

Uso de extractos de árboles para controlar exoparásitos de guajolotes (*Meleagris gallopavo*)

Use of tree extracts to exoparasites control in turkeys (*Meleagris gallopavo*)

Serafín Jacobo López-Garrido*, Martha Patricia Jerez-Salas**, Juan Carlos García-López***, Mónica Marcela Jiménez-Galicia*, Narciso Ysac Ávila-Serrano*,****, Edgar Iván Sánchez-Bernal*,****, Jaime Arroyo-Ledezma*,****, Marco Antonio Camacho-Escobar*,****^o

RESUMEN

Con el objetivo de conocer si el extracto de hojas de Guacimo (*Guazuma ulmifolia*) tiene propiedades insecticidas similares al de las hojas de Neem (*Azadirachta indica*), se realizó el presente estudio. Se probó en condiciones de laboratorio el efecto de extracto etílico, infusión acuosa, destilación con acetona, etanol y agua en hormigas. Se registró mortalidad y tiempo de acción letal. Los mejores tratamientos para Neem: infusión y destilación con agua; para Guacimao: destilación con acetona y etanol. Se aplicaron en condiciones de campo a guajolotes infestados naturalmente con piojos y ácaros. Se usó desparasitante comercial y agua como testigos. Al día siguiente de la aplicación y en los días 7, 14 y 21 posteriores se contabilizaron los parásitos. Después del día 21 se aplicó una segunda dosis. Todos los tratamientos presentaron efecto desparasitante ($p < 0.05$). Infusión acuosa de Neem presentó igual efecto residual que el desparasitante comercial ($p < 0.05$). Propiedades insecticidas del Neem se conservan independientemente del solvente, la infusión en agua es similar que el desparasitante comercial. Extracto de Guacimo con acetona tiene propiedades similares a algunos extractos de Neem.

ABSTRACT

This study was conducted in order to determine if leaf extract Guacimo (*Guazuma ulmifolia*) has insecticidal properties such as Neem leaf extract (*Azadirachta indica*). Effects of ethanol extract, aqueous infusion, distillation with acetone, ethanol, or water, were tested in ants under laboratory conditions. Mortality and lethal action time was recorded. The best treatments for Neem: infusion and distillation with water; for Guacimao: distillation acetone and ethanol. Treatments were applied under field conditions to turkeys naturally infested with lice and mites. Commercial dewormer and water was used as controls. The day after application and on days 7, 14 and 21 later, parasites were counted. After 21 second dose was applied. All treatments had dewormer effect ($p < 0.05$). Aqueous infusion of Neem presented residual effect like commercial dewormer ($p < 0.05$). Neem insecticidal properties are preserved regardless of solvent. Water infusion is similar to commercial dewormer. Guacimo with acetone extract has similar properties to some extracts of Neem.

Recibido: 2 de octubre de 2015
 Aceptado: 17 de octubre de 2016

Palabras clave:

Azadirachta indica; Guacimo; *Guazuma ulmifolia*; neem; pavo.

Keywords:

Azadirachta indica; turkey; Guacimo; *Guazuma ulmifolia*; neem.

Cómo citar:

López-Garrido, S. J., Jerez-Salas, M. P., García-López, J. C., Jiménez-Galicia, M. M., Ávila-Serrano, N. Y., Sánchez-Bernal, E. I., Arroyo-Ledezma, J., & Camacho-Escobar, M. A. (2016). Uso de extractos de árboles para controlar exoparásitos de guajolotes (*Meleagris gallopavo*). *Acta Universitaria*, 26(6), 15-23. doi: 10.15174/au.2016.1010

INTRODUCCIÓN

El uso de agroquímicos convencionales tienen efectos negativos en el medio ambiente, por ello se están buscando opciones tecnológicas no contaminantes que sean aplicables a la producción agropecuaria (Tamez *et al.*, 2001). Una de las principales alternativas que se estudia en la actualidad son los extractos de plantas, obtenidos a partir de procesos físicos, químicos y microbiológicos. Dichos extractos tienen como materia prima plantas silvestres o cultivadas (Zarins, Daugavietis & Halimona, 2009). De manera empírica se conoce la forma de uso y aplicación de muchos de estos extractos (Bork, Schmitz, Kuhnt, Escher & Heinrich, 1997); sin embargo, este conocimiento no se ha validado científicamente en la mayoría de los casos. Actualmente se ha centrado la atención en estos fitoquímicos, en la medicina humana para

* Cuerpo Académico Ciencias Agropecuarias, Universidad del Mar. Campus Puerto Escondido. Km 1.5 Vía Sola de Vega, Puerto Escondido, Mixtepec, Oaxaca, México, CP. 71980. Correo electrónico: marcama@zicatela.umar.mx

** Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex Hacienda de Nazareno Xoxocotlán, Oaxaca, México.

*** Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

**** Producción y sanidad animal, Universidad del Mar Campus Puerto Escondido.

^o Autor de correspondencia.

la búsqueda de principios activos que ayuden a disminuir la producción de células cancerígenas (Ames, Profet & Gold, 1990). En la agricultura se usan extractos vegetales con propiedades insecticidas para control de plagas (Isman, 2000), en la etnomedicina veterinaria (Camacho-Escobar, Arroyo-Ledezma, García-Bautista & Pérez-Lara, 2008) como desparasitante (Pablo *et al.*, 2009), repelente de parásitos (Garboi, Jaenson & Pålsson, 2006), entre otros usos. Ahmed & Grainge (1986) establecen que ciertas especies vegetales que poseen características de interés económico pueden ser propagadas y aprovechadas. Dichos vegetales deben ser perennes, agrónomicamente poco exigentes, resistir plagas, poseer usos complementarios y que sean fáciles de procesar con la tecnología al alcance de las comunidades rurales.

El Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) es un ejemplo del potencial de usos que pueden darse a las diferentes partes y extractos provenientes de este (Govindachari, 1992). Se ha reportado la efectividad de alguno de sus extractos en el control de plagas agrícolas (Caboni *et al.*, 2006; Ogbuewu *et al.*, 2011), de parásitos internos (Chagas & Vieira 2007, Chandrawathani *et al.*, 2006, Pietrosevoli, Olavez, Montilla & Campos, 1999) o externos (Habluetzel *et al.*, 2007; Mehlhorn, Abdel-Ghaffar, Al-Rasheid, Schmidt & Semmier, 2011; Webb & David, 2002) en diferentes especies animales; posee efectos anticonceptivos (Boeke *et al.*, 2004), se utiliza para el combate de la malaria (Biswas, Chattopadhyay, Benerjee & Bandyopadhyay, 2002), tiene efecto antiviral (Anyachie, 2009), antibacteriano (Helmy, Amer & EL-Shayeb, 2007) e insecticida (Mordue & Nisbet, 2000; Siri wattanarungsee, Sulontason, Olson, Chailapakui & Sukontason, 2008); el modo de acción depende de la parte de la planta donde fue obtenido el extracto, la dosis a la que se aplique (Huang, Shi, Dai & Du, 2004) y la cantidad de proteínas y carbohidratos contenidos en el extracto (Helmy *et al.*, 2007).

Un árbol nativo de México que es interesante por sus propiedades aprovechables en la medicina tradicional es el Guacimo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) (Villatoro, Luna & González, 2006). Este árbol pertenece a la familia Sterculiaceae, y entre las cualidades que se le atribuyen es la cura de enfermedades gastrointestinales, respiratorias como resfriados, bronquitis y asma, así como propiedades antipiréticas, para controlar la alopecia, la diabetes y para aliviar la malaria; posee propiedades antivirales y antimicrobianas (Arrieta-Baez, Esparza & Jiménez-Estrada, 2012; Navarro *et al.*, 2003; Orwa, Mutua, Kindt, Jamnadass & Anthony, 2009). También se le ha atribuido su uso como antihe-morrágico (Villa-Herrera *et al.*, 2009) y para controlar

enfermedades relacionadas con la presencia de radicales libres (Boligon, Feltrin & Athayde, 2013; Bork *et al.*, 1997; Feltrin, Boligon, Janovik & Athayde, 2012). Para la medicina tradicional, *G. ulmifolia* posee algunas propiedades similares a las de *A. indica*, por lo cual se planteó la hipótesis que si tienen similares atributos en el control de enfermedades, también pueden compartir las evidentes propiedades insecticidas que posee el Neem (Schmahl, Al-Rasheid, Abdel-Ghaffar, Klimpel & Mehlhorn, 2010). Por ello, el objetivo del presente trabajo fue comparar las propiedades insecticidas, en condiciones de laboratorio y de campo, de los extractos de ambos árboles, mediante el uso de diferentes solventes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Prueba biológica de laboratorio

El trabajo fue realizado en el laboratorio de Biología de la Universidad del Mar (UMAR), Campus Puerto Escondido. El material vegetal fue colectado de árboles de la plantación forestal del Campo Experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) región Costa de Oaxaca, ubicado en Rio Grande, Tututepec, Oaxaca. Previo a la recolección del material vegetal se realizaron dos recorridos en el campo experimental para conocer e identificar con precisión, las especies arbóreas utilizadas en el presente estudio, y se seleccionaron al azar un total de 25 árboles sanos de 12 años de edad que habían sido podados con seis meses de antelación, con la finalidad de obtener hojas uniformes. Posteriormente se realizó, para cada especie arbórea, la colecta de 20 kg de hojas completas con peciolo. Para estandarizar la prueba se trabajó primero con las hojas de *A. indica*; establecido el protocolo de trabajo, se continuó con *G. ulmifolia*. Las hojas se deshidrataron temperatura promedio de 28 °C en un lugar abierto y no expuesto a luz solar durante 48 h, posteriormente se colocaron en una estufa a temperatura de 70 °C hasta obtener un secado total y homogéneo determinado por el peso constante. Para la obtención de los extractos se utilizó 1 kg de hoja deshidratada de *A. indica* y *G. ulmifolia*, respectivamente. Se pulverizaron con un molino triturador de martillo marca Ika® modelo MF 10 Basic con una criba de 100 µm.

Para la obtención de los extractos de hojas de árboles se utilizaron los siguientes métodos: infusión, donde se utilizó agua destilada como solvente, en 1.5 L de agua destilada se llevaron a ebullición en un matraz de 2 L y

se añadió 500 g de polvo de hojas dejando en ebullición por 30 min. Se dejó reposar por 24 h y posteriormente se decantó y se almacenó en un frasco ámbar para protegerlo de la luz y se mantuvo en refrigeración. Para cuando se utilizó extracción con etanol (99.5% de pureza) como solvente, se tomaron 1.5 L de este y se les añadió 500 g de hojas molidas y se dejó por 48 h en constante agitación mediante un rotovapor (marca Büchi® Modelo Heating Bath B-490); posteriormente se dejó en reposo por 8 h y se decantó, almacenándose de la misma forma que la infusión acuosa. También se utilizó la destilación mediante la técnica de Soxhlet. Para la extracción por destilación se utilizaron 50 g de hoja molida en 150 mL de uno de los siguientes solventes: acetona (99.5% de pureza), etanol (99.5% de pureza) y agua destilada. Una vez obtenido cada destilado se aforaron a 0.5 L con el solvente utilizado y se almacenaron en frascos ámbar y en refrigeración hasta su uso.

Los tratamientos fueron: 1) extracción con etanol, 2) infusión en agua, 3) destilación con acetona como solvente, 4) destilación con etanol como solvente y 5) destilación con agua como solvente. Con la finalidad de probar la efectividad como bioinsecticidas de los extractos vegetales obtenidos, hipotetizando que el efecto insecticida será similar para otros géneros y especies de artrópodos. Para realizar los bioensayos se utilizaron hormigas “arrieras o chicanas” (*Atta mexicana* F. Smith 1858) colectadas de una colonia aparentemente sana. Se seleccionó este insecto porque se ha reportado previamente efectos nocivos de *G. ulmifolia* en hormigas de la familia Formicidae (Torres et al., 2013) y es conocida la acción insecticida de los extractos de *A. indica* (Mordue & Nisbet 2000).

Previo a la fase experimental se probó la toxicidad de los solventes etanol, acetona y agua destilada, mediante aspersión directa en 20 insectos con cuatro repeticiones por solvente, con el objeto de probar el efecto insecticida que tienen por sí mismos y evitar falsos positivos. La acetona causó la muerte del total de los insectos en 5 min, el etanol en 6 min y el agua no afectó a ninguno de los insectos durante 60 min que fue el tiempo máximo que estuvieron en contacto con ella. Esta prueba preliminar no se consideró en el modelo estadístico, pero se utilizó como referencia para considerar el tiempo máximo de exposición a los tratamientos en la interpretación de los resultados.

Cada tratamiento tuvo 20 insectos colocados en cajas de Petri y cada tratamiento se repitió cuatro veces. Se les aplicó una solución 1:10 de cada extracto, usando agua como solvente. La aplicación de los

tratamientos fue por aspersión directa de 3 mL y se registró la mortalidad de los organismos durante 5 min para la prueba con extracto obtenidos con acetona, 6 min con extractos obtenidos con etanol y 60 min con extractos obtenidos con agua destilada. Al finalizar la prueba se contabilizó la mortalidad y tiempo de acción letal sobre los insectos. Los criterios que se utilizaron para determinar la mortalidad por efecto del extracto fueron: que el insecto presentara inmovilidad de patas, mandíbulas, escapos y funículas, y que no respondieran al tacto. Estos criterios se establecieron con base en pruebas preliminares (Naranjo-Luna, Chalé-Rivera, Camacho-Escobar & Rodas-Junco, 2010). Se realizó un análisis de varianza de la mortalidad con el programa estadístico *Statistica Analisis System* (SAS, 1997) y se estimó la diferencia de las medias de los tratamientos mediante la prueba de Tukey, considerando diferencia significativa con $p < 0.05$.

Prueba aplicada en campo

Con el propósito de probar el efecto insecticida de los mejores tratamientos obtenidos en la prueba de laboratorio, por especie vegetal, se diseñó un experimento con guajolotes nativos (*Meleagris gallopavo*) en condiciones de confinamiento. La prueba se llevó a cabo en las instalaciones avícolas del Campo Experimental Bajos de Chila, de la UMAR.

Bajo un diseño de bloques al azar se probaron los dos extractos de cada árbol que tuvieron mejor respuesta experimental respecto a la mortalidad de insectos de la prueba biológica obtenida previamente en el laboratorio. En el caso de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss), los tratamientos de infusión acuosa y destilación con agua como solvente fueron seleccionados; y con Guacimo (*Guazuma ulmifolia* Lam) se utilizaron los tratamientos de destilación con acetona como solvente y destilación con etanol como solvente. Además, como control se aplicó un desparasitante comercial (Triclorfón al 97%, tratamiento 5), y como testigo o blanco, agua destilada (tratamiento 6). El tiempo de mortalidad del control, en los insectos, se contabilizó en 2 min posterior a la exposición.

Se prepararon soluciones 1:10 de cada extracto, usando agua destilada como solvente y se les aplicaron 10 mL mediante aspersión directa. El desparasitante comercial se utilizó según las instrucciones del fabricante. Cada tratamiento tuvo dos repeticiones, con seis guajolotes adultos mixtos cada una, en diferentes jaulas por tratamiento y repetición. Las aves estaban sanas, con el programa de vacunación completo, pero parasitadas naturalmente con uno o más especies de

los piojos *Menopon gallinae*, *Menacanthus cornutus*, *Colpocephalum turbinatum*, *Menacanthus stramineus*, *Che-lopistes meleagridis*, *Oxylipurus corpulentus* y *Oxylipurus polytrapezius*, y los ácaros *Dermanyssus gallinae*, *Megninia ginglymura*, *Ornithonyssus sylviarum* y *Kne-midokoptes mutans*. Estos exoparásitos se han reportado que están presentes en la parvada experimental (Camacho-Escobar, Arroyo-Ledezma, Pérez-Lara, Sánchez-Bernal & García-López, 2010; Camacho-Escobar *et al.*, 2014).

Antes de la aplicación de los tratamientos experimentales se comprobó visualmente la presencia de los ectoparásitos, inspeccionando sobre todo debajo de las plumas y en las zonas sin crecimiento de estas de la región axial alar, ventral, en la región caudal, principalmente en la región de la cloaca, en la región cervical, en la región dorsal y en la axial crural. Se estimó que el número parásitos presentes en el ave estuviera dentro del rango de una abundancia media (101-1000 parásitos por ave), según los criterios reportados por Sychra, Harmat & Literák (2008). La estimación de la carga parasitaria, previa a la aplicación de los tratamientos y los días posteriores, se realizó mediante un conteo en el área sin desarrollo de plumas, de la región ventro-abdominal, de aproximadamente 5 cm² usando una lupa 3X e iluminación con lámpara de mano (Yazwinski *et al.*, 2005).

Todos los tratamientos se aplicaron por aspersión teniendo cuidado de que tuviera contacto con la piel de todo el cuerpo del ave, levantando las plumas en las regiones anatómicas donde no se desarrollan estas. Al día siguiente de la aplicación del tratamiento, así como a los 7 y 14 días posteriores, se contabilizó el número de parásitos en el ave. Después de 21 días de la aplicación de los tratamientos se volvieron a contar los parásitos presentes en los guajolotes y se dio un segundo tratamiento, contándose el número de parásitos que permanecían al día siguiente de la desparasitación, y en los 7 y 14 días posteriores a este. Los resultados se analizaron con un diseño de bloques completos al azar con el programa estadístico SAS (SAS, 1997), y mediante la prueba de Tukey se determinó si existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre medias.

RESULTADOS

Pruebas biológicas de laboratorio

Las pruebas biológicas con extracto de *A. indica* mostraron que posee propiedades insecticidas (tabla 1),

independientemente del tipo de solvente que se haya utilizado. Los tratamientos 2, 4 y 5, donde se utilizó extracto de etanol, infusión en agua y destilado de agua, tuvieron similar tiempo de acción letal, pero actuaron con mayor rapidez ($p < 0.05$) que los tratamientos 1 y 3 que tuvieron etanol y acetona como solvente, respectivamente (tabla 2). Los bioensayos realizados con diferentes extractos de *G. ulmifolia* mostraron diferencias significativas en mortalidad (tabla 1), siendo el tratamiento 3 (destilación con acetona como solvente) el que mayor mortalidad de insectos tuvo ($p < 0.05$) respecto al resto de los tratamientos, excepto con el tratamiento 4. El tratamiento de destilado con etanol como solvente (tratamiento 4) no presentó diferencia estadística respecto a los tratamientos 1, 2 y 5; sin embargo, ningún tratamiento presentó diferencias significativas respecto al tiempo de acción letal (tabla 2).

Tabla 1.

Medias de mortalidad de chicanas (*Atta mexicana*) expuestas a diferentes preparados con hoja de Neem (*Azadirachta indica*) y Guacimo (*Guazuma ulmifolia*) como bioinsecticida.

Tratamiento	A. indica	G. ulmifolia
Extracción con etanol (1)	19.3 ^a	13.4 ^b
Infusión en agua destilada (2)	19.8 ^a	15.1 ^b
Destilación con acetona como solvente (3)	18.5 ^a	18.4 ^a
Destilación con etanol como solvente (4)	19.3 ^a	16.3 ^{ab}
Destilación con agua como solvente (5)	19.8 ^a	15.0 ^b

Los números dentro de los paréntesis indican el tratamiento.

^a, ^b: Distintas literales en la misma línea indica que los valores son diferentes ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2.

Tiempo de acción letal de chicanas (*Atta mexicana*) expuestas a diferentes preparados con hoja de Neem (*Azadirachta indica*) y Guacimo (*Guazuma ulmifolia*) como bioinsecticida.

Tratamiento	A. indica (min)	G. ulmifolia (min)
Extracción con etanol (1)	3.3 ^a	3.7 ^a
Infusión en agua destilada (2)	2.5 ^b	6.5 ^a
Destilación con acetona como solvente (3)	4.7 ^a	4.3 ^a
Destilación con etanol como solvente (4)	2.8 ^b	7.8 ^a
Destilación con agua como solvente (5)	2.5 ^b	7.4 ^a

Los números dentro de los paréntesis indican el tratamiento.

^a, ^b: Distintas literales en la misma línea indican que los valores son diferentes ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

Prueba aplicada en campo

Al realizar la prueba en pavos nativos naturalmente infestados se encontró que todos los tratamientos presentaron efecto desparasitante (tabla 3 y 4), ello al compararlos con el agua. Al inicio de la prueba (tabla 3), en el día 1, el tratamiento 2 (destilado de Guacimo con acetona como solvente) tuvo la mayor mortalidad, siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$) que los tratamientos 1 y 5 (infusión de Neem con agua y agua destilada), los cuales tuvieron la menor mortalidad.

Para conocer si los tratamientos tienen algún poder residual, se verificó la presencia de parásitos 7, 14 y 21 días después de la aplicación inicial de los tratamientos experimentales; únicamente el tratamiento 1 (infusión acuosa de Neem) tuvo resultados similares a los obtenidos por el desparasitante comercial ($p < 0.05$), siguiéndoles por orden de eficacia el tratamiento 3 (destilado acuoso de Neem), tratamiento 2 (destilado de Guacimo con acetona como solvente), tratamiento 4 (destilado de Guacimo con etanol como solvente) y tratamiento 6 (agua destilada), siendo estas diferencias significativas estadísticamente ($p < 0.05$).

Al realizar una segunda aplicación de los tratamientos (tabla 4), 21 días posteriores a la primera, con la intención de cortar el ciclo biológico de los parásitos y asegurar un mejor resultado del tratamiento, el tratamiento 1 (infusión acuosa de Neem) fue estadísticamente igual ($p < 0.05$) al tratamiento 6 (desparasitante comercial); ambos tratamientos tuvieron la mayor mortalidad, seguidos por el tratamiento 3 (destilado de Neem en agua), el cual a su vez fue diferente ($p < 0.05$) de los tratamientos 2 y 4 (destilado de Guacimo con acetona y etanol, respectivamente, como solvente). Estos últimos tratamientos fueron diferentes ($p < 0.05$) al tratamiento 6 (agua destilada), el cual presentó la mayor cantidad de parásitos. Similares resultados se obtuvieron en los muestreos de los días 7, 14 y 21 días posteriores a la segunda aplicación de los tratamientos experimentales.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que *A. indica* tiene importantes propiedades insecticidas, independientemente del solvente que se utilice para obtener el extracto (tabla 1) y con potente efecto residual, este sin diferencia estadística respecto al producto comercial (tabla 4). Caboni *et al.* (2006) reportan que los fitoquímicos activos del Neem tienen una gran fotoestabilidad, lo que les permite tener un adecuado efecto

residual. Es evidente que los compuestos del Neem con actividad insecticida son solubles al agua, por lo que sería importante realizar la separación de compuestos acuosos con otros métodos, como el uso de ácido clorídrico, hidróxido de sodio y preparaciones sulfatadas, como lo reportan Helmy *et al.* (2007). Los componentes con acción insecticida del Guacimo son hidrófobos, por lo que se podría utilizar el método Folin-Ciocalteu para separarlos (Feltrin *et al.*, 2012).

Tabla 3.

Medias de exoparásitos infestando naturalmente áreas de 5 cm² de piel en guajolotes nativos en cautiverio después de tratamiento inicial con baños desparasitantes de Neem (*Azadirachta indica*) y Guacimo (*Guazuma ulmifolia*).

Tratamiento	Día 1	Día 7	Día 14	Día 21
Infusión de Neem en agua destilada (1)	4.6 ^{ab}	0.1 ^d	0.1 ^d	0.1 ^d
Destilado de Guacimo con acetona (2)	2.9 ^c	1.9 ^{bc}	2.2 ^b	3.1 ^b
Destilado de Neem con agua (3)	3.3 ^{bc}	1.5 ^c	1.7 ^c	2.3 ^c
Destilado de Guacimo con etanol (4)	3.8 ^{abc}	3.0 ^b	3.3 ^b	3.3 ^b
Desparasitante comercial (5)	3.7 ^{abc}	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
Agua destilada (6)	5.2 ^a	5.0 ^a	4.6 ^a	4.7 ^a

Los números dentro de los paréntesis indican el tratamiento.

^a, ^b, ^c, ^d: Distintas literales en la misma columna indican que los valores son diferentes ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 4.

Medias de exoparásitos reinfestando naturalmente áreas de 5 cm² de piel en guajolotes nativos en cautiverio antes y después del segundo tratamiento, 21 d posterior al tratamiento inicial con baños desparasitantes de Neem (*Azadirachta indica*) y Guacimo (*Guazuma ulmifolia*).

Tratamiento	Día 1	Día 7	Día 14	Día 21
Infusión de Neem en agua destilada (1)	0.1 ^d	0.1 ^d	0.1 ^d	0.1 ^d
Destilado de Guacimo con acetona (2)	3.1 ^b	2.6 ^b	2.5 ^b	3.0 ^b
Destilado de Neem con agua (3)	2.3 ^c	1.7 ^c	1.7 ^c	2.4 ^c
Destilado de Guacimo con etanol (4)	3.3 ^b	2.7 ^b	2.6 ^b	3.0 ^b
Desparasitante comercial (5)	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
Agua destilada (6)	4.7 ^a	4.4 ^a	4.2 ^a	4.5 ^a

Los números dentro de los paréntesis indican el tratamiento.

^a, ^b, ^c, ^d: Distintas literales en la misma columna indican que los valores son diferentes ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

Pablo *et al.* (2009) probaron con éxito el uso de extracto de *A. indica* para el control del piojo de la gallina (*Menacanthus stramineus*). Estos resultados sugieren que es posible utilizar infusiones de hoja de *A. indica* para el control biológico de insectos a bajo costo, con tecnología al alcance de cualquier campesino, en el entendido de que el tiempo de acción letal sobre los insectos puede ser menor que con otro tipo de solventes. Larramendy, Szcypel, Pérez, Gonzales & Estrada (2003) probaron diferentes extractos de Neem provenientes de diversas partes del árbol y se aplicaron a ectoparásitos de gallinas de corral, mostrando que no importa de qué parte del árbol sea obtenido el extracto, *A. indica* presenta esta propiedad insecticida con 100% de efectividad. La efectividad de los extractos de *A. indica* se ve caracterizada por los compuestos orgánicos que posee, dentro de los cuales se encuentran los triterpenoides, y los más importantes son azadiractina, salanina, meliantról, nimbina y nimbidina (Vinculando.org, 2008). A pesar que se ha descrito que los extractos de Neem son seguros (Raizada, Srivastava, Kaushal & Singh, 2001), Boeke *et al.* (2004) y Dhongade, Kavade & Damle (2008) refieren que son potencialmente tóxicos, dependiendo de la dosis, el tipo de extracto y la sensibilidad de los organismos a los principios activos. Para el control del ácaro rojo (*Dermanyssus gallinae*) en granjas de gallina de postura comercial, Locher, Al-Rasheid, Abdel-Ghaffar & Mehlhorn (2010) y Abdel-Ghaffar, Sobhy, Al-Quraishy & Semmler (2008) usaron extractos comerciales de Neem, y encontraron efectividad tanto para el control de ácaros como en el de diferentes especies de piojos, similares resultados que los obtenidos en el presente estudio. Los resultados obtenidos confirman los reportes de otros investigadores, quienes reportan que *A. indica* es efectivo para el control de piojos y ácaros (Al-Rajhy, Alahmed, Hussein & Kheir, 2003; Denardi, Bechara, Oliveira & Camargo-Mathias, 2010; Schwalbach, Greyling & David, 2003; Tabassam, Iqbal, Jabbar, Sindhu & Chattha, 2007; Webb & David, 2002).

En los extractos de *G. ulmifolia* se encontró que sí poseen propiedades insecticidas (tabla 1); sin embargo, únicamente la solución con acetona como solvente fue estadísticamente igual al tratamiento con *A. indica*. Zarins *et al.* (2009) al probar efecto insecticida en nueve diferentes tipos de extractos vegetales encontraron un rango de efectividad *in vitro* de 65% – 95%, dentro de este rango se encuentran algunos tratamientos donde se utilizó *G. ulmifolia* descrito en el presente estudio. No obstante, son mayores a los reportados por Ramírez-Moreno, García-Barrios, Rodríguez-Hernández, Morales & Castro-Ramírez (2001) para diferentes extractos de

15 plantas silvestres de la región de los Altos de Chiapas. Además de una moderada actividad insecticida contra *Zabrotes subfasciatus*, coleóptero considerado la principal plaga del frijol, Rendón-Huerta, Juárez-Flores, Aguirre-Rivera & Álvarez (2013) reportan que los extractos de las hojas y el fruto de *G. ulmifolia* poseen propiedades repelentes a dicho insecto; pero una de las principales plagas de este árbol es el coleóptero *Amblycerus cistelinus* (Jansen, 1975), que sea plaga del Guacimo indica que esta especie no es afectada por los fitoinsecticidas que posee.

Es común que las plantas que poseen efectos insecticidas tengan otro tipo de efecto biocidas y propiedades fungicidas, bactericidas o virucidas (Isman, 2000; Zarins *et al.*, 2009). Se ha reportado que *G. ulmifolia* posee efectos virucidas contra los virus de la Polio y el Herpesvirus Bovino (Felipe *et al.*, 2006). Francis (2000) reporta que en pruebas *in vitro*, extractos etanólicos de *G. ulmifolia* tienen poder bactericida contra *Shigella dysenteria*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. Feltrin *et al.* (2012) reportan que los principales compuestos activos del aceite de Guacimo son del grupo de los sesquiterpenos y monoterpenos, los cuales tienen actividad antioxidante y microbiana. Por su parte, al trabajar con extractos de la corteza del Guacimo, se ha observado una gran cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales tienen potencial para ser utilizados como un antioxidante natural (Feltrin *et al.*, 2012); además de nueve diferentes taninos (Lopes, Rocha, Almeida & Mello, 2009). Shekhawat & Vijayvergia (2011) reportan que *G. ulmifolia* posee propiedades antihelmínticas, provocando la parálisis de los parásitos a los 18 min y su muerte 82 min después de administrar una solución con 100 mg mL⁻¹ de extracto etanólico.

El uso de extractos orgánicos de fácil obtención puede ser una solución viable para el manejo sanitario en condiciones, donde el uso de productos químicos no es una elección, como en el caso de la avicultura orgánica o en la producción de traspatio indígena. Además, la adopción de su uso por los productores está basada en los resultados de investigaciones aplicadas, sin embargo, de esta forma no es posible garantizar que el contenido de principios activos, sea el mismo en cada aplicación, lo cual dificulta la estandarización de su uso (Isman, 1997).

Otra estrategia que se debe investigar es la inclusión directa de las hojas en el alimento de las aves, con la finalidad de obtener de manera sistémica protección contra los parásitos (Chandrawathani *et al.*, 2006). Esonu *et al.* (2006) adicionaron hojas de Neem en el alimento de gallinas de postura, y concluyen que la inclusión de

hasta 15% de hojas en el alimento no afecta la producción ni a las aves; de igual manera, el 5% de hojas de *A. indica* en la dieta de pollo de engorda permite el óptimo desempeño productivo y económico (Onyimonyi, Olebode & Okeke, 2009). Se ha demostrado que la adición del fruto de *A. indica* tiene efecto en las cocidias del pollo de engorda (Tipu, Pasha & Ali, 2002).

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio muestran que *A. indica* posee propiedades insecticidas que se conservan independientemente del solvente que se utilice para la obtención de los extractos, siendo la infusión en agua igual de efectiva que otros tratamientos. Se determinó que las propiedades fitoinsecticidas del extracto de *G. ulmifolia* con acetona tienen efectos similares a la encontradas con *A. indica*, lo cual sugiere que el primer árbol contiene fitoquímicos potencialmente activos para continuar realizando estudios sobre sus efectos insecticidas y para conocer cómo afectan estos fitoquímicos a las distintas órdenes, familias o géneros de insectos y ácaros que parasitan a los guajolotes domésticos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Programa para el Desarrollo de Profesionales Docentes (Prodep) con el proyecto de Integración de Redes Temáticas de Colaboración Académica 2015, titulado "Red para el estudio de los metabolitos secundarios de plantas tropicales con importancia para la producción pecuaria". Asimismo, agradecen al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) región Costa de Oaxaca por el material vegetal para el presente estudio, a los técnicos del laboratorio de biología del campus Puerto Escondido, así como a los biólogos Francisco Javier Naranjo-Luna y Carlos Antonio Chalé-Rivera (RIP) por su apoyo en los estudios preliminares.

REFERENCIAS

- Abdel-Ghaffar, F., Sobhy, H. M., Al-Quraishy, S., & Semmler, M. (2008). Field study on the efficacy of an extract of neem seed (Mite -Stop®) against the red mite *Dermanyssus gallinae* naturally infecting poultry in Egypt. *Parasitology Research*, 103(3), 481-485.
- Ahmed, S., & Grainge, M. (1986). Potential of the Neem Tree (*Azadirachta indica*) for pest control and rural development. *Economic Botany*, 40(2), 201-209.
- Al-Rajhy, D. H., Alahmed, A. M., Hussein, H. I., & Kheir, S. M. (2003). Acaricidal effects of cardiac glycosides, azadirachtin and neem oil against the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae). *Pest Management Science*, 59(11), 1250-1254.
- Ames, B.N., Profet, M., & Gold, L. S. (1990). Dietary pesticides (99.99% all natural). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(10), 7777-7781.
- Anyaehie, U. B. (2009). Medicinal properties of fractionated acetone/water neem (*Azadirachta indica*) leaf extract from Nigeria: a review. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 24(2), 157-159.
- Arrieta-Báez, D., Esparza, R. R., & Jiménez-Estrada, M. (2012). Mexican plants used in the salmonellosis treatment. En Y. Kumar (Ed.), *Salmonella a diversified superbug* (pp. 169-184). CCBY 3.0.
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Benerjee, R. K., & Bandyopadhyay, U. (2002). Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*, 82(11), 1336-1345.
- Boeke, S. J., Boersma, M. G., Alink, G. M., Van Loon, J. J. A., Van Huis, A., Dicke, M., & Rietjens, I. M. (2004). Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(1), 25-41.
- Boligon, A. A., Feltrin, A. C., & Athayde, M. L. (2013). Determination of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Guazuma ulmifolia* essential oil. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 1(1), 23-37.
- Bork, P. A., Schmitz, M. L., Kuhnt, M., Escher, C., & Heinrich, M. (1997). Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF- κ B. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 402(1), 85-90.
- Caboni, P., Sarais, G., Angioni, A., Garcia, A. J., Lai, F., Dedola, F., & Cabras, P. (2006). Residues and persistence of neem formulations on Strawberry after field treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10026-10032.
- Camacho-Escobar, M. A., Arroyo-Ledezma, J., García-Bautista, Y., & Pérez-Lara, E. (26 de Agosto de 2008). Medicina Alternativa aplicada al guajolote nativo (*Meleagris gallopavo*) en la costa de Oaxaca. *Memorias del 5to. Foro Interinstitucional Avances de la Investigación en Homeopatía Humana, Veterinaria y Agrohomeopatía*. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo. México.
- Camacho-Escobar, M. A., Arroyo-Ledezma, J., Pérez-Lara, E., Sánchez-Bernal, E. I., & García-López, J. C. (2010). Enfermedades y parasitosis asociadas a una explotación intensiva de guajolotes nativos. *Ciencias Agrícolas Informa*, 19(1), 56-61.
- Camacho-Escobar, M. A., Arroyo-Ledezma, J., Ávila-Serrano, N. Y., Jerez-Salas, M. P., Sánchez-Bernal, E. I., & García-López, J. C. (2014). Ectoparasites and their damage in backyard turkeys in Oaxaca's coast, Mexico. *European Journal of Veterinary Medicine*, 2014, Article ID 7. Recuperado de <http://scik.org/index.php/ejvm/article/view/1512/764>
- Chagas, A. C. S. & Vieira, L. S. (2007). Ação de *Azadirachta indica* (Neem) em nematódeos gastrintestinais de caprinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 44(1), 49-55.
- Chandrawathani, P., Chang, K. W., Nurulaini, R., Waller, P. J., Adnan, M., Zaini, C. M., Jannah, O., Saad, K., & Vincent, N. (2006). Daily feeding of fresh Neem leaves (*Azadirachta indica*) for worm control in sheep. *Tropical Biomedicine*, 23(1), 23-30.

- Denardi, S. E., Bechara, G. H., Oliveira, P. R. de, & Camargo-Mathias, M. I. (2010). *Azadirachta indica* A. Juss (neem) induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. *Experimental Parasitology*, 126(4), 462-470.
- Dhongade, R. K., Kavade, S. G., & Damle, R. S. (2008). Neem oil poisoning. *Indian Pediatrics*, 45(1), 56-57.
- Esonu, B. O., Opara, M. N., Okpli, I. C., Obikaonu, H. O., Udedibie, C., & Iheshiolor, O. O. M. (2006). Physiological response of laying birds to neem (*Azadirachta indica*) leaf meal-based diets: body weight organ characteristics and haematology. *Online Journal of Health an Allied Sciences*, 5(2), 37-41.
- Feltrin, A. C., Boligon, A. A., Janovik, V., & Athayde, M. L. (2012). Antioxidant potential, total phenolic and flavonoid contents from the stem bark of *Guazuma ulmifolia* Lam. *Asian Journal of Biological Sciences*, 5(5), 268-272.
- Felipe, A. M. M., Rincão, V. P., Benati, F. J., Linhares, R. E. C., Galina, K. J., De Toledo, C. E. M., Lopes, G., Palazzo de Mello, J. C., & Nozawa, C. (2006). Antiviral effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on Poliovirus and Bovine Herpesvirus. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29(6), 1092-1095.
- Francis, J. K. (2000). *Guazuma ulmifolia* Lam. Guázuma. En J. K. Francis & C. A. Lowe (Eds.). *Bioecología de árboles nativos y exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales*. US Forest Service, Department of Agriculture, Río Piedras, Puerto Rico. Recuperado de [http://www.fs.fed.us/global/iitf/pubs/sm_iitf047%20%20\(5\).pdf](http://www.fs.fed.us/global/iitf/pubs/sm_iitf047%20%20(5).pdf)
- Garboui, S. S., Jaenson, T. G. T., & Pålsson, K. (2006). Repellency of MyggA® natural spray (para-menthene-3,8-diol) and RB86 (neem oil) against the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the field in east-central Sweden. *Experimental and Applied Acarology*, 40(3-4), 271-277.
- Govindachari, T. R. (1992). Chemical and biological investigations on *Azadirachta indica* (the neem tree). *Current Science*, 63(10), 117-122.
- Habluetzel, A., Carnevali, F., Lucantoni, L., Grana, L., Attili, A. R., Archilei, F., Antonini, M., Valbonesi, A., Abbadessa, V., Esposito, F., & Van der Esch, S. A. (2007). Impact of the botanical insecticide Neem Azal® on survival and reproduction of the biting louse *Damaliinia limbata* on angora goats. *Veterinary Parasitology*, 144(3-4), 328-337.
- Helmy, W. A., Amer, H., & EL-Shayeb, N. M. A. (2007). Biological and antimicrobial activities of aqueous extracts from neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae). *Journal of Applied Sciences Research*, 3(10), 1050-1055.
- Huang, Z., Shi, P., Dai, J., & Du, J. (2004). Protein metabolism in *Spodoptera litura* (F.) is influenced by the botanical insecticide azadirachtin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 80(2), 85-93.
- Isman, M. B. (1997). Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. *Phytoparasitica*, 25(4), 339-344.
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8-9), 603-608.
- Jansen, D. H. (1975). Intra- and Interhabitat variations in *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae) seed predation by *Amblycyser cistelinus* (Bruchidae) in Costa Rica. *Ecology*, 56(4), 1009-1013.
- Larramendy, R., Szcypel, B., Pérez, A., Gonzales, A., & Estrada, J. (2003). *Efectividad de distintos derivados del árbol del Nim (Azadirachta indica A. Juss) en gallinas naturalmente infectadas con ectoparásitos*. Cuba: Comunidad Virtual de Veterinaria.org. Centro de Documentación en Instituto de Investigaciones Avícolas de la Habana, Cuba. Recuperado de <http://comunidad.veterinaria.org/articulos/articulos.cfm?articulo=35008&pag=1>
- Locher, N., Al-Rasheid, K. A. S., Abdel-Ghaffar, F., & Mehlhorn, H. (2010). *In vitro* and field studies on the contact and fumigant toxicity of a neem-product (Mite-Stop®) against the developmental stages of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Parasitology Research*, 107(2), 417-423.
- Lopes, G. C., Rocha, J. C. B., Almeida, G. C., & Mello, J. C. P. (2009). Condensed tannins from the bark of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Sterculiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(6), 1103-1109.
- Mehlhorn, H., Abdel-Ghaffar, F., Al-Rasheid, K. A. S., Schmidt, J., & Semmier, M. (2011). Ovicidal effects of a neem seed extract preparation on eggs of body and head lice. *Parasitology Research*, 109(5), 1299-1302.
- Mordue, A. J., & Nisbet, A. J. (2000). Azadirachtin from the Neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29(4), 615-632.
- Naranjo-Luna, F. J., Chalé-Rivera, C. A., Camacho-Escobar, M. A. & Rodas-Junco, B. A. (Octubre, 2010). Evaluación in vitro del efecto insecticida de diferentes extractos de hojas de *Azadirachta indica* a. Juss y *Guazuma ulmifolia* Lam. *Memorias del V Congreso Regional de Biotecnología y Bioingeniería, del sureste*. Mérida, Yucatán, pp. 135.
- Navarro, M. C., Montilla, M. P., Cabo, M. M., Galisteo, M., Cáceres, A., Morales, C., & Berger, I. (2003). Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases. *Phytotherapy Research*, 17(4), 325-329.
- Ogbuewu, I. P., Odoemenam, V. U., Obikaonu, H. O., Opara, M. N., Emenalom, O. O., Uchehgbu, M. C., Okoli, I. C., Esonu, B. O., & Iloje, M. U. (2011). The growing importance of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in agricultura, industry, medicine and environment: A review. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(3), 230-245.
- Onyimonyi, A. E., Olebode, A., & Okeke, G. C. (2009). Performance and economic characteristics of broilers fed varying dietary levels of neem meal (*Azadirachta indica*). *International Journal of Poultry Science*, 8(3), 256-259.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Anthony, S. (2009). *Agroforestry Database: A tree reference and selection guide version 4.0*.
- Pablo, S. E., Sandoval, M. A. L., Morales, B. E., Fernández, R. M., Quintero, M. M. T., & Prado, R. O. F. (Agosto, 2009). Evaluación del efecto insecticida de *Metarhizium anisopliae* y extractos botánicos sobre el piojo de la gallina (*Menacanthus stramineus*). *Memorias de la XXXIV Convención Nacional de la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Agrícolas (ANECA)*, Acapulco, Guerrero, México.
- Pietrosemoli, S., Olavez, R., Montilla, T., & Campos, Z. (1999). Empleo de hojas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en control de nematodos gastrointestinales de bovinos a pastoreo. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 16(supl. 1), 220-225.

- Raizada, R. B., Srivastava, M. K., Kaushal, R. A., & Singh, R. P. (2001). Azadirachtin, a neem biopesticide: subchronic toxicity assessment in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 39(5), 477-483.
- Ramírez-Moreno, L. A., García-Barrios, L. E., Rodríguez-Hernández, C., Morales, H. E., & Castro-Ramírez, A. E. (2001). Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa elidia*. *Manejo Integrado de Plagas*, 60(1), 50-56.
- Rendón-Huerta, J. A., Juárez-Flores, B. I., Aguirre-Rivera, J. R., & Álvarez, F. G. (2013). Insecticide effect of wild plant powders on bean weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman; Coleoptera: Bruchidae) in vitro. *African Journal of Agricultural Research*, 8(11), 971-977.
- SAS Institute (1997). *SAS user guide*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Schmahl, G., Al-Rasheid, A. S., Abdel-Ghaffar, F., Klimpel, S., & Mehlom, H. (2010). The efficacy of neem seed extracts (Tre-san®, MiteStop®) on a broad spectrum of pests and parasites. *Parasitology Research*, 107(2), 261-269.
- Schwabach, L. M. J., Greyling, J. P. C., & David, M. (2003). The efficacy of a 10% aqueous neem (*Azadirachta indica*) seed extract for tick control in small East African and Toggenburg female goat kids in Tanzania. *South African Journal of Animal Science*, 33(2), 83-88.
- Shekhawat, N., & Vijayvergia, R. (2011). Anthelmintic activity of extracts of some medicinal plants. *International Journal of Computational Science and Mathematics*, 3(2), 183-187.
- Siriwattananurongsee, S., Sulontason, K. L., Olson, J. K., Chailapakui, O., & Sukontason, K. (2008). Efficacy of neem extract against the blowfly and housefly. *Parasitology Research*, 103(3), 535-544.
- Sychra, O., Harmat, P., & Literák, I. (2008). Chewing lice (Phthiraptera) on chickens (*Gallus gallus*) from small backyard flocks in the eastern part of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 152(3-4), 344-348.
- Tabassam, S. M., Iqbal, Z., Jabbar, A., Sindhu, Z. D., & Chattha, A. I. (2007). Efficacy of crude neem seed kernel extracts against natural infestation of *Sarcoptes scabiei* var. *ovis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(2), 284-287.
- Tamez Guerra, P., Galán Wong, L. J., Medrano Roldán, H., García Gutiérrez, C., Rodríguez Padilla, C., Gómez Flores, R. A., & Tamez Guerra, R. S. (2001). Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México. *Ciencia UANL*, 4(2), 143-152.
- Tipu, M. A., Pasha, T. N., & Ali, Z. (2002). Comparative efficacy of salinomycin sodium and neem fruit (*Azadirachta indica*) as feed additive anticoccidials in broilers. *International Journal of Poultry Sciences*, 1(4), 91-93.
- Torres, A. de F., Lasmar, O., Carvalho, G. A., Santa-Cecilia, L. V. C., Zanetti, R., & De Oliveira, D. (2013). Actividade inseticida de extratos de plantas no controle de formiga cortadeira, em cafeeiro. *Coffee Science Lavras*, 8(3), 371-378.
- Villa-Herrera, A., Nava-Tablada, M. E., López-Ortiz, S., Vargas-López, S., Ortega-Jiménez, E., & Gallardo-López, F. (2009). Use of guacimo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) as a forage, source for extensive livestock production in a tropical area of Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(2), 253-261.
- Villatoro, V. R. A., Luna, C. S., & González, E. A. R. (2006). El cuaulote. *Ciencias*, 83(3), 18-26.
- Vinculando.org (2008). El Neem en la salud animal y en el control de plagas. *Revista electrónica Vinculando*. Recuperado de http://vinculando.org/articulos/el_neem_en_la_salud_animal_y_en_el_control_de_plagas.html.
- Webb, E. C., & David, M. (2002). The efficacy of neem seed extract (*Azadirachta indica*) to control tick infestation in Tswana, Simmentaler and Brahman cattle. *South African Journal of Animal Science*, 32(1), 1-6.
- Yazwinski, T. A., Tucker, C. A., Robins, J., Powell, J., Phillips, M., Johnson, Z., Clark, D., & Wolfenden, R. (2005). Effectiveness of various acaricides in the treatment of naturally occurring *Ornithonyssus sylviarum* (Northern fowl mite) infestations of chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 14(2), 265-268.
- Zarins, I., Daugavietis, M., & Halimona, J. (2009). Biological activity of plants extracts and their application as ecologically harmless biopesticide. Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. *Sodininkystė ir Daržininkystė*, 28(3), 269-280.