



Efectividad comparativa de efectos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y Neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel de laboratorio

Comparative effectiveness of natural stracts based on western soapberry (*Sapindus saponaria*) and Neem (*Azadirachta indica*) on ticks at the laboratory level

Saavedra-Tomanguillo, Tito Robin^{1*}

López-Flores, Alicia María¹

² Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Perú

Recibido: 18 Mar. 2024 | **Aceptado:** 17 Jun. 2024 | **Publicado:** 10 Jul. 2024

Autor de correspondencia*: titorobinsato@gmail.com

Cómo citar este artículo: Saavedra-Tomanguillo, T. R., & López-Flores, A. M. (2024). Efectividad comparativa de efectos naturales a base de choloque (*Sapindus saponaria*) y neem (*Azadirachta indica*) en garrapatas a nivel de laboratorio. *Revista de Veterinaria y Zootecnia Amazónica*, 4(2), e670. <https://doi.org/10.51252/revza.v4i2.670>

RESUMEN

El uso de plantas medicinales como antiparasitario es una alternativa que no causa daño al animal ni al medio ambiente. El objetivo fue medir el efecto de dos plantas *Sapindus saponari* (choloque) y *Azadirachta indica* (neem) en concentraciones de 50 ppm, 500 ppm y 5 000 ppm, medidos en una hora, en intervalos de 15 minutos. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar para el diseño experimental, donde el valor de evaluación para el modelo fue menor de 0,05 ($p\text{-value}=7,26e^{07}$). Los resultados obtenidos destacan el efecto del neem desde concentraciones bajas de 50 ppm, con los cuales se obtuvo una tasa de mortalidad de 15% y en concentraciones de 5 000 ppm una tasa de mortalidad de 40%. Al evaluar el efecto de choloque este comienza a actuar en concentraciones de 5 000 ppm con una tasa de mortalidad de 15%. La tasa de mortalidad se midió hasta los 60 minutos, tiempo en el cual neem con una concentración de 5 000 ppm alcanzó una tasa de mortalidad de 85 % y el choloque a la misma concentración alcanzó una tasa de mortalidad de 60 %. En todas las mediciones el Anova salió significativo para los diferentes tratamientos.

Palabras clave: alternativa; antiparasitario; contaminación; tratamiento natural

ABSTRACT

The use of medicinal plants as antiparasitic is an alternative that does not cause harm to the animal or the environment. The objective was to measure the effect of two plants *Sapindus saponari* (choloque) and *Azadirachta indica* (neem) at concentrations of 50 ppm, 500 ppm and 5 000 ppm, measured in one hour, at 15-minute intervals. A completely randomized block design was used for the experimental design, where the evaluation value for the model was less than 0.05 ($p\text{-value}=7.26e^{07}$). The results obtained highlight the effect of neem from low concentrations of 50 ppm, with which a mortality rate of 15% was obtained, and at concentrations of 5,000 ppm a mortality rate of 40% was obtained. When evaluating the effect of choloque, it began to act at concentrations of 5,000 ppm with a mortality rate of 15%. The mortality rate was measured up to 60 minutes, during which time neem at a concentration of 5 000 ppm reached a mortality rate of 85% and choloque at the same concentration reached a mortality rate of 60%. In all measurements the Anova was significant for the different treatments.

Keywords: alternative; antiparasitic; pollution; natural treatment



1. INTRODUCCIÓN

La evolución de la resistencia de las garrapatas a los acaricidas sintéticos ha dado lugar que nuevas investigaciones científicas sobre nuevas alternativas en el control de estos parásitos. Dado la dificultad que esto trae a la salud de los humanos y los animales, se han venido usando extracto de plantas con propiedades acaricidas (1).

Existe muchas ventajas al usar extractos de plantas: por ejemplo, se puede usar como producto orgánico en el ganado vacuno o incluso reemplazar acaricidas sintéticos, y estos a la vez están asociados a una menor contaminación ambiental y alimentaria, un desarrollo más lento de resistencias y menos toxicidad para los animales y humanos (1,2).

Las infestaciones de los ectoparásitos se encuentran entre los principales problemas que afectan la recaudación de acciones en los países tropicales (3,4). Entre estos parásitos, la garrapata de ganado *Rhipicephalus microplus* se destaca, causando la pérdida de peso, la anemia y las lesiones cutáneas, así como la transmisión de enfermedades como la babesiosis y la anaplasmosis a los rebaños (5,6).

Las garrapatas, independientemente de la clasificación, comparten una serie de características comunes. La gran mayoría obtiene nutrición a través de la alimentación de la sangre de un huésped vertebrado, y todos tienen múltiples etapas de la vida desde el huevo hasta el adulto (7). Están ampliamente distribuidas en toda Latinoamérica y es el parásito (artrópodo) con mayor impacto económico dentro de la ganadería del trópico y subtropical (8), no sólo porque afecta directamente a los vacunos disminuyendo la producción de leche, la ganancia de peso y el valor de las pieles; sino también, por ser transmisora mecánica o biológica de agentes patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale* y algunos virus que causan enfermedades en estos animales (6).

En San Martín, la presencia de la garrapata ha llevado al uso de muchos acaricidas químicos por parte de los ganaderos que han intentado mermar la infestación de estos parásitos sin embargo la resistencia a los diferentes productos químicos se hace más evidente motivo por el cual se buscan nuevas alternativas ante el control de las garrapatas. El presente trabajo ha tenido como objetivo evaluar la efectividad del extracto acuoso del fruto de Choloque (*Sapindus Saponaria*) y Neem (*Azadirachta indica*) en el control de la garrapata *Boophilus microplus* en ganado bovino.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Sanidad Animal (LASA), Fundo Miraflores, pertenecientes a la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Martín. Fundo Miraflores se encuentra ubicado en el sector Ahuashiyacu, del distrito de la Banda de Shilcayo, provincia y departamento de San Martín.

Se colectaron un total de 120 garrapatas del género *Boophilus microplus*, garrapatas duras de vacunos infestados de forma natural. Con el fin de minimizar el daño a las piezas bucales y la cutícula, las garrapatas se manipularon girándolas para retirarlas fácilmente con un par de pinzas blandas. Las garrapatas recolectadas luego se colocaron en un recipiente de plástico limpio con tapas perforadas para permitir la ventilación, luego se transportaron inmediatamente al laboratorio de Sanidad Animal de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Martín, para la identificación utilizando claves internacionales estandarizadas (9). Tal como lo describe Carmona (10), estas fueron lavadas en solución salina al 1% para evitar contaminantes y desinfectarlas. Seguidamente se acondicionaron en cajas Petri conformando seis grupos de la tal como se observa en la Tabla 3, donde se seleccionaron 20 por tratamiento.

Tabla 1. Formación de los grupos de investigación

Tratamientos	Combinación	Descripción
T ₁	A ₁	Choloque (<i>Sapindus saponaria</i>) con 50 ppm
T ₂	A ₂	Choloque (<i>Sapindus saponaria</i>) con 500 ppm
T ₃	A ₃	Choloque (<i>Sapindus saponaria</i>) con 5000 ppm
T ₄	B ₁	Neem (<i>Azadirachta indica</i>) con 50 ppm
T ₅	B ₂	Neem (<i>Azadirachta indica</i>) con 500 ppm
T ₆	B ₃	Neem (<i>Azadirachta indica</i>) con 5000ppm

2.1. Diseño del experimento

Se utilizó el Diseño Experimental Completamente al Azar (DCA), con 3 tratamientos, considerándose los tratamientos el choloque y Neem. La unidad experimental se consideró a cada una de las garrapatas expuestas a cada uno de los tratamientos con diferentes concentraciones de las plantas (50; 500 y 5 000 ppm).

Modelo Matemático

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Observación en el Factor A i-ésimo, con el Factor B j-ésimo.

μ = Media poblacional.

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A.

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B.

ϵ_{ij} = Componente aleatorio del error.

Para el presente trabajo se consideraron 120 garrapatas en total, siendo separadas en grupos de 20. Los grupos formados comprendían garrapatas en estadio adulto de preferencia. Los cálculos se realizaron con R studio (11) calculando el Anova en cada uno de los tiempos evaluados, así como la fórmula del modelo.

2.2. Preparación y extracción de plantas

Recolección de semillas de choloque: Los frutos fueron colectados de forma manual de los árboles ubicados en el Fundo Miraflores de la Universidad Nacional de San Martín.

Preparación de la solución de choloque: Se colectaron 3 kilos del fruto de tingana o choloque, tal como lo indica Dimas (12). Se separó la cáscara del fruto de forma manual. Posteriormente se secó a la estufa a una temperatura de 35°C por 24 horas. Una vez concluidos los pasos anteriores se procedió a moler en el mortero y para obtener el extracto se depositaron en 95% de etanol, se dejó macerar por 7 días a temperatura ambiental. Posteriormente se procedió a poner en flujo a 60°C en baño de termostato por tres veces durante cuatro horas. Luego se puso a concentrar el extracto a base de baño maría y se puso a secar temperatura ambiente y la solución se almacenó a 4°C. El día de su uso se hizo las diluciones de 50; 500 y 5 000 ppm.

Recolección de las hojas de Neem: Se colectaron las hojas de Neem del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). Se colectaron hojas verdes sin daño físico y se colectaron en bolsas de papel. Estas fueron llevadas al Laboratorio de Sanidad Animal, donde fueron lavadas con agua destilada y luego se secaron a 25-30 grados centígrados para luego ser procesamiento.

Preparación de las soluciones de Neem: El procedimiento para la extracción del principio activo de esta planta se basó en el trabajo realizado por García et al (13), en el cual se trabajó con las hojas del Neem. Las

hojas fueron sometidas al proceso de secado mediante la exposición al sol durante unas cinco horas. Se molieron las hojas usando un molino manual con la finalidad de lograr partículas pequeñas para mejorar la extracción de los principios activos del Neem. Como disolvente se usó agua destilada.

En el presente trabajo se almaceno por 48 horas la solución obtenida, posteriormente se procedió a filtrar considerándose esta como la solución madre, luego el día del uso se realizó las diluciones pertinentes a los tratamientos respectivos (50; 500 y 5 000 ppm).

2.3. Exposición de las garrapatas a los tratamientos

Se colocaron las 120 garrapatas en placas Petri, agrupadas en grupos de 20. Cada grupo de garrapatas fue sometida a la técnica de inmersión de adulto descrita por Drummond et al (14). Cada grupo fue sumergido durante 10 minutos respectivamente en 100 ml de soluciones de 50; 500 y 5 000 ppm de las soluciones conseguidas de *Sapindus saponari* y *Azadirachta indica*. Posteriormente se evaluó la eficacia de cada uno de los preparados.

Todos los tratamientos tuvieron una duración de una hora donde se fueron evaluando la cantidad de garrapatas muertas cada 15 minutos. En ese lapso se evaluó la cantidad de garrapatas muertas.

3. RESULTADOS

En el presente trabajo los resultados obtenidos en el test de inmersión de las garrapatas de diferentes edades de *B. microplus* a diferentes tratamientos y concentraciones del extracto de *S. saponaria* y *Azadirachta indica* demostraron un fuerte efecto en dosis de 5 000 ppm en ambos casos. Los resultados se pueden apreciar mejor en la Tabla 2. Tal como se mencionó en la metodología la evaluación fue por una hora.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad en minutos de exposición (%)

Tratamientos	15 min	30 min	45 min	60 min
M50 ppm N	15	35	35	50
M500 ppm N	20	40	60	65
M5000ppmN	40	60	70	85
M50ppmC	0	0	15	20
M500ppmC	0	0	35	45
M5000ppmC	15	35	60	60

Nota: ppm N: partes por millón de Neem; ppm C partes por millón de choloque

En la Tabla 2 se aprecia un mayor porcentaje de mortalidad a los 60 minutos y a concentraciones de 5000 ppm. Los resultados obtenidos muestran un mejor efecto con el Neem obteniéndose un 85 % de mortalidad versus un 60% en garrapatas expuestas al choloque.

Se calculó en Anova de la relación existente entre tiempo de exposición, porcentaje de mortalidad y tratamiento, obteniéndose un p-value = 0, 016; lo cual es estadísticamente significativa, respaldando la hipótesis de que existe una dependencia entre la concentración de las plantas y el tiempo de exposición en los parásitos.

Las alternativas actuales son encontrar principios activos que puedan combatir la infestación de parásitos sin ocasionar daño al medio ambiente y a los animales tratados (1). Un estudio realizado por Bacayuva (15), donde el objetivo fue investigar el perfil de toxicidad in vitro del extracto proteico de *S. saponaria* y detectar proteínas potencialmente involucradas en efectos biológicos como la hidrólisis del colágeno y la inhibición de las proteasas virales, llegó a la conclusión que las proteínas que componen las semillas de estas plantas presentan citotoxicidad y mutagenicidad en modelo bacteriano principalmente cuando se exponen al sistema metabólico exógeno y provocando efectos citotóxicos y genotóxicos en células HepG2.

La purificación y caracterización parcial de una serina proteasa (43 kDa) y un inhibidor de cisteína proteasa (32,8 kDa) a partir del extracto proteico de *S. saponaria*, corroboran la idea del uso biológico de la planta como insecticida y larvicida. Aunque muestra efectos citotóxicos, mutagénicos y genotóxicos.

En nuestro trabajo se observa que las tasas de mortalidad más altas están en concentraciones de 500 y 5 000 ppm, un resultado similar obtuvo Vegas (16) trabajando con *Sapindus saponaria*, donde no encontró diferencia significativa en los tratamientos a 256 ppm de choloque versus la ivermectina, sin embargo, los tratamientos de 512 ppm y 1 024 ppm le produjeron una tasa de mortalidad de 80 y 73 por ciento. Vegas (17), probó la planta en vivo donde no encontró alteraciones en el estado de salud de los animales tratados mejorando el estado de la piel. Fernades et al. (18), comprobaron el efecto larvicida de la planta en larvas de garrapatas, comprobándose la mortalidad de las larvas a las 48 horas post tratamiento con extracto etanólico crudo de choloque.

Los resultados para el presente trabajo muestran una mejor efectividad en los tratamientos realizados con el Neem. Tal como se aprecia en la Tabla 2 y en la Figura 1, Neem comienza su efectividad a los 15 minutos de exposición. Soto (18) realizó un trabajo similar al nuestro en donde determinó el efecto ixodicida de tres concentraciones diferentes de aceite de Neem in vitro sobre garrapatas *Boophilus* sp, obteniendo un 100% de mortalidad en las concentraciones de 10 000 y 15 000 ppm, incluso este trabajo determinó la efectividad del Neem en la oviposición del parásito, inhibiendo completamente este proceso.

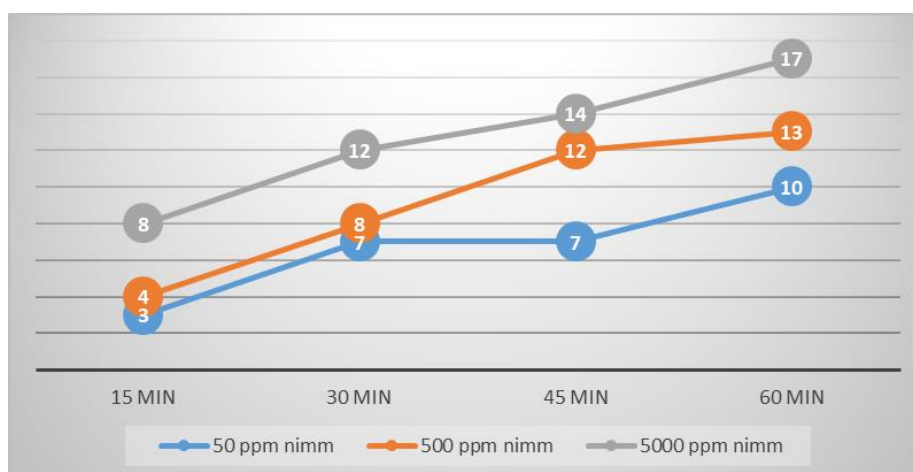


Figura 1. Efecto de Neem en una hora de evaluación

Según Fernández et al. (19), el Neem presenta 24 principios activos con actividad sobre los artrópodos, identificándose en las semillas: solanina, meliantriol, nimbina, nimocinolina e isonomiocina con efecto sobre la oviposición, bloqueo alimenticio y crecimiento del parásito (20). En el trabajo de Nolasco (15), este atribuye a la azadiractina principio activo de las hojas del Neem, como agente que bloquea el crecimiento, ovoposición y genera la muerte del parásito, de igual manera este autor atribuye a este componente su efectividad en estadios jóvenes de la garrapata, ya que en estas bloquea la producción de hormonas de esta manera las garrapatas no se reproducen. Resultados similares obtuvo García (14) e incluso él pudo medir el efecto residual de la planta que en este caso fue de 28 días.

Efecto de los tratamientos a los 15 minutos post inmersión: Como se mencionó anteriormente el conteo de las garrapatas se realizó a los 15 minutos post exposición, observándose que Neem a una concentración baja de 50 ppm ya presenta tres garrapatas muertas de las 20 expuestas. a pesar de que la concentración es baja la efectividad de la planta es evidente a diferencia de choloque que no presenta garrapatas muertas.

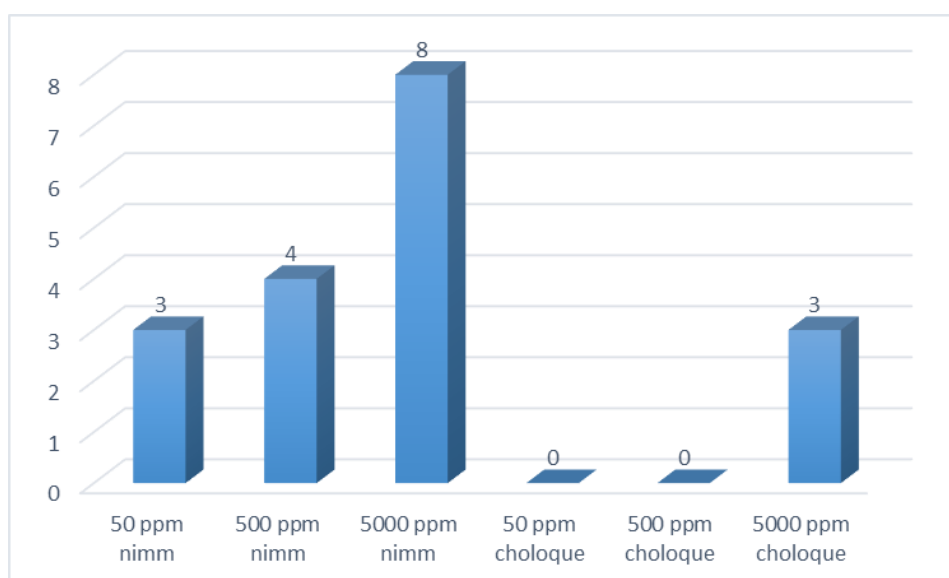


Figura 2. Efecto de Neem y choloque a los 15 min

Si evaluamos las otras concentraciones podemos observar que a 5 000 ppm choloque muestra tres garrapatas muertas, muy diferente a lo observado en Neem donde la tasa de mortalidad es de 40%. Dimas (13) obtuvo resultados similares a concentraciones cercanas de choloque (6 000 ppm). Al parecer nuestros resultados obtenidos por la exposición al Neem, no difieren mucho en los mencionados en otros trabajos ya que parecen tener similares eficacias a concentraciones menores del 5 000 ppm (20). Tal como lo mencionamos anteriormente, los componentes del Neem también tienen efecto insecticida y microbicida, siendo las más importantes la actividad anti alimentaria y el bloqueo en el proceso de metamorfosis de larva (15). El grado de significancia en la evaluación del efecto tiempo versus exposición a las diferentes concentraciones de Neem y de choloque nos salió estadísticamente significativa con un $p < 0,05$ (los cálculos se observan en los anexos de la presente tesis).

Efecto de los tratamientos a los 30 minutos post inmersión: La tasa de mortalidad se fue incrementando a medida que el tiempo pasaba, tal como se observa en la Figura 3. Sin embargo, concentraciones de 50 y 500 ppm de choloque aun no presentaron efecto en las garrapatas, por lo contrario, la concentración de 5 000 ppm incremento la tasa de mortalidad a 35%.

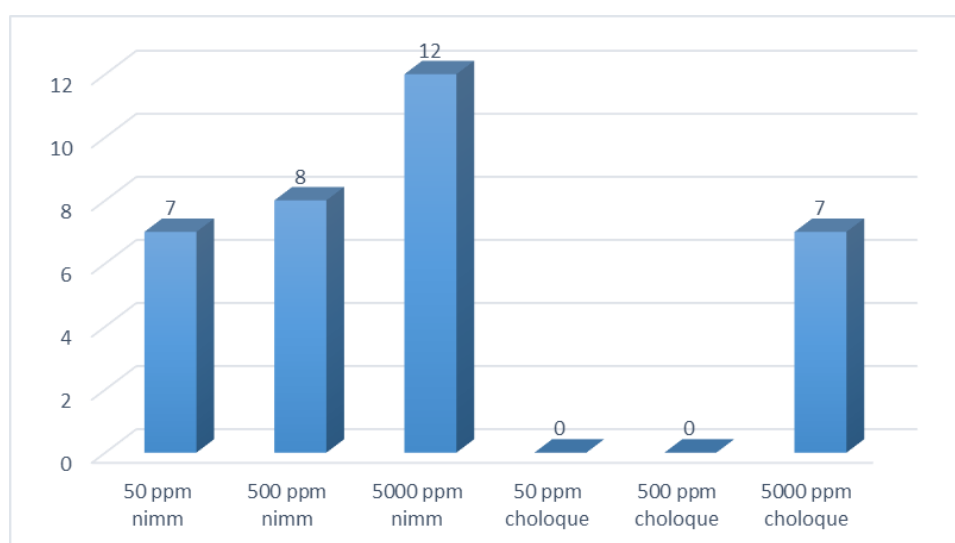


Figura 3. Efecto de Neem y choloque a los 30 min

La acción ixodicida del Neem no es conocida ni valorada en nuestro departamento, prueba de ello es que no existe ningún trabajo que haya probado su efectividad en garrapatas en San Martín. Los estudios de esta

investigación muestran que la efectividad de esta planta se da en concentraciones bajas y a los 45 minutos post inmersión la tasa de mortalidad se incrementó a 35; 40 y 60 % en las diferentes concentraciones de Neem (50; 500 y 5 000 ppm respectivamente). Las garrapatas del ganado vacuno en la región han desarrollado resistencia a los acaricidas de uso común y se ha intentado formular de combinación de diferentes antiparasitarios consiguiendo en poco tiempo la resistencia de estos, así como efectos negativos al medio ambiente. Ghosh et al. (21), obtuvo valores similares a una concentración de 4 800; 5 700 y 6 000 ppm, en nuestro caso el p-value = 0,00915, altamente significativa que respalda nuestro trabajo. Según Ghosh (21) compuestos como quercetina, ácido gálico, flavona y kaempferol que parecían tener una acción acaricida sinérgica, extraídos de la planta de Neem son los que le proporcionan el efecto en las garrapatas. Este mismo autor midió la eficacia de la planta en dos exposiciones in vivo obteniendo un 59,9 % ante un primer desafío y reduciéndose está a 48,5% en un segundo desafío.

Efecto de los tratamientos a los 45 minutos post inmersión: Los resultados muestran que a los 45 minutos las concentraciones de 50 y 500 ppm de choloque tuvieron una tasa de mortalidad de 15 y 35%, es aquí donde los principios activos de esta planta en menor concentración a 5 000 ppm, empiezan a tener efecto sobre las garrapatas expuestas. El evalúe en este caso fue igual a 0,00701; altamente significativo.

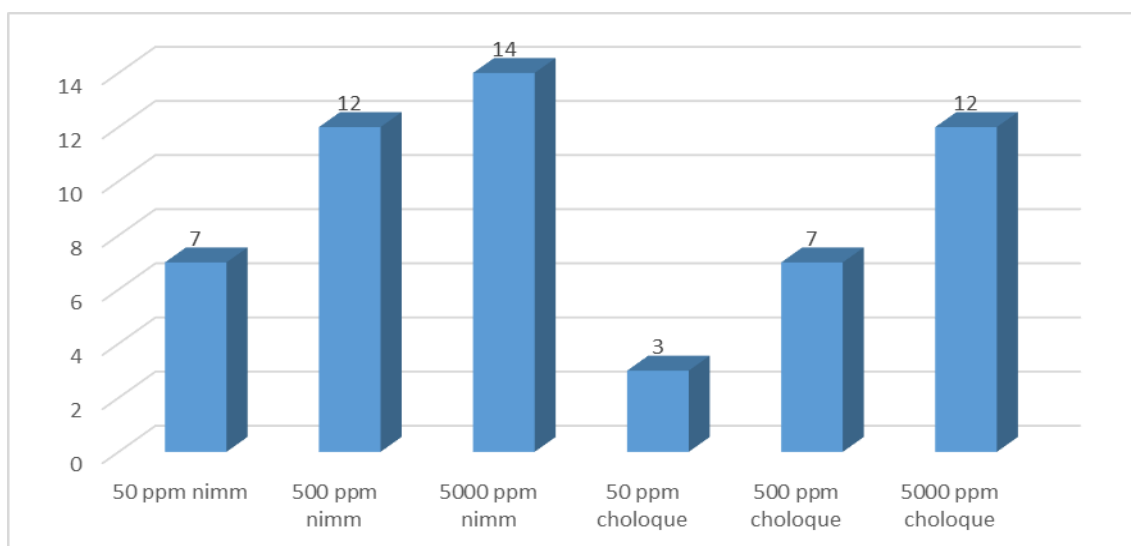


Figura 4. Efecto de Neem y choloque a los 45 min

Los efectos de Neem debido a sus principios activos hacen que la tasa de mortalidad se incremente tal como se observa en la Figura 4, en este caso la tasa de mortalidad más alta es de 70% con una concentración de Neem de 5 000 ppm. Nuestro trabajo muestra una alternativa diferente para los ganaderos de la zona, a los cuales se les presenta siempre el problema de la resistencia de las garrapatas en el ganado, y dado las condiciones climáticas y el manejo del ganado, esta resistencia está influenciada por una serie de factores. Los más importantes son el aumento de los niveles de histamina en las primeras etapas de la infestación (22), así como las características del pelo y el pelaje también pueden estar relacionadas con la gravedad de la infestación por garrapatas, pero hay pocos datos disponibles sobre la relación de estas características con la resistencia a las garrapatas (23), basófilos y mastocitos, la presencia de patrones específicos de inmunoglobulinas, células T (24) entre otros factores.

Tal como se mencionó en la metodología, nosotros medimos la tasa de mortalidad de las garrapatas ocasionada por las diferentes concentraciones de ambas plantas en un periodo máximo de 60 minutos. En este caso los resultados se pueden observar en la Figura 5. A la hora de exposición las tasas de mortalidad de las garrapatas son más evidente consiguiéndose una tasa de 85% para el Neem en concentración de 5 000 ppm, y de 65% para 5 000 ppm de choloque. El grado de significancia conseguido para los 60 minutos se muestra en el anexo y este fue de p-value=0,000918.

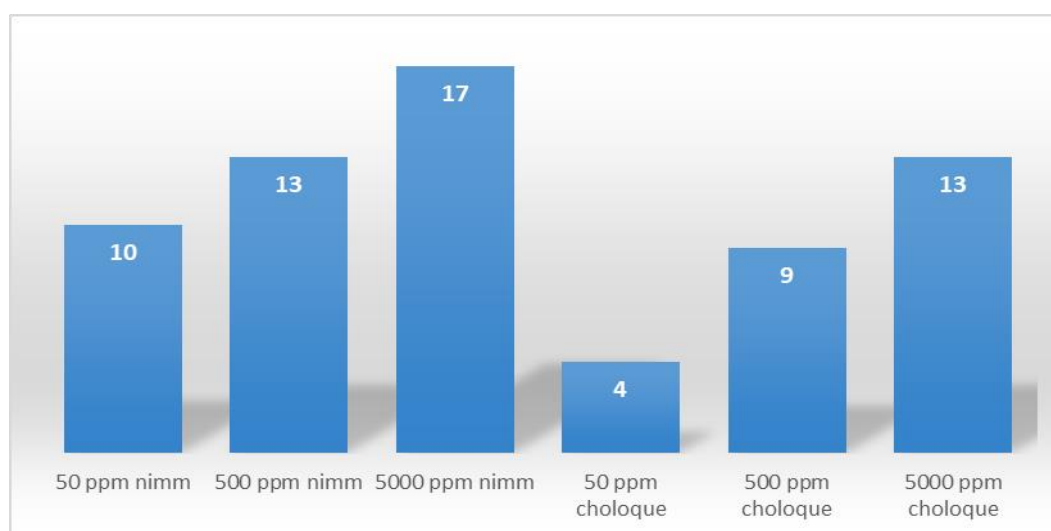


Figura 5. Número de garrapatas muertas: Efecto de Neem y choloque a los 60 min

Los resultados sugieren que a mayor exposición en tiempo la eficacia de las planta se hace más evidente. Tal como lo mencionamos anteriormente, el uso de plantas genera un paso importante en la producción de nuevas moléculas como alternativa para el control de las garrapatas. Aún falta conocer más la toxicidad de estas plantas, así como su efecto residual y su mutagenicidad, lo que hace que este tipo de estudio sea aún más relevante.

Comparando los diferentes tratamientos a través de la prueba de Tukey se obtiene el siguiente resultado como se muestra en la Tabla 3, en el cual se puede observar que el tratamiento con Nimmo a 5000 ppm es el que difiere a los otros tratamientos. Los otros tratamientos muestran semejanzas.

Tabla 3. Diferencia entre los tratamientos (Prueba de Tukey)

Tratamiento	Grupos
A3	a
A2	b
B3	b
A1	bc
B2	cd
B1	d

4. CONCLUSIÓN

Los mejores porcentajes de mortalidad se consiguen a los 15 minutos de exposición y a una concentración de 5 000ppm con el 40% (8) de garrapatas muertas para la *Azadirachta indica*. En el caso de *Sapindus saponaria* el mejor porcentaje de mortalidad del 60% (12) se consigue a los 45 minutos de exposición y a una concentración de 5 000 ppm. Ambas plantas tienen un efecto acaricida sobre las garrapatas, probadas estas in vitro.

FINANCIAMIENTO

Este estudio-artículo fue financiado por el Instituto de Investigación de la Universidad Nacional de San Martín.

CONFLICTO DE INTERESES

No existe ningún tipo de conflicto de interés relacionado con la materia del trabajo.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, supervisión, validación, redacción - borrador original, redacción - revisión y edición: Saavedra-Tomanguillo, T. R. y López-Flores, A. M.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Borges LMF, Sousa LAD de, Barbosa C da S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. junio de 2011;20(2):89-96. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612011000200001>
2. Graf JF, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EL, et al. Tick control: an industry point of view. *Parasitology*. 19 de octubre de 2004;129(S1):S427-42. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0031182004006079>
3. Jonsson NN. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet Parasitol* [Internet]. abril de 2006;137(1-2):1-10. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401706000276>
4. Bianchin I, Catto JB, Kichel AN, Torres RAA, Honer MR. The effect of the control of endo- and ectoparasites on weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus taurus* × *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. *Trop Anim Health Prod*. 26 de julio de 2007;39(4):287-96. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11250-007-9017-1>
5. Jongejan F, Uilenberg G. The global importance of ticks. *Parasitology*. 19 de octubre de 2004;129(S1):S3-14. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>
6. Chanie M, Negash T, Sirak A. Ectoparasites are the major causes of various types of skin lesions in small ruminants in Ethiopia. *Trop Anim Health Prod*. 1 de agosto de 2010;42(6):1103-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9531-4>
7. Johnson N. The tick life cycle. En: *Ticks*. Elsevier; 2023. p. 25-44. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91148-1.00005-8>
8. Grillo Torrado JM. El problema de la resistencia a los Acaricidas en los programas de control de la garrapata. *Boletín la Of Sanit Panam* [Internet]. 1976;81(3):1-6. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/17535>
9. United States. Animal and Plant Health Inspection Service. *Ticks of Veterinary Importance*. 1.^a ed. 1976. 122 p.
10. Cardona Z. E, Torres R. F, Echeverri L. F. Evaluación in vitro de los extractos crudos de *Sapindus saponaria* sobre hembras ingurgitadas de *Boophilus microplus* (acari: ixodidae). *Sci Tech* [Internet]. 2007;13(33):51-4. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84903312>
11. R-Studio. Programa estadístico R studio. 2023; Disponible en: <https://www.r-studio.com/es/>
12. Dimas Pajuelo P. Evaluación in vitro de los extractos crudos de *Sapindus saponaria* sobre huevos y larvas *Boophilus microplus* [Internet]. Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2012. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14292/778>
13. García Montes Y, Castro García M, López Mantuano M, Cardenas Reyes E, Molina Basurto R. Efecto del Extracto de Hoja de Neem (*Azadirachta indica*) Para Control de Ectoparásitos en Perros. *Rev Científica* [Internet]. 2017;27(3). Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/43724>
14. Drummond RO, Ernst SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: Laboratory Tests of Insecticides. *J Econ Entomol*. 1 de febrero de 1973;66(1):130-3. Disponible en:

<https://doi.org/10.1093/jee/66.1.130>

15. Bocayuva Tavares GD, Fortes Aiub CA, Felzenszwalb I, Carrão Dantas EK, Araújo-Lima CF, Siqueira Júnior CL. In vitro biochemical characterization and genotoxicity assessment of *Sapindus saponaria* seed extract. *J Ethnopharmacol.* agosto de 2021;276:114170. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114170>
16. Vegas MM. Efectividad del *sapindus saponaria* en el control de garrapatas *boophilus microplus* en ganado bovino. *Red Investig Educ [Internet].* 2017;9(2):18-27. Disponible en: <https://revistas.uclave.org/index.php/redine/article/view/749>
17. Fernandes FF, Leles RN, Silva IG, Freitas EPS. Larvicidal potencial of *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) against *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Arq Bras Med Veterinária e Zootec.* febrero de 2007;59(1):145-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000100024>
18. Soto Mérida AL. Comparación del efecto ixodicida in vitro de diferentes concentraciones de aceite de NEEM (*Azadirachta indica*) sobre garrapatas *Boophilus sp.* de bovino [Internet]. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2014. Disponible en: <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/USAC.587615>
19. Fernández, A, I., Ilsen Emérita, D., Rodríguez, R., José, A., & Paz H. Actividad garrapaticida de *Azadirachta indica* A. Juss. (nim). *Rev Cuba Plantas Med [Internet].* 2013;18(2):327-40. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=41097>
20. Nolasco Rodríguez G, Albarrán Rodríguez E, Rosales Cortés M. Efecto del extracto acuoso de Neem (*Azadirachta indica*) en el control de garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) en perros. *ECUCBA [Internet].* 2018;(9):1-8. Disponible en: <http://e-cucba.cucba.udg.mx/index.php/e-cucba/article/view/95>
21. Ghosh S, Tiwari SS, Srivastava S, Sharma AK, Kumar S, Ray DD, et al. Acaricidal properties of *Ricinus communis* leaf extracts against organophosphate and pyrethroids resistant *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Vet Parasitol.* febrero de 2013;192(1-3):259-67. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.031>
22. Kemp DH, Bourne A. *Boophilus microplus* : the effect of histamine on the attachment of cattle-tick larvae—studies in vivo and in vitro. *Parasitology.* 6 de junio de 1980;80(3):487-96. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0031182000000950>
23. Ibelli AMG, Ribeiro ARB, Giglioti R, Regitano LCA, Alencar MM, Chagas ACS, et al. Resistance of cattle of various genetic groups to the tick *Rhipicephalus microplus* and the relationship with coat traits. *Vet Parasitol.* mayo de 2012;186(3-4):425-30. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.019>
24. Piper EK, Jackson LA, Bielefeldt-Ohmann H, Gondro C, Lew-Tabor AE, Jonsson NN. Tick-susceptible *Bos taurus* cattle display an increased cellular response at the site of larval *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* attachment, compared with tick-resistant *Bos indicus* cattle. *Int J Parasitol.* marzo de 2010;40(4):431-41. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.09.009>