

53 2 ejempl.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



POLIMORFISMO GENETICO DE HEMOGLOBINA,
TRANSFERRINA Y ALBUMINA EN GANADO RESIS-
TENTE Y SUSCEPTIBLE A LAS INFESTACIONES
POR GARRAPATAS BOOPHILUS MICROPLUS.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

JOSE OSCAR DURAN CASILLAS

ASRSORES: MVZ FRANCISCO BERRUECOS V.
MVZ JUAN GARZA RAMOS
MVZ J. MANUEL BERRUECOS V.

D. C. D. - UNAM
TITULO CONCEDIDA POR

MEXICO, D. F.

ENERO 1981



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS Y DISCUSION	15
CONCLUSIONES	39
APENDICE	40
BIBLIOGRAFIA	42

POLIMORFISMO GENETICO DE HEMOGLOBINA,
TRANSFERRINA Y ALBUMINA EN GANADO RE-
SISTENTE Y SUSCEPTIBLE A LAS INFESTA-
CIONES POR GARRAPATAS Boophilus mi-
croplus.

RESUMEN

El estudio se realizó con 99 animales procedentes del estado de Morelos, México, 56 de los cuales fueron criollos, 16 cruzados de criollo con razas europeas y 27 criollos cruzados con razas cebuinas, se contó el número de garrapatas - según el método de Wilkinson, se tomaron muestras de sangre y los datos correspondientes a raza, sexo, edad y color de cada animal. El polimorfismo bioquímico de hemoglobina, transferrina y albúmina fué determinado por electroforesis de zona en gel de almidón, y estos datos fueron correlacionados con los datos de cada animal utilizando el sistema de análisis estadísticos (SAS 72) empleando promedios, correlaciones y regresiones; la significancia de las variables se obtuvo por medio del análisis de varianza.

El efecto de la raza sobre el número de garrapatas fué significativo, encontrándose que los animales criollos fueron los más severamente infestados y la cruce de ganado criollo con cebú, mostró en promedio el menor número de garrapatas. También se estableció una correlación significativa entre el fenotipo AB de hemoglobina y las bajas cargas parasitarias, al analizar el grado de infestación por edades, se notó que los animales más jóvenes muestran un parasitismo más marcado el cual disminuye paulatinamente hasta llegar a los bovinos de 3 a 4 años de edad los cuales mostraron ser los menos afectados, los animales de más edad vuelven a mostrar un incremento en el grado de infestación aunque no tan

alto como en los más jóvenes. Se discute la significancia biológica de los resultados obtenidos y se establece la posibilidad de realizar estudios posteriores.

INTRODUCCION

Las pérdidas que la garrapata ocasiona a la ganadería se calculan en más de 4,000 millones de pesos y la principal forma de combatir esta plaga, ha sido mediante el uso de ixodícidas (18). El uso de estos productos ha venido a solucionar parcialmente este problema, pero tiene desventajas - como son el costo, toxicidad y el desarrollo de resistencia a ellos (5). Como han aumentado las presiones para reducir la aplicación de pesticidas, el control mediante variedades o razas de ganado resistentes a las infestaciones por garrapatas, adquiere una mayor importancia, junto con otras investigaciones tendientes a controlar o erradicar a las garrapatas Boophilus sin el uso exclusivo de pesticidas.

Se ha observado, que tanto las poblaciones de Bos taurus como las de Bos indicus, poseen individuos excepcionalmente resistentes a las infestaciones por garrapatas (4). Las desventajas de la susceptibilidad a la infestación parasitaria y las ventajas de la resistencia bajo condiciones de exposición, son tan obvias que no puede haber duda acerca de lo deseable de la resistencia, de modo que sería conveniente que esos individuos sean seleccionados para usarse en posteriores cruzamientos (4).

No se ha tomado en cuenta la resistencia a los ectoparásitos al seleccionar animales por varios motivos, entre los cuales están:

1) La disponibilidad de productos químicos como la solución al problema de los ectoparásitos. 2) El daño causado por los parásitos, no siempre es reconocible y las cargas parasitarias en escala moderada, no se detectan fácilmente. 3) Los ganaderos consideran a los ectoparásitos como una seria amenaza para la producción. 4) Los problemas parasitarios, a menudo son tan diversificados (ejemplo : *Ostertagia*, *Melophagus*, *Haemonchus*, etc.), que la solución de uno de ellos, no puede ser fructífera, excepto cuando representa el factor limitante para la producción. 5) Los mecanismos de resistencia innata como los de resistencia adquirida a los ectoparásitos están tan pobremente definidos que los beneficios vislumbrados, originados de la manipulación genética de la inmunidad, todavía no son apreciables, excepto en ciertas circunstancias y en forma burda. 6) La selección empírica se aplica en forma pragmática, tratando y vendiendo a los animales inconstables por estar muy parasitados o por la muerte de esos animales. 7) El mejoramiento por selección es un proceso lento; una introducción de animales en forma indiscriminada o descuidada a una zona con garrapatas sin considerar la resistencia a estas, podría ser nocivo (14).

Los factores responsables tanto de la resistencia innata como de la adquirida de los animales a los ectoparásitos no son aún bien conocidos (4). Por lo tanto, de existir diversos mecanismos de resistencia innata, es absolutamente esencial que se haga una clara distinción entre ellos, para

su uso en futuros programas de cría y selección (17).

El ganado Bos indicus muestra un patrón de resistencia que no tienen las razas europeas, quizá porque las razas cebuinas y las garrapatas se desarrollaron juntas en el mismo lugar geográfico. Esto implica, que por lo menos un mecanismo de resistencia se ha mantenido y perpetuado. Ha sido demostrado que algunos mecanismo inmunes son heredables (14) y que la resistencia a los ectoparásitos en -- ciertas especies ha sido reforzada por medio de cría selectiva (16); por lo tanto, es deseable investigar más en el área de la selección genética dirigida, para el control de los ectoparásitos en animales domésticos (9).

La reacción inmunológica a un ectoparásito puede o no asociarse a otro; incluso puede ser diferente entre mudas distintas de la misma garrapata (14). La resistencia de Bos indicus a las garrapatas es paralela a la resistencia a los mosquitos, lo que sugiere un mecanismo común. Por -- otra parte, la resistencia que actúa contra la sobrevivencia del parásito durante o después de alimentarse, probablemente es más benéfica para el hato que para el individuo (11).

Las ventajas que representa la resistencia del ganado a los ectoparásitos, justificarían la investigación con el objeto de perpetuar y hasta reforzar esta característica con el fin de desarrollar razas de ganado con una resistencia incrementada a los parásitos autóctonos (19).

Por los motivos antes mencionados, se deduce la necesidad de buscar nuevos métodos de control, ya sea probando -

nuevos productos químicos, empleando métodos ecológicos y aprovechando todos los factores de presión que se puedan aplicar para reducir las poblaciones de garrapatas (5).

Particularmente durante las últimas 2 décadas se han descubierto un gran número de antígenos de la sangre determinados genéticamente en distintas especies de animales domésticos. La determinación del parentesco, con ayuda de las investigaciones de los grupos sanguíneos, ha sido usada ampliamente en el ganado vacuno. Se ha demostrado que los grupos sanguíneos sirven para estudiar también las semejanzas y las diferencias entre poblaciones independientes (líneas y razas). Algunas proteínas de la sangre, para las que se han establecido diferencias genéticas ejercen funciones fisiológicas fundamentales en los animales. Los estudios continuados de los efectos de estas diferencias, pueden contribuir a explicar las fuentes de variación de muchas características (13).

Hasta el momento se desconocen las causas del polimorfismo genético que presentan diversos caracteres de la sangre. Sin embargo, el hecho de que existan, presupone que los antígenos de la sangre y las variaciones electroforéticas están o han estado asociados con la adaptación. En consecuencia, resulta natural que se haya intentado relacionar estas características sanguíneas polimórficas con aspectos cuantitativos, tales como producción de leche, - tasa de crecimiento, fertilidad, etc.

Es interesante considerar la posibilidad de que una o más de las características sanguíneas genéticamente controladas en el ganado, puedan estar asociadas con resistencia diferencial a las infestaciones. De una forma similar a la asociación hemoglobina - resistencia a hemoparásitos que propone Chew Barranco (7) quien analizó en México las frecuencias de hemoglobina en ganado cobú de diferentes razas. En dicho trabajo por haberse encontrado un elevado número de animales heterocigóticos, es decir con hemoglobina AB, se discuten las posibles relaciones de protección que pudieran ocurrir entre los hemoprotozoarios de los bovinos y su tipo de hemoglobina, de manera semejante a la resistencia encontrada en humanos a la malaria en individuos heterocigóticos con uno de sus alelos de hemoglobinas.

Boophilus durante su proceso de alimentación ingiere diferentes proteínas, de las cuales la hemoglobina es uno de los constituyentes esenciales. Las variaciones electroforéticas de la hemoglobina, la transferrina y la albúmina entre otras proteínas sanguíneas podrían tener un efecto directo sobre el desarrollo y reproducción de este parásito.

La hemoglobina es una proteína formada por una globina y un grupo prostético denominado hemo. Es un pigmento rojo que contiene hierro en estado ferroso y al que corresponde la función fisiológica del transporte de Oxígeno y de anhídrido carbónico. Alrededor del 55% del eritrocito está constituido por hemoglobina la cual tiene un peso molecular de 64,458 (12).

En el bovino se han encontrado los siguientes fenotipos de hemoglobina por el uso de electroforesis de zona: A, B, C, D y F siendo de estos, el tipo A el más frecuente en ganado europeo y el F el tipo fetal, el cual con la edad -- cambia a cualquiera de los otros fenotipos de hemoglobina - (15).

Las transferrinas son proteínas que transportan el - hierro; su peso molecular es de 90,000 y parecen estar compuestas de una sola cadena polipeptídica; existen variaciones heredables en cuanto se refiere a su movilidad en un campo electroforético. Se han demostrado 8 tipos de transferrina en el bovino; cada tipo parece estar controlado por un gen codominante, localizado en un solo locus autosomal. Los diferentes alelos son : A1, A2, B, D1, D2, F, E y G. Los alelos A1, B, F y G han sido hallados especialmente en ganado - Bos indicus y no se han reportado en Bos taurus. El alelo E, tiene una frecuencia muy baja en el ganado europeo y elevada en el asiático y los alelos A2, D1, y D2, son los que se encuentran con mayor frecuencia en el ganado europeo (15).

Si bien las transferrinas parecen tener una relación directa con la filogenia de las razas, su relación con la función zootecnista es discutida en extensos estudios hechos en Australia, Estados Unidos y Cuba (13).

La albúmina es una proteína que se encuentra normalmente en concentraciones elevadas en el plasma; tiene un peso molecular de 60,000. Por medio de electroforesis zonal, se ha encontrado polimorfismo bioquímico en la albúmina de ganado -

bovino, en el cual se encuentran alelos codominantes de 3 tipos: albúmina de tipo rápido (albúmina F), albúmina de tipo lento (albúmina s) y algunos investigadores, han mencionado un tercer tipo más lento (albúmina c), encontrando en el ganado del este de Africa (15).

El tipo de albúmina F se encuentra sobre todo en razas europeas y en algunas de ellas, como el Holstein, en forma exclusiva.

El tipo de albúmina s, se encuentra predominantemente en ganado, descendiente del Bos indicus (15).

Los objetivos del presente trabajo son: estudiar la correlación existente entre una o más de las características sanguíneas del ganado y sus diferentes combinaciones, con el grado de infestación por garrapatas y contribuir en la búsqueda de nuevos elementos de presión que se puedan aplicar en un control integrado para combatir a la garrapata Boophilus microplus.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó sangre proveniente de 99 bovinos del estado de Morelos del Municipio de Yecapixtla y de 2 ranchos vecinos con condiciones climáticas similares. Se escogió esta región por existir en ella Boophilus microplus en forma enzootica, - las cuales predominan sobre otros géneros de garrapatas (1) y por ser este género el de mayor importancia veterinaria.

Se contó el número de garrapatas de cada animal tomando en cuenta solamente aquellas que midieron de 4 mm en adelante, según el método de Wilkinson (20).

Se muestrearon hatos que no eran bañados con productos-garrapaticidas para evitar variaciones en el grado de infestación debidas a otras causas que no sean la resistencia o susceptibilidad del animal.

Se tomaron los siguientes datos de cada predio: el nombre del ganadero y del ejido o predio; si estaba o no dividido en potreros, la forma de tenencia de la tierra y el número de animales del hato, su sexo y la fecha.

Se extrajeron de cada animal 10 ml. de sangre por punción yugular, usándose como anticoagulante etilendinitrilotetracetato disódico (EDTA) y se registraron los datos referentes a raza, sexo, edad, color y número de garrapatas en cada animal sangrado.

La sangre obtenida se procesó a la mayor brevedad posible, obteniéndose el paquete celular y el plasma por centrifugación a 1500 RPM, durante 10 minutos y almacenándolo en -

congelación a -20°C hasta su utilización. La hemoglobina se analizó en las primeras 24 horas para evitar variaciones debidas a su rápida descomposición. La determinación del polimorfismo de las distintas características sanguíneas, se hizo por medio de electroforesis de zona en gel de almidón. El gel se prepara mezclando una cantidad de almidón hidrolizado de papa, primero una parte de almidón con solución amortiguadora fría agitando hasta lograr la suspensión y luego se añade la solución amortiguadora en ebullición para lograr la gelificación del medio. Se procede inmediatamente a retirar el aire que se encuentra en el medio, con una bomba de vacío (2).

Se utilizaron 250 ml. de esta suspensión para cada gel, vertiendo la mezcla en un molde 14×21 cm. con 6 mm. de espesor.

Se cubre con un vidrio al que previamente se le ha puesto una delgada capa de glicerina. Se deja reposar durante 24 horas después de las cuales se retira el vidrio, reemplazándose este por papel celofán. Se procede a cortar a 4 cm. de un extremo, denominándose esta incisión " origen ", considerándose como extremo catódico.

Sobre el origen se insertan pequeño cuadro de papel filtro para electroforesis 3 MM, de 6×6 mm. Cada papel se impregna en una muestra y representa un individuo; cada gel puede albergar hasta 20 muestras. Después de esto, se levanta el papel celofán a 2 cm. de cada extremo (2).

El gel ya listo se coloca sobre pequeños soportes de plástico y se depositan sobre la superficie 2 puentes de papel filtro que llegan a pequeños recipientes llenos de solución amortiguadora. A estos recipientes se conectan las terminales un transformador de alto voltaje regulado. Después de aplicar la corriente eléctrica durante un tiempo determinado, se corta longitudinalmente en dos partes de tres milímetros. La cantidad de almidón el pH de las soluciones amortiguadoras, la cantidad y duración de la corriente eléctrica y la tinción varían con la técnica que se emplea y depende de la substancia que se vaya a estudiar (2).

Para el análisis de la hemoglobina el gel se hace con 32.5 g de almidón y una solución amortiguadora con 0.6 M Tris hidroximetilaminometano,, 0.3 M EDTA Y 0.01 M ácido bórico, - que tiene un pH de 8.7 diluído 1:33. La solución amortiguadora de los electrodos es igual pero se usa concentrada. Se aplican 30 ma. por 2 horas; se corta el gel y ambas mitades se tiñen con negro amido al 0.5% por 30 segundos. Se colocan en solución lavadora durante 24 horas y se interpreta.

El análisis de las transferrinas se lleva a cabo en un gel de 29 g. de almidón, diluyéndolos en una solución amortiguadora preparada con 20 ml. de solución de 0.05 M de ácido cítrico y 20 ml. de solución de 0.19 M Tris hidroximetilaminometano, diluidos en 210 ml. de agua destilada, para obtener un pH de 7.6. La solución amortiguadora de los electrodos es de 0.3 M de ácido bórico y 0.1 M de hidróxido de sodio, dando un pH de 8.6. Se aplica una corriente inicial de 300 volts 45-50 ma durante 15 minutos y se retiran las muestras. Después -

se aumenta la corriente hasta 400 volts, y se conserva esa corriente hasta que la línea de boratos migra 14 cm. del origen, se retira el gel y se corta longitudinalmente en dos partes. Ambas se tiñen con negro amido al 0.5%. Se lava el gel, se coloca en solución lavadora durante 24 horas antes de hacer la lectura (2).

Para la determinación del tipo de albúmina se requiere que los sueros se diluyan 1:8 con agua destilada. El gel se prepara con 35 g. de almidón, 14 ml. de solución de 0.05 M de ácido cítrico y 9 ml. de solución de 0.19 M Tris hidroximetilaminometano. Se completan 250 ml. con agua destilada, obteniéndose un pH de 6.3. La solución amortiguadora del electrodo es de 0.3 M. ácido bórico y 0.1 M. de hidróxido de Sodio con pH de 8.6.

Se trabaja en frío poniendo un recipiente con refrigerante sobre el gel. Se aplican 30 ma. durante 5 minutos y se retiran las muestras. Se conserva esa corriente hasta que la línea de boratos migra 10 cm. del origen. Se retira el gel y se corta longitudinalmente en dos partes; la porción superior se tiñe con nigrosina al 0.5% en solución lavadora durante 1-2 minutos. La porción inferior se tiñe con negro amido al 0.5% en solución lavadora, durante 30 segundos. Ambas tinciones son específicas para proteínas. Al terminar la tinción, se lava el gel con agua y se pone en un recipiente con solución lavadora, cuando menos durante 24 horas, antes de hacer la interpretación (15). Se tiñe y después se decolora y fija en solución lavadora (agua 5 partes, metanol 5 partes, ácido acético 1 parte), hasta ser fotografiado e interpretado.

La información referente a los fenotipos de hemoglobina, transferrina y albúmina así como la raza, sexo, edad, color y número de garrapatas fueron perforados en tarjetas I B M y procesada, utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (Statistical Analysis System SAS-72) de acuerdo a Barr, y Goodnight (3). Los procedimientos usados fueron Means, Corr y Regr que permitieron un análisis de los datos en forma general de acuerdo a diferentes criterios de clasificación, utilizando promedios y correlaciones. La significancia de las variables se obtuvo por medio de la técnica de Análisis de Varianza.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se realizaron electroforesis de zona en gel de almidón para la determinación del polimorfismo genético de hemoglobina, transferrina y albúmina. Los datos obtenidos fueron analizados buscando la existencia de correlación entre alguna de estas características y sus combinaciones con la carga parasitaria.

La distribución de frecuencias obtenida para cada uno de los fenotipos de los grupos sanguíneos se pueden ver en el Cuadro No. 1. Para detectar si existía alguna correlación significativa entre las distintas variables estudiadas de cada animal y la cantidad de garrapatas se usó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + C_j + (R \times C)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

en donde:

Y_{ijk} = número de garrapatas en cada individuo K

μ = media general.

R_i = raza i del individuo k (i = 1, 6)

C_j = color j del individuo k (j = 1, 9)

ϵ_{ijk} = error aleatorio.

Las 6 razas encontradas fueron criolla, cebú y las cruas de criolla con cebú, criolla con Sulza, criolla con Holsteín y Suiza con cebú. Se encontraron 9 colores que para fines del análisis estadístico se clasificaron como; negro, café, amarillo, gris, blanco y las combinaciones del último -

CUADRO # 1

" Distribución de frecuencias para los fenotipos de Hemoglobina (Hem), Transferrina (Tf) y Albúmina (Alb). Promedios y desviación estándar de edad y número de garrapatas para -- cada grupo de animales con igual fenotipo ".

	Hem. 1 (BB)	Hem. 2 (AA)	Hem. 3 (AB)	Alb. 1 (FF)	Alb. 2 (SS)	Alb. 3 (FS)	Tf 1 (AA)	Tf 2 (AD ₁)	Tf 3 (AD ₂)	Tf 4 (AE)	Tf 6 (D ₁ D ₂)	Tf 7 (D ₁ E)	Tf 8 (D ₂ D ₂)	Tf 9 (D ₂ E)	Tf 10 (EE)
EDAD	3.67 [±] 5.51	4.35 [±] 3.41	4.75 [±] 4.16	5.15 [±] 4.41	3.57 [±] 3.10	4.02 [±] 2.1	4.75 [±] 3.6	3.57 [±] 3.41	5.93 [±] 4.16	4.33 [±] 3.6	4.33 [±] 3.78	2 [±] 1.58	7.28 [±] 3.97	3.1 [±] 3.19	2.6 [±] 1.35
NO. DE GARRAP.	11.67 [±] 6	4.5 [±] 5.17	2.93 [±] 4.28	4.62 [±] 4.84	5.28 [±] 6.85	3.86 [±] 5.94	2.75 [±] 4.31	5 [±] 6	5.21 [±] 7.51	2.8 [±] 2.88	6.33 [±] 4.51	3.8 [±] 5.54	5.7 [±] 6.69	3.31 [±] 4.69	5.9 [±] 6.1
NO. DE ANIMALES	3	68	28	40	7	52	12	7	14	15	3	5	14	19	10

con los 4 primeros.

En este modelo, ninguno de los efectos ni la interacción fueron significativos y el coeficiente de correlación múltiple (R^2) fué de 0.14. Por este resultado se decidió clasificar la raza y el color en tres grupos cada uno de la siguiente forma :

Color :

Grupo 1 = Oscuros =	Negro Café
Grupo 2 = Claros =	Amarillo Gris Blanco
Grupo 3 = Mixtos =	Blanco con Negro Blanco con Café Blanco con Amarillo Blanco con Gris

Raza :

Grupo 1 = Criollos
Grupo 2 = Criollo x <u>Bos taurus</u> (Holstein y Suizo)
Grupo 3 = Criollo x <u>Bos indicus</u>

con estos nuevos criterios de clasificación, se usó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i^* + C_j^* + (R^* * C^*)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$
 el cual incluye los efectos de raza agrupada y color agrupado. En él Y_{ijk} , μ y ϵ_{ijk} se describen como en el modelo anterior y :

R_i^* es la raza agrupada ($i = 1, 3$)

C_j^* es el color agrupado ($j = 1, 3$)

El efecto de raza agrupada mostró significancia ($P < 0.05$) y el R^2 fué de 0.11, ni el efecto de color agrupado ni la interacción fueron significativos.

En el Cuadro No. 2, se muestran los promedios y desviaciones estándar de los 3 tipos de razas que fueron significativas en el análisis de varianza.

En el Cuadro No. 2 se puede ver también que el ganado criollo fué el más severamente infestado pero hay que considerar, - que estos animales fueron generalmente los que se encontraban en mal estado nutricional, lo cual es un factor determinante de las altas cargas parasitarias según O'Kelly y Seifert (citados por Nelson y colaboradores, 14).

También se observó que los animales cruzados con cebú o suizo generalmente estaban en mucho mejor estado nutricional, - lo cual como ya se dijo anteriormente determina en parte la magnitud de la infestación.

El ganado cruzado de criollo con alguna raza europea, - muestra un promedio levemente menor en el número de garrapatas que el ganado cruzado con cebú, pero esto seguramente es debido en este caso a que los animales cruzados con Holstein, habían permanecido estabulados hasta antes del muestreo lo cual creemos que es la causa de que no tuvieran ninguna garrapata, esto, indudablemente afecta el promedio y la desviación estándar haciendo ver ese aparentemente "menor" número de garrapatas. Para comprobar esto, se excluyeron los 2 animales cruzados de Holstein y se realizó el análisis con el resto de los animales. - Esto, permitió observar que el ganado criollo sigue siendo el

CUADRO No. 2

" Promedio y desviación estándar del número de garrapatas de acuerdo al tipo de raza. "

TIPO DE RAZA	NUMERO DE ANIMALES	\bar{x}	s
CRIOLLA	56	5.73	8.63
CRIOLLA x <u>Bos taurus</u>	16	2.19	3.54
CRIOLLA x <u>Bos indicus</u>	27	2.48	3.38

más infestado pero ahora la cruce de criollo con cebú, es la que muestra el menor promedio en número de garrapatas (ver - Cuadro No. 3). Lo anterior podría deberse a que en éste grupo de animales, se conjuntan por un lado la resistencia que pudiera haber desarrollado el ganado criollo y por el mejor estado de carnes y mayor desarrollo que confiere el cruzamiento con alguna raza especializada como el cebú. Mitchell, citado por Riek (16) considera que la resistencia del ganado cebú contra las infestaciones por garrapatas, es una característica transmitida hasta por una sexagésima cuarta parte del 64 desangre cebú y Hewetson (11) menciona que la heredabilidad de la resistencia es más alta en ganado cebú y sus cruces que en ganado europeo.

Los resultados hasta ahora obtenidos concuerdan con los reportados por algunos investigadores en otros países, tal es el caso de Riek (16) quien indica una baja en el índice reproductivo de garrapatas alimentadas sobre Bos indicus y por lo tanto en el número de garrapatas en la siguiente generación. Hewetson (11) concluye que la resistencia y la heredabilidad de la resistencia a las garrapatas es mayor en animales de pura raza Bos indicus que en Bos taurus o sus cruces.

Para estudiar el efecto de la hemoglobina, transferrina y albúmina se realizaron una serie de análisis de varianza - tratando de determinar la significancia del efecto simple o de la interacción con relación al número de garrapatas.

CUADRO No. 3

"Promedios y desviación estándar del número de garrapatas de acuerdo al tipo de raza excluyendo los 2 animales Holstein que no presentaron garrapatas por haber permanecido estabulados hasta antes del muestreo."

TIPO DE RAZA	NUMERO DE ANIMALES	\bar{X}	σ
CRIOLLA	56	5.73	8.63
CRIOLLA x <u>Bos taurus</u>	14	2.5	3.695
CRIOLLA x <u>Bos indicus</u>	27	2.48	3.38

El modelo general fué el siguiente :

$$Y_{ijkl} = \mu + H_i + A_j + T_k + \epsilon_{ijkl}$$

en donde :

Y_{ijkl} = número de garrapatas en el individuo l

μ = media general

H_i = hemoglobina i del individuo l (i = 1, 3)

A_j = albúmina j del individuo l (j = 1, 3)

T_k = transferrina k del individuo l (k = 1, 9)

ϵ_{ijkl} = error aleatorio

al principio no se incluyeron las interacciones puesto que se tendrían problemas con los grados de libertad. Posteriormente se analizaron por parejas de efectos y sus interacciones. En estos modelos hubo significancia para hemoglobina - ($P < 0.05$) pero no para la transferrina ni la albúmina.

En el Cuadro No. 1 podemos observar que los animales - que tuvieron el fenotipo AB de hemoglobina fueron los que tu vieron un menor número de garrapatas, ($\bar{X} = 2.93$) observándose también que la desviación estándar fué menor ($s = 4.28$) en los animales con este fenotipo que en los otros dos, siendo los animales con el fenotipo AA los que ocuparon el segundo lugar en cuanto a su carga de garrapatas, notándose que es un poco mayor ($\bar{X} = 4.50$) y su rango de variación del menos al más infestado, es un poco más amplio ($s = 5.17$). A su vez los animales con el fenotipo BB fueron los que mostraron un considerable aumento en su carga parasitaria ($\bar{X} = 11.67$) y también los que mostraron mayor variabilidad en su número

de garrapatas por animal (\bar{x} = 16.07).

De los alelos de hemoglobina citados por Carr (6) en este trabajo solo se detectaron los fenotipos AA, BB y AB. Como ya vimos anteriormente, los animales con el fenotipo AB fueron los que tuvieron el menor número de garrapatas siendo los del fenotipo AA los que les siguieron, - pero, debe hacerse notar que el grupo de animales con fenotipo AA fué muchos más del doble de los que formaron el - grupo AB lo cual definitivamente puede haber influido en - el resultado (ver Cuadro No. 1). Los resultados obtenidos no discrepan en mucho con lo observado por Carr y colaboradores (6) el cual en un trabajo realizado con 1,033 animales de la raza Angoni (Bos indicus) en Zambia, encontró resultados similares a los nuestros, reportando también un menor grado de infestación de los animales que llevaban el alelo B de hemoglobina . De los 99 animales estudiados - sólo 3 tuvieron el fenotipo BB de hemoglobina lo que nos - hace dudar acerca de la confiabilidad de éste dato; sin embargo, éstos 3 animales fueron los que tuvieron en promedio el mayor número de garrapatas. Francis y Ashton, (8) en un trabajo realizado en Australia, no obtuvieron correlación significativa entre el grado de infestación por garrapata y el fenotipo de hemoglobina. Por tal motivo se considera de gran importancia la realización de un estudio similar bajo condiciones de experimentación más adecuadas con objeto de no tener las variables que se tuvieron en el presente trabajo.

En el Cuadro No. 1 también se puede observar que los tres fenotipos de albúmina tuvieron un número similar de garrapatas y además que la variación en el grado de infestación, no es tan marcada como en el caso de la hemoglobina tipo BB. Los animales con los distintos fenotipos de albúmina, solo tuvieron una variación en promedio de 2.67 garrapatas entre los animales de menor infestación y los más parasitados lo que indica que en este trabajo no existió ningún efecto entre el polimorfismo bioquímico de la albúmina y la resistencia del ganado contra las infestaciones por garrapatas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Carr y colaboradores (6) y por Francis y Ashton (8). Por otra parte, en el Cuadro No. 1 también podemos ver el efecto del fenotipo de transferrina el cual no afecta significativamente el número de garrapatas por animal, aunque se nota una leve variación entre el fenotipo menos infestado (AE) y el más parasitado (AD).

Es interesante hacer notar que no hubo ningún animal con el alelo D_1 de transferrina en forma homocigótica y solamente 15 de ellos lo presentaron en forma heterocigótica.

Al estudiar la interacción entre hemoglobina y transferrina, se encontró alta significancia. Sin embargo, dado el bajo número de observaciones en cada clase de la interacción, estos resultados deben tomarse con gran reserva.

El promedio y la desviación estándar del número de garrapatas en los animales con cada una de estas combinaciones, se puede ver en el cuadro No. 4.

CUADRO # 4

" Grado de infestación en la Interacción Hemoglobina - Transferrina "

	Hem 1 (BB)			Hem 2 (AA)						
	Tf 1(AA)	Tf 3(AD ₂)	Tf 4(AE)	Tf 1(AA)	Tf 2(AD)	Tf 3(AD ₂)	Tf 4(AE)	Tf 5(D ₁ D ₂)	Tf 7(D ₁ E)	Tf 9(D ₂ D ₂)
Edad	10.0	0.0	1.0	5.14 [±] 3.34	3.0 [±] 3.74	7.0 [±] 3.50	3.44 [±] 1.94	3.0 [±] 4.24	2.25 [±] 1.71	7.22 [±] 3.70
Número de garrapatas	5.0	3.0	0.0	3.0 [±] 5.48	7.0 [±] 6.08	3.44 [±] 2.79	2.67 [±] 3.0	8.5 [±] 3.53	4.75 [±] 5.91	7.67 [±] 7.53
Número de Animales	1	1	1	7	5	9	9	2	4	9

		Hem 3 (AB)									
Tf 9D ₂ E	Tf 10(E _E)	Tf 1(AA)	Tf 2(AD)	Tf 3(AD ₂)	Tf 4 AE	Tf 6(D ₁ D ₂)	Tf 7(D ₁ E)	Tf 8(D ₂ D ₂)	Tf 9(D ₂ E)	Tf 10(E _F)	
3.13 [±] 3.44	3.0 [±] 1.07	2.75 [±] 3.20	5.0 [±] 2.83	5.0 [±] 5.10	6.60 [±] 5.18	7.0	1.0	7.40 [±] 4.88	3.0 [±] 2.45	1.0 [±] 1.41	
4.07 5.03	3.62 5.12	1.75 2.22	0.0 0.0	3.0 1.82	3.60 2.88	2.0	0.0	2.20 2.86	.50 .58	15.0 7.07	
15	8	4	2	4	5	1	1	5	4	2	

En la combinación con el fenotipo de hemoglobina BB no se puede apreciar ningún efecto porque sólo se encontró un animal en cada tipo lo cual no permite realizar ninguna observación confiable. La asociación de hemoglobina AB con todos los tipos de transferrina cuenta con menos animales, pero, estos tienen un número significativamente menor de garrapatas con excepción del fenotipo EE de transferrina que es el que más garrapatas tuvo. A pesar de ser pocos animales en cada una de las combinaciones, la diferencia en número de garrapatas y la variabilidad en el rango de infestación de los animales con las combinaciones de transferrinas con el fenotipo de hemoglobina AB, es menor que los que la tuvieron con el AA, los cuales como se puede observar tienen más garrapatas y el rango de la desviación estándar es mucho más amplio.

La asociación de las transferrinas con el fenotipo AB de hemoglobina correspondió con los animales que tuvieron la menor carga parasitaria, esto se puede observar en el Cuadro No. 5 de promedios ponderados.

Al estudiar la interacción de los tres fenotipos de hemoglobina con cada uno de los fenotipos de albúmina y su efecto en el grado de infestación aunque se muestran diferencias en el número de garrapatas en los animales con

Promedios ponderados del número de garrapatas en la interacción de Hemoglobina y transferrina - (Hb * Tf).

	Hemoglobina			Promedio ponderado
	1 BB	2 AA	3 AB	
1 AA	5	3	1.75	2.75
2 AD ₁	-	7	0	5.0
3 AD ₂	30	3.44	3	5.21
4 AE	0	2.67	3.60	2.80
5 D ₁ D ₁	-	-	-	-
6 D ₁ D ₂	-	8.5	2.0	6.33
7 D ₁ E	-	4.75	0	3.8
8 D ₂ D ₂	-	7.67	2.20	5.7
9 D ₂ E	-	4.07	.50	3.31
10 EE	-	3.62	15	5.9
Promedio ponderado	11.67	4.50	2.93	

Transferrina

algunas de estas combinaciones, éstas no fueron significativas (ver apéndice Cuadro A). También podría ser que el menor o mayor número de garrapatas en los animales con las combinaciones anteriores, sea debido solamente, al efecto directo que pueda tener la hemoglobina en cada combinación.

Para estudiar el efecto de raza agrupada de acuerdo a la hemoglobina y transferrina se usó el siguiente modelo.

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i^* + H_j + T_k + \epsilon_{ijkl}$$

en donde

Y_{ijkl} , μ y ϵ_{ijkl} quedan igual que en los modelos anteriores

R_i^* = raza agrupada ($i = 1, 3$)

H_j = hemoglobina j del individuo l ($j = 1, 3$)

T_k = transferrina k del individuo l ($k = 1, 9$)

En este modelo el efecto tanto de raza agrupada como de hemoglobina fueron altamente significativos. Para transferrina no hubo significancia, por esta razón se eliminó transferrina y se evaluó la interacción raza - hemoglobina de acuerdo al siguiente modelo.

$$Y_{ijk} = \mu + R_i^* + H_j + (R^* * H)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

en donde

R_i^* = raza agrupada ($i = 1, 3$)

H_j = hemoglobina j del individuo k ($j = 1, 3$)

en este modelo fueron altamente significativos los efectos de raza agrupada (R_i *) hemoglobina (H_j) y la interacción entre ambos ($R * H$). El valor de R^2 fué de 0.31, al analizar el efecto de la interacción obtuvimos los resultados que se muestran en el Cuadro No. 6. Analizando este Cuadro, se puede confirmar nuevamente que los animales de las 3 razas con el fenotipo AB de hemoglobina, son los menos parasitados. En el caso de los animales cruzados con razas europeas, no se ve esto, seguramente porque los dos animales cruzados con Holstein que habían permanecido estabulados y por lo tanto no presentaron ninguna garrapata tuvieron el fenotipo AA de hemoglobina lo cual afecta el promedio, si se excluyen estos animales el promedio queda como se ve en el Cuadro No. 7 y concordando con lo que ya habíamos mencionado. Los promedios ponderados del número de garrapatas presentes en los animales con la interacción del fenotipo de hemoglobina y de la raza, los podemos ver en el Cuadro No. 8 en él también se puede apreciar que la interacción de las 3 razas con el fenotipo de hemoglobina AB fueron las que presentaron los animales menos infestados. El dato más importante que dan los Cuadros 7 y 8, es la muy notoria diferencia en el grado de infestación de los animales con la interacción del fenotipo AB de hemoglobina y la raza cruzada de criollo con cebú, la cual es mucho menor que en las demás combinaciones.

CUADRO # 6

" Efecto de la Interacción raza y hemoglobina -
sobre el grado de infestación por Boophilus -
microplus. "

Tipo de Raza	Fenotipo de Hemoglobina	Número de Animales	\bar{X}	Δ
Criolla	BB	1	30	-
	AA	38	6.08	5.73
	AB	17	3.53	4.78
Criolla x Europea	BB	0	-	-
	AA	13	2.15	3.60
	AB	3	2.33	4.04
Criolla x Cebú	BB	2	2.5	3.53
	AA	17	2.76	3.54
	AB	8	1.07	.273

"Promedios y desviación estándar del número de garrapatas en animales de raza criolla, criolla x cebú y criolla x europea según su fenotipo de hemoglobina y excluyendo los 2 animales cruzados con Holstein que habían permanecido estabulados."

Tipo de Raza	Fenotipo de Hemoglobina	Número de Animales	\bar{X}	Δ
Criolla	BB	1	30	1
	AA	38	6.08	5.73
	AB	17	3.53	4.78
Criolla x Europea	BB	0	0	0
	AA	11	2.54	3.80
	AB	3	2.33	3.60
Criolla x Cebú	BB	2	2.5	3.53
	AA	17	2.76	3.54
	AB	8	1.87	.273

"Promedios ponderados del número de garrapatas
en la interacción Raza - Hemoglobina".

Tipo de Raza	Hemoglobina			Promedios Ponderados
	1 BB	2 AA	3 AB	
1. Criolla	30	6.08	3.53	5.73
2. Criolla x Europea	0	2.54	2.33	2.50
3. Criolla x Cebú	2.5	2.76	1.87	2.48
Promedios Ponderados	11.67	4.5	2.93	

Al estudiar el grado de infestación por edades en nuestro trabajo, notamos que los animales más severamente infestados fueron los becerros de 0 a 11 meses, disminuyendo un poco la carga parasitaria en los de 1 a 2 años de edad hasta llegar a los animales de 3 y 4 años que fueron los que mostraron un promedio relativamente menor de garrapatas (\bar{X} 1.92) se encontró también que siendo de mayor edad, vuelve a incrementarse notoriamente el número de garrapatas. Esto puede deberse a la susceptibilidad que en un principio muestra el ganado de poca edad, al no haber estado en contacto con garrapatas y el posterior desarrollo de resistencia a través de repetidas exposiciones a las infestaciones la cual llega a un punto en el cual el animal manifiesta el grado máximo de repelencia -- que es capaz de expresar (ver Cuadro No. 9). Los diferentes grados de infestación por grupos de edades, podrían corresponder a las distintas infestaciones experimentales realizadas por Hewetson (10); él reporta que los animales son más susceptibles en la primera infestación, disminuyendo su rendimiento en número de garrapatas en la segunda y siendo la tercera la infestación en la cual los animales mostraron ser -- más repelentes al ataque de las garrapatas, para posteriormente en la cuarta y quinta infestaciones aumentar de nueva cuenta su carga parasitaria.

Por tal motivo, podemos sospechar que los animales en nuestro trabajo, en los 11 primeros meses de vida reciben el número de garrapatas que en el trabajo de Hewetson (10) correspondería a la primera infestación y así los de 1 a 2 años

" Grado de Infestación por edades. "

Edad	Número de Animales	\bar{x}	s^2
0 - 1 meses	15	6.6	8.18
1 - 2 años	19	5.21	6.79
3 - 4 años	26	1.92	2.35
5 - 7 años	21	5.19	5.53
8 - 15 años	18	3.67	3.72

sería la segunda, los de 3 a 4 años sería la tercera y de 5 años en adelante la cuarta y quinta infestaciones.

El hecho de que el ganado muestre esa variación en su capacidad para rechazar a las garrapatas, se explica al considerar que en un principio el animal no ha tenido previo contacto con los antígenos de la garrapata, pero una vez que el animal es infestado, su aparato inmunocompetente comienza a activar las diferentes respuestas que toman parte en la resistencia a las infestaciones (16) y que por lo reportado por Hewetson (10) y lo encontrado en el presente trabajo posiblemente llegan a su máxima expresión en la tercera infestación (animales de 3 a 4 años). El aumento del número de garrapatas en animales mayores de 5 años (cuarta y quinta infestaciones), podría explicarse por la presencia de una desensibilización como resultado de la continua exposición al parásito (14). Sprent y Hudson citados por Nelson (14) concuerdan en que parece haber una tendencia evolucionaria hacia una respuesta disminuida y que ésto puede conferir una ventaja selectiva tanto para el hosppedero como para el parásito, aunque sería obvio suponer que en un caso extremo (tolerancia completa) sería adverso a la sobrevivencia del hospedero. Pero también se debe hacer notar, que los hospederos altamente reactivos, ejercen una gran presión selectiva sobre los parásitos que favorece que sobrevivan: aquellas características antigénicas semejantes con el fin de disminuir la diversidad antigénica entre el hospedero y el parásito para lograr un equilibrio que favorece la supervivencia de ambos (15).

Al revisar la distribución de los fenotipos de hemoglobina en los distintos grupos de edades (Cuadro No. 10) se encontró nuevamente que los animales con el fenotipo AB fueron los que llevaron el menor promedio en número de garrapatas con excepción de los integrantes del grupo de 1 a 2 años de edad. Es interesante hacer notar que no obstante el menor número de animales con ese fenotipo en cada grupo vuelve a ser el fenotipo AB el que poseen los animales menos infestados lo cual viene a confirmar la sospecha acerca del papel de éste fenotipo en algún tipo de resistencia del ganado hacia las infestaciones por la garrapata Boophilus microplus. El Cuadro No. 11 confirma lo anterior .

Como se expresó antes Chew Barranco (7) expuso la posible relación entre tipo de hemoglobina y la resistencia a hemoprotozoos, situación que se sugiere estudiar en futuros trabajos, conjuntamente con la ventaja que se encontró en este trabajo en los animales heterocigóticos - (Hb AB) los cuales tuvieron un menor número de garrapatas.

CUADRO # 10

" Distribución de fenotipos de hemoglobina por grupos de edades. "

Edad	Fenotipo	Número de Animales	\bar{x}	Δ
0 - 11 meses	BB	1	30	-
	AA	8	6.75	5.60
	AB	6	2.5	3.73
1 - 2 años	BB	1	0	-
	AA	15	4.73	6.25
	AB	3	9.33	0.06
3 - 4 años	BB	-	-	-
	AA	20	2.2	2.55
	AB	6	1	1.26
5 - 7 años	BB	-	-	-
	AA	14	6.78	6.09
	AB	7	2	1.91
8 - 15 años	BB	1	5	-
	AA	11	3.82	4.40
	AB	6	3.17	2.79

" Promedios ponderados del número de garrapatas con el número de animales agrupados por edad en los 3 fenotipos de hemoglobina ".

Edad

	Hemoglobina			Promedio ponderado
	BB	AA	AB	
0 - 11 meses	30	6.75	2.5	6.6
1 - 2 años	0	4.73	9.33	5.21
3 - 4 años	0	2.2	1	1.92
5 - 7 años	0	6.78	2	5.19
8 -15 años	5	3.82	3.17	3.67
Promedio ponderado	11.67	4.5	2.93	

CONCLUSIONES

Se estudiaron los tipos de raza criolla, criolla x cebú, criolla por Holstein, su edad y sus fenotipos de hemoglobina, albúmina y transferrina en relación al grado de infestación - por Boophilus microplus. Detectándose una correlación estadísticamente significativa entre el fenotipo AB de hemoglobina y las bajas cargas parasitarias, así como en el efecto del tipo de raza, siendo los animales cruzados de criollo con cebú los que mostraron el menor número de garrapatas. Por otra parte, la interacción entre el tipo de raza y el fenotipo de hemoglobina AB, también mostró significancia en relación con la carga parasitaria.

El estudio del grado de infestación por edades mostró que los becerros de 0 a 11 meses tuvieron el mayor promedio de garrapatas; esta susceptibilidad de los animales decrece paulatinamente hasta llegar a los animales de 3 y 4 años los cuales mostraron ser los más resistentes y pasando de ésta edad el ganado vuelve a mostrar cierta susceptibilidad hacia las infestaciones.

A P E N D I C E .

CUADRO A

" Efecto de la asociación de los fenotipos de hemoglobina con los de albúmina sobre el grado de infestación. "

	Hem 1 (BB)			Hem 2 (AA)			Hem 3 (AB)		
	Alb 1 (FF)	Alb 2 (SS)	Alb 3 (FS)	Alb 1 (FF)	Alb 2 (SS)	Alb 3 (FS)	Alb 1 (FF)	Alb 2 (SS)	Alb 3 (FS)
Edad	10.D.	-	.50 ± .71	5.09 ± 4.03	3.33 ± .58	3.69 ± 2.67	4.67 ± 6.53	3.75 ± 4.35	5 ± 3.36
Número de Garrapatas	5	-	15 ± 21.2	4.61 ± 5.12	4.33 ± 2.31	4.41 ± 5.5	4.67 ± 3.88	6 ± 9.42	1.67 ± 2
Número de Animales	1	-	2	33	3	32	6	4	18

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Archivo . Departamento de Taxonomía del Centro Nacional de Parasitología Animal. F.C.N.C.G., SARH.
- 2.- Ayala, F., J. Garza. "Determinación de grupos sanguíneos solubles en animales domésticos ". Manual del Curso Teórico Práctico de Actualización en Inmunología Veterinaria INIP (1977).
- 3.- Barr, J. and Goodnight "Auser's guide to the Statistical Analysis System ". Institute of - Statistics, N.C.S.H., N.C. U.S.A. - (1972).
- 4.- Bennett, G. L., and R. H. Wharton. "Variability of - host resistance to cattle tick ". Proc. Ecol. Soc. Austral, 3:150-54 (1968).
- 5.- Camino L. M. Centro Nacional de Parasitología Animal. Boletín # 2, Enero de 1978. F.C.N.C.G.
- 6.- Carr, W.R., J. Macleod B. Woolf and R. L. Spooner " A survey of the relationship of genetic - markers, tick - Infestation level and - parasitic diseases in zebu cattle in Zambia". Trop. Hlth-Prod.,6:205-214 (1974).

- 7.- Chew Barranco, Carlos . Polimorfismo Genético de Hemoglobina en bovinos de las razas Gyr, Indobrasil y Brahman en México. Tesis Profesional FMVZ.,UNAM México (1976).
- 8.- Francis J., and G.C. Ashton. "Tick resistance in cattle Its Stability and correlation with various genetic characteristics", Aust J. Exp. Biol. Med. Sci.,45:131-140 (1967).
- 9.- Giese, R.L., R. M. Peart and R. T. Huber. "Pest. management" Science,185: 1045 - 52 (1975).
- 10.- Hewetson, R. W. II "The inheritance of resistance to experimental infestations ". Aust. J. Agric. Res.,19, 497 - 505. (1968).
- 11.- Hewetson, R. W., " The inheritance of resistance by cattle to cattle tick ". Austral. Vet. J., 48: 299 - 303. (1972).
- 12.- Ióvine E., A. Selva " El laboratorio en la clínica ", Editorial Médica Panamericana, Argentina,(1975).
- 13.- Johansson, I. J. Rendel "Genética y Mejora Animal ". Editorial Acribia,España,(1972).

- 14.- Nelson W. A., J. F. Bell, C. M. Clifford and J. E. Keirans. " Interaction of ectoparasites and their hosts ". J. Med. Ent., 13 : 389 - 428 (1977).
- 15.- Pijoan, A. C. "Polimorfismo genético de albúminas, Transferrinas Fosfatasa Alcalina y Hemoglobinas del ganado de lidia mexicana ". Tesis profesional FMVZ. UNAM., México, D.F. (1969).
- 16.- Riek, R. F. "Studies on the reactions of animals to infestations with ticks " VI. "Resistance of cattle to infestation with the tick Boophilus microplus (Canestrini). ". Austral. J. Agr. Res., - 13: 532 - 50 (1962).
- 17.- Tatchell, R. J., and G. F. Benett. " Boophilus microplus antihistaminic and tranquilizing drugs and cattle resistance ". Exp. Parasitol., 26: 369 - 77 (1969).
- 18.- Treviño, R. J. "Evaluación in vitro de siete ixodidas organofosforados comerciales contra Boophilus microplus ". Tesis profesional FMVZ. UNAM., México, D.F. - (1976).

- 19.- Wharton, R. H., K. B. W. Utech and H. G. Turner. "REsistance to the cattle tick, Boophilus microplus in a herd of Illawara - Shorthorn cattle its assessment and Heritability Austral. J. Agr. Res., - 21 : 163 - 81 (1970).
- 20.- Wilkinson, P. R. "Selection of cattle for tick resistance and the efect of herds of different susceptibility on Boophilus populations ". Austral. J. Agr. Res., - 13: 974 - 83 (1962).

