



Efecto ixodicida de los extractos vegetales de *Cinnamomum zeylanicum* y *Tagetes erecta* sobre garrapatas *Rhipicephalus microplus*



Perla Iris Miranda Reyes ^a

Francisco Martínez Ibañez ^b

Rodolfo Esteban Lagunes-Quintanilla ^{c*}

América Ivette Barrera Molina ^{a*}

^a Universidad Autónoma del Estado de Morelos. C. Ixtaccíhuatl 100, Vista Hermosa, 62350, Cuernavaca, Mor. México.

^b Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Centro Nacional de Servicios en Constatación en Salud Animal. Jiutepec 62550, Morelos, México.

^c Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad. Jiutepec 62550, Morelos, México.

*Autor de correspondencia: america.barrera@uaem.mx

Resumen:

Uno de los principales problemas de la ganadería bovina son las infestaciones ocasionadas por garrapatas, siendo *Rhipicephalus microplus* la especie más importante en la industria ganadera. Su control se basa principalmente en la aplicación de ixodicidas. Sin embargo, el uso excesivo e inadecuado de estos productos ha generado cepas resistentes. Como alternativa se ha propuesto al control biológico como un método promisorio, ya que evita la contaminación del medio ambiente, favorece la inocuidad de los productos derivados de los animales y contribuye a la sustentabilidad. Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue realizar una evaluación *in vitro* del efecto ixodicida de dos extractos vegetales de *Cinnamomum zeylanicum* y *Tagetes erecta* sobre garrapatas *R. microplus*. El análisis se llevó a cabo mediante las técnicas de inmersión de larvas “LIT” e inmersión de hembras adultas

“AIT” y posteriormente se determinó el daño morfológico en la estructura cuticular de las garrapatas mediante microscopía estereoscópica. El resultado más significativo fue de 100 % de mortalidad larval ($P < 0.05$) para el extracto de *C. zeylanicum* a una concentración de 6 %, presentando daños morfológicos evidentes en la estructura cuticular. En contraste, el extracto de *T. erecta* no mostró actividad ixodícida. Finalmente, se concluye que el extracto vegetal de *C. zeylanicum* presenta eficacia en pruebas *in vitro* contra larvas de *R. microplus* y podría ser de utilidad como una alternativa de control económica y sustentable de garrapatas.

Palabras clave: *Cinnamomum zeylanicum*, Control biológico, Extractos vegetales, *Rhipicephalus microplus*, *Tagetes erecta*.

Recibido: 13/01/2023

Aceptado: 07/08/2023

Las garrapatas representan uno de los ectoparásitos de mayor importancia en áreas tropicales y subtropicales⁽¹⁾. En México se han registrado 82 especies de garrapatas tanto en animales silvestres como domésticos, siendo *Rhipicephalus microplus* la de mayor importancia en la ganadería. Esta garrapata genera pérdidas económicas relacionadas con la reducción en los niveles de producción, transmisión de enfermedades, mortalidad y costos elevados para su control^(1,2). En los últimos años, la estrategia más utilizada para su control ha sido la aplicación de químicos denominados ixodícidas como organofosforados, carbamatos, formamidas, piretroides sintéticos, lactonas macrocíclicas, fenilpirazonas, etc; los cuales funcionan adecuadamente a dosis recomendadas. Sin embargo, el uso irracional de estos productos ha generado la selección de poblaciones de garrapatas resistentes haciendo que el control sea cada vez más complejo^(3,4). Por tal motivo, la disponibilidad de métodos alternativos se ha convertido en una necesidad no solamente de los productores, sino de los consumidores que demandan productos libres de pesticidas, con tecnología ambientalmente segura como la que proveen los extractos de plantas, los cuales cuentan con principios activos que muestran efecto insecticida y garrapaticida, especialmente en los sistemas de producción ecológicos y orgánicos^(5,6,7).

Ante esta situación, el control de garrapatas mediante extractos de plantas como el ajo y orégano mexicano ha sido ampliamente estudiado en algunas especies de importancia pecuaria, utilizando diferentes métodos de obtención y aplicación⁽⁸⁻¹¹⁾. Por otro lado, los extractos comerciales originados de plantas como la canela y compasúchil, tienden a tener baja toxicidad a la salud humana, desarrollo lento de resistencia, inestabilidad en el ambiente y sus principios activos se metabolizan rápidamente ante la radiación solar y la humedad microclimática⁽¹²⁾. Por esta razón, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto

ixodícida de dos extractos vegetales; canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la mortalidad de garrapatas *R. microplus* utilizando la técnica de paquete de larvas “LPT” e inmersión de hembras adultas “AIT”, y determinar el daño morfológico ocasionado a nivel microscópico.

En el presente trabajo se utilizaron larvas de garrapatas *R. microplus* de 7 a 15 días de edad y garrapatas adultas de 21 a 23 días colectadas de bovinos infestados artificialmente. Se utilizó la cepa de referencia susceptible proveniente de Moyahua, Zacatecas, México, la cual fue proporcionada por el laboratorio de Ectoparásitos y Dípteros del Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA) del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA).

Se evaluaron dos extractos vegetales formulados mediante emulsión de aceite en agua de *C. zeylanicum* 15 % (equivalente a 151.80 g de i.a./L) y *T. erecta* 90 % (equivalente a 831.60 g de i.a./L) en peso de compuesto activo, usados principalmente para controlar plagas botánicas como la araña roja (*Tetranychus urticae*, *Oligonychus punicae*) o la mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Con la finalidad de evaluar el efecto ixodícida de cada uno de los extractos se prepararon soluciones utilizando como referencia la concentración comercial recomendada (1.5 %).

Para evaluar el efecto ixodícida de los extractos de *C. zeylanicum* y *T. erecta* 90 % se realizó un análisis Probit, utilizando cinco concentraciones 6 %, 3 %, 1.5 %, 0.75 % y 0.375 % y un grupo testigo. El bioensayo se realizó bajo la metodología de Inmersión de larvas “LIT”⁽¹³⁾. Se preparó una solución en agua destilada con la concentración más alta de los extractos (6 %), posteriormente se hicieron diluciones dobles seriadas con un factor de dilución 0.5, establecido por la técnica hasta la concentración menor (0.375 %). En cajas Petri de vidrio de 15 cm de diámetro se colocó papel filtro Whatman No. 1 de 12.5 cm y se adicionaron 10 ml de cada solución en su respectiva caja. Posteriormente, con un pincel se colocaron ~ 400 larvas distribuidas sobre el papel y se cubrieron con otro papel filtro simulando una inmersión de larvas durante 10 min. Transcurrido el tiempo de exposición, se tomó una cantidad de ~ 100 larvas y se transfirieron a paquetes de papel filtro de 7.5 x 8.5 cm, los cuales se sujetaron con un broche BACO™ tipo Bulldog. Cada paquete conteniendo a las larvas tratadas fue identificado y mantenido en una incubadora con temperatura de 28 ± 2 °C y humedad relativa de 80-90 % por 24 h. Se realizaron tres repeticiones por cada concentración. Finalmente, las lecturas de los paquetes se realizaron contabilizando el número de larvas vivas y muertas, siguiendo la metodología descrita por la FAO en el 2004⁽¹⁴⁾.

Por otro lado, se realizó la prueba de inmersión de hembras adultas “AIT” de *R. microplus* utilizando la metodología descrita previamente⁽¹⁵⁾. Se utilizó únicamente la concentración comercial recomendada para *C. zeylanicum* y *T. erecta* de acuerdo a la NOM-006-ZOO-1993 para evaluar la toxicidad sobre el peso de hembras, la inhibición de la oviposición y eclosión.

Las garrapatas se colocaron en vasos de precipitados con 30 ml de solución de ambos extractos al 1.5 % y se mantuvieron en inmersión por un minuto, realizando movimientos circulares. Posteriormente, se sacaron para quitar el exceso de producto y se colocaron en cajas Petri para ser incubadas a 28 ± 2 °C y 80-90 % de humedad relativa. Al día 14 los huevos fueron separados y pesados con el fin de determinar el porcentaje de inhibición de la oviposición entre los grupos tratados y testigos. Finalmente, se colocaron viales de 1 g de huevos debidamente identificados y se incubaron durante 26 días hasta su eclosión. Para determinar el porcentaje de eclosión se realizaron conteos en cuadrantes de 3x3 de cascarones y huevos.

Al final de la prueba de inmersión, se realizó un análisis morfológico donde se utilizaron larvas de garrapatas *R. microplus* para determinar posibles daños morfológicos en la estructura cuticular posterior a la exposición con los extractos de *C. zeylanicum* y *T. erecta*. Se seleccionaron 10 larvas por tratamiento de las concentraciones 6 %, 3 %, 1.5 % y 0.75 % y se analizaron mediante microscopía estereoscópica (Microscopio marca Leica) en el laboratorio de Helminología del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI, INIFAP).

Se obtuvieron parámetros de mortalidad de larvas (% mortalidad= número de larvas muertas x 100/número de larvas totales)⁽¹⁶⁾. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y a la prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias significativas entre tratamientos y testigos. Adicionalmente, los datos generados en los bioensayos de los análisis Probit fueron sometidos al programa Polo Plus (LeOra Software, Petaluma, CA), con el objetivo de calcular la concentración letal 50 (CL₅₀) con un intervalo de confianza del 95 %.

El efecto ixodicida de los extractos vegetales aplicados mediante la técnica de inmersión de larvas a través del análisis Probit, permitió obtener una mortalidad gradual de la concentración más alta (6 %) a la más baja (0.375 %), lo cual se observa en el Cuadro 1. El extracto de *C. zeylanicum* produjo mortalidad significativa ($P < 0.05$) en las concentraciones de 6 % y 3 %, obteniendo resultados de 100 y 97.8 %, respectivamente. Por otro lado, el resultado de mortalidad obtenido para la concentración de 1.5 % fue de 64.2 %, el cual no fue estadísticamente significativo, similar a las concentraciones más bajas que presentaron 0% de mortalidad. En contraste, el extracto de *T. erecta* no mostró actividad biológica en ninguna de las concentraciones aplicadas a través de la metodología Probit, obteniendo porcentajes de mortalidad de 0 %, indicando un nulo efecto tóxico sobre larvas de garrapatas *R. microplus*.

Cuadro 1: Mortalidad de larvas de garrapatas *R. microplus* tratadas con los extractos de *C. zeylanicum* y *T. erecta*, a través de un análisis Probit con cinco concentraciones

| Tratamiento | Concentraciones de extracto (%) | | | | |
|----------------------|---------------------------------|-------|-------|------|-------|
| | 6 | 3 | 1.5 | 0.75 | 0.375 |
| <i>C. zeylanicum</i> | 100* | 97.8* | 64.2* | 0 | 0 |
| <i>T. erecta</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Testigo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Diferencia estadística con respecto al grupo Testigo $P < 0.05$.

En el Cuadro 2 se presentan los valores obtenidos al analizar las mortalidades de cada una de las concentraciones utilizadas en el análisis Probit. Con los resultados de cada concentración, se llevó a cabo un análisis mediante el programa Polo PC para calcular la CL_{50} de cada una de las repeticiones. El total de larvas de garrapatas *R. microplus* utilizadas en la primera repetición fue de 1,413, en la segunda repetición de 1,556 y en la tercera repetición de 1,529 larvas. Los rangos de CL_{50} obtenidos en cada repetición fueron de 1.37 como mínimo y 2.41 como máximo con un intervalo de confianza del 95 %.

Cuadro 2: Valores obtenidos a través del programa Polo PC con las mortalidades obtenidas del extracto de *C. zeylanicum* sobre larvas de garrapatas *R. microplus*

| n | Gradiente | CL_{50} | IC (95 %) |
|------|-------------------|-----------|-------------|
| 1413 | 3.862 ± 0.185 | 2.41 | 1.92 - 3.09 |
| 1556 | 6.326 ± 0.338 | 1.43 | 1.29 - 1.58 |
| 1529 | 9.316 ± 0.766 | 1.37 | 1.24 - 1.48 |

n= número de larvas *R. microplus*; CL_{50} = concentración letal; IC= intervalo de confianza.

Los resultados obtenidos para la inhibición de la oviposición y eclosión, indican que no existió diferencia estadísticamente significativa para ninguno de los extractos evaluados con respecto al grupo testigo (Cuadro 3). El porcentaje de inhibición de la oviposición fue de 3.88 % y 0 % para *C. zeylanicum* y *T. erecta*, respectivamente. El porcentaje de inhibición de la eclosión fue de 0 % para ambos extractos.

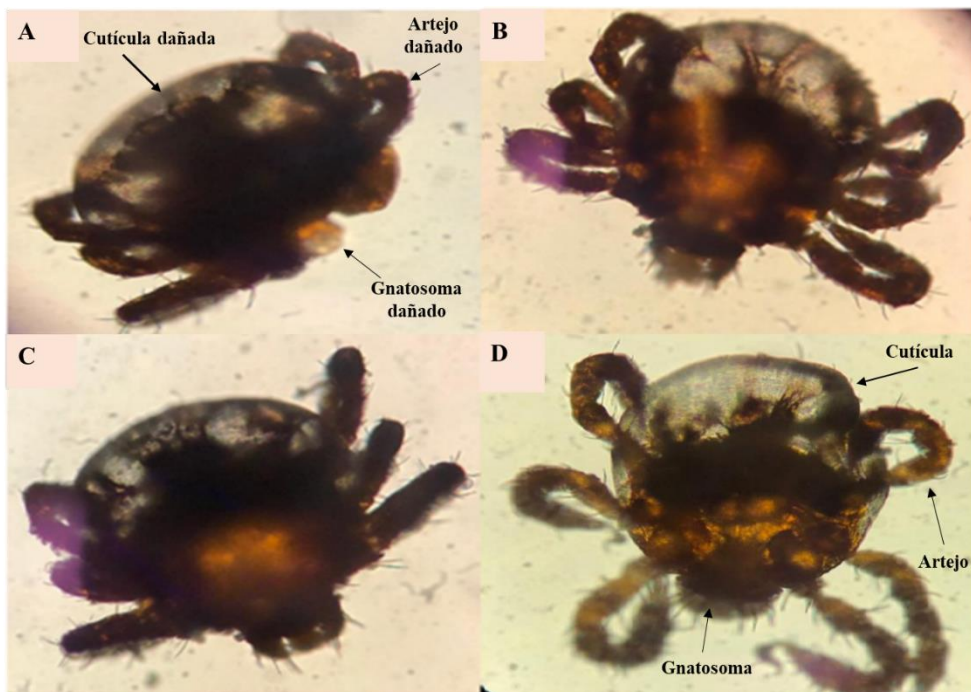
Cuadro 3: Porcentajes de inhibición de la oviposición y eclosión de los extractos de *C. zeylanicum* y *T. erecta* sobre garrapatas *R. microplus*

| Extracto | Concentración | Peso promedio hembras (g) | Peso promedio huevos (g) | % I. O. | % I. E. |
|----------------------|---------------|---------------------------|--------------------------|---------|---------|
| <i>C. zeylanicum</i> | 1.5 % | 3.69 | 2.02 | 3.88 | 0 |
| <i>T. erecta</i> | 1.5 % | 3.75 | 2.10 | 0 | 0 |
| Testigo | ---- | 3.75 | 2.12 | ---- | ---- |

I. O.= inhibición de la oviposición; I. E.= inhibición de la eclosión.

El análisis morfológico mediante microscopía estereoscópica mostró efectos notables en las larvas de *R. microplus* post tratamiento con el extracto de *C. zeylanicum*. Se observó que a medida que aumentaba la concentración del extracto, los daños estructurales eran más perceptibles. En panel A de la Figura 1, la larva muestra evidentes alteraciones morfológicas en el gnatosoma (aparato bucal), caracterizadas por una reducción en el tamaño de los pedipalpos y el hipostoma, una menor cantidad de cutícula y un cambio de coloración en los artejos (patas). Además, el escudo presente en el gnatosoma, muestra una coloración naranja diferente al panel D o grupo testigo, sugiriendo un desarrollo inadecuado y un gnatosoma afectado. En el panel B y C se observa que el idiosoma (cuerpo) es más blanco y transparente indicando un efecto adverso sobre los ciegos intestinales que no se aprecian adecuadamente, debido posiblemente a la toxicidad de los extractos a las concentraciones utilizadas. En el panel D o grupo testigo no existen daños morfológicos.

Figura 1: Daño morfológico identificado en larvas de *R. microplus* tratadas a diferentes concentraciones con el extracto de *C. zeylanicum*



A= concentración 6 % (las flechas en color negro muestran los daños estructurales). B= concentración 3 %. C= concentración 1.5 %; D= larva testigo (agua).

En el presente estudio se observó que el extracto de *C. zeylanicum* presenta actividad ixodicida sobre larvas de *R. microplus*. En particular, se determinó que al utilizar dicho extracto a una concentración de 6 % mostró 100 % de mortalidad larval. Estos hallazgos concuerdan con estudios previos donde se evaluó la eficacia de un quimiotipo derivado de *C. verum* contra garrapatas *R. microplus* mediante LPT y AIT, observando que la utilización

de aceites esenciales con benzoato de bencilo demostró eficacia sobre *R. microplus* en su etapa larval⁽¹⁷⁾. Así mismo, los hallazgos previos⁽¹⁸⁾, fueron similares a los obtenidos en la presente investigación; donde evaluaron los compuestos (E)-cinamaldehído y α -bisabolol derivados de los aceites esenciales de canela y obtuvieron una mortalidad larval de 100 % a concentraciones de 2.5, 5 y 10 mg/ml, concluyendo que los aceites esenciales y sus compuestos presentan alta actividad acaricida. No obstante, reportan baja toxicidad en garrapatas adultas repletas de *R. microplus*.

Por otro lado, se ha reportado que los aceites esenciales de *C. zeylanicum* poseen actividad sobre garrapatas adultas repletas de *R. microplus* en forma pura, alcanzando mortalidades de 100 %, 97 % y 62 % a concentraciones de 10, 5 y 1 mg/ml, respectivamente⁽¹⁹⁾. Sin embargo, en el presente trabajo al evaluar la concentración comercial recomendada del 1.5 % no se observó efecto sobre la inhibición de la oviposición y la eclosión de garrapatas adultas. Es importante destacar que no se realizaron evaluaciones por arriba de la concentración recomendada ya que la norma NOM-006-ZOO-1993 menciona que, si esta concentración no cuenta con un 98 % de mortalidad en garrapatas adultas, la eficacia se considera negativa.

No obstante, es importante destacar que el uso de la concentración de 1.5 % ha sido recomendada por el fabricante para el control de plagas de insectos fitófagos. En este trabajo, se estandarizó una estrategia de concentraciones, considerando que se trata de artrópodos hematófagos y en diferente estadio. La concentración letal del 6 % de *C. zeylanicum* en larvas de garrapatas *R. microplus* demuestra que se requiere una cantidad mayor en comparación con lo requerido por las especies blanco. Además, se observa nula efectividad en garrapatas adultas, lo cual podría indicar que este producto no tiene el potencial para afectar biológicamente al ectoparásito en estadio adulto. Sin embargo, estudios realizados previamente, evaluaron la combinación de tres aceites esenciales, demostrando que el incremento de la concentración de *C. zeylanicum* resultó en una mayor efectividad para controlar garrapatas en estadio adulto. Estos hallazgos sugieren que el uso de concentraciones más altas de *C. zeylanicum* podrían ser una estrategia eficaz para combatir a la garrapata *R. microplus* en todos sus estadios de vida. No obstante, se requieren más investigaciones para determinar las concentraciones óptimas y evaluar posibles efectos secundarios, al medio ambiente así como la viabilidad económica⁽²⁰⁾.

Es necesario realizar más estudios utilizando diferentes concentraciones en garrapatas adultas, ya que en este caso se ha seguido únicamente la concentración comercial recomendada. Estos estudios adicionales permitirán evaluar la eficacia del producto en diferentes dosis y determinar si existen concentraciones más efectivas para el control de las garrapatas adultas. De esta manera, se podrá obtener una mejor comprensión de la respuesta de las garrapatas a diferentes concentraciones y establecer pautas más precisas para su control.

Adicionalmente, en el presente estudio no se realizó alguna destilación o cromatografía para separar los compuestos del extracto evaluado. Sin embargo, se ha reportado que el principal biocomponente de *C. zeylanicum* es el eugenol, el cual podría estar involucrado en la toxicidad de larvas de garrapatas *R. microplus*⁽²¹⁾. Además, se sabe que la planta *C. zeylanicum* posee ciertas propiedades, entre las cuales destaca su actividad insecticida y acaricida^(6,18,20), sugiriendo ser una alternativa como método de control biológico de garrapatas. En contraste, la evaluación del extracto *T. erecta* no mostró ningún tipo de toxicidad sobre larvas o adultas de *R. microplus*. Al respecto, la actividad acaricida del extracto *T. erecta* contra garrapatas no ha sido reportada previamente. A la fecha, únicamente existen estudios donde se evaluó el efecto ixodicida del aceite esencial de *T. minuta* contra la infestación de garrapatas *R. microplus* y se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en los parámetros productivos (número y peso de garrapatas, oviposición y viabilidad de larvas), mostrando una eficacia del 99.9 % a una concentración del 20 %⁽²²⁾. Por tal motivo, es necesario realizar futuras investigaciones para aislar, identificar y caracterizar los compuestos del extracto de *T. erecta* con el propósito de determinar si cuenta con propiedades ixodicidas contra garrapatas *R. microplus*.

La eficacia presentada por el extracto vegetal de *C. zeylanicum* para el control de larvas de garrapatas *R. microplus* pone de manifiesto el uso potencial de este producto natural como método de control biológico y como una alternativa económica y sustentable en el control de garrapatas. No obstante, es necesario realizar estudios adicionales donde se evalúen diferentes métodos de extracción de la planta, pruebas *in vivo* y estudios de toxicidad que permitan dilucidar el efecto sobre garrapatas *R. microplus* adultas y el posible riesgo al utilizarlo en animales domésticos.

Conflicto de intereses

Los autores establecen que no existe ningún conflicto de intereses, en relación con la elaboración, revisión y publicación de este trabajo.

Literatura citada:

1. Tabor AE, Ali A, Rehman G, Rocha Garcia G, Zangirolamo AF, Malardo T, *et al.* Cattle tick *Rhipicephalus microplus*-host interface: a review of resistant and susceptible host responses. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;(7):506.
2. Estrada-Peña A, Mallón AR, Bermúdez S, de la Fuente J, Domingos A, García MPE, *et al.* One health approach to identify research needs on *Rhipicephalus microplus* ticks in the Americas. *Pathogens* 2022;(11):1180.

3. Yessinou RE, Akpo Y, Adoligbe C, Adinci J, Assogba MN, Koutinhoun B. *et al.* Resistance of tick *Rhipicephalus microplus* to acaricides and control strategies. J Entomol Zool Stud 2016;(4):408-414.
4. Rojas MC, Loza RE, Rodríguez CSD, Figueroa MJV, Aguilar RF, Lagunes QRE, *et al.* Antecedentes y perspectivas de algunas enfermedades prioritarias que afectan a la ganadería bovina en México. Rev Mex Cienc Pecu 2021;(12):111-148.
5. Soto GA. Manejo alternativo de plagas de ácaros. Rev Cie Agr 2013;(2):34-44.
6. Chungsamarnyart N, Jiwajinda S, Rattanagrithaku C, Jansawan W. Practical extraction of sugar apple seeds against tropical cattle ticks. Kasetsart J 1991;(25):101-105.
7. Williams LAD. Adverse effects of extracts of *Artocarpus altilis* Park, and *Azadirachta indica* (A. Juss) on the reproductive physiology of the adult female tick, *Boophilus microplus* (Canest). Invertebr Reprod Dev 1993;(23):159-164.
8. Panella NA, Karchesy J, Maupin GO, Malan J, Piesman J. Susceptibility of immature *Ixodes scapularis* (Acaris: Ixodidae) to plants derived acaricides. J Med Entomol 1997;(34):340-345.
9. Vatsya S, Yadav C, Kumar R, Banerjee P. *In vitro* acaricidal effect of some medical plants against *Boophilus microplus*. J Vet Parasitol 2006;(20):141-143.
10. Álvarez V, Loaiza J, Bonilla R, Barrios M. Control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*, Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. Rev Biol Trop 2008;(56):291-302.
11. Bravo M, Coronado A, Henríquez H. Eficacia *in vitro* del amitraz sobre poblaciones de *Boophilus microplus* provenientes de explotaciones lecheras del estado de Lara, Venezuela. Zoot Trop 2008;(26):35-40.
12. Broglio-Micheletti SMF, Neves-Valente EC, Alves de Souza L, Silva-Dias ND, Girón-Pérez K, Prêdes-Trindade RC. Control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) con extractos vegetales. Rev Colomb Entomol 2009;(35):145-149.
13. Shaw RD. Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. Bull Entomol Res 1966;(56):389-405.
14. FAO. Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention. guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants, animal production and health division, agriculture department. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 2004.

15. Drummond RO, Ernst SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. J Econ Entomol 1973;(66):130-133.
16. Reyes-Domínguez IJ, Arieta-Román RJ, Fernández-Figueroa JA, Romero-Figueroa MZ, Peniche-Cardena AJE. Resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a ixodicidas en ranchos bovinos del municipio Evangelista, Veracruz, México. Rev Electron de Vet 2013;(14):1-6.
17. Monteiro IN, Monteiro ODS, Costa-Junior LM, da Silva Lima A, Andrade EHA, Maia JGS, *et al.* Chemical composition and acaricide activity of an essential oil from a rare chemotype of *Cinnamomum verum* Presl on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Vet Parasitol 2017;(238):54-57.
18. Dos Santos DS, Boito JP, Santos RCV, Quatrin PM, Ourique AF, Dos Reis JH, *et al.* Nanostructured cinnamon oil has the potential to control *Rhipicephalus microplus* ticks on cattle. Exp Appl Acarol 2017;(73):129-138.
19. Marchesini P, Oliveira DR, Gomes GA, Rodrigues THS, Maturano R, Fidelis QC, *et al.* Acaricidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eremanthus erythropappus*, major compounds and cinnamyl acetate in *Rhipicephalus microplus*. Rev Bras Parasitol Vet 2021;(30):e009221.
20. Lazcano E, Padilla E, Castillo G, Estarrón M. Development of essential oil-based phyto formulations to control the cattle tick *Rhipicephalus microplus* using a mixture desing approach. Exp Paratitol 2019;(30):26-33.
21. Gende LB, Floris I, Fritz R, Eguaras, MJ. Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus larvae* from Argentine. Bull Insectology 2008;(61):1-4.
22. Andreotti R, Garcia MV, Cunha RC, Barros JC. Protective action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in a cattle pen trial. Vet Parasitol 2013;197(1-2):341-345.