez que me han brindado durante mi estadía en la Ciudad de Tulancingo, haciéndome sentir en casa.

A todas las personas que han contribuido a mi formación profesional y que me han brindado su amistad y apoyo durante este proceso.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

INDICE GENERAL

I.	GLOSARIO DE TERMINOS	1
II.	INDICE DE FIGURAS	2
III.	INDICE DE CUADROS	3
IV.	RESUMEN	4
V.	ABSTRACT	5
1.	INTRODUCCIÓN	6
2.	ANTECEDENTES	9
2.1	Producción de ganado bovino en México	9
2.1.1	<i>Producción cárnica en México</i>	9
2.1.2	<i>Producción láctea en México</i>	9
2.2	Enfermedades que afectan al ganado bovino	10
2.2.1	<i>Garrapatas</i>	10
2.2.2	<i>Problemas ocasionados por garrapatas</i>	10
2.2.3	<i>Rhipicephalus microplus</i>	11
2.3	Ixodicidas	11
2.3.1	<i>Resistencia a los ixodicidas</i>	12
2.3.2	<i>Resistencia adquirida</i>	12
2.3.3	<i>Resistencia cruzada</i>	13
2.3.4	<i>Resistencia múltiple</i>	13
2.4	Alternativas al uso de ixodicidas	13
2.4.1	<i>Empleo de aceites esenciales como una alternativa ixodicida</i>	13
2.5	<i>Syzygium aromaticum</i>	13
2.5.1	<i>Usos de Syzygium aromaticum</i>	14
2.5.2	<i>Aceite esencial de Syzygium aromaticum</i>	14
2.5.3	<i>Composición química del aceite esencial de Syzygium aromaticum</i>	15

2.5.4	<i>Actividades biológicas del eugenol</i>	15
2.6	Destilación por arrastre de vapor	15
3	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
4	JUSTIFICACIÓN	17
5	HIPOTESIS	18
6	OBJETIVOS	19
6.1	Objetivo general	19
6.2	Objetivos específicos	19
7	MATERIALES Y MÉTODOS	20
7.1	Material vegetal	20
7.2	Obtención del aceite esencial	20
7.3	Material biológico	20
7.4	Diseño experimental	21
7.5	Actividad ixodicida	21
7.5	Análisis estadístico	23
8	RESULTADOS	24
8.1	Aceite esencial	24
8.2	Mortalidad de larvas	24
9	DISCUSIÓN	27
10	CONCLUSIÓN	32
11	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

I. GLOSARIO DE TERMINOS

Termino	Significado
PIL	Prueba de inmersión de larvas.
AE-CL	Aceite esencial de clavo.
CL₅₀	Concentración letal 50.
CL₉₀	Concentración letal 90.

II. INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Alambique de cobre empleado para la extracción del aceite esencial de <i>S. aromaticum</i> , mediante la técnica de arrastre de vapor.	20
Figura 2: Larvas infestantes de <i>R. microplus</i> .	21
Figura 3: Tubos de microcentrífuga correspondientes a cada uno de los tratamientos evaluados.	22
Figura 4: Inmersión de larvas de <i>R. microplus</i> en los tratamientos.	23
Figura 5: Paquetes larvarios de cada tratamiento más el control negativo, evaluados por triplicado.	23
Figura 6: Aceite esencial de <i>S. aromaticum</i> , resultante del proceso de destilación por arrastre de vapor.	24
Figura 7: A) Paquete larvario de la concentración al 2%; B) Paquete larvario de la concentración al 1%. Los tratamientos mostraron el 100% y 98.01 de mortalidad respectivamente contra larvas de <i>R. microplus</i> .	25
Figura 8: Concentraciones CL ₅₀ y CL ₉₀ del aceite esencial de <i>S. aromaticum</i> contra larvas de <i>R. microplus</i> .	26

III. INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad larval de *Rhipicephalus microplus* expuestos a aceite esencial de *Syzygium aromaticum*_____29

IV. RESUMEN

La producción bovina es una de las principales actividades pecuarias en México, que tiene como objetivo la producción de carne, leche y sus derivados, inocuos y aptos, para el abastecimiento de la población mexicana. Sin embargo, la producción bovina puede verse afectada por diversos problemas sanitarios, entre los que destacan las infestaciones por garrapatas, las cuales actúan como vectores en la transmisión de enfermedades, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria, la salud animal y la salud pública. El uso inadecuado, excesivo e indiscriminado de productos químicos sintéticos ha ocasionado la aparición de poblaciones de garrapatas resistentes a los componentes, lo que ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas, los aceites esenciales de origen vegetal son una alternativa de estas propuestas. El objetivo del presente estudio fue determinar la actividad ixodicida *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* contra larvas de *Rhipicephalus microplus*, para proponerlo como una alternativa de tratamiento. Se utilizó la prueba de inmersión de larvas (PIL), se evaluaron los tratamientos por triplicado a concentraciones 2.0, 1.0, 0.5, 0.25 y 0.12 % respectivamente. Como control negativo se utilizó una combinación de Tween20® al 18%, agua destilada y etanol al 20%. Los resultados muestran que las concentraciones al 2% y al 1% presentaron la mayor actividad ixodicida contra *R. microplus*, con un 100% y 98.01% de mortalidad respectivamente, mientras que la concentración al 0.5% presentó una mortalidad de 48.93% y las concentraciones al 0.25% y al 0.12% fueron las de menor actividad ixodicida presentando porcentajes de mortalidad del 1.12%, 0% y el 0% respectivamente. El aceite esencial de *S. aromaticum* presentó actividad ixodicida contra larvas de *R. microplus*, por lo que pudiera ser implementado como alternativa al uso de ixodicidas sintéticos en el control de este ectoparásito, sin embargo, es necesario realizar pruebas en la fase adulta de la garrapata, así como evaluar su toxicidad, previo a iniciar una evaluación en un modelo *in vivo*.

Palabras clave: Alternativas, tratamientos convencionales, aceites esenciales.

V. ABSTRACT

Cattle production is one of the main livestock activities in Mexico, aiming to produce safe and suitable meat, milk, and their derivatives for the Mexican population. However, cattle production can be affected by various health problems, including tick infestations, which act as vectors for disease transmission, jeopardizing food safety, animal health, and public health. The inappropriate, excessive, and indiscriminate use of synthetic chemicals has led to the emergence of tick populations resistant to these components, which has led to the search for new alternatives. Essential oils of plant origin are one such option. The objective of this study was to determine the *in vitro* ixodicidal activity of *Syzygium aromaticum* essential oil against *Rhipicephalus microplus* larvae, to propose it as an alternative treatment. The larval immersion test (LIT) was used, treatments were evaluated in triplicate at concentrations of 2.0, 1.0, 0.5, 0.25 and 0.12% respectively. As a negative control, a combination of 18% Tween20®, distilled water and ethanol were used. The results show that the 2% and 1% concentrations showed the highest ixodicidal activity against *R. microplus*, with 100% and 98.01% mortality respectively, while the 0.5% concentration showed a mortality of 48.93% and the 0.25% and 0.12% concentrations were those with the lowest ixodicidal activity, showing mortality percentages of 1.12%, 0% and 0% respectively. The essential oil of *S. aromaticum* showed ixodicidal activity against *R. microplus* larvae, so it could be implemented as an alternative to the use of synthetic ixodicides in the control of this ectoparasite; however, adult test and toxicity tests are necessary before starting an evaluation in an *in vivo* model.

Key words: Alternatives, conventional treatments, essential oils.

1. INTRODUCCIÓN

La producción bovina representa una de las principales actividades pecuarias más relevantes en México, teniendo como objetivo la producción de carne, leche y sus derivados, inocuos y aptos, para el abastecimiento de la población mexicana. Esta labor se lleva a cabo a través de los diferentes sistemas de producción distribuidos a lo largo del país y constituye, además, una importante fuente de ingresos para las familias que se dedican a esta actividad, generando así mejores oportunidades de desarrollo y contribuyendo al bienestar económico y social de sus comunidades (Uffo, 2011).

Sin embargo, la producción bovina puede verse afectada por diversos factores, entre los que destacan agentes infecciosos, tales como bacterias, virus, hongos, parásitos y priones, los cuales representan una amenaza significativa para la seguridad alimentaria, afectando directamente a la producción, la salud y bienestar animal. Además, muchas de las enfermedades ocasionadas por estos agentes poseen la capacidad de afectar al humano, razón que les confiere la clasificación de zoonóticas, incrementando así su relevancia en términos de salud pública. La presencia de estos patógenos también genera un aumento en los costos de producción, debido a la necesidad de implementar medidas preventivas y tratamientos para su control. (Gutiérrez-Hernández *et al.*, 2020).

Entre los principales patógenos que afectan al ganado bovino destacan los de origen parasitario, particularmente las garrapatas. Estos ectoparásitos hematófagos poseen una gran relevancia en Medicina Humana y Medicina Veterinaria debido a la amplia distribución a nivel mundial, particularmente en regiones de clima seco, cálido, tropical y subtropical. Su presencia representa un desafío significativo para la ganadería cuando no se implementan estrategias de control eficaces o por el fallo en estos, además de constituir un problema en la salud pública, debido a su capacidad de transmitir numerosas enfermedades zoonóticas (Jacobs *et al.*, 2016).

La principal garrapata que afecta al ganado bovino es la garrapata dura de la especie *Rhipicephalus microplus* (anteriormente llamada *Boophilus microplus*), perteneciente a la familia Ixodidae, cuya presencia en los sistemas de producción aumenta los costos en las zonas endémicas, debido a la implementación de programas para su control, las cuales representan una disminución en la producción cárnica y láctea, además de afectar

directamente a la salud y bienestar de los animales. Dentro de las estrategias empleadas para el control de garrapatas es el empleo de productos químicos sintéticos con efecto ixodicida, sin embargo, su uso inadecuado, indiscriminado y excesivo, ha dado origen problemas de resistencia a los ixodicidas (Jain *et al.*, 2020).

La resistencia a los ixodicidas constituye uno de los principales desafíos a los que se enfrenta la producción ganadera a nivel mundial, situación originada por su uso indiscriminado, causando su ineficiencia mediante tratamientos convencionales, como lo son organofosforados, lactonas macrocíclicas, piretroides, amidinas y fenilpirazolonas, cuyos mecanismos de acción han resultado ineficaces para el control de garrapatas. La escasez de nuevos productos capaces de enfrentar esta problemática ha impulsado la búsqueda y desarrollo de nuevas alternativas que permitan disminuir el uso de los tratamientos convencionales para el control de garrapatas (Ojeda-Chi *et al.*, 2011).

Durante años, se ha implementado el uso de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades que afectan al humano y a los animales, por lo que el implementar el uso de extractos y aceites de origen vegetal representan una alternativa para reducir el uso de compuestos químicos sintéticos para el control de garrapatas. Estos compuestos de origen vegetal poseen dentro de su composición química una gran variedad de metabolitos secundarios con posible actividad ixodicida, además de presentar una mayor seguridad, reducción de costos, baja toxicidad y biodegradables, debido a que no generan residuos contaminantes (Fuentes-Zaldívar *et al.*, 2017).

El empleo de aceites esenciales como ixodicidas de origen natural, representan una alternativa prometedora frente a los productos sintéticos, permitiendo reducir el riesgo de generar futuros problemas de resistencia por parte de dichos ectoparásitos, debido a la complejidad en la estructura química de sus compuestos y del posible mecanismo de acción de cada uno, lo que reduce la aparición de poblaciones de garrapatas resistentes a estos componentes. Asimismo, los aceites esenciales presentan una mayor especificidad hacia determinados organismos, por lo que reducen los daños a los hospederos no objetivos como los bovinos, en comparación con ixodicidas convencionales (Durán *et al.*, 2020).

Entre las alternativas naturales propuestas para el control de garrapatas destaca el aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, cuya composición química incluye una amplia variedad de metabolitos secundarios, siendo el eugenol el de mayor proporción, al cual se le

atribuyen propiedades antibacterianas, antifúngicas e insecticidas. Estas características lo posicionan como una alternativa viable y eficaz en el manejo de infestaciones por garrapatas (Aguilar *et al.*, 2019; Jyoti *et al.*, 2019). El objetivo del presente estudio fue determinar la actividad ixodocida *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* contra larvas de *Rhipicephalus microplus*, para proponerlo como una alternativa de tratamiento.

2. ANTECEDENTES

2.1 Producción de ganado bovino en México

La producción de ganado bovino es una de las principales actividades pecuarias en México, siendo de suma importancia para el abastecimiento de la población mexicana en cuanto a carne y leche, esta actividad se posiciona en el segundo lugar con respecto a la producción nacional total solo por detrás de la producción avícola (carne y huevo). De acuerdo con datos del SIAP (2024), hasta el año 2023, México cuenta con 36,619,592 millones de cabezas de ganado bovino (cárnico y lechero), representando el 2.22% de la población bovina a nivel mundial (FAO, 2024). El estado de Veracruz ocupa la primera posición a nivel nacional en la producción de ganado bovino, registrando un inventario de 4,634,761 millones de cabezas. En contraste, el estado de Hidalgo se posiciona en la vigésima posición con un total de 671,722 cabezas de ganado bovino (SIAP, 2024).

2.1.1 Producción cárnica en México

En México, la producción de carne de bovino se posiciona en segundo lugar con respecto a la de otras especies, siendo la carne de ave la de mayor producción a nivel nacional. De acuerdo con datos del SIAP (2024), hasta la fecha de corte (2023), México produjo 7,999,901.125 millones de toneladas de carne en canal de las principales especies domésticas destinadas para el abasto (bovino, ovino, caprino, porcino, ave y guajolote), de las cuales 2,214,927.7 millones de toneladas corresponden a carne de bovino, representando el 27.68% con respecto al total de la producción cárnica nacional.

2.1.2 Producción láctea en México

En México, la leche de bovino representa la principal fuente de producción láctea, tanto en volumen como en importancia económica. Este producto constituye la materia prima para la producción de diversos subproductos lácteos. De acuerdo con datos del SIAP (2024), la producción nacional de leche de bovino ocupó el primer lugar con respecto a la producción láctea del resto de las especies, con una producción de 13,735,386.75 millones de litros, representando el 98.74% del total de la producción láctea nacional.

2.2 Enfermedades que afectan al ganado bovino

La producción pecuaria tiene como finalidad la obtención de alimentos de alta calidad, inocuos y aptos para el consumo de la población humana. No obstante, por años la producción bovina se ha visto afectada por la incidencia de diversas enfermedades que afectan de manera directa o indirecta a la producción y salud animal, entre los agentes etiológicos que representan un riesgo significativo se incluyen patógenos de origen viral, bacteriano, fúngico, parasitario e incluso priónico, poniendo en riesgo así a la calidad alimentaria y la salud pública, cada enfermedad se presentará de manera diferente y ocasionará daños en función de su distribución, frecuencia e interacción con factores como el patógeno, el hospedero y las condiciones ecológicas particulares (Rojas *et al.*, 2021).

2.2.1 Garrapatas

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados que parasitan una gran variedad de animales a nivel mundial, entre ellos mamíferos, aves y reptiles. Las garrapatas de mayor importancia en Medicina Humana y Medicina Veterinaria, debido a las enfermedades que pueden transmitir, son las garrapatas duras y blandas pertenecientes a las familias Ixodidae y Argasidae respectivamente, además, existe una tercera familia, Nuttalliellidae, en la que se encuentra únicamente el género *Nuttalliella namaqua* (Boulanger *et al.*, 2019; Kasaija *et al.*, 2021; Guillén *et al.*, 2023). Dentro de las garrapatas que pertenecen a la familia Ixodidae se encuentran los géneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma* e *Ixodes*, mientras que en la familia Argasidae se encuentran los géneros *Antricola*, *Argas*, *Nothoaspis*, *Ornithodoros* y *Otobius* (Basu y Charles, 2017; Kasaija *et al.*, 2021).

2.2.2 Problemas ocasionados por garrapatas

Las infestaciones por garrapatas en el ganado bovino son consecuencia de un inadecuado seguimiento de las buenas prácticas de manejo, como la falta de rotación de potreros y el tiempo de descanso de los suelos, la alteración de los ecosistemas, debido a los problemas de deforestación, reforestación y los cambios en las poblaciones de la fauna, y el cambio climático a nivel mundial, factores que influyen en las variaciones del patrón poblacional

de las garrapatas y con ellas el patrón epidemiológico de las enfermedades (Boulanger *et al.*, 2019; Valerio *et al.*, 2022).

Las garrapatas afectan hasta en un 80% a la industria ganadera, su presencia incide negativamente en la producción animal, causando pérdidas económicas significativas asociadas tanto al coste elevado de los programas de control y tratamiento farmacológico empleado en los animales afectados, así como la generación de problemas de resistencia a los productos químicos sintéticos de primera elección usados como garrapaticidas, haciendo cada vez más menos efectivos los tratamientos convencionales. A nivel mundial, las garrapatas se posicionan en el segundo lugar, solo por detrás de los mosquitos, como los vectores más importantes en la transmisión de enfermedades con potencial zoonótico, entre las que destacan los protozoarios *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Babesia equi* (en equinos); las bacterias *Anaplasma spp.*, *Rickettsia spp.* y *Borrelia spp.*; los virus causantes de la Fiebre Hemorrágica de Crimea-Congo, la Encefalitis Transmitida por Garrapatas y de la Peste Porcina Africana, entre otros (CFFSPH, 2007; Oteo, 2016; Molina-Hoyos *et al.*, 2018; Boulanger *et al.*, 2019; Kasaija *et al.*, 2021; Guillén *et al.*, 2023).

2.2.3 *Rhipicephalus microplus*

Rhipicephalus microplus, es la principal garrapata que afecta al ganado bovino, es conocida como la garrapata del ganado del sur en los Estados Unidos o garrapata del ganado bovino en el resto del mundo, su distribución es mundial, presentando una mayor distribución en zonas cálidas, tropicales y subtropicales, y en México, se ha distribuido en la mayor parte del territorio hasta en un 65% (CFFSPH, 2007; Rojas *et al.*, 2021; Johnson, 2023).

La presencia de la garrapata *R. microplus* en los sistemas de producción de ganado bovino impacta negativamente en la economía de la producción, reflejándose en la reducción del consumo de alimento y ganancia diaria de peso, disminución de la producción láctea, transmisión de enfermedades, afección y baja calidad de las pieles, y en la presentación de signos clínicos como los son, irritación, dermatitis, prurito, ansiedad y baja tasa de crecimiento (Scott, 2018; Madder *et al.*, 2019).

2.3 Ixodicidas

Los ixodicidas son fármacos destinados a prevenir, controlar o combatir las infestaciones causadas por garrapatas, siendo los productos químicos sintéticos más empleados para el

control de artrópodos, entre los que destacan: Carbamatos, Lactonas Macroclínicas, Organofosforados, Piretroides, Amidinas, Fenilpirazolonas, Inhibidores del crecimiento, entre otros (Cortés-Vecino, 2018; SENASICA, 2021). Estos compuestos forman parte de los programas de control integrado de garrapatas, cuya finalidad es optimizar el uso racional de los ixodicidas. Su eficacia se maximiza cuando se usan adecuadamente al emplearlos y conforme a las buenas prácticas de manejo, disminuyendo así los problemas de resistencia en las poblaciones de estos ectoparásitos (Cortés-Vecino, 2018).

2.3.1 Resistencia a los ixodicidas

La resistencia a los ixodicidas se define como la capacidad de las garrapatas de presentar cambios para sobrevivir y/o multiplicarse a las concentraciones terapéuticas establecidas, ya sea en dosis iguales o superiores con capacidad ixodicida, de los fármacos empleados para su erradicación y/o control (Shibeshi *et al.*, 2020; Camacho, 2023). Por su parte, la FAO (2004) define la resistencia a los ixodicidas como la capacidad de tolerar las dosis establecidas de los fármacos por un número de individuos dentro de una determinada población, la cual resultaría letal para la mayoría de los individuos de la misma especie.

La resistencia a los ixodicidas es un problema al que se enfrenta la producción bovina a nivel mundial, debido a que las garrapatas cada vez son menos susceptibles al mecanismo de acción, en México los primeros casos reportados sobre resistencia a los ixodicidas datan del año de 1980, reportándose primeramente en productos como piretroides y organofosforados. Los baños de aspersión a los que se someten los animales antes de ingresar a las unidades de producción son uno de los factores predisponentes, debido a que permite la expresión de genes de resistencia específicos a los productos químicos empleados, así como la inadecuada aplicación del producto, método de aplicación, dosificación incorrecta, son otros de los factores que favorecen a la generación de futuros problemas de resistencia (SENASICA, 2021).

2.3.2 Resistencia adquirida

La resistencia adquirida es la aquella en donde las garrapatas generan una disminución en la sensibilidad de los ixodicidas con el paso del tiempo. Este tipo de resistencia está directamente relacionada con la dosificación y la concentración a la que se aplica el fármaco, la administración de bajas concentraciones en periodos cortos de tiempo favorece a la generación de problemas de resistencia adquirida (Abbas *et al.*, 2014).

2.3.3 Resistencia cruzada

La resistencia cruzada ocurre entre diferentes acaricidas que se relacionan químicamente y comparten un mismo mecanismo de acción (Alonso-Díaz *et al.*, 2006). Para evitar problemas de resistencia cruzada se recomienda la rotación de los ixodicidas que no tienen reportes de resistencia cruzada (Abbas *et al.*, 2014).

2.3.4 Resistencia múltiple

La resistencia múltiple ocurre cuando las garrapatas han generado mecanismos de resistencia a dos e incluso más familias de ixodicidas no relacionadas químicamente y con diferentes mecanismos de acción (Abbas *et al.*, 2014; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2018).

2.4 Alternativas al uso de ixodicidas

Dentro de las alternativas propuestas se requiere la integración de las buenas prácticas de manejo, selección de razas con mayor resistencia a las garrapatas, rotación de potreros, esquemas de vacunación y desparasitación y empleo de alternativas de origen vegetal como los aceites esenciales (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

2.4.1 Empleo de aceites esenciales como una alternativa ixodicida

Los aceites esenciales son una de las principales alternativas propuestas para disminuir el uso de compuestos químicos sintéticos. Los aceites esenciales se obtienen a través de procesos de extracción aplicados al material vegetal y se caracterizan por una compleja composición química constituida por una variedad de compuestos bioactivos de origen natural. Estos compuestos han demostrado poseer propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales y antiparasitarias, incluyendo la actividad ixodicida. Además, los aceites esenciales, presentan una baja toxicidad, y escasa solubilidad en agua, y no generan residuos en la leche y carne de los animales sometidos al tratamiento y contribuyendo de esta forma a la preservación del concepto de “Una Salud”, que integra la salud humana, animal y ambiental (Esponda *et al.*, 2021; Selles *et al.*, 2021; OMS, 2023).

2.5 *Syzygium aromaticum*

Syzygium aromaticum, comúnmente conocido como clavo o clavo de olor, es un árbol de tamaño mediano (8-30 m) perteneciente a la familia *Myrtaceae*, originario de Indonesia, cuya distribución es mundial, siendo mayormente producido en regiones tropicales por todo

el mundo. El árbol de clavo produce botones florales, que comienzan a desarrollarse aproximadamente a partir del cuarto año posterior de la plantación. Estos botones deben recolectarse durante la etapa de maduración, previa a la floración, ya que constituye la parte de mayor valor comercial de la planta.

Su principal uso se orienta hacia la industria culinaria a nivel mundial, aunque también poseen aplicaciones importantes en el ámbito medicinal (Cortés-Rojas *et al.*, 2014; Pandey *et al.*, 2023). Los botones florales, durante el brote, presentan un color pálido y comienzan a cambiar su coloración hasta volverse verde, posteriormente cambian a un color rojo brillante, siendo esta la etapa cuando están listos para ser recolectados (Goñi *et al.*, 2016).

*2.5.1 Usos de *Syzygium aromaticum**

El clavo de olor ha sido empleado a lo largo del tiempo con diversos fines, entre los que destacan, los usos gastronómicos, en donde se emplea como especia para potencializar los sabores. Entre otros usos, se incluyen su empleo como conservador, como aromáticos y sus aplicaciones medicinales, siendo esta última característica la que permite que el clavo de olor se considere como una planta importante debido a su potencial farmacológico, teniendo un papel fundamental en el tratamiento, durante siglos, de diferentes enfermedades cuya eficacia se debe a la presencia de varios componentes químicos presentes en la planta, que dependiendo de la concentración presentaran efectos antioxidantes, antibacterianos, antiparasitarios, antifúngicos, antivirales, anticancerígenos, anestésicos y analgésicos (Kamatou *et al.*, 2012; Cortés-Rojas *et al.*, 2014; Goñi *et al.*, 2016).

*2.5.2 Aceite esencial de *Syzygium aromaticum**

Los botones florales producidos por la planta de clavo son los que mayor concentran el aceite esencial en un 80 a 90%, mientras que las hojas de clavo concentran entre un 82 a 88% del aceite esencial (Tripathi & Mishra, 2016), el cual, dentro de su composición concentra una gran cantidad de eugenol, el compuesto bioactivo más abundante en el aceite esencial de clavo (Quadri *et al.*, 2023).

El aceite esencial de clavo, dentro de sus propiedades físicas presenta una coloración amarillo claro, rojizo y en ocasiones incoloro, el sabor es fuerte, e incluso picante, la cantidad de aceite esencial y sus características fisicoquímicas dependerán de diversos factores como lo son la edad de la planta a la recolección, cantidad de material vegetal

empleado para la extracción, el órgano de la planta, época de colecta, condiciones climatográficas, el método de extracción, así como las condiciones de esta misma (Haro-González *et al.*, 2021).

2.5.3 Composición química del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*

La eficacia del clavo de olor dentro de la medicina tradicional se debe a la presencia de diferentes compuestos químicos en la planta, entre los más reportados se encuentran compuestos fenólicos como flavonoides, ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, hidroxifenil propenos (Batiha *et al.*, 2020). El eugenol es el compuesto fenólico más abundante en la composición química del aceite esencial de clavo, siendo esta misma planta la que mayor concentración de eugenol posee, aproximadamente, el 50% de la composición total corresponde a este compuesto (Haro-González *et al.*, 2021).

2.5.4 Actividades biológicas del eugenol

El eugenol se ha empleado por muchos años para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el aparato digestivo, actuando como un antiespasmódico y un removeedor de gases producidos en el intestino, además, se ha reportado su uso como antioxidante, antiinflamatorio, anticancerígeno, analgésico, anestésico, antibacteriano, antifúngico, antiparasitario y como repelente contra insectos, principalmente mosquitos (Sellamuthu, 2014).

2.6 Destilación por arrastre de vapor

La destilación por vapor es uno de los métodos más comunes para la extracción de aceites esenciales, este método permite la extracción del 93% de los aceites esenciales presentes en el material vegetal empleado, mientras que el 7% restante puede extraerse con ayuda de métodos adicionales (Ranjha *et al.*, 2023). En la destilación al vapor, el material vegetal se coloca en un recipiente de metal, el cual no debe estar en contacto directo con el agua. El vapor generado por el calor aplicado al equipo de destilación ayuda a romper las membranas celulares del material vegetal liberando así el aceite esencial, posteriormente el vapor generado se condensa en un sistema de enfriamiento y al decantarse se recuperan dos porciones; agua floral o hidrolato y aceite esencial (Souiy, 2024).

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, la producción de ganado bovino representa una de las principales actividades pecuarias solo por detrás de la agricultura, ocupando un lugar fundamental en generación de ingresos para las familias dedicadas a esta actividad y en la producción de carne y leche, aptos e inocuos para el abastecimiento de la población mexicana. Sin embargo, los sistemas de producción enfrentan diversos desafíos, entre los que destacan los problemas ocasionados por garrapatas, reflejándose negativamente en aspectos económicos y sanitarios, ocasionando grandes pérdidas al sector pecuario.

La eficacia de los métodos convencionales empleados para su control y eliminación se han visto considerablemente disminuidos como consecuencia del uso excesivo, inadecuado e indiscriminado de estos, lo que ha favorecido la generación de problemas de resistencia por parte de las poblaciones de garrapatas a los principios activos empleados.

Debió a la problemática mundial con respecto a la resistencia a los ixodicidas por parte de algunas poblaciones de garrapatas y la exigencia del sector pecuario en la resolución de este problema, ha llevado a la industria farmacéutica a la búsqueda de nuevos tratamientos alternativos que resulten efectivos, económicos y con bajo impacto ambiental, con el objetivo de reducir los problemas de resistencia y contar con tratamientos que reduzcan el uso de los tratamientos convencionales.

El uso de aceites esenciales de origen vegetal representa una alternativa efectiva que puede implementarse para el control y eliminación de garrapata *R. microplus*, los cuales, dentro de su composición química cuentan con diferentes familias químicas de metabolitos secundarios con actividad ixodicida, y que por consiguiente lleva a reducir el uso de compuestos químicos sintéticos, previniendo futuros problemas de resistencia a estos. Además, el uso de compuestos orgánicos y biodegradables favorece a los ecosistemas, reduciendo la contaminación y la alteración biológica en los mismos.

4 JUSTIFICACIÓN

El uso de productos químicos sintéticos para el control de garrapatas que afectan al ganado bovino supone un avance importante en el tratamiento de este problema, con la intención de favorecer a la salud, bienestar y producción de los animales, sin embargo, el uso inadecuado y excesivo de estos productos ha propiciado la aparición de poblaciones de garrapatas que han desarrollado resistencia a los mecanismos de acción de los diferentes productos ixodicidas comerciales empleados para su control y eliminación.

La aparición de esta situación ha encendido las alarmas a nivel mundial, debido a que se suma un desafío más que afecta directamente a la salud pública y la salud animal, ya que con el transcurso del tiempo los tratamientos empleados, en primera y última instancia, en el control de este problema se volverán ineficaces, situación que propicia a la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas efectivas y de baja toxicidad por parte de la industria farmacéutica.

Dentro de las alternativas propuestas para el control eficaz de garrapatas se encuentra la medicina tradicional, la cual se basa en el empleo de plantas con efectos terapéuticos, que a través de la extracción de aceites esenciales por medio de diferentes métodos, se pueden obtener los metabolitos secundarios presentes en estos, los cuales han demostrado eficacia para el control y eliminación de garrapatas, además de poseer baja toxicidad y ser biodegradables y sobre todo con un menos efectos secundarios en los hospederos sometidos al tratamiento.

La presencia de la garrapata *R. microplus* en los sistemas de producción se refleja en las pérdidas económicas ocasionadas por disminución de la producción cárnica y láctea, el uso de productos para la eliminación de garrapatas y en la transmisión de enfermedades con potencial zoonótico, por lo que lo que el control de estos agentes a partir de la evaluación de la actividad ixodicida *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* permitirá proponer una nueva alternativa biodegradable y eficaz contra garrapatas, reduciendo así los costos de producción, preservando la salud y el bienestar de los animales, así como la disminución de problemas de resistencia a los tratamientos convencionales.

5 HIPOTESIS

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* presentará actividad ixodocida contra larvas de *Rhipicephalus microplus*.

6 OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Determinar la actividad ixodocida *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* contra larvas la garrapata de *Rhipicephalus microplus*, para proponerlo como una alternativa de tratamiento.

6.2 Objetivos específicos

1. Extraer el aceite esencial de *S. aromaticum*.
2. Evaluar la actividad ixodocida de los componentes del aceite esencial de *S. aromaticum* contra larvas de *R. microplus*.
3. Calcular los valores de las concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₀.

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Material vegetal

El material vegetal, correspondiente a botones florales secos de *S. aromaticum*, empleado en el presente estudio se adquirió en un mercado local ubicado en el municipio de Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México (20° 03' y 20° 13' N / 98° 14' y 98° 31' O).

7.2 Obtención del aceite esencial

Para obtener el aceite esencial de *S. aromaticum* se empleó la técnica de arrastre de vapor descrita por Kant & Kumar (2021) con ayuda de un alambique (Figura 1), a una proporción de 1:10, empleando 250 g de material vegetal seco entero y 2,500 mL de agua destilada, en el Laboratorio de Bacteriología Investigación perteneciente al Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.



Figura 1: Alambique de cobre empleado para la extracción del aceite esencial de *S. aromaticum*, mediante la técnica de arrastre de vapor.

7.3 Material biológico

Se emplearon larvas infestantes de *R. microplus* (cepa “Media Joya”) susceptible a ixodicidas, mantenida mediante infestaciones artificiales controladas en bovinos dentro de las instalaciones del Laboratorio de Artropodología del Centro Nacional de Investigación

Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ubicado en Jiutepec, Morelos, México (18°56'12" N / 99°13'02" O).

Para la obtención de garrapatas hembras repletas, se infestó un bovino raza Holstein-Friesian de 120 kg de peso vivo, aislado durante 24 días, con 0.5 g de garrapatas en fase larval para desarrollar la fase de vida parasitaria. Veintiún días posteriores a la infestación, las garrapatas hembras repletas en estadio adulto fueron colectadas directamente de la piel del bovino y se incubaron en cajas Petri a 27° C y 80% de humedad relativa (HR) de para permitir la ovoposición, posteriormente el huevo se colectó y se colocó en frascos de vidrio sellados en su extremo superior con tapón de algodón hasta la eclosión y obtención de las larvas que se emplearon en el bioensayo (Figura 2).



Figura 2: Larvas infestantes de *R. microplus*.

7.4 Diseño experimental

Para realizar el presente estudio se prepararon 5 tratamientos empleando una combinación de aceite esencial de *S. aromaticum*, etanol al 20% y Tween-20® al 18%, las concentraciones a evaluar fueron 2.0, 1.0, 0.5, 2.5% y un control negativo a base de Tween20® al 18%, agua destilada y etanol al 20%, las evaluaciones se realizaron por triplicado y empleando de 100 a 150 larvas en cada repetición.

7.5 Actividad ixodica

Para determinar la actividad ixodica del aceite esencial de *S. aromaticum* se realizó la prueba de inmersión de larvas (PIL). El aceite esencial se diluyó en una solución que

contenía etanol al 20% y Tween-20® al 18% para diluir el aceite esencial y así obtener tratamientos al 2.0, 1.0, 0.5, 0.25 y 0.12 % respectivamente, los cuales se evaluaron por triplicado. Como control negativo se utilizó una combinación de Tween20® al 18%, agua destilada y etanol al 20% (Figura 3).

Se realizó la prueba de inmersión de larvas (LIT) descrita por Kafke *et al.* (2006) realizando una modificación en la que se sustituyó el fármaco y el TRITÓN X-100® por aceite esencial y Tween-20®. Para realizar el bioensayo se emplearon aproximadamente 1,500 larvas sin alimentar aproximadamente para todos los tratamientos. En tubos de microcentrífuga de 1.5 mL se agregaron cada uno de los tratamientos (2.0, 1.0, 0.5, 0.25 y 0.12 %) completando cada uno con agua destilada, con la ayuda de un pincel se tomaron de 100 a 150 larvas, las cuales se sumergieron por 10 minutos en cada uno de los tratamientos previamente preparados incluido el control negativo (Figura 4). Después de la inmersión en cada uno de los tratamientos, las larvas se colocaron en pliegues de papel filtro (7.5 cm x 8.5 cm) sellándolos por cada extremo con clips “Bulldog” para formar paquetes larvarios (Figura 5).

Los paquetes correspondientes a cada tratamiento y los correspondientes al grupo control se incubaron durante 24 horas a $27 \pm 2^\circ \text{C}$ con una humedad relativa del 80 a 90%. Finalmente, transcurrido el tiempo de incubación, se abrieron los paquetes y se realizó el conteo de larvas, donde se consideraron como vivas a aquellas con capacidad de desplazarse y muertas a las que presentaban nula locomoción o locomoción de los apéndices, pero sin capacidad de desplazarse (Jyoti *et al.*, 2019).



Figura 3: Tubos de microcentrífuga correspondientes a cada uno de los tratamientos evaluados.

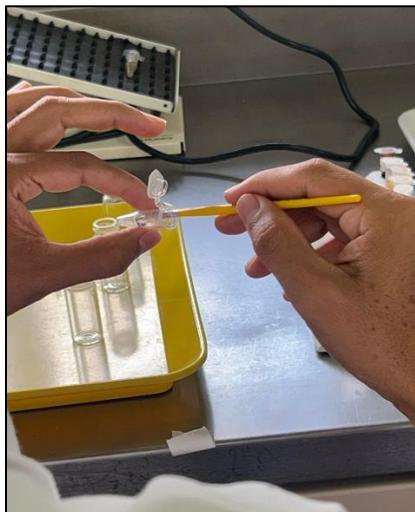


Figura 4: Inmersión de larvas de *R. microplus* en los tratamientos.



Figura 5: Paquetes larvarios de cada tratamiento más el control negativo, evaluados por triplicado.

7.5 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar a través de ANOVA. Las diferencias entre las medias se evaluaron mediante una comparación de medias por Tukey con un nivel de significancia del 95% ($P \leq 0.05$). Los valores de las concentraciones letales CL_{50} y CL_{90} se determinaron mediante un análisis PROBIT, usando el programa Minitab 18.

8 RESULTADOS

8.1 Aceite esencial

Como resultado del proceso de destilación se obtuvieron dos componentes: hidrolato o agua floral y aceite esencial; se recuperaron 2,000 mL de hidrolato y 10 mL de aceite esencial correspondiente a *S. aromaticum* (Figura 5), los cuales resultaron de la destilación, dando un rendimiento de 10 mL de aceite esencial por cada 250 g de material vegetal seco empleado.



Figura 6: Aceite esencial de *S. aromaticum*, resultante del proceso de destilación por arrastre de vapor.

8.2 Mortalidad de larvas

Los resultados obtenidos de los tratamientos evaluados, mostrando diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en los porcentajes de mortalidad larvaria por concentración evaluada, las concentraciones al 2% y al 1% presentaron la mayor actividad ixodicida contra *R. microplus* (Figura 6), no se observaron diferencias estadísticas significativas entre ellas, con un 100% y 98.01% de mortalidad respectivamente (Cuadro 1).

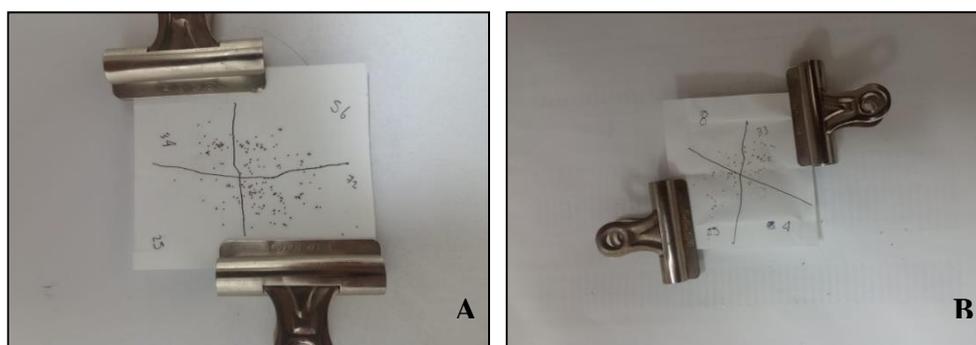


Figura 7: A) Paquete larvario de la concentración al 2%; B) Paquete larvario de la concentración al 1%. Los tratamientos mostraron el 100% y 98.01 de mortalidad respectivamente contra larvas de *R. microplus*.

La concentración al 0.5% presentó una mortalidad de 48.93% mostrando una diferencia significativa en comparación con el resto de las concentraciones, las concentraciones al 0.25% y al 0.12% fueron las de menor actividad ixodida presentando porcentajes de mortalidad del 1.12%, 0% y el 0% respectivamente (Cuadro 1).

Los resultados reflejan una relación directa entre la concentración del tratamiento y la mortalidad larval, siendo las concentraciones más bajas ineficaces para el control de *R. microplus*.

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad larval de *Rhipicephalus microplus* expuestos a aceite

Tratamientos	Promedio de larvas vivas y muertas recuperadas		%Mortalidad \pm D.E
	Muertas	Vivas	
AE-CL (%)			
2.0	100	0	100 ^a
1.0	124.6	3.6	98.01 \pm 3.43 ^a
0.5	81.3	85.6	48.93 \pm 1.30 ^b
0.25	1.3	115.3	1.12 \pm 0.42 ^c
0.12	0	100	0 ^c
Control negativo	0	100	0 ^c
Coeficiente de variación			3.65
R ²			0.99

esencial de *Syzygium aromaticum*.

^{a,b,c} Medias dentro de la misma columna con distinta literal indican diferencia estadística. P<0.05, D.E= desviación estándar, AE-CL= Aceite esencial de clavo.

Con respecto a las concentraciones letales, se determinaron las CL₅₀ y CL₉₀, de 0.44% y 0.72% respectivamente, concentraciones necesarias para causar una mortalidad del 50% y

90% de la población larvaria de *R. microplus* evaluada, cuyos valores se representan en la **Figura 7**.

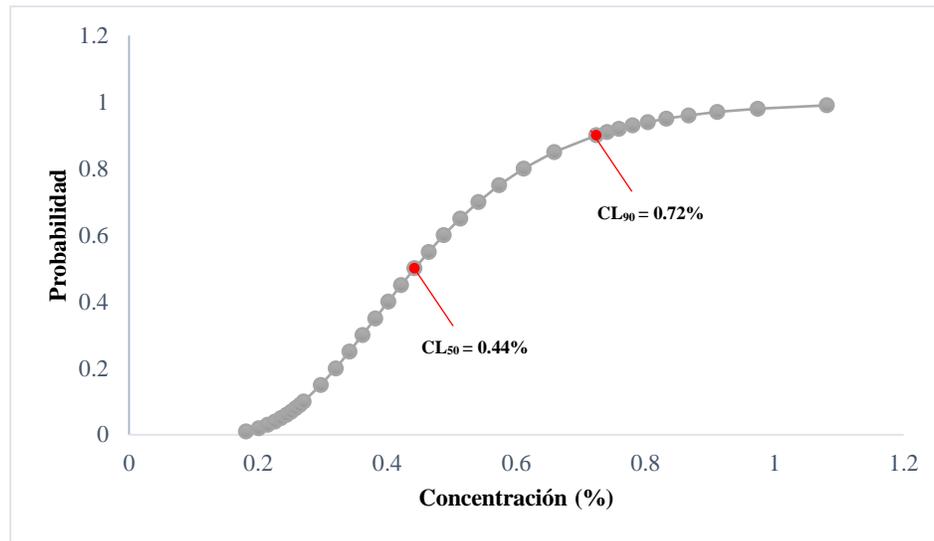


Figura 8: Concentraciones CL₅₀ y CL₉₀ del aceite esencial de *S. aromaticum* contra larvas de *R. microplus*.

9 DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que el aceite esencial de *S. aromaticum*, extraído mediante la técnica de arrastre por vapor, presentó un rendimiento de 10 mL por cada 250 g de material vegetal empleado. En contraste, Martínez *et al.* (2015), reportaron un rendimiento de 3.5 g de aceite esencial de clavo utilizando la misma técnica, empleando 50 g de material vegetal de partida y 500 mL de agua. En términos relativos, los resultados de dicho estudio evidencian una mayor eficiencia en la extracción, estos resultados, debido a que la cantidad de aceite esencial obtenido es mayor al emplearse una cantidad más baja de material vegetal. Las diferencias de ambos resultados podrías atribuirse a diversos factores, tales como la variedad de la planta utilizada, el método de extracción, el método y grado de secado, y la edad del material vegetal al momento de su colecta, así como a la cantidad de agua empleada y el tiempo que se mantuvo al calor.

Respecto a la actividad ixodocida del aceite esencial de clavo, resultados obtenidos por Jyoti *et al.* (2019), quienes realizaron la prueba de paquetes de larvas, muestran actividad ixodocida del aceite esencial comercial de *S. aromaticum* contra larvas de *R. microplus* empleando concentraciones entre 0.5% y 5.0% que se impregnaron en cada paquete, obteniendo valores de CL₅₀ y CL₉₀ de 0.301% y 0.387% respectivamente. Estos valores resultan bajos en comparación con las concentraciones empleadas en el presente estudio, así como con los valores de CL₅₀ y CL₉₀ aquí determinadas. Estas diferencias pueden atribuirse, entre muchos factores, a la calidad y pureza del aceite esencial utilizado, las variaciones en la composición química del aceite relacionadas con el origen geográfico de la planta, el método de extracción empleado, la edad de la planta y el tiempo de secado previo a su uso experimental. Además, también es importante considerar las diferentes condiciones experimentales específicas, como el protocolo de bioensayo, las condiciones de incubación, el estadio de las larvas utilizadas, pueden influir en la variabilidad de los resultados.

Estudios previos realizados por Ferreira *et al.* (2018), determinaron la actividad ixodocida del aceite esencial de clavo y del compuesto eugenol, ambos empleados en soluciones hidroetanólicas a dosis de 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 y 20.0 mg/mL, contra larvas de *R. microplus*. A una dosis de 2.5 mg/mL se observaron mortalidades del 97.9% y 100%, respectivamente,

mientras que las dosis al 5.0, 10.0 y 20.0 mg/mL causaron una mortalidad del 100% para ambos tratamientos. a 2.5 mg/mL, mientras que las concentraciones al 5.0, 10.0 y 20.0 mg/mL, causaron una mortalidad del 100% para ambos tratamientos. Estos resultados evidencian que inclusive a dosis relativamente bajas se logra una alta eficacia ixodicida, siendo más efectivos en comparación con datos obtenidos en el presente estudio.

Estudios *in vitro* realizados por Fuentes-Zaldívar *et al.* (2017) se determinó la actividad acaricida del aceite esencial de *Jatropha curcas* L, el cual se evaluó a concentraciones de 5, 10, 15 y 25%., contra hembras ingurgitadas de *R. microplus*, los resultados mostraron que el mayor porcentaje de mortalidad se presentó a la concentración más baja de los tratamientos, estos resultados difieren con los obtenidos en el presente estudio, debido a que la concentración más alta mostro mayor porcentaje de mortalidad, el autor menciona que esta característica podría estar relacionada con una mejor emulsión del aceite a la concentración más baja, situación que permitió mayor adhesión y por consiguiente mayor biodisponibilidad y penetración contra la garrapata.

Alimi *et al.* (2023), evaluaron a concentraciones de 10, 5, 2,5, 1,25 y 0,625 mg/mL, aceite esencial, extracto etanólico de *S. aromaticum* y el constituyente eugenol, contra *Hyalomma scupense* en un lapso de 1, 5, 10 y 15 días para garrapatas adultas y por 24 horas para larvas. Obteniendo en el día 1 de evaluación, a la dosis más alta el aceite esencial, eugenol y extracto etanólico, mortalidad de 18.11, 38.27 y 8.37 % respectivamente sobre la fase adulta, mientras que al día 15 los mismos compuestos generaron mortalidad de 100, 100 y 67.01 % respectivamente, mientras que para la fase larvaria el compuesto eugenol presentó mortalidad del 100%, el aceite esencial del 94% y el extracto etanólico del 77% a una dosis de 2.5 mg/mL, esto al transcurrir las 24 horas, estos resultados muestran que el aceite esencial presento valores de mortalidad larvaria similares a los obtenidos en el presente estudio.

En 2006, Saad *et al.* evaluaron la actividad acaricida de 14 aceites esenciales contra el acaro del polvo doméstico *Dermatophagoides pteronyssinus*, en cuyos resultados, el aceite esencial de clavo destacó como el más efectivo en comparación con el resto, obteniendo valores referentes a CL₅₀ de $29,78 \times 10^{-6}$ y $21,17 \times 10^{-6}$ al ser evaluados en intervalos de 24 y 48 horas respectivamente, a pesar de que en ambos estudios fueron empleadas diferentes metodologías para determinar la actividad acaricida, podemos observar que al

igual que la presente investigación, estos autores determinaron una mejor actividad al tipo de acaro empleado.

De igual manera, Andriantsoanirina *et al.* (2022) evaluaron la actividad acaricida en un ensayo *in vitro* de 31 aceites esenciales contra el acaro de la sarna sarcóptica *Sarcoptes scabiei* en sus estadios adulto y larvario, empleando aceite esencial de clavo diluido en aceite de parafina como control positivo a concentraciones de 1. 0.5 y 0.25 %. La actividad fue evaluada en intervalos de 5, 15, 30 y 45 minutos, y posteriormente cada hora hasta completar las 6 horas, obteniendo valores para TL₅₀ de 17.50, 18.02 y 30.82 para cada una de las concentraciones. La concentración del 1% fue la que causó mayor mortalidad de los ácaros en ambos estadios antes de los 30 minutos. Aunque los resultados del presente estudio difieren en términos de especie objetivo y tiempos de exposición, estos hallazgos respaldan la eficacia del aceite esencial de clavo como agente acaricida, lo que refuerza su potencial como alternativa para el control de ectoparásitos, incluidos los de importancia en la producción de ganado bovino como *R. microplus*.

En un estudio *in vivo* realizado por Goode *et al.* (2018) reportaron la efectividad de los aceites esenciales de *Curcuma longa* y *Citrus sinensis* empleados como repentes contra 899 garrapatas del género *Ixodes ricinus* en perros a una concentración de 2.5% diluidos en agua con un 1% de excipiente de glucósido de coco, mostrando la adhesión de un 15% de garrapatas, mientras que para el segundo la adhesión fue de 85%, a pesar de que estos resultados y metodología son distintos a los empleados en el presente estudio, el aceite esencial de clavo podría ser evaluado de la misma manera para emplearse como repelente contra garrapatas de importancia en la producción bovina.

De manera concordante, Vázquez-Tec *et al.* (2024) llevaron a cabo la evaluación de la actividad acaricida *in vitro* e *in vivo* del extracto acuoso de semillas de *Pimpinella anisum* aplicando a concentraciones de 1.25, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75 % y 100 %, contra garrapatas *R. sanguineus* e *I. affinis* en caninos, observando que a partir de la concentración del 25 % se inmovilizaron más del 96 % del total de garrapatas evaluadas y con el resto de las concentraciones se logró inmovilizar el 100 % de las garrapatas tratadas esto para la evaluación *in vitro*, mientras que para la evaluación *in vivo* a concentraciones de 1.25, 2.5, 5, 10, 25, 50 y 75 %, donde la actividad del extracto acuoso ocasionó el desprendimiento de todas las garrapatas en un tiempo promedio de 60.81 minutos y las mantuvo inmóviles

durante 14.62 minutos, aunque la metodología es diferente a la utilizada en el presente estudio, la evaluación de extracto acuoso de clavo podría implementarse contra *R. microplus*.

Respecto al efecto ixodicida de extractos, estudios recientes realizados por Miranda *et al.* (2023) reportaron la actividad ixodicida de extractos vegetales de *Cinnamomum zeylanicum* y *Tagetes erecta* sobre estadios larvarios y adultos de *R. microplus*, en donde se evaluaron concentraciones de 6, 3, 1.5, 0.75 y 0.375%, obteniendo mejores resultados para el extracto de *C. zeylanicum* con porcentajes de mortalidad de 100, 97.8, 64.2, 0 y 05 respectivamente, mientras que para el extracto de *T. erecta* no hubo mortalidad para ninguno de las concentraciones empleadas, los resultados obtenidos en el presente estudio contrastan con los reportados en la investigación de Miranda y colaboradores, debido a que las concentraciones empleadas por ellos fueron más altas y presentaron un elevado porcentaje de mortalidad, mientras que en el presente estudio resultan más bajas y con una semejanza en los porcentajes de mortalidad, estos resultados podrían variar por el tipo de extracto y tipo de planta, por lo que se requiere evaluar la actividad del extracto de clavo para determinar su actividad ixodicida.

Por su parte, Štefanidesová *et al.* (2017) evaluaron la actividad acaricida del aceite esencial de clavo comercial empleado como repelente ante estadios adultos de garrapatas *Dermacentor reticulatus* en donde observaron que el aceite esencial de clavo diluido al 1% presenta un bajo porcentaje para repeler garrapatas en un 29.6%, mientras que la concentración al 3% repelió a las garrapatas en un 82.9%, aunado a lo anterior, los resultados son diferentes a los obtenidos en el presente estudio, en los cuales se obtuvo una mejor efectividad, considerando las diferencias entre la metodología que se empleó, así como el género y fase de vida de la garrapata.

Aguilar *et al.* en el 2019 evaluaron la actividad insectistático de los extractos de etanólicos de clavo y pimienta a concentraciones de 0.000001, 0.00001, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 y 1.0%, contra la mosca blanca del género *Trialeurodes vaporariorum* sobre tomates, cuyos resultados muestran la eficacia de ambos extractos en cada concentración con diferencias estadísticas significativas, siendo la concentración más alta del extracto etanólico de clavo la que generó el mayor porcentaje de mortalidad en un 33.7%. Los resultados obtenidos por los autores muestran una mejor eficacia del extracto etanólico de clavo, inclusive en las

concentraciones más bajas, en comparación a los obtenidos en esta investigación en donde, la mortalidad comienza a partir de la concentración de 0.25%. Los autores refieren mayor actividad insectistático del extracto hidroalcohólico de clavo contra *T. vaporariorum*, por lo que se considera como una alternativa para el control de insectos.

Con base en lo anterior, Awad *et al.* (2022), evaluaron la actividad de los aceites esenciales de clavo, albahaca y menta a concentraciones 50, 100, 150, 200 y 400 mL L⁻¹, contra la araña del género *Tetranychus urticae* en cultivos de pepinos, evaluando la eficacia a intervalos de 24, 48 y 72 horas. Los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, destacándose el aceite esencial de clavo como más efectivo, con porcentajes de mortalidad del 100% en el estadio adulto a concentraciones de 100 y 200 mL L⁻¹. Aunque estos resultados en el tipo de arácnido evaluado y las concentraciones utilizadas, las cuales fueron más elevadas en el estudio de Awad y colaboradores, se confirma la eficacia acaricida del aceite esencial de clavo como una alternativa con el potencial manejo de garrapatas.

10 CONCLUSIÓN

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* a las concentraciones al 2% y al 1% presentó su mejor actividad ixodicida contra larvas de *R. microplus*, con un 100% y 98.01% de mortalidad respectivamente. Por lo que pudiera ser implementado como alternativa al uso de ixodicidas sintéticos en el control de este ectoparásito, sin embargo, es necesario realizar pruebas en la fase adulta de la garrapata, así como evaluar su toxicidad, previo a iniciar una evaluación en un modelo *in vivo*.

11 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas, R. Z., Zaman, M. A., Colwell, D. D., Gilleard, J. & Iqbal, Z. (2014). Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: the state of play. *Veterinary parasitology*, 203(1-2), 6–20. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.03.006>
2. Aguilar, E., Rodríguez, C., Bravo, H., Soto, R. M., Bautista, N. & Guevara, F. (2019). Efecto insectistático de extractos etanólicos de clavo y pimienta en *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae). *Acta zoológica mexicana*, 35, e3502068. Epub 29 de noviembre de 2019. <https://doi.org/10.21829/azm.2019.3502068>
3. Alimi, D., Hajri, A., Jallouli, S., & Sebai, H. (2023). Toxicity, repellency, and anti-cholinesterase activities of bioactive molecules from clove buds *Syzygium aromaticum* L. as an ecological alternative in the search for control *Hyalomma scupense* (Acari: Ixodidae). *Heliyon*, 9(8), e18899. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18899>
4. Alonso-Díaz, M. A., Rodríguez-Vivas, R. I., Fragoso-Sánchez, H. & Rosario-Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Archivos de medicina veterinaria*, 38(2), 105-113. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2006000200003>
5. Andriantsoanirina, V., Guillot, J., Ratsimbason, M., Mekhloufi, G., Randriamialinoro, F., Ranarivelo, L., Arieu, F., & Durand, R. (2022). *In vitro* efficacy of essential oils against *Sarcoptes scabiei*. *Scientific reports*, 12(1), 7176. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11176-x>
6. Awad, S. E., Salah, K. B. H., Jghef, M. M., Alkhaibari, A. M., Shami, A. A., Alghamdi, R. A., El-Ashry, R. M., Ali, A. A. I., El-Maghraby, L. M. M. & Awad, A. E. (2022). Chemical Characterization of Clove, Basil and Peppermint Essential Oils; Evaluating Their Toxicity on the Development Stages of Two-Spotted Spider Mites Grown on Cucumber Leaves. *Life (Basel, Switzerland)*, 12(11), 1751. <https://doi.org/10.3390/life12111751>

7. Basu, A. K. & Charles, R. A. (2017). *A General Account of Ticks. Ticks of Trinidad and Tobago - an Overview*, 1–33. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809744-1.00001-3>
8. Batiha, G. E., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H. & Rashwan, E. K. (2020). *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*, 10(2), 202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>
9. Boulanger, N., Boyer, P., Talagrand-Reboul, E., & Hansmann, Y. (2019). Ticks and tick-borne diseases. *Medecine et maladies infectieuses*, 49(2), 87-97. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.01.007>
10. Camacho, L. A. (2023). Resistencia bacteriana, una crisis actual [Bacterial resistance, a current crisis.]. *Revista española de salud pública*, 97, e202302013.
11. Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R., & Oliveira, W. P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4(2), 90–96. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X)
12. Cortés-Vecino, J. A. (2018). Control integrado de garrapatas y su importancia en salud pública. *Biomédica*, 38(4), 452-455.
13. Durán, C. E., Pratisoli, D., de Carvalho, J. R., Pacheco, A., de Araujo, L. & Bolsoni, H. (2020). Actividad insecticida de aceites esenciales sobre *Helicoverpa armígera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Idesia (Arica)*, 38(4), 59-64. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292020000400059>
14. Esponda, M. M., Cruz, M. Á. G., & Tovar, L. G. (2021). Alternativas para el manejo de la garrapata *Boophilus microplus* en el Trópico Mexicano. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 4(3), 4424-4435. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n3-126>
15. Ferreira, F. M., Delmonte, C. C., Novato, T. L. P., Monteiro, C. M. O., Daemon, E., Vilela, F. M. P., & Amaral, M. P. H. (2018). Acaricidal activity of essential oil of *Syzygium aromaticum*, hydrolate and eugenol formulated or free on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus*. *Medical and veterinary entomology*, 32(1), 41–47. <https://doi.org/10.1111/mve.12259>

16. Fuentes-Zaldívar, M., Soca-Pérez, M., Arece-García, J. & Hernández-Rodríguez, Y. (2017). Actividad acaricida in vitro del aceite de *Jatropha curcas* L. en teleoginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Pastos y Forrajes*, 40(1), 49-54.
17. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2004). *Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants [Archivo PDF]*. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/8efa816b-a7d5-4667-8c33-777fd35bc13b/content>
18. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2024). *Crops and livestock products*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
19. Goode, P., Ellse, L., & Wall, R. (2018). Preventing tick attachment to dogs using essential oils. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(4), 921–926. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.029>
20. Goñi, M. G., Roura, S. I., Ponce, A. G. & Moreira, M. R. (2016). *Chapter 39 Clove (Syzygium aromaticum) Oils*. En *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 349-350). London, UK: Elsevier, Inc.
21. Guillén, S., Callejas, I. & Oteo, J. A. (2023). *Enfermedades transmitidas por garrapatas [Documento PDF]*. Sociedad Española de Infectología Pediátrica. https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/26_enf_garrapatas.pdf
22. Gutiérrez-Hernández, J., Palomares-Resendiz, G., Hernández-Badillo, E., Leyva-Corona, J., Díaz-Aparicio, E. & Herrera-López, E. (2020). Frecuencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de doble propósito ubicados en Oaxaca, México. *Abanico veterinario*, 10, e114. <https://doi.org/10.21929/abavet2020.22>
23. Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(21), 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>
24. Jacobs, D., Fox, M., Gibbons, L. & Hermosilla, C. (2016). *Chapter 3. Arthropods part 2: ticks, mites and ectoparasitocides*. En *Principles of Veterinary Parasitology* (pp. 57 – 65).: John Wiley & Sons, Ltd.

25. Jain, P., Satapathy, T. & Pandey, R. K. (2020). *Rhipicephalus microplus*: A parasite threatening cattle health and consequences of herbal acaricides for upliftment of livelihood of cattle rearing communities in Chhattisgarh. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26, 101611. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101611>
26. Johnson, N. (2023). *Chapter 3. The tick life cycle*. En *Ticks: Biology, Ecology and Diseases* (pp. 34 – 35). United Kingdom: Elsevier, Inc.
27. 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, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.007>
28. Kamatou, G. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M. (2012). Eugenol--from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(6), 6953–6981. <https://doi.org/10.3390/molecules17066953>
29. Kant, R., & Kumar, A. (2021). Advancements in steam distillation system for oil extraction from peppermint leaves. *Materials Today: Proceedings*, 47, 5794-5799. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.123>
30. Kasaija, P. D., Estrada-Peña, A., Contreras, M., Kirunda, H., & de la Fuente, J. (2021). Cattle ticks and tick-borne diseases: a review of Uganda's situation. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(5), 101756. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101756>
31. Klafke, G. M., Sabatini, G. A., de Albuquerque, T. A., Martins, J. R., Kemp, D. H., Miller, R. J., & Schumaker, T. T. (2006). Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary parasitology*, 142(3-4), 386–390. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.07.001>
32. Martínez, M., Morales, H., Xatruck, C., & Amey, A. (2015). Aceite esencial de clavo de olor, *Syzygium aromaticum*: Análisis de la actividad microbiológica y farmacológica para el posible tratamiento contra la faringoamigdalitis estreptocócica y lesiones causadas por el acné. *Veritatem*, 1 (1), 15-38.
33. Miranda, P. I., Martínez, F., Lagunes-Quintanilla, R. E. & Barrera, A. I. (2023). Efecto ixodicida de los extractos vegetales de *Cinnamomum zeylanicum* y *Tagetes*

- erecta* sobre garrapatas *Rhipicephalus microplus*. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 14(4), 905-914. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i4.6394>
34. Molina-Hoyos, K., Montoya-Ruiz, C., Díaz, F. J., & Rodas, J. D. (2018). Enfermedades virales transmitidas por garrapatas. *Iatreia*, 31(1), 36-50. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v31n1a04>
 35. Ojeda-Chi, M. M., Rodríguez-Vivas, R. I., Galindo-Velasco, E., Lezama-Gutiérrez, R. & Cruz-Vázquez, C. (2011). Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) utilizando el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae): Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2 (2), 177-192.
 36. Organización Mundial de la Salud. (2023). *Una sola salud*. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/one-health>
 37. Oteo, J. A. (2016). Espectro de las enfermedades transmitidas por garrapatas. *Pediatría Atención Primaria*, 18(Supl. 25), 47-51.
 38. Pandey, V. K., Srivastava, S., Ashish, Dash, K. K., Singh, R., Dar, A. H., Singh, T., Farooqui, A., Shaikh, A. M., & Kovacs, B. (2023). Bioactive properties of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil nanoemulsion: A comprehensive review. *Heliyon*, 10(1), e22437. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22437>
 39. Quadri, A. S., Sarkate, A. P., Nirmal, N. P. & Sakhale, B. K. (2023). *Chapter 2 Importance and extraction techniques of functional components*. En *Recent Frontiers of Phytochemicals Applications in Food, Pharmacy, Cosmetics, and Biotechnology* (pp. 14). Chennai, India: Elsevier, Inc.
 40. Ranjha, M. M. A. N., Zahra, S. M., Irfan, N., Shafique, B., Noreen, R., Alahmad, U. F., Liaqat, S. & Umar, S. (2023). *Chapter 2 Extraction and analysis of essential oils: Extraction methods used at laboratory and industrial level and chemical análisis*. En *Essential Oils Extraction, Characterization and Applications* (pp. 41-43). Elsevier, Inc.
 41. Rodríguez-Vivas, R. I., Jonsson, N. N., & Bhushan, C. (2018). Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitology research*, 117(1), 3–29. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>

42. Rodríguez-Vivas, R. I., Rosado-Aguilar, J. A., Ojeda-Chi, M. M., Pérez-Cogollo, L. C., Trinidad-Martínez, I. & Bolio-González, M, E. (2014). Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(3), 295-308.
43. Rojas, C., Loza, E., Rodríguez, S. D., Figueroa, J. V., Aguilar, F., Lagunes, R. E., Morales, J. F., Santillán, M. A., Socci, G. A. & Álvarez, J. A. (2021). Antecedentes y perspectivas de algunas enfermedades prioritarias que afectan a la ganadería bovina en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 12 (3), 111-148. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12s3.5848>
44. Saad, el-Z., Hussien, R., Saher, F., & Ahmed, Z. (2006). Acaricidal activities of some essential oils and their monoterpenoidal constituents against house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 7(12), 957–962. <https://doi.org/10.1631/jzus.2006.B0957>
45. Scott, D. W. (2018). Skin Diseases. En Rebhun's Diseases of Dairy Cattle (3ª ed., p. 382). Elsevier, Inc.
46. Sellamuthu, R. (2014). Eugenol. En P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (3ª ed., Vol. 2, pp. 539-541). Elsevier, Inc. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01125-8>
47. Selles, S. M. A., Kouidri, M., González, M. G., González, J., Sánchez, M., González-Coloma, A., Sanchis, J., Elhachimi, L., Olmeda, A. S., Tercero, J. M., & Valcárcel, F. (2021). Acaricidal and Repellent Effects of Essential Oils against Ticks: A Review. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(11), 1379. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111379>
48. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2024). *Anuario Estadístico de la Producción Ganadera*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. https://nube.siap.gob.mx/cierre_pecuario/
49. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2024). *Población Ganadera*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. https://nube.siap.gob.mx/poblacion_ganadera/
50. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2023). *Panorama Nacional de Garrapata (Rhipicephalus microplus) [Documento PDF]*. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.

https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2021/abril/PANGarrapataBoophilus24-03-21_d14af967-d0cc-4935-a6ba-dce18add7836.pdf

51. Shibeshi, M. A., Kifle, Z. D., & Atnafie, S. A. (2020). Antimalarial Drug Resistance and Novel Targets for Antimalarial Drug Discovery. *Infection and drug resistance*, 13, 4047–4060. <https://doi.org/10.2147/IDR.S279433>
52. Souiy, Z. (2024). *Essential Oil Extraction Process*. En *Essential Oils Recent Advances, New Perspectives and Applications*. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.113311
53. Štefanidesová, K., Škultéty, L., Sparagano, O. A. E., & Špitalská, E. (2017). The repellent efficacy of eleven essential oils against adult *Dermacentor reticulatus* ticks. *Ticks and tick-borne diseases*, 8(5), 780–786. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.06.003>
54. The Center for Food Security and Public Health. (2007). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus [Documento PDF]*. The Center for Food Security and Public Health. https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/boophilus_microplus-es.pdf
55. Tripathi, A. K. & Mishra, S. (2016). *Chapter 16 Plant Monoterpenoids (Prospective Pesticides)*. En *Ecofriendly Pest Management for Food Security* (pp. 514-515). Lucknow, India: Elsevier, Inc.
56. Uffo, O. (2011). PRODUCCIÓN ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍAS PECUARIAS: NUEVOS RETOS. *Revista de Salud Animal*, 33(1), 08-14.
57. Valerio, L., Soldevila, L., Roure, S., Martínez, A. & Vallès, X. (2022). Enfermedades transmitidas por picadura de garrapatas. *FMC. Formación Médica en Atención Primaria*, 29(8), 422-429. <https://doi.org/10.1016/j.fmc.2022.01.013>
58. Vázquez-Tec, W. F., Nahuat-Dzib, S. L., Cano-Sosa, J., Reyes-Vaquero, L., Lara-Ramirez, E. E., Ayil-Gutiérrez, B. A. & Domínguez-May, A. V. (2024). Un efecto novedoso del extracto acuoso de semillas de *Pimpinella anisum* sobre garrapatas de perros domésticos (*Canis lupus familiaris*). *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 15(2), 344-359. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v15i2.6348>