

Determinación del efecto ixodicida de extractos hidroalcohólicos de *Verbena Officinalis* y *Kalanchoe Pinnata*

Determination of the ixodicidal effect of hydroalcoholic extracts of *Verbena Officinalis* and *Kalanchoe Pinnata*

Edilberto Chacón Marcheco¹ <https://orcid.org/0000-0001-9590-6451>

Elsa Paola Cruz Villacis¹ <https://orcid.org/0009-0006-0935-5256>

Juan Eduardo Sambache Tayupanta² <https://orcid.org/0000-0002-9686-8351>

Blanca Mercedes Toro Molina¹ <https://orcid.org/0000-0003-3772-5200>

¹ Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Cotopaxi, Ecuador

² Universidad de Las Américas, Quito, Pichincha, Ecuador

Autor para correspondencia: edilberto.chacon@utc.edu.ec

RESUMEN

Introducción: Las garrapatas son portadoras de diversas enfermedades infecciosas que pueden afectar tanto a los perros como a los humanos. Los garrapaticidas a partir de plantas naturales ofrecen una serie de beneficios importantes, tanto para la salud de los animales como para el medio ambiente.

Objetivo: Determinar el efecto ixodicida de los extractos hidroalcohólicos de *Verbena Officinalis* y *Kalanchoe Pinnata*, en garrapatas adultas medianas encontradas en caninos domésticos.

Métodos: La investigación se realizó en la Clínica Veterinaria Puppy Planet, localizada en la Parroquia Pano, Cantón Tena, Provincia de Napo, en el Ecuador. Fueron recolectadas 540 garrapatas adultas, tomadas en 30 caninos domésticos de diferentes razas, sexo y edades, los cuales estaban infectados de forma natural. Las garrapatas fueron retiradas manualmente y colocadas en cajas Petri, en número de 30 garrapatas por placa, realizando 3 repeticiones por tratamiento y con un diseño de bloques completamente al azar.

Resultados: El mejor control se obtiene con el tratamiento T1 (50 % Verbena officinalis + 50 % Kalanchoe pinnata), obteniéndose la mayor mortalidad con un promedio de 25 garrapatas muertas, lo que equivale al 83 %, valor muy superior al tratamiento testigo T6 (Agua destilada) con un promedio de 0,67 para el 2,23 %.

Conclusiones: El uso de extractos es una buena alternativa en el control de la plaga mencionada y al mezclar ambas especies en los extractos resulta en mayor beneficio en control y manejo de plagas en caninos.

Palabras clave: garrapaticidas; animales domésticos; extractos naturales de plantas; atención veterinaria.

ABSTRACT

Introduction: Ticks are carriers of various infectious diseases that can affect both dogs and humans. Tickicides from natural plants offer a series of important benefits, both for the health of animals and for the environment.

Objective: to determine the ixodicidal effect of hydroalcoholic extracts of Verbena Officinalis and Kalanchoe Pinnata, on medium-sized adult ticks found in domestic canines.

Methods: The research was carried out at the Puppy Planet Veterinary Clinic, located in Pano Parish, Tena Canton, Napo Province, Ecuador. 540 adult ticks were collected from 30 domestic canines of different breeds, sexes and ages, which were naturally infected. The ticks were manually removed and placed in Petri dishes, 30 ticks per plate, performing 3 repetitions per treatment and with a completely randomized block design.

Results: The best control was obtained with the T1 treatment (50% *Verbena officinalis* + 50% *Kalanchoe pinnata*), obtaining the highest mortality with an average of 25 dead ticks, which is equivalent to 83%, a value much higher than the control treatment T6 (distilled water) with an average of 0.67 for 2.23%.

Conclusions: The use of extracts is a good alternative for the control of the mentioned pest and mixing both species in the extracts results in greater benefit in control and management of pests in canines.

Keywords: tickicides; domestic animals; natural plant extracts; veterinary care.

Recibido:

Aceptado:

Introducción

Las garrapatas son portadoras de diversas enfermedades infecciosas que pueden afectar tanto a los perros como a los humanos. Algunas de estas enfermedades incluyen la enfermedad de Lyme, la ehrlichiosis y la babesiosis. Ocasionan también numerosos trastornos inmunológicos y dermatológicos en mascotas como perros y gatos, ya que estos parásitos son portadores de numerosas enfermedades que se pueden transmitir por medio de una picadura. Se consideran económicamente perjudiciales en el ganado y en otras especies de animales, ya que pueden ocasionar cuadros de anemia grave y pérdida de peso.⁽¹⁾

La aplicación de baños garrapaticidas está definida como la principal acción para el control de las garrapatas, sin embargo, en algunas regiones se ha detectado ineficacia de los productos químicos empleados debido a su uso por largos períodos y resistencia de las garrapatas como los mayores problemas, debido a que la disponibilidad de nuevos

ixodicidas es cada vez más escasa.^(2,3)

Los garrapaticidas a partir de plantas naturales ofrecen una serie de beneficios importantes, tanto para la salud de los animales como para el medio ambiente. El uso de extractos naturales de plantas ha sido cada vez más estudiado, debido a sus beneficios en comparación con el uso de principios activos químicos.^(4,5) Los acaricidas de origen natural se obtienen de materia prima que se degrada con facilidad, no causa daño al medio ambiente ni deja residuos en el animal tratado, sin embargo, es un proceso lento de extracción.

La utilización de las plantas como agentes terapéuticos en la atención primaria de la salud, se ha mantenido a lo largo del tiempo y puede afirmarse que aproximadamente el 60-80% de la población mundial todavía depende en gran parte de los tratamientos tradicionales que implican el uso de extractos de plantas o de sus principios activos.⁽¹⁾

La revalorización de las plantas como fuente de sustancias con propiedades insecticidas se ha difundido en países de América Latina como Brasil, México, Ecuador y Chile, desarrollando líneas de investigación que buscan en las plantas compuestos químicos con menor impacto ambiental y potencial para el control de plagas.⁽⁶⁾

Los garrapaticidas naturales en veterinaria son una alternativa valiosa que no solo protege la salud de los animales, sino que también promueve un enfoque más sostenible y responsable en la atención veterinaria. Sin embargo, es fundamental que su uso sea orientado por el conocimiento clínico y la evidencia científica, garantizando así su eficacia y seguridad.

La *Verbena officinalis*, también conocida como verbena común, es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia Verbenaceae. Es originaria de Europa y se ha naturalizado en varias regiones del mundo. Por su parte, *Kalanchoe pinnata*, también

conocida como "planta de la medicina" o "suculenta de la fortuna", es una especie de planta suculenta perteneciente a la familia Crassulaceae. Es nativa de Madagascar, pero se ha extendido a muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo, siendo cultivada a menudo como planta ornamental y por sus propiedades medicinales. Su potencial como repelente de plagas ofrece oportunidades para su estudio en el ámbito agrícola y veterinario.

En Ecuador, especialmente en la ciudad de Tena en temporada de verano aumentan las atenciones veterinarias por infestación con garrapatas, especialmente por la garrapata común (*Ixodes ricinus*). Por ello, el objetivo de la investigación fue determinar el efecto ixodicida de los extractos hidroalcohólicos de *Verbena Officinalis* y *Kalanchoe Pinnata*, en garrapatas adultas medianas encontradas en caninos domésticos.

Métodos

La investigación se realizó en la Clínica Veterinaria Puppy Planet, localizada en la Parroquia Pano, Cantón Tena, Provincia de Napo, en el Ecuador. Fueron recolectadas 540 garrapatas adultas, tomadas en 30 caninos domésticos de diferentes razas, sexo y edades, los cuales estaban infectados de forma natural. Las garrapatas fueron retiradas manualmente y colocadas en cajas Petri, en número de 30 garrapatas por placa, realizando 3 repeticiones por tratamiento y con un diseño de bloques completamente al azar.

Para la evaluación de toxicidad *in vitro* se utilizaron los extractos hidroalcohólicos de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata*, en las siguientes soluciones:

- kkpp y vvo0 al 50 % = extracto hidroalcohólico de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* asignado al 50 %/50 %.
- kkpp 30 % = extracto hidroalcohólico al 30 % de *Verbena officinalis*
- vvo0 30 % = extracto hidroalcohólico al 30 % de *Kalanchoe pinnata*

- kkpp 60 % = extracto hidroalcohólico al 60 % de *Verbena officinalis*
- vvo0 60 % = extracto hidroalcohólico al 60 % de y *Kalanchoe pinnata*
- aadd = agua destilada (testigo negativo).

Para los procesos de recolección, selección, secado, triturado y almacenamiento de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* se siguieron los siguientes pasos:

- Recolección de 5 kg de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata*
- Corte y selección de hojas
- Lavado de hojas de *Verbena officinalis* y hojas de *Kalanchoe pinnata* con agua destilada y detergente neutro
- Secado con papel absorbente
- Deshidratación a temperatura ambiente bajo sombra por 30 días.
- Posteriormente se procedió a la trituración de las plantas con un mortero hastapulverizar la mezcla.
- Pesado de las partículas obtenidas del proceso de pulverizado a razón de 100 gr para ser utilizados en cada tratamiento.

Una vez seco y pesado, el resultado de la pulverización de las hojas de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* se colocó dentro de un frasco ámbar con la mezcla de alcohol etílico y agua destilada.

Seguidamente fueron elaborados extractos hidroalcohólicos de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* al 30 %, 50 %/ y 60 % como se describe a continuación:

Extracto hidroalcohólico de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* al 30 %:

- Mezcla de 100 mg de cada uno de los pulverizados de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* en 700 ml de agua destilada y 300 ml de alcohol etílico a temperatura ambiente en frasco de color ámbar por separado.

- Agitado suave y diario 3 veces al día (6, 14 y 22 horas).
- Se deja reposar la mezcla por un período de 15 días.
- Se procede a filtrar.
- Se obtiene el extracto hidroalcohólico al 30 % de las dos plantas *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* por separado.

Extracto hidroalcohólico de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* al 50 %:

- Mezcla de 100 mg de cada uno de los pulverizados de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* en 500 ml de agua destilada y 500 ml de alcohol etílico a temperatura ambiente en frasco de color ámbar.
- Agitado suave y diario 3 veces al día (6, 14 y 22 horas).
- Se deja reposar la mezcla por un período de 15 días.
- Se procede a filtrar.
- Se obtiene el extracto hidroalcohólico al 50 % de las dos plantas *Verbena Officinalis* y *Kalanchoe pinnata*

Extracto hidroalcohólico de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* asignado al 60 %:

- Mezcla de 100 mg de cada uno de los pulverizados de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* en 400 ml de agua destilada y 600 ml de alcohol etílico a temperatura ambiente en frasco de color ámbar por separado.
- Agitado suave y diario 3 veces al día (6, 14 y 22 horas).
- Se deja reposar la mezcla por un período de 15 días.
- Se procede a filtrar.
- Se obtiene el extracto hidroalcohólico al 60 % de las dos plantas *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* por separado.

Se realizó una única aplicación de los extractos hidroalcohólicos y agua destilada,

mediante el método de inmersión y se verificó su efecto a las 24 horas. Las pruebas fueron realizadas en clima a 25° grados centígrados, siendo cálido húmedo.

Los datos obtenidos fueron sometidos a Análisis de la Varianza (ANOVA) de un factor para medidas repetidas. Además, se realizó un análisis de comparaciones ortogonales para determinar el comportamiento entre los extractos utilizados en el control de las garrapatas. Adicionalmente se desarrolló una comparación Tukey al 5 % de promedios luego de determinar diferencias significativas entre los tratamientos. El procesamiento estadístico fue realizado mediante el programa SPSS para Windows.

Resultados

El resultado general de la aplicación de los diferentes tratamientos de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* medido por el número de garrapatas muertas en 24 horas se muestra en la Figura 1, evidenciándose la acción de toxicidad in vitro de los extractos hidroalcohólicos empleados en el estudio.

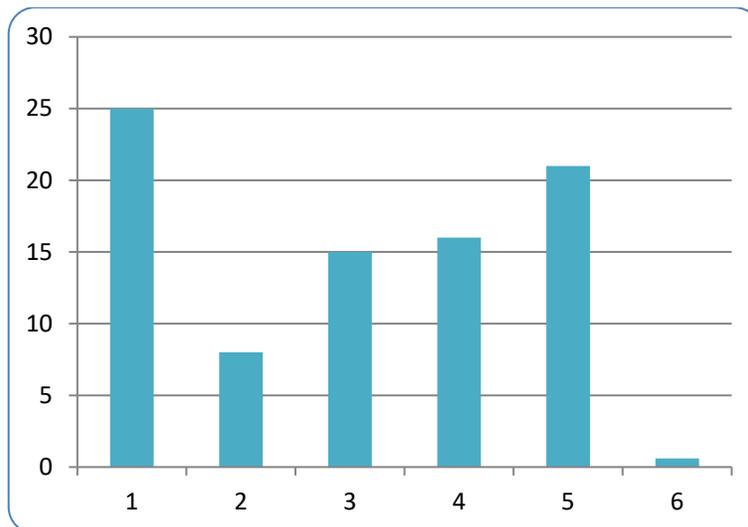


Fig. 1. Número de garrapatas muertas a las 24horas, según tratamiento.

Se identifica claramente que el mejor control se obtiene con el tratamiento T1 (50 % *Verbena officinalis* + 50 % *Kalanchoe pinnata*), tratamiento que obtuvo la mayor mortalidad

con un promedio de 25 garrapatas muertas de una unidad experimental conformada de 30 garrapatas lo que equivale al 83 %, valor muy superior al tratamiento testigo T6 (Agua destilada) con un promedio de 0,67 garrapatas muertas equivale apenas al 2,23 %, haciendo notar que el uso de extractos es una buena alternativa en el control de la plaga mencionada y de que el mezclar las especies en los extractos da mayor beneficio en control y manejo de plagas en caninos.

Investigaciones previas reportan que el *Kalanchoe pinnata*, es una planta perteneciente a la familia de las crasuláceas con características de plaguicida.⁽⁷⁾ Se ha reportado una mortalidad de garrapatas adultas cercana al 90,0 % al realizar un estudio *in vivo* con extractos hidroalcohólicos.⁽⁸⁾

La eficacia del uso de los extractos hidroalcohólicos de las plantas *Verbena officinalis* y *Ruta graveolens* en el control *in vitro* de la garrapata adulta *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; el extracto de *R. graveolens* (ruda) mostró efectividad en mortalidad de la garrapata pequeña y mediana, sólo con el extracto puro; *V. officinalis* (verbena negra) fue eficaz sobre garrapata pequeña y mediana en la dilución 5:10.⁽⁹⁾ Los resultados obtenidos en el presente trabajo, en relación a la acción de la verbena reportada por otros autores.⁽¹⁰⁾

En la Tabla 1, se pueden observar diferencias altamente significativas para los extractos y para la comparación ortogonal realizada entre los extractos y el tratamiento testigo con agua destilada indicando que hay diferencias entre los resultados obtenidos de los tratamientos aplicados. Además, se pudo observar diferencia estadística al 5 % en la comparación realizada entre el tratamiento T1 (50 % *Verbena officinalis* + 50 % *Kalanchoe pinnata*) y los tratamientos 2, 3, 4 y 5 (T2 30 % de *Verbena officinalis*, T3 30 % de *Kalanchoe pinnata*, T4 60 % de *Verbena officinalis* y T5 60 % de *Kalanchoe pinnata*). En las demás fuentes de variación no se encontraron diferencias estadísticas.

Tabla 1. Resultados de ANOVA para la variable garrapatas muertas a las 24 horas, en la evaluación de concentraciones y tipos de extractos, con el uso de comparaciones ortogonales

F DE V	GL	SC	CM	F	P
Total	17	1480,44			
Tratamientos	5	1122,44	224,49	6,75	0,005 **
1, 2, 3, 4, 5 vs 6	1	694,44	694,44	20,88	0,001 **
1 vs 2, 3, 4, 5	1	220,42	220,42	6,63	0,028 *
2,3 vs 4,5	1	126,75	126,75	3,81	0,079 ns
2 vs 3	1	48,17	48,17	1,45	0,257 ns
4 vs 5	1	32,67	32,67	0,98	0,345 ns
Repeticiones	2	25,44	12,72	0,38	0,692 ns
Error	10	332,56	33,26		

Donde CV% =39.61 y el Promedio es de 14,55 garrapatas muertas

El coeficiente de variación fue de 39,61 %, valor aceptable en el manejo de plagas, donde al utilizar extractos biorracionales obtiene coeficientes de hasta 47,76 %, debido a que la variable en análisis no tiene distribución normal. ⁽¹⁾

El análisis de probabilidad obtenido de las diferentes fuentes de variación evidencia que el uso de extractos influye en el control de garrapatas, resultados obtenidos de la comparación entre el tratamiento testigo y los demás tratamientos, así como la combinación de los extractos T1 versus los demás tratamientos, en las concentraciones como en el tipo de extracto no se encontró diferencias de tipo estadístico.

La eficacia de *Verbena officinalis*, en el control *in vitro* de la garrapata adulta *Rhipicephalus microplus*, especialmente en sus estadios de desarrollo de manera especial en las de tamaño pequeño y mediano, obteniendo diferencias entre los tratamientos aplicados. ⁽¹²⁾

En la Tabla 2 se observan tres tipos de conglomerados estadísticos para los seis

tratamiento evaluados, en donde el primer lugar es ocupado por el tratamiento T1 (50 % *Verbena officinalis* + 50 % *Kalanchoe pinnata*), con un promedio de 25 garrapatas muertas siendo muy superior a los demás tratamientos especialmente con el tratamiento testigo T6 (agua destilada), tratamiento que apenas tuvo un promedio de 0,67 garrapatas muertas.

Tabla 2. Prueba Tukey al 5%, para la comparación de promedios de los tratamientos en la variable garrapatas muertas a las 24 horas

Tratamiento	Promedio	Rango
T1 <i>Verbena sp.</i> 50 % + <i>Kalanchoe sp.</i> 50 %.	25	A
T5 60 % de <i>Kalanchoe sp.</i>	21	A
T4 60 % de <i>Verbena sp.</i>	16.33	AB
T3 30 % de <i>Kalanchoe sp.</i>	15	AB
T2 30 % de <i>Verbena sp.</i>	9.33	AB
T6 Agua destilada	0.67	B

Discusión

La verbena (*Verbena officinalis*) y el Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*) son plantas consideradas curativas y que han sido empleadas por diferentes culturas debido a que sus principios activos que le otorgan propiedades muy interesantes para prevenir y mejorar algunas dolencias o enfermedades comunes.⁽¹³⁾ Al combinar las propiedades de ambas plantas, pueden potenciarse mutuamente sus efectos repelentes o insecticidas, resultando en una solución más eficaz.

El uso de compuestos etanólicos es una gran herramienta en el control de artrópodos, donde se entiende que el uso de extractos combinados resultarán en un mejor potencial de

control de plagas en los perros, como es el caso de las garrapatas.⁽¹⁴⁾ De igual la combinación de extractos vegetales con el uso de jabón negro es una buena estrategia para el control de artrópodos de la clase insecta.⁽¹⁵⁾

Al evaluar el control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales, refieren que la eficacia fue directamente proporcional a la dilución del extracto, y cuando se emplea una mayor difusión del extracto, disminuía el porcentaje de mortalidad, asociando este comportamiento a la relación dosis-respuestas en la cual la mayor concentración de compuestos químicos alcanza un efecto insecticida más potente.
(16)

Conclusiones

La combinación de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata* como garrapaticidas no ha sido ampliamente investigada en la literatura científica. Sin embargo, los resultados de la investigación demuestran que la conjunción de las propiedades individuales de cada planta logra a un efecto insecticida.

Los extractos vegetales utilizados en el presente estudio a base de *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata*, controlan la infestación de garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) en caninos, especialmente cuando se combinan los extractos en las mismas proporciones al 50 %.

El tipo de extracto y las distintas concentraciones de las especies utilizadas *Verbena officinalis* y *Kalanchoe pinnata*, no presentaron diferencias estadísticas en el presente estudio, ambos representan buenas alternativas ecológicas que preservan la salud de los perros controlando parásitos externos como es el caso de *Rhipicephalus sanguineus*, respetando al medio ambiente en el consumo de menos productos de nivel III de toxicidad como lo son los insecticidas.

Referencias bibliográficas

1. Bermúdez A, Oliveira M A, Velázquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*. 2005;30(8):453-9. Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0378-18442005000800005&script=sci_abstract
2. Ribeiro V L, Ferreira T, Alves R, Klafke G M, Riet-Correa F. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*. 2020;11(4):101413. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877959X19303504?via%3Dihub>
3. Barrios H H. Evaluación in vitro de *Piper tuberculatum* para el control de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) micropilus* obtenidas de bovinos en el municipio de León. Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León; 2021. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/9742>
4. Raja N, Albert S, Ignacimuthu S E, Dorn S. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *Journal of stored products Research*. 2001;37(2):127-32. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022474X0000014X?via%3Dihub>
5. Saroj A, Oriyomi OV, Nayak A K, Haider S Z. Phytochemicals of plant-derived essential oils: A novel green approach against pests. *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*. 2020:65-79. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128193044000063>

6. Arango G P, Vásquez M C. Efecto tóxico de *Verbena officinalis* (familia verbenaceae) en *Sitophilus granarius* (coleoptera: curculionidae). *Revista Lasallista de Investigación*. 2008;5(2):74-82. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-44492008000200010&script=sci_abstract&tlng=es
7. Villavicencio M A, Pérez B E, Gordillo A J. Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. *Polibotánica*. 2010;30:193-238. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682010000200012
8. Bravo J L, Flores A, Paniagua D, Sánchez MG, Cruz A, Romero D. Acaricidal activity of the hexanic and hydroethanolic extracts of three medicinal plants against southern cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Acarology*. 2021;85(1):113-29. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-021-00654-y>
9. Pulido N J, Cruz A. Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 2013;14(1):91-7. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-87062013000100010&script=sci_abstract&tlng=es
10. Martins R M. Estudio in vitro de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) en la garrapata *Boophilus microplus*. *Rev Bras Pl Med Botucatu*. 2006;8(2):71-8. Disponible en: https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMedicinais/artigo12_v8_n2.pdf
11. Iza G .J. Evaluación de insecticidas biorracionales como estrategia MIP para controlar plagas del Chocho (*Lupinus mutabilis*), barrio Chan, parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga,

provincia Cotopaxi 2017–2018 Ecuador, Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi 2018.

<http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/5709>

12. Pulido N J, Cruz A. Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 2013;14(1):91-7. Disponible en:

<https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/348/417>

13. Leguisamo J E. Diseño de un proceso para la obtención de una crema antibiotica a partir del extracto de las hojas de Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*) [Bachelor's thesis]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2019. Disponible en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/13267>

14. Celis Á, Mendoza C, Pachón M, Cardona J, Delgado W, Cuca L E. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. Agronomía colombiana. 2008;26(1):97-106. Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000100012

15. Pérez B, Aragón A, Cuate V, López J F, Aragón M, Lugo G. Efecto de la aplicación en campo de mezclas de extractos vegetales sobre la presencia y daños de insectos plaga del cultivo de *Amaranthus hypochondriacus* L. Revista de la Facultad de Agronomía. 2017;34:477-96. Disponible en:

<https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/27249/27870>

16. Álvarez V, Loaiza J, Bonilla R, Barrios M. Control in vitro de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. Revista de Biología Tropical,. 2008;56(1):291-302. Disponible en:

https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442008000100021