



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD
ANIMAL**

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO DE NUEVOS
CARBAMATOS SOBRE CEPAS DE GARRAPATAS DEL
GÉNERO *Boophilus sp.*, RESISTENTES A IXODICIDAS.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

ILIANA ELIZABETH PÉREZ GONZÁLEZ

TUTOR: DR. FERNANDO ALBA HURTADO

**COMITÉ TUTORAL: DR. FROYLÁN IBARRA VELARDE
DR. GERARDO GARCÍA TOVAR**



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Alba Hurtado, por brindarme su confianza y permitirme ser parte de éste proyecto, por sus grandes consejos y asesoría.

Al Dr. Enrique Ángeles Anguiano, del Laboratorio de Química Medicinal de la FES Cuautitlán, quien diseñó y sintetizó los carbamatos utilizados en este proyecto.

Al Dr. Gerardo García Tovar y al Dr. Froylán Ibarra Velarde, quienes formaron mi comité tutorial, y a quienes agradezco sus consejos y observaciones.

A los miembros del jurado. Dr. Héctor Quiroz, Dra. Yazmín Alcalá, Dr. Guillermo Penieres y al M. en C. Pablo Martínez, por sus acertados comentarios para mejorar este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México. Por la oportunidad de pertenecer a esta gran Institución, y brindarme su enseñanza académica para alcanzar mis metas.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por permitirme usar sus instalaciones para desempeñarme como estudiante y darme una formación académica.

Al Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENASA), quien donó las cepas utilizadas en éste proyecto, y por todo el apoyo para la realización de éste trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de Maestría.

A mis profesores, quienes son parte fundamental en mi formación académica.

Al Dr. Marco Muñoz Guzmán, por sus aportaciones, apoyo y amistad.

Al M. en C. César Cuenca Verde, quien me brindó su ayuda incondicional, apoyo técnico, consejos y su amistad.

A la M. en C. Guadalupe Prado Ochoa, por su asesoría, y colaboración en éste proyecto, y en quien además encontré una amiga.

*Al MVZ Melitón Lara Rocha y Raúl Reynoso, por el apoyo y colaboración en el proyecto.
A mis amigas y compañeras de la UIMSA-1, Jessica , Tabata con quienes compartí gratos momentos.*

A mis amigos Joseph, Jehiel, Yuli y Perla, quienes siempre han estado conmigo y son parte esencial en mi vida.

A todos muchas gracias.

DEDICATORIAS

A mi mamá, a quien quiero con todo mi corazón y que me ha apoyado en todo mi camino.

A mi hermano, te quiero mucho.

A toda mi familia, papá, Tía Cristi, Carmelita, Martha, Tío Sergio y a mis primos, quienes siempre han sido un gran apoyo en mi vida y me han impulsado a ser mejor. Gracias por su cariño.

A mi gran amiga Itzel, con quien he compartido grandes momentos en mi vida y me ha brindado su amistad incondicional. Gracias.

Con todo mi cariño para ustedes

“Aprendí que no se puede dar marcha atrás, que la esencia de la vida es ir hacia adelante. La vida en realidad es una calle de sentido único.”

Agatha Christie

ÍNDICE

Índice.....	I
Índice de tablas.....	III
Índice de figuras.....	VII
Abreviaturas.....	X
Resumen.....	1
Introducción.....	3
Morfología de <i>Boophilus microplus</i>	3
Taxonomía <i>Boophilus</i>	6
Distribución.....	7
Ciclo biológico.....	7
Patogenia.....	10
Métodos de control.....	12
Control químico.....	12
Productos autorizados para el control de garrapatas en México.....	12
Métodos de aplicación de los garrapaticidas.....	14
Control no químico.....	16
Resistencia de las garrapatas a los garrapaticidas.....	19
Estrategias para el desarrollo de resistencia de las garrapatas hacia los acaricidas.....	19
Factores causales de la resistencia.....	20
Pruebas para el diagnóstico de resistencia.....	21
Distribución mundial de la resistencia a ixodicidas.....	22
Situación de la resistencia de <i>B. microplus</i> en México.....	23
Estrategias de uso de los compuestos químicos para reducir el riesgo de aparición de resistencia.....	26

Carbamatos.....	27
Mecanismo de acción de los carbamatos.....	28
Justificación.....	31
Hipótesis.....	32
Objetivos.....	33
Material y métodos.....	35
Ubicación.....	35
Material biológico.....	35
Cepas de garrapatas <i>Boophilus microplus</i>	35
Obtención de garrapatas de campo.....	35
Animales.....	36
Infestación de bovinos.....	36
Carbamatos evaluados.....	38
Técnica de Paquete de Larvas.....	40
Técnica de Inmersión de Adultas.....	43
Análisis estadístico.....	46
Resultados.....	47
Mantenimiento de cepas de garrapatas.....	47
Resultados de la Técnica de Paquete de larvas.....	47
Resultado de la Técnica de Inmersión de Adultas.....	48
Discusión.....	87
Conclusiones.....	94
Anexo.....	95
Referencias.....	96

Índice de tablas

Tabla 1.	Estructura química de los carbamatos evaluados por medio de la técnica de Paquete de Larvas.....	39
Tabla 2.	Estructura química de los carbamatos evaluados por medio de la técnica de Inmersión de Adultas.....	39
Tabla 3.	Mortalidad de larvas de la cepa “San Alfonso” producida por el carbamato LQM938.....	53
Tabla 4.	Mortalidad de larvas de la cepa “La Mora” producida por el carbamato LQM938.....	54
Tabla 5.	Mortalidad de larvas de garrapatas obtenidas de campo, producida por el carbamato LQM938.....	55
Tabla 6.	Mortalidad de larvas de la cepa “San Alfonso” producida por el carbamato LQM938.....	56
Tabla 7.	Mortalidad de larvas de la cepa “La Mora” producida por el carbamato LQM938.....	57
Tabla 8.	Mortalidad de larvas de garrapatas obtenidas de campo, producida por el carbamato LQM938.....	58
Tabla 9.	Mortalidad de larvas de la cepa “San Alfonso” producida por el carbamato LQM934.....	59
Tabla 10.	Mortalidad de larvas de la cepa “La Mora” producida por el carbamato LQM934.....	60
Tabla 11.	Mortalidad de larvas de garrapatas obtenidas de campo, producida por el carbamato LQM934.....	61
Tabla 12.	Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la mortalidad de larvas sometidas a la TPL con el carbamato LQM938 a diferentes concentraciones en las cepas “San Alfonso”, “La Mora” y en garrapatas obtenidas de campo.....	62

Tabla 13.	Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la mortalidad de larvas sometidas a la TPL con el carbamato LQM934 a diferentes concentraciones en las cepas “San Alfonso”, “La Mora” y en garrapatas obtenidas de campo.....	63
Tabla 14.	Índice de resistencia a los carbamatos LQM934 y LQM938 de la cepa “San Alfonso”, “La Mora” y las garrapatas obtenidas de campo.....	64
Tabla 15.	Efectividad del carbamato LQM904 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “San Alfonso”.....	65
Tabla 16.	Efectividad del carbamato LQM906 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “San Alfonso”.....	65
Tabla 17.	Efectividad del carbamato LQM914 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “San Alfonso”.....	67
Tabla 18.	Efectividad del carbamato LQM917 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “San Alfonso”.....	67
Tabla 19.	Efectividad del carbamato LQM919 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “San Alfonso”.....	69
Tabla 20.	Efectividad del carbamato LQM996 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “San Alfonso”.....	69
Tabla 21.	Efectividad del carbamato LQM904 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “La Mora”.....	71

Tabla 22.	Efectividad del carbamato LQM906 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “La Mora”.....	71
Tabla 23.	Efectividad del carbamato LQM914 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “La Mora”.....	73
Tabla 24.	Efectividad del carbamato LQM917 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “La Mora”.....	73
Tabla 25.	Efectividad del carbamato LQM919 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “La Mora”.....	75
Tabla 26.	Efectividad del carbamato LQM996 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en la cepa “La Mora”.....	75
Tabla 27.	Efectividad del carbamato LQM904 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en garrapatas obtenidas de campo.....	77
Tabla 28.	Efectividad del carbamato LQM906 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en garrapatas obtenidas de campo.....	77
Tabla 29.	Efectividad del carbamato LQM914 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en garrapatas obtenidas de campo.....	79
Tabla 30.	Efectividad del carbamato LQM917 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en garrapatas obtenidas de campo.....	79

Tabla 31.	Efectividad del carbamato LQM919 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en garrapatas obtenidas de campo.....	81
Tabla 32.	Efectividad del carbamato LQM996 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones, en garrapatas obtenidas de campo.....	81
Tabla 33.	Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la eclosión de larvas obtenidas de la oviposición de las garrapatas sometidas a la TIA de la cepa “San Alfonso” con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 a diferentes concentraciones.....	83
Tabla 34.	Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la eclosión de larvas, obtenidas de la oviposición de las garrapatas sometidas a la TIA de la cepa “La Mora” con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 a diferentes concentraciones.....	84
Tabla 35.	Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la eclosión de larvas, obtenidas de la oviposición de las garrapatas sometidas a la TIA de las garrapatas obtenidas de campo, con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 a diferentes concentraciones.....	85
Tabla 36.	Índice de resistencia a los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 de la cepa “San Alfonso”, “La Mora” y las garrapatas obtenidas de campo.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Características morfológicas del gnatosoma de <i>Boophilus microplus</i> , (CENAPA).....	4
Figura 2.	<i>Boophilus microplus</i> , macho (Sagarpa, 2009).....	5
Figura 3.	Segmentos en los que se divide el miembro locomotor de la garrapata (Sagarpa, 2009).....	5
Figura 4.	Ciclo biológico de <i>Boophilus microplus</i> (original).....	9
Figura 5.	Estructura química de los carbamatos.....	28
Figura 6.	Fórmula para calcular los gramos de producto o de principio necesarios para preparar la solución madre.....	40
Figura 7.	Fórmula para calcular el índice de resistencia por medio de TPL.....	42
Figura 8.	Fórmula para calcular el porcentaje de hembras que ovipositaron.....	44
Figura 9	Fórmula para calcular el índice de oviposición.....	45
Figura 10.	Fórmula para calcular el porcentaje de inhibición de oviposición.....	45
Figura 11	Fórmula para calcular el índice de resistencia por medio de TIA.....	45
Figura 12.	a) Oviposición de garrapatas <i>B. microplus</i> . de un grupo testigo de la cepa “San Alfonso”. b) Oviposición de garrapatas <i>B. microplus</i> , cepa “San Alfonso” sometidas la TIA con el carbamato LQM919 (a una concentración de 1mg/mL)	49
Figura 13.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM904 en la cepa “San Alfonso”	66

Figura 14.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM906 en la cepa “San Alfonso”	66
Figura 15.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM914 en la cepa “San Alfonso”	68
Figura 16.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM917 en la cepa “San Alfonso”	68
Figura 17.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM919 en la cepa “San Alfonso”	70
Figura 18.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM996 en la cepa “San Alfonso”	70
Figura 19.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM904 en la cepa “La Mora”	72
Figura 20.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM906 en la cepa “La Mora”	72
Figura 21.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM914 en la cepa “La Mora”	74
Figura 22.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM917 en la cepa “La Mora”	74

Figura 23.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM919 en la cepa “La Mora”.....	76
Figura 24.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM996 en la cepa “La Mora”.....	76
Figura 25.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM904 en las garrapatas obtenidas de “Campo”.....	78
Figura 26.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas producidos por el carbamato LQM906 en las garrapatas aisladas de “Campo”.....	78
Figura 27.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas producidos por el carbamato LQM914 en las garrapatas aisladas de “Campo”.....	80
Figura 28.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas producidos por el carbamato LQM917 en las garrapatas aisladas de “Campo”.....	80
Figura 29.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas producidos por el carbamato LQM919 en las garrapatas aisladas de “Campo”.....	82
Figura 30.	Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas producidos por el carbamato LQM996 en las garrapatas aisladas de “Campo”.....	82
Figura 31.	Infestaderos. Muestra el material de la jaula y el piso, así como la manga de sujeción para la cabeza y localización del comedero y bebedero.....	95

ABREVIATURAS

µl	Microlitros
<i>B. annulatus</i>	<i>Boophilus annulatus</i>
<i>B. decoloratus</i>	<i>Boophilus decoloratus</i>
<i>B. geigy</i>	<i>Boophilus geigy</i>
<i>B. microplus</i>	<i>Boophilus microplus</i>
°C	Grados centígrados
CE	Concentración efectiva
CENAPA	Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal
CIE	Concentración de inhibición de eclosión
CL	Concentración letal
cm	Centímetros
CMIs	Concentraciones mínimas inhibitorias
DDT	Tricloro difenil dicloro etano
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
EE	Error estándar
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
FESC	Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
g	Gramos
GABA	Acido gammaaminobutírico
IC	Intervalo de confianza
IO	Índice de oviposición
IR	Indice de resistencia
Kg	Kilogramos
LQM	Laboratorio de Química Medicinal
mL	Mililitros
mm	Milímetros
NOM	Norma Oficial Mexicana
PCR	Reacción en cadena de lapolimerasa (Polymerase Chain Reaction)
Probit	Bioensayo a concentraciones múltiples

ppm	Partes por millón
PVC	Cloruro de polivinilo
sp	Sin especie
<i>S. hamata</i>	<i>Stylosanthes hamata</i>
T	Temperatura
TIA	Técnica de Inmersión de Adultas
TPL	Técnica de Paquete de Larvas
UIMSA	Unidad de Investigación Multidisciplinaria en Salud Animal
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México

RESUMEN

Las garrapatas del género *Boophilus sp*, producen cuantiosas pérdidas económicas en México como para otros países. Estas pérdidas son debidas a la disminución en la producción de leche y carne, daño a las pieles, reducción de la fertilidad, restricción en la movilización, costo para desarrollar programas de control, además de que actúan como vectores de enfermedades como anaplasmosis y babesiosis (piroplasmosis). Actualmente la principal medida de control es la utilización de sustancias ixodicidas, sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos ha generado cepas de garrapatas resistentes a éstos. Por lo anterior, es necesario implementar nuevas estrategias para su control. Entre estas alternativas se encuentra el desarrollo de nuevas moléculas pertenecientes a familias de químicos para las cuales las garrapatas no han generado resistencia.

La estructura de éste trabajo se basa en los resultados obtenidos por Prado (2009), en el cual se evaluaron una serie de carbamatos, sobre una cepa de *Boophilus microplus* "Susceptible" a acaricidas diseñados y sintetizados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM, en el cuál se demostró que los carbamatos LQM934 y LQM938 tuvieron efecto en la mortalidad de larvas, mientras que los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996, tuvieron efecto en la eclosión de larvas. Por lo anterior el objetivo fue evaluar el efecto de estos ocho nuevos carbamatos sobre dos cepas de garrapatas *Boophilus microplus* resistentes a ixodicidas (cepa "San Alfonso" y "La Mora") , así como en garrapatas obtenidas en campo. Se determinó la tasa de mortalidad de larvas expuestas a los carbamatos LQM934 y LQM938, por medio de la Técnica de Paquete de Larvas (TPL) a ocho diferentes concentraciones. Éstos tuvieron efecto significativo ($P < 0.05$) en la mortalidad de las larvas, los datos analizados por medio de la metodología Probit (bioensayo a concentraciones múltiples) mostraron que las concentraciones letales para el producto y para cada cepa fueron: Cepa San Alfonso: LQM934=1.188%, LQM938=0.395%. Cepa La Mora:

LQM934=1.373%, LQM938=3.548%. Garrapatas de campo: LQM934=1.188%, LQM938=0.395%. Los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 se evaluaron por medio de la Técnica de Inmersión de Adultas., todas tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) en la oviposición y eclosión de larvas. Los porcentajes de eclosión de larvas se adecuaron al modelo Probit, mostrando que las concentraciones para inhibir el 99% de la eclosión de larvas fueron las siguientes para cada producto y cada cepa. Cepa San Alfonso: LQM904=0.904mg/mL, LQM914=0.427mg/mL, LQM906=1.156mg/mL, LQM917=0.938mg/mL, LQM919=0.668mg/mL, LQM996=0.589mg/mL. Cepa La Mora: LQM904=0.428mg/mL, LQM914=0.502mg/mL, LQM906=4.155mg/mL, LQM917=0.470mg/mL, LQM919=0.703mg/mL, LQM996=0.452mg/mL. Garrapatas de Campo: LQM904=1.939mg/mL, LQM914=0.498mg/mL, LQM906=4.155mg/mL, LQM917=0.696mg/mL, LQM919=0.687mg/mL, LQM996=0.477mg/mL.

En conclusión, la evaluación de los efectos *in vitro* de los nuevos carbamatos sobre larvas y fases adultas de *B. microplus* resistentes a ixodicidas convencionales, sugieren que son fármacos con un alto potencial para ser una buena opción farmacéutica para el control de las garrapatas.

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas y las enfermedades que transmiten, son una de las principales limitantes para la explotación de bovinos en muchas regiones del mundo. La gravedad del problema varía dependiendo de la región, especies de garrapatas presentes, agentes infecciosos transmitidos, así como de la situación socioeconómica y el avance tecnológico en la aplicación de las medidas de control (Jongejan, 2004).

En México se han identificado 77 especies de garrapatas que afectan al ganado bovino o al ser humano. De éstas, las especies de mayor importancia y distribución en el ganado bovino en México son: *Boophilus microplus* y *Amblyoma cajennense* (Jongejan, 2004).

Boophilus microplus (*B. microplus*), es una garrapata originaria del Sureste de Asia, se extendió a través de los trópicos de Australia, Este y Sureste de África, Centro y Sur de América, fue introducida a México junto con *Boophilus annulatus*, posterior a su propagación en el Sur de Estados Unidos, y antes de su erradicación en este país. (Jongejan, 2004).

Morfología de *Boophilus microplus*

El cuerpo de *B. microplus* es de forma oval, y está fusionado en su parte anterior a un gnatosoma (Soulsby, 1988).

El gnatosoma comprende las partes bucales (figura 1) de la garrapata, las cuales constan de:

- Palpos (un par), éstos a su vez constan de cuatro segmentos, el segmento distal tiene vellosidades sensitivas. Los palpos tienen la función de presionar la piel lateral y horizontalmente durante la alimentación.

- Quelíceros (un par), éstos son de forma tubular están esclerotizados y bisegmentados).
- Hipostoma, se encuentra en la parte media del gnatosoma y es igual o ligeramente más largo que los palpos, posee pequeños dientes dirigidos hacia atrás, con los cuales la garrapata es capaz de atravesar la piel de su hospedador y fijarse.
- Base del gnatosoma, es de forma hexagonal y se une al cuerpo a través de una membrana flexible (Anderson *et al*, 2008).

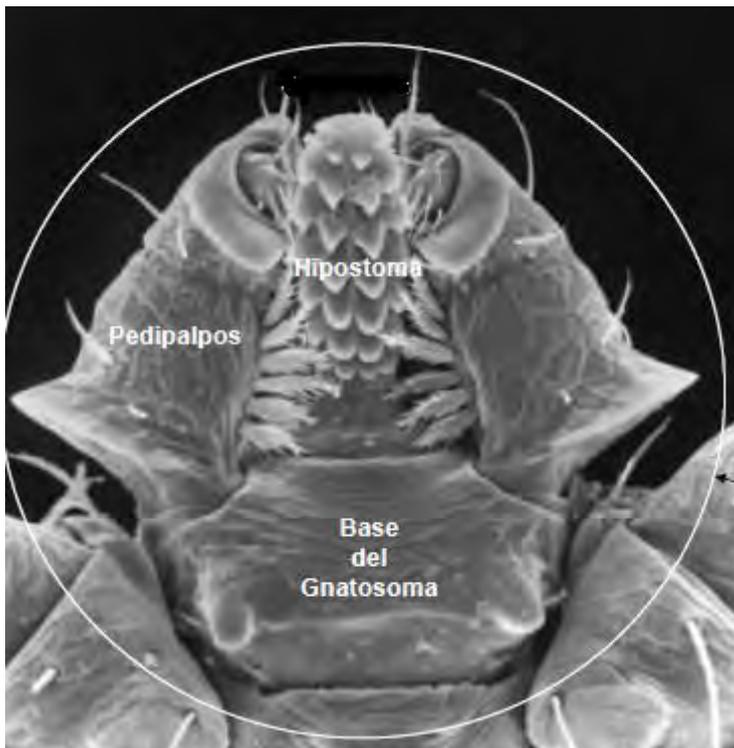


Figura 1. Características morfológicas del gnatosoma de *Boophilus microplus*, (CENAPA)

El cuerpo o idiosoma es posterior al gnatosoma, es de forma oval y presenta un escudo dorsal en forma de lengüeta de color café, el cual es corto en la hembras (holodorsal) y en los machos es largo, por lo que cubre casi todo el cuerpo (propodosomal).

El idiosoma está formado por una porción anterior o propodosma y una posterior o histerosoma. Los dos pares de patas anteriores están insertados en el propodosoma, donde también se encuentra el poro genital (el poro genital está cerrado y no es aparente en larvas y ninfas, mientras que en adultos está abierto y es aparente), mientras que el tercer y cuarto par de patas están insertados en el histerosoma, donde también se encuentran los espiráculos respiratorios y el ano (Quiroz, 1996).

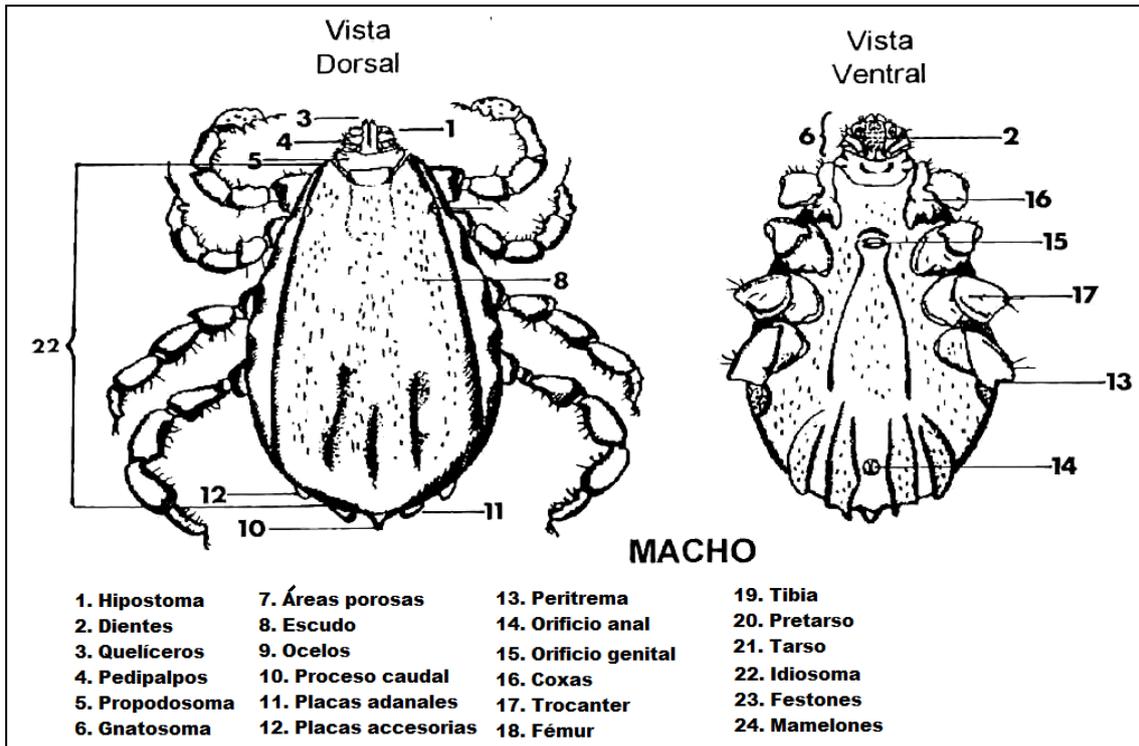


Figura 2. Representación esquemática de un macho de garrapata *Boophilus microplus* (Sagarpa, 2009)

Las patas son lo único que sobresale del cuerpo de la garrapata, y están divididas en seis artejos: coxa, trocánter, fémur, tibia, pretarso, tarso (figura 3). El tarso termina en una garra o gancho y una estructura semejante a una ventosa llamada ambulacro o apotela, que detecta la temperatura, corrientes de aire, olores y químicos (Anderson *et al*, 2008).



Figura 3. Segmentos en los que se divide el miembro locomotor de la garrapata (Sagarpa, 2009).

Los estados de desarrollo de esta garrapata, se caracterizan porque las larvas poseen tres pares de patas (hexápodas), carecen de placas estigmas y orificio genital. Las ninfas y adultos poseen cuatro pares de patas, sin embargo, las ninfas carecen de abertura (poro) genital y áreas porosas, a diferencia de los adultos (las hembras adultas) (Quiroz, 1996).

Taxonomía de *Boophilus* (Cannestrini 1887).

Reino	Animal
Phylum	Arthropoda
Clase	Arachnida
Orden	Acarina
Suborden	Metastigmata
Familia	Ixodidae
Género	<i>Boophilus</i>
Especie	<i>microplus</i>

Debido a la estrecha relación filogenética de *Boophilus* con las garrapatas del género *Rhipicephalus*, se ha propuesto cambiar la nomenclatura, dejando el nombre de *Boophilus* como un subgénero y como género el de *Rhipicephalus* (Horak *et al.*, 2002), sin embargo, en esta tesis se siguió usando la nomenclatura tradicional para referirnos al organismo.

Distribución de *Boophilus* en el mundo

El género *Boophilus* presenta cinco especies a nivel mundial, éstas son: *B. decoloratus*, que se encuentra distribuída en casi todo el continente africano, excepto en áreas secas y tropicales lluviosas; *B. kholisi*, localizada en los climas secos de Jordania; *B. geigy*, que se encuentra en el Oeste y Centro de África; *B. annulatus*, que actualmente se encuentra en México y África; y *B. microplus* la cual se encuentra distribuída en regiones tropicales de América, África, Australia y Asia. Esta última especie es la que mayor abundancia tiene en relación a otros ixodidos que también parasitan al ganado bovino.

En México, *B. microplus* ocupa una gran extensión territorial, se encuentra con mayor frecuencia y abundancia en las zonas tropicales bajas, y coexiste con *Amblyomma cajennense*, en donde la temperatura y humedad son altas (Solis, 1991).

Ciclo biológico

La garrapata *Boophilus sp.*, presenta un ciclo de vida monóxeno (Figura 4), que se caracteriza por la utilización de un sólo hospedero para completar su desarrollo y requiere de 4 a 10 meses, el hospedero es generalmente un bovino. El ciclo biológico de *Boophilus sp.*, se compone de tres fases: La fase no parásita o de vida libre, la fase de encuentro y la fase parásita.

Fase no parásita.

Es llamada de vida libre y comprende desde que la garrapata hembra se desprende de su hospedero, hasta la aparición de las larvas en la vegetación. Esta fase se divide en cinco periodos: a) preoviposición, b) oviposición, c) postoviposición, d) incubación y e) eclosión.

- a) **Preoviposición.** Comprende desde el desprendimiento de la garrapata repleta del hospedero hasta la postura del primer huevo. La garrapata *B. microplus* experimenta repleción final (un llenado de sangre), lo cual principalmente sucede durante la noche y se desprende al comienzo de

la mañana. Al caer la garrapata al suelo busca lugares sombreados y protegidos, para poder iniciar el proceso de oviposición.

- b) **Oviposición.** Es el tiempo considerado desde que se inicia la puesta de los primeros huevos hasta los últimos.
- c) **Postoviposición.** Es el periodo que comprende desde que la garrapata repleta pone el último huevo hasta su muerte.
- d) **Incubación.** Este periodo comprende desde que se inicia la oviposición hasta la emergencia de las larvas, pudiéndose ver afectado por factores ambientales como la humedad.
- e) **Eclosión.** Durante este periodo la larva emerge del huevo, los mejores porcentajes de eclosión ocurren en temporadas con una temperatura óptima de 25-35°C y una humedad relativa del 95%. (Rodríguez-Vivas., *et al.* 2006).

Fase de encuentro. Ésta se define como el proceso en el cual las larvas se van a trasladar de la vegetación a su hospedero. Está influenciada por variables como distribución, longevidad, ritmos de actividad de las larvas, la estructura y tipo de vegetación. El encuentro del hospedero comprende dos periodos: pasivo y búsqueda. **a) Periodo pasivo.** Este periodo corresponde al primer estímulo posterior a la eclosión de dichas larvas para que adquieran viabilidad necesaria para resistir los efectos del ambiente. **b) Periodo de búsqueda.** Es el tiempo que transcurre durante el periodo pasivo y el encuentro del hospedero, en este periodo las larvas utilizan su capacidad de sobrevivencia para resistir los efectos del medio ambiente, este evento está influenciado por diversos factores, considerándose de mayor importancia las condiciones ambientales y sus reservas nutritivas, las cuales afectan directamente a la longevidad de las larvas en los pastos. La duración de la fase de encuentro varía de acuerdo a las condiciones climáticas, influyendo principalmente la temperatura y la humedad ambiental. La temperatura tiene una relación inversa con la duración de la sobrevivencia larval, es decir, a medida que la temperatura aumenta, la duración de dicha fase disminuye (Estrela *et al.*, 2007, Rodríguez., *et al.* 2006).

Fase parásita. Esta fase da inicio cuando las larvas suben a su hospedero, tiene una duración de 21 días en promedio. Para que las larvas se puedan

implantar sobre el hospedero, requieren superar algunas barreras de éste, como el tipo de pelo, ya que la espesura, la capilarización, densidad de glándulas sudoríparas y sebáceas, le ofrecen resistencia; asimismo la posibilidad de ser alcanzadas durante los procesos de acicalamiento. Los aspectos climáticos afectan poco el desarrollo de la garrapata adulta, ya que el microclima donde se desarrolla está íntimamente relacionado a la fisiología del hospedero; factores como el calor irradiado del pelo, humedad y cobertura ofrecida por este, lo protegen de las condiciones medioambientales. Durante éste tiempo las garrapatas se alimentan de sangre del hospedero, realizándose también los procesos de muda o cambio de estadio. La aparición de ninfas y adultos se presenta del 5° al 14° día y del 14° al 25° día, respectivamente, a partir de la fijación de las larvas al hospedero (Rodríguez., *et al.* 2006). La fase parásita concluye con el desprendimiento de las garrapatas hembras ya alimentadas que caen al suelo para ovipositar (Soulsby , 1988).

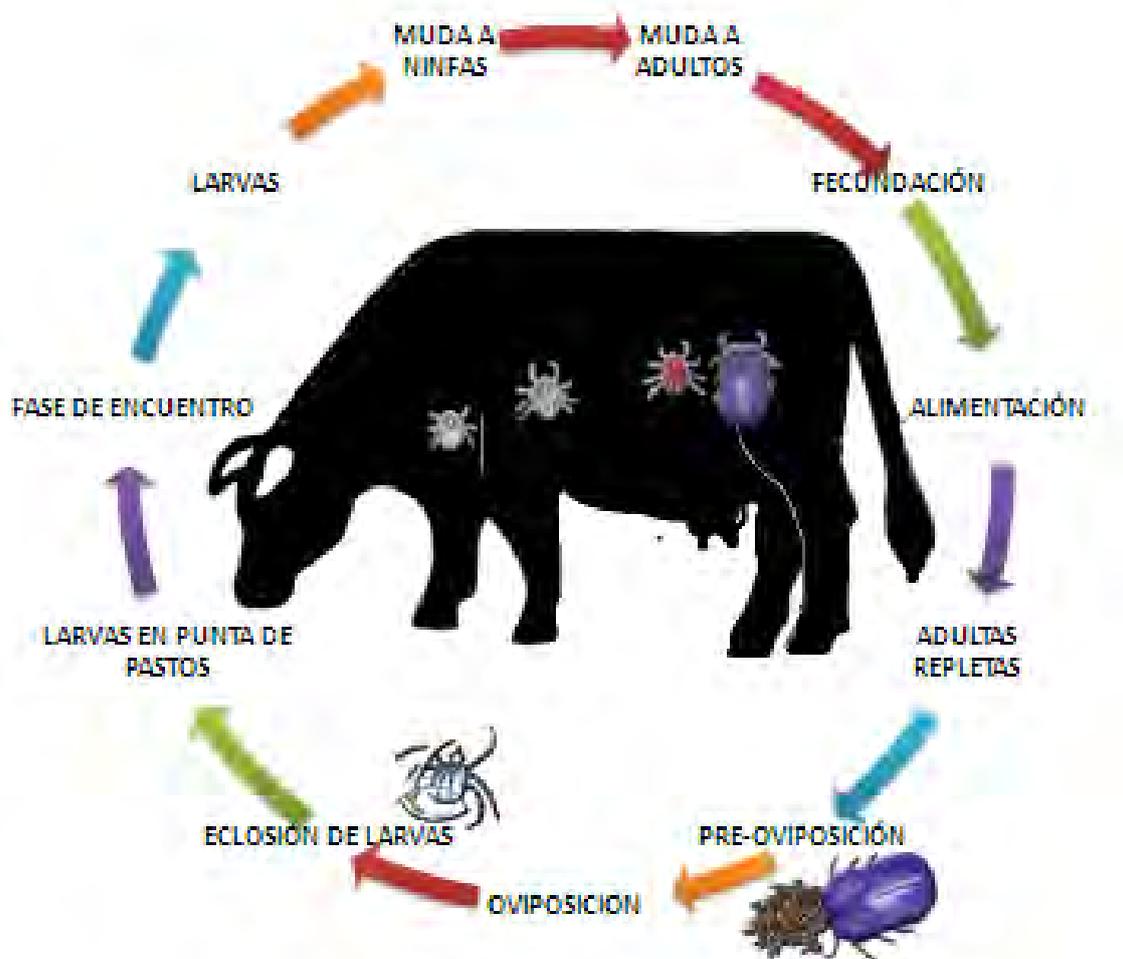


Figura 4 Ciclo biológico de *Boophilus microplus* (original)

Patogenia de *Boophilus microplus*

El parasitismo por garrapatas conlleva a efectos directos e indirectos, cuya intensidad depende del número, especie y localización de los parásitos.

- **Efectos directos:**

Traumático. Durante la alimentación a base de sangre y fluidos de los tejidos, las garrapatas penetran en la piel y se anclan firmemente con sus quelíceros en la epidermis del hospedero; esta fijación causa daños en células dérmicas, además de que secretan enzimas inhibidoras de la coagulación, para succionar enseguida la sangre. Los componentes de la saliva, poseen propiedades que funcionan como inmunosupresores, analgésicos y anticoagulantes, que facilitan el proceso de alimentación (Ribeiro 1986).

También se pueden producir inflamación de los tejidos en los alrededores del punto de fijación. Las consecuencias de esta inflamación dependen del lugar afectado; dolor, cojera, trastornos visuales y auditivos, paresis facial y de los párpados, la pérdida de pelo por lamido (lo que disminuye la calidad de las pieles y por lo tanto su valor) y la infección de los abscesos por bacterias y larvas de mosca son algunas secuelas frecuentes derivadas (Cordero, 2001). En el caso de las vacas lecheras, estos abscesos ocasionalmente están involucrados en el daño y la pérdida de uno o más cuartos de la glándula mamaria con la consecuente disminución de la producción láctea (Jonsson 2006).

Tóxico. La eliminación de sustancias por parte de parásito ocasiona un grado de toxicidad variable en el huésped, determinando daño en tejidos, tejidos y por ende en las funciones vitales del huésped. Los parásitos hematófagos, tanto los artrópodos ectoparásitos como los helmintos endoparásitos, inyectan en el lugar donde tienen implantados los órganos o apéndices bucales una saliva que contiene sustancias químicas de carácter anticoagulante o hemolítico, gracias a las cuales se facilita su acción expoliatriz, es decir, la absorción de sangre de que se alimentan, también induce efectos tóxicos, ya

que la saliva de los parásitos contiene enzimas o neurotoxinas que inhiben las funciones inmunes y metabólicas lo cual se ve reflejado en el apetito del animal, provocando también debilitamiento y anemias debido al consumo de grandes cantidades de sangre por estos parásitos (Cordero, 2001, Ribeiro, 1986).

Anemia. Las garrapatas se alimentan de sangre, se estima que cada garrapata adulta es responsable de la pérdida de 1 mL de sangre durante su estancia sobre el hospedador (Reik, 1957), lo que produce pérdidas en la producción de leche y carne. Se ha demostrado que una vaca libre de garrapatas, produce 2.861 litros más de leche y 0.14 kg más de grasa por día y tiene una ganancia de peso de 10.6kg de peso vivo en comparación con animales infestados (Corrier *et al*, 1979, Jonsson, 2006). Las garrapatas también afectan la capacidad reproductiva, bajando los índices de fertilidad (Jonsson 2006). Además *B. microplus* puede producir varios efectos sistémicos sobre el ganado como inmunosupresión (Wikel, 1994), modulación leucocitaria (Turni *et al.*, 2002), inhibición del complemento (Ribeiro, 1986) y lesiones inflamatorias de la piel (Allen, 1977).

- **Efecto indirecto**

Inoculatriz. Durante su alimentación las garrapatas pueden introducir agentes infecciosos a su hospedador. En México, las garrapatas del género *Boophilus* transmiten al ganado bovino tres agentes importantes: *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale*, que son los causales de enfermedades como Piroplasmosis y Anaplasmosis (Cafrune *et al.* 1995). Las pérdidas económicas globales debidas a estas y otras enfermedades transmitidas por las garrapatas, son estimadas en 7 billones de dólares anuales en el mundo. Asimismo se ha reportado que la anaplasmosis y babesiosis bovinas son responsables de pérdidas anuales de 875 millones de dólares en los países de América Latina, éstas son pérdidas directas por muerte de los animales, disminución en la productividad, y pérdidas indirectas por el costo de las medidas de control (Duncan, 1997).

Métodos de control

Existen dos formas de combatir al parásito, uno en el campo (fase libre) y otro sobre el ganado bovino (fase parásita); sin embargo el combate de *B. microplus* se ha orientado generalmente hacia el combate de las formas parásitas.

- **Control químico**

El método más común para el control de garrapatas es la utilización de productos químicos con una frecuencia de tratamientos variable dependiendo del nivel de infestación de los animales.

Los productos químicos se agrupan en familias que presentan similitud en su estructura química y sitio de acción; sin embargo, se presentan diferencias en cuanto al sitio blanco entre parásitos de diferentes géneros, siendo muy pocos los que tienen acción cruzada (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Productos autorizados para el control de garrapatas en México.

Actualmente existen 6 grupos de productos químicos que se utilizan para el control de garrapatas en México. Estos se dividen en: Organofosforados (diazinon, coumaphos y clorfenvinphos), Piretroides (deltametrina, flumetrina, lambdacyalotrina, cipermetrina, alfacipermetrina), Amidinas (amitraz), Lactonas macrocíclicas (ivermectina, doramectina, moxidectina), Fenilpirazolonas (fipronil) y benzofenilureas (Inhibidores del desarrollo, como el fluazurón). Además se encuentran disponibles en el mercado mezclas de los productos químicos (flumetrina+ ciflutrin, permetrina + clorpirifos, cimiazol + cipermetrina, clorfenvinfos + cipermetrina), de las cuales se recomienda un uso cuidadoso por el riesgo de generar de manera más rápida el proceso de resistencia (Conacyt-Sagarpa, 2005).

Organofosforados: Clasificados como los pesticidas más tóxicos para los vertebrados están relacionados con los gases neurotóxicos (Rajput *et al.*,

2006), ya que fue en Alemania Nazi durante la Segunda Guerra Mundial, donde se sintetizaron los primeros organofosforados, el tabun (1937) y el sarín (1938), que al ser de difícil manejo en la agricultura por su alta toxicidad, fueron turnados para ser usados como armas químicas por el Ejército, no obstante que se inició su producción industrial, Hitler nunca llegó a usarlos. Estos compuestos tenían un efecto aterrador, causando una pérdida completa del control muscular al efectuar la transmisión nerviosa y provocar la muerte de sus víctimas.

Son derivados del ácido fosfórico, se caracterizan por inhibir la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (neurotransmisor), produciendo un aumento de estímulos nerviosos en los artrópodos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006). Son lipofílicos, se absorben a través de la piel y se acumulan en tejido adiposo donde son liberados lentamente a la sangre y otros líquidos corporales. Tienen una permanencia de cuatro a ocho días. Los medicamentos de mayor uso en este grupo son: Clorfenvinfos, Clorpirifos, Triclorfon, Coumafos y Diazinón.

Piretroides: provocan un bloqueo de la actividad motriz o un aumento de la excitabilidad, incoordinación de movimientos, irritabilidad, parálisis, letargo y muerte del artrópodo. Los piretroides tienen un efecto residual de aproximadamente 15 días. Entre los fármacos más frecuentes en este grupo se encuentran: cipermetrina, deltametrina y flumetrina (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Amidinas (formamidinas): Las amidinas son antagonistas de los receptores de la octopamina en el cerebro de los parásitos: provocan hiperexcitabilidad seguido de parálisis y muerte. Esta hiperexcitabilidad hace que la garrapata tampoco se pueda fijar a su hospedero. El producto de mayor uso es el amitraz., pero también se encuentran en este pequeño grupo el clodimefor, clenpirin y el colorometiuron (George *et al.*, 2004).

Lactonas macrocíclicas: Consideradas endectocidas, incrementan la liberación del ácido gammaaminobutírico (GABA) en el sistema nervioso de los

artrópodos. Además se ha demostrado que el mecanismo de acción de la moxidectina está relacionado con la apertura de los canales de cloro en la conexión postsináptica y permite el flujo de iones, produciendo un estado irreversible de letargia, parálisis y muerte del parásito (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006). Son usados para el control de endo y ectoparásitos incluyendo a las garrapatas. Se presentan dos grupos importantes: a) Avermectinas (que son derivadas del actinomiceto *Streptomyces avermitilis*) que incluyen a la ivermectina, doramectina, y eprinomectina y b) Milbemicinas (que son derivadas de productos de fermentación de *S. higrscopicus aereolacrimosus*), en donde la moxidectina es la única lactona derivada de este grupo utilizada como acaricida (George *et al.*, 2004).

Fenilpirazolonas: Están relacionadas con las avermectinas por el modo de acción, ya que bloquea el paso de iones cloro a través del sistema receptor GABA. El Fipronil es la sustancia activa usada para el control de garrapatas en presentación “pour on”, lo que permite que penetre la cutícula de los ectoparásitos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Benzofenilureas: Dentro de los inhibidores del desarrollo, el fluazurón, se caracteriza por interferir principalmente en la formación de la quitina, impidiendo la formación de la cutícula del ectoparásito, considerándoseles inhibidores de las mudas y del crecimiento (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006, Bull *et al.*, 2000). La limitante de este producto es que las garrapatas tratadas no mueren al instante, sino que su efecto es reducir la capacidad reproductiva de las garrapatas y poco a poco se ven los efectos letales al reducir las poblaciones de garrapatas (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Métodos de aplicación de los garrapaticidas

Baños de inmersión. Es la introducción de los animales en soluciones, suspensiones o emulsiones de garrapaticidas mantenidos en depósitos (baños) de 7,000 a 10,000 litros. Con este método se logra una cobertura de todo el

cuerpo del animal, lo que permite un perfecto contacto de la sustancia activa del garrapaticida con todos los estados evolutivos de las garrapatas. El inconveniente básico del baño por inmersión reside en que se trata de una instalación fija y cara hacia la cual se debe arrear a los animales (George *et al.*, 2004, Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Baños de aspersión. Es el mojado de los animales con garrapaticidas a través de aspersores fijos adaptados a una manga de manejo. Tiene la ventaja de que en cada tratamiento se puede usar líquido recientemente preparado con la correcta concentración de la sustancia activa, lo que asegura la máxima eficacia, pero no ofrece seguridad en cuanto a eficacia debido a la dificultad para mojar íntegramente a todos los animales y obtener un contacto químico-animal duradero (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Tratamiento epicutáneo por chorro dorsal: "pour-on" y "spot-on". El "pour on" o epicutáneo, consiste en derramar el producto sobre la línea medial dorsal del bovino, desde la cruz hasta la base de la cola. A su vez el "spot on" o transcutáneo es cuando el producto se coloca en un sólo sitio del dorso del animal. Las formulaciones actúan sobre los parásitos por contacto y por medio de los vapores que emanan, formando una atmósfera que rodea el cuerpo del animal tratado. La mayoría de los productos aplicados de ésta forma, resultan ser altamente liposolubles, por lo que se absorben rápidamente, alcanzando niveles el pico en sangre a las ocho horas. Se recomienda que estos tratamiento se apliquen cada nueve a quince días, dependiendo de la región en donde se encuentren (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Tratamiento mediante inyección. Es la aplicación de productos mediante inyecciones, el método es comúnmente utilizado para la aplicación de endectocidas y puede administrarse por vía intramuscular o subcutánea. Los productos así usados presentan por lo regular efectos de largo plazo con tratamientos en lapsos de 30 días o más (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Tratamiento con aretes y collares impregnados. Son dispositivos elaborados por lo regular a base de plástico o PVC (cloruro de polivinilo) los

cuales contienen el pesticida impregnado y su eliminación es paulatina y sostenida, a partir del sitio de aplicación alcanzan todo el cuerpo del animal. Se han utilizado en este tipo de dispositivos Amidinas, Piretroides, Organofosforados y mezclas tanto para ganado lechero como de carne (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

- **Control no químico.**

Son las acciones ejercidas para controlar garrapatas sin el uso de productos químicos; entre las principales se encuentran:

Resistencia del hospedero. Las razas *Bos indicus* (Nelore, Brahaman, Gyr, Indobrasil, etc) son más resistentes a infestaciones graves de garrapatas que las razas *Bos taurus* (Suizo, Charolais, Gelbvieh, Holstein, etc). La resistencia a las garrapatas por parte del hospedero se manifiesta con una reducida repleción de la hembra, prolongados períodos de alimentación, disminución en la oviposición, baja o nula viabilidad de los huevos, cese de etapas evolutivas y muerte de ninfas (Jonsson *et al.*, 2000, Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006). Las razas susceptibles sufren infestaciones de 15 a 100 veces más severas que las resistentes. Además esta resistencia es mayor en animales jóvenes que en viejos y en hembras no gestantes que gestantes.

Los mecanismos para esta resistencia son muy diversos e incluyen la hipersensibilidad cutánea (mayor secreción de histamina en razas resistentes), anastomosis arteriovenosa en la piel, niveles séricos de inmunoglobulinas, y respuesta lipoproliferativa mayor en razas resistentes (Kashino *et al.*, 2005)

Control Biológico. Algunas especies de hormigas, *Pheidole megacephala* tienen efecto depredador en la población de garrapatas. Además, el ácaro *Anystis baccarum* tiene algún efecto depredador sobre la población de garrapatas.

Los hongos entomopatógenos han demostrado poseer buena eficacia para el control de las garrapatas *Boophilus*, en condiciones *in vitro*, existen experiencias en diferentes países utilizando especímenes de los géneros

Beauveria, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus*, *Fusarium* y *Metarhizium*, este último ha sido ampliamente estudiado, invade a *B. microplus* mediante un proceso que involucra la adhesión de las conidias a la cutícula, germinación y penetración a través de la cutícula, provocando la muerte de la garrapata. (Alonso-Díaz *et al.*, 2007, Fernández *et al.*, 2005)

En México existen algunas garzas y pájaros que se alimentan de garrapatas y tienen un papel importante en el control biológico (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Manejo. Se basa en modificar el hábitat natural de la garrapata para afectar su desarrollo y viabilidad en su fase no parasítica. La composición de la vegetación tiene un efecto directo en la sobrevivencia de las garrapatas adultas, huevos y larvas. Cuando las garrapatas adultas repletas caen al suelo buscan un lugar oscuro y se protegen de la radiación solar directa. De tal forma que las praderas con alta vegetación y arbustos proporcionan a las garrapatas un hábitat ideal para su desarrollo. La leguminosa tropical *Stylosanthes humilis* y *S. hamata* puede atrapar larvas. Esta leguminosa presenta en sus hojas y pelos, secreciones glandulares viscosas que inmovilizan a las larvas. La planta atrapa del 12% al 27% de larvas de garrapatas. Su efectividad para controlar garrapatas es limitada por la proporción de leguminosas en el pasto, estado fisiológico y por su reducido porcentaje en atrapar larvas.

Otras plantas con similares propiedades anti-garrapatas son las gramíneas forrajeras: *Melinis minutiflora* (gordura), *Brachiaria brizantha* (marandú) y *Andropogon gayanus* (llanero), las cuales repelen, atrapan u obstaculizan a las garrapatas que buscan hospedero; este tipo de plantas, cultivadas en potreros estratégicamente utilizados, reducen el riesgo del encuentro garrapata-bovino y contribuye a disminuir el uso de pesticidas.

El descanso de praderas para el control de las garrapatas es otro método que funciona y está basado en el período de vida que tiene el estado no parasítico, esto es, la longevidad total del estado no parasítico. Cuando se conoce esta información en una región, es posible establecer el tiempo de descanso de las

praderas. La longevidad de las larvas en el ambiente depende de la cantidad de vitelo que tengan en el momento de su eclosión.

El fuego afecta directamente a las garrapatas por la exposición que sufren a las altas temperaturas los estados de larvas, las hembras adultas y los huevos. Indirectamente tiene un efecto por la destrucción de la capa de vegetación que sirve de protección a las garrapatas (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Vacunas. En México se encuentra disponible la vacuna Gavac® (Laboratorio Revetmex). Esta vacuna, contiene un antígeno (Bm86) que está situado en la superficie de las células del intestino de la garrapata *B. microplus*. Cuando un bovino es vacunado con el antígeno Bm86 se produce una reacción inmunológica mediada por anticuerpos. Cuando la garrapata ingiere sangre del animal vacunado, los anticuerpos específicos producen la lisis de las células del intestino de la garrapata. Aunque el antígeno Bm86 está presente en la larva, ninfa y garrapata adulta, este último estado es el más afectado. Esto es debido al mayor volumen de sangre que ingiere la garrapata adulta. La vacuna produce una reducción del peso y la capacidad de postura de huevos de las garrapatas hembras repletas en los animales vacunados. La vacunación con Bm86 produce no más del 50% de disminución en el número de garrapatas en la primera generación, obteniéndose mejores resultados en las generaciones subsecuentes (Willadsen, 2004), por ésta razón la aplicación de las vacunas es combinada con el uso de acaricidas químicos. El esquema de aplicación involucra una primo inmunización en las semanas 0, 4 y 7, con revacunaciones cada 6 meses. En los rebaños que pierden el esquema de inmunización por diversas razones se requiere, por recomendación de los fabricantes, el reinicio de la inmunización con una primo inmunización de tres dosis. Cada dosis vacunal de 2 mL de Gavac, contiene 100 microgramos del antígeno (Vargas *et al.*, 2005).

Resistencia de las garrapatas a los acaricidas

La resistencia se define como la capacidad adquirida por individuos de una población parásita para sobrevivir a dosis de químicos que generalmente son letales para una población normal (Woodham *et al.*, 1983; Nari y Hansen, 1999).

La resistencia cruzada es el mecanismo que utilizan algunas garrapatas resistentes para sobrevivir a la exposición de acaricidas relacionados químicamente, usando un patrón de detoxificación genérico. La resistencia múltiple es la utilización de varios mecanismos hacia la acción de varias clases de acaricidas no relacionados químicamente (Metcalf, 1989).

- **Estrategias para el desarrollo de resistencia de las garrapatas hacia los acaricidas.**

Los mecanismos de defensa más importantes que ocurren en las garrapatas son:

Resistencia a la penetración. Es una modificación del exoesqueleto del insecto para inhibir o retardar la penetración del químico, y que en general tiene que ver con la concentración de algunos lípidos que facilitan o retardan la penetración del pesticida a través de esta estructura.

Resistencia metabólica. Es la detoxificación del acaricida por procesos enzimáticos que radica en la modificación de las vías metabólicas de la garrapata. Las formas más importantes de resistencia metabólica involucran oxidasas multifuncionales, glutatión-S- transferasa y esterasas; en el caso de piretroides casi todas son esterasas (Miller 1998, Metcalf 1989). Posiblemente estos procesos también se generan en el cromosoma II. Este tipo de resistencia involucra a DDT (Dicloro difenil tricloroetano) y los piretroides. Liu y Scott (1998) describen que dentro de los mecanismos de resistencia metabólica, el más común incluye la detoxificación de piretroides por la

sobreexpresión de enzimas citocromo P450 (He *et al.*, 2002). Adicionalmente una esterasa metabólica específica con actividad de hidrolizar la permetrina, la CzEst9, se ha asociado a una resistencia a las permetrina (Foil *et al.*, 2004). En cuanto a la resistencia al amitraz aún no ha sido descrito su mecanismo, pero hay evidencia de que puede deberse a una mutación en el gen receptor neuromodulador de la octopamina (Chen *et al.*, 2007)

Insensibilidad del sitio de acción. La alteración de los genes cambia la estructura de las proteínas que se unen al pesticida, con la finalidad de contrarrestar la toxicidad del producto químico. El proceso más conocido ocurre con los piretroides, donde la garrapata resistente sufre una mutación en el gen del canal de sodio (He *et al.*, 2002).

- **Factores causales de la resistencia**

La aplicación indiscriminada de garrapaticidas ha ocasionado la aparición de cepas de garrapatas resistentes a nivel de campo. El desarrollo de la resistencia es un proceso evolutivo que aparece por selección genética y se presenta en tres fases:

⊕ *Fase de establecimiento.* Momento en que surge el alelo resistente en una población y el proceso se realiza por mutaciones naturales e independientes a la presión de selección.

⊕ *Fase de desarrollo.* Es el incremento en el número de individuos resistentes que ocurre por la tasa de sobrevivencia preferencial sobre individuos susceptibles después del uso de productos químicos.

⊕ *Fase de emergencia.* Este proceso es de corta duración y el alelo de resistencia es común en la población en la que se manifestará la ineficacia del garrapaticida (Alonso-Díaz *et al.*, 2007).

Pruebas para el diagnóstico de resistencia

Las pruebas para el diagnóstico de la resistencia a ixodicidas se dividen en bioensayos, pruebas bioquímicas y pruebas moleculares.

Bioensayos. Los bioensayos pueden realizarse con larvas (Prueba de Inmersión de Larvas y Prueba de Paquete de Larvas) o hembras adultas (Prueba de Inmersión de Hembras Adultas).

Pruebas bioquímicas. Este tipo de pruebas básicamente consiste en el uso de sinergistas que pueden inhibir las enzimas encargadas de la desintoxicación metabólica y, por lo tanto, su efecto puede reconstruir, parcial o totalmente, la eficacia del ixodicida hacia la cepa de garrapatas que mostró un patrón de comportamiento de resistencia mediante detoxificación metabólica. Algunos ejemplos de inhibidores incluyen: 1) el inhibidor DDTasa 1,1-bis-(*p*-clorofenilo) etanol (clorfenetol) para DDT; 2) O-etil-O-4-fenilfosfonato de nitrofenilo (EPE-oxon), un inhibidor de carboxiesterasa para malatión; 3) fosforotriotionato de S,S,S,-tributilo (DEF) un inhibidor de esterasas para organofosforados, y 4) butóxido de piperonilo, un inhibidor de oxidasa microsomal, para carbamatos y piretroides (Oppernorth 1976, 1984).

Pruebas moleculares. Esta prueba consiste en determinar resistencia, con una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), mediante alteraciones en la secuencia de los genes que codifican el sitio de acción de los ixodicidas en la garrapata. Miller *et al* (1999) identificaron insensibilidad del sitio de acción en dos cepas de **B. microplus** resistentes a piretroides que presentaron una sustitución de nucleótidos en el gene del canal de sodio.

La principal ventaja de estas pruebas es que ofrecen resultados en pocas horas, y una desventaja de la prueba PCR es que sólo puede identificar genotipo o mecanismos de resistencia asociados a mutaciones. De este modo, una población de garrapatas con un mecanismo de resistencia conferida por mutación o basada en mecanismos enzimáticos/metabólicos de resistencia puede ser genotipificado como susceptible, si este no posee la mutación específica que detecta PCR. Afortunadamente, en el sitio de acción de los

canales de sodio mediando resistencia parece haber un número limitado de mutaciones que pueden conferir resistencia (French *et al.*, 1993). Es probable que se desarrollen pocas mutaciones en poblaciones de **B. microplus**, porque trabajos sobre cepas resistentes a piretroides descubrieron un sólo sitio de mutación (He *et al.*, 1999, Jamroz *et al.*, 2000).

Distribución mundial de la resistencia a ixodicidas

Oceanía. Australia, posiblemente, es el país con mayor experiencia y documentación sobre el problema de resistencia a ixodicidas (Nolan 1981, Kemp *et al.*, 1998). Angus (1996) documentó el desarrollo y la evolución de la resistencia a ixodicidas en Australia. De acuerdo a los patrones de comportamiento más comunes, las cepas de garrapatas resistentes más importantes en Australia son: "Lamington" (resistente a flumetrina), "Parkhurst" (resistente a flumetrina, deltametrina y cipermetrina) y "Ulam" (resistente a amitraz). En 1992, se determinó una cepa de garrapatas **B. microplus** con resistencia combinada tipo "Ulam" y "Parkhurst", la cual fue designada como "Ulam-P" o "Ultimo" (Kunz y Kemp 1994).

África. Baker *et al.* (1979) informaron que de 64 explotaciones bovinas muestreadas en Sudáfrica, hubo cuatro tipos de resistencia a arsenicales, organoclorados, DDT y organofosforados/carbamatos, lo que constituyó el primer informe de garrapatas **B. microplus** resistentes a ixodicidas en África. Coetzee *et al.* (1987) reportaron en Sudáfrica cepas de garrapatas resistentes a piretroides sintéticos. Strydom y Peter (1999) analizaron garrapatas durante cuatro años (1996- 1999) en Sudáfrica y diagnosticaron cepas resistentes a organofosforados, piretroides y amidinas.

América. En Costa Rica, Álvarez *et al.* (1999) describen que la resistencia a piretroides en ranchos bovinos con una prevalencia del 81%. En Colombia, Benavides *et al.* (1989) reportaron cepas de garrapatas resistentes a cipermetrina. Posteriormente, se evidenció resistencia a flumetrina, deltametrina, alfacipermetrina y lamdacialotrina. En Brasil, Farías (1999)

describe que el primer diagnóstico de resistencia a ixodíidas que se realizó en 1953, al detectar una cepa resistente a arsenicales después de 40 años de uso y a los organoclorados dos años después. Al inicio de los 70's y en los 80's surgieron los primeros casos de resistencia a organofosforados y piretroides, respectivamente (dos años después de haber sido detectado en Australia) (Gomes *et al.*, 1989). Actualmente en Brasil existe una cepa resistente a amidinas (cepa "Alegrete" o "Cavalcanti"). Furlong (1999) reporta que de 209 muestras colectadas de 1997 a 1999 y analizadas con la prueba de inmersión de adultas en el estado de Minas Gerais, hubo cepas de garrapatas **B. microplus** resistentes a organofosforados, piretroides, amidinas y a mezclas de organofosforados/piretroides.

En Centroamérica, Hagen *et al.* (1999) analizaron la respuesta a ixodíidas de 89 muestras procedentes de varios países de Centroamérica y reportaron que en Guatemala, Costa Rica, Honduras, República Dominicana, El Salvador y Panamá, detectaron cepas de garrapatas **B. microplus** resistentes a piretroides. Además, que la cepa de campo originaria de Panamá "Hac. C. Espina", así como una cepa proveniente de Costa Rica "Hac. María Adelia", mostraron una resistencia específica a flumetrina, teniendo un tipo de comportamiento similar a la cepa "Lamington" de Australia.

Situación de la resistencia de *B. microplus* en México

La frecuencia con la que se ha presentado la resistencia en *B. microplus* hacia casi todos los compuestos químicos tanto en México como en otros países, hace prever que sólo es cuestión de tiempo para que se presente este fenómeno, en aquellas poblaciones de garrapatas que solamente son controladas con acaricidas. Wharton (1976), considera que en un mínimo de cinco a 10 años después de la primera aplicación de cualquier nueva clase de ixodíida, puede esperarse la presentación de la resistencia. Por todo esto, es posible pronosticar un futuro poco alentador del control químico de las garrapatas, a no ser que se emprenda una política informativa práctica sobre la manera racional y estrategias de uso de los compuestos químicos para

minimizar los graves problemas de control que trae consigo la resistencia (Nolan, 1981).

La resistencia en *B. microplus* hacia los ixodicidas organofosforados fue diagnosticada en los años 1981-1983 en Tuxpan, Veracruz, este tipo de respuesta fue caracterizada y se denominó "Tuxpan" a la cepa (Aguirre *et al.* 1983). Estos casos de resistencia representaron en un principio una amenaza para la ganadería de esta región. Sin embargo, el aumento de la concentración, y/o la frecuencia de tratamientos y en algunos casos el cambio de molécula de la misma familia química, aseguró momentáneamente un adecuado control de las infestaciones de garrapatas en campo (Anónimo, 1983).

En 1984-1986, Aguirre *et al.*; mostraron que este tipo de cepas se encontraban ampliamente distribuidas en varias regiones ganaderas del Golfo de México. Durante este mismo período otro tipo de conducta fue detectada en el Municipio de Tempoal al Norte de Veracruz, lo que evidenció la presencia de multiresistencia a productos organofosforados y organoclorados; esta cepa fue denominada "Tempoal" (Aguirre, 1986). Ensayos de laboratorio mostraron que la respuesta hacia los organofosforados era semejante en ambas, pero la "Tempoal" presenta índices de resistencia (IR) hacia el Lindano (535) y Dieldrin (82), marcando una diferencia entre las dos.

En 1993 se evidenciaron los primeros problemas de control de garrapatas con ixodicidas piretroides. Las dos primeras fueron remitidas del Municipio de Soto la Marina, Tamaulipas, otras tres del Municipio de Emiliano Zapata, Tabasco, y la última de San Juan Evangelista, Veracruz (Ortiz *et al.*, 1995).

Otras cepas caracterizadas con un comportamiento de multiresistencia con moderada resistencia a organofosforados y elevada a piretroides fueron la Cepa Mora (originaria del Municipio de Emiliano Zapata, Tabasco) y la Cepa San Jorge (originaria del municipio de Soto la Marina, Tamaulipas). De tal forma que la respuesta moderada de la cepa "Mora" hacia los organofosforados es similar al comportamiento de la cepa tipo "Tuxpan"; pero, además, presentó altos niveles de resistencia hacia los piretroides con índices

de resistencia de 352, 118.7 y 104 para flumetrina, cipermetrina y deltametrina, respectivamente.

En 1995 se realizaron ensayos de dosis-mortalidad con 283 muestras procedentes de un monitoreo realizado en diversos estados de la región del Golfo de México, encontrándose en cinco muestras provenientes del Sur de Veracruz, un tipo de respuesta diferente que involucraba de una forma mayor a la cipermetrina, con un índice de resistencia a este producto de 21.42, a la cepa con este tipo de conducta se le conoció como "Coatzacoalcos". Una tercera fue encontrada en muestras colectadas al Norte de Veracruz y Noroeste de Tamaulipas, la cual presentó un espectro y nivel de resistencia mayor a la Flumetrina y se denominó "Aldama", con un índice de resistencia de 65.9 (Ortiz *et al.*, 1995).

La aparición de la resistencia a los piretroides en 1993-1994 complicó seriamente las acciones de control de las garrapatas e irónicamente el Amitraz, producto registrado desde 1986 y que fue poco usado por los ganaderos al no tener una acción insecticida sobre moscas chupadoras, se convierte en producto de elección que gracias a este olvido, es en estos momentos la única alternativa tradicional para el combate de cepas tipo "Mora".

Posteriormente al establecimiento de resistencia a piretroides, se incrementó considerablemente el uso del Amitraz, ya que este acaricida mostró ser efectivo para el control de cepas resistentes a piretroides. Sin embargo, la alta presión de selección ejercida con el exagerado uso del Amitraz sobre las poblaciones de *B. microplus* en las regiones del Golfo de México, propició que a principios del año 2001 se detectara una cepa denominada "San Alfonso", proveniente de la región de Los Ríos, Tabasco, la cual presentó características de resistencia a amidinas, organofosforados y piretroides sintéticos (Alonso-Díaz *et al.*, 2006).

- **Estrategias de uso de los compuestos químicos para reducir el riesgo de aparición de resistencia**

Debido al alto costo en el control de las garrapatas, a la presentación de garrapatas resistentes a los acaricidas y a la necesidad de preservar la vida útil de los productos químicos disponibles, es necesario seguir una estrategia para el uso racional de compuestos químicos, por lo que algunas recomendaciones serían las siguientes:

- Usar los acaricidas apropiadamente, siguiendo las recomendaciones de uso del fabricante (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).
- Conocer la situación propia sobre la resistencia de las garrapatas en cada rancho, ya que esta se desarrolla en función del manejo individual del rancho (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).
- Realizar el diagnóstico de resistencia por lo menos una vez al año (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).
- Elegir el producto acaricida en función de los resultados de laboratorio (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).
- Rotar los productos químicos de acuerdo a la situación de cada rancho (previo análisis de laboratorio). La rotación se debe dar considerando el principio activo y no el nombre comercial con asesoramiento de un profesional (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).
- Administrar la dosis correcta del acaricida (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).
- Es indispensable el uso de alternativas de control no químicas como: estrategias de manejo, del rebaño, del pasto, evitar la introducción de animales nuevos con parásitos poseedores de genes de resistencia, utilizar nuevas alternativas como la vacunación contra garrapatas y el control biológico en el medio ambiente de la explotación (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

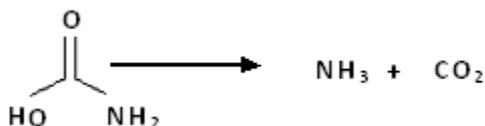
Carbamatos

Durante la segunda guerra mundial aparecieron los carbamatos junto con los organofosforados como desarrollo militar para la guerra química (gases neurotóxicos). Por lo que desde los años 50's han tenido importancia como insecticidas, fungicidas y nematocidas; además, actualmente algunos son usados como pesticidas y productos farmacéuticos en combinación con otros compuestos.

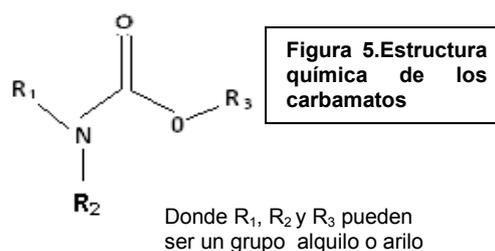
Son conocidas tres clases de carbamatos pesticidas, los derivados de ésteres, usados como insecticidas y nematocidas, que generalmente son estables y poseen baja solubilidad en agua. Los carbamatos herbicidas que contienen grupos aromáticos o alifáticos, y los carbamatos fungicidas que contienen un grupo benzimidazol.

En un principio, algunos compuestos de la familia de los carbamatos se extrajeron de la planta *Pysostigma venenosum* de frijol de Calabar de origen africano. Estos extractos contienen fisostigmina, que es un éster del carbamato de metilo, tóxico anticolinesterasa (García, 2000). Los carbamatos, también llamados uretanos, son compuestos orgánicos que tienen una estrecha relación funcional con los carbonatos. La nomenclatura de los carbamatos o uretanos está relacionada con los ácidos carbónicos y por lo tanto similarmente con los ésteres del ácido carbónico, la forma de nombrarlos es concordante (Klaasen 2001, Ordaz-Pichardo *et al.*, 2004).

Sin embargo, el ácido carbámico como tal no existe, por que se descarboxila espontáneamente:



En consecuencia, sus derivados llamados carbamatos si existen y son compuestos sólidos y estables a temperatura ambiente (Odilón, 1993), y su estructura se muestra enseguida figura 5:



En la industria, los carbamatos resultan derivados muy útiles para la identificación de los alcoholes, además la formación de un carbamato también es esencial para la síntesis de polímeros llamados poliuretanos que se utilizan como materia prima en la elaboración de productos como relleno de colchones, sillas, defensas para automóviles, etc. (Ordaz-Pichardo *et al.*, 2002).

- **Mecanismo de acción de los carbamatos:**

Algunos carbamatos como los N-carbamatos de metilo son efectivos insecticidas en virtud de su habilidad para inhibir la acetilcolinesterasa, tienen una alta afinidad por las esterasas, tales como la quimiotripsina, la acetilcolinesterasa, la pseudocolinesterasa, carboxilesterasas plasmáticas y hepáticas, paroxonas y otras esterasas no específicas dentro del cuerpo, las cuales funcionan como sustrato normal de las enzimas acilasas de este grupo; así, los carbamatos son capaces de inhibir principalmente la acetilcolinesterasa en el sistema nervioso, mediante la competencia con acetilcolina por el sitio activo (Ordaz-Pichardo *et al.*, 2002).

Los carbamatos forman un complejo inhibitorio reversible con la enzima acetilcolinesterasa (por lo que de esta forma estos pesticidas resultan menos peligrosos para el humano), posteriormente se remueve el grupo sustituyente (alquilo o arilo) y se forma la enzima carbamilada, que por ser inestable lleva rápidamente al segundo paso de la hidrólisis, en el cual ocurre la descarbamilación de la enzima inhibida, que genera la enzima libre y activa, la cual puede entonces participar en más reacciones con el sustrato natural o con más carbamato (Baxter y Barker, 1998).

Este mecanismo de acción de los carbamatos, es similar a los organofosforados, pero con diferencias principales. Primero, algunos carbamatos son potentes inhibidores de la aliesterasa (esterasas alifáticas misceláneas cuyas funciones exactas se desconocen), y su selectividad algunas veces es más pronunciada contra la colinesterasa de diferentes especies. Segundo, la inhibición de la colinesterasa por los carbamatos es reversible. Cuando la colinesterasa es inhibida por un carbamato, se dice que es carbamitada, igual que con un organofosforado en la que la enzima es fosforilada.

Los derivados del ácido carbámico utilizados en este proyecto fueron diseñados en la Facultad de Estudios Superiores Cuatitlán, por el grupo de investigadores del Dr. Enrique Ángeles Anguiano del Laboratorio de Química Medicinal, quienes se encargaron tanto de su diseño como de su síntesis química y caracterización estructural. El efecto y/o actividad de éstas moléculas ha sido estudiado en diferentes modelos biológicos, entre estos se encuentran:

- Eficacia anticestódica. Se evaluó el efecto antiparasitario de algunos derivados del ácido carbámico, utilizando como modelo a *Hymenolepis nana*, un céstodo que parasita al intestino de humanos y ratones. Un primer estudio demostró que a una concentración de 50mg/kg, la morfología del parásito (principalmente la estructura y vellosidad de sus proglótidos) fue alterada (Minero, 1997). Posteriormente se realizó otro estudio utilizando el mismo modelo, en el cual se observó que a una dosis de 20mg/kg, los carbamatos de nueva síntesis tuvieron una efectividad de entre 38 y 50%. (Bernabé, 2007).
- Determinación de la susceptibilidad y obtención de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de cepas bacterianas de las especies *Shigella spp.*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* y *Helicobacter pylori*, encontrando que las CMI's van de 50 a 500µg/mL, dependiendo del microorganismo (Guerrero, 2002).
- Actividad antimicótica sobre *T. mentagrophytes* y *A. fumigatus* (Ruiz Saenz, 2004), *C. albicans* y *C. neoformans* (Ortega, 2005).
- Eficacia antiamebiana sobre cultivos de *Giardia lamblia*. Se encontraron concentraciones efectivas de entre 18.16 y 181.6µg/ml.

- Efectividad antihelmíntica usando *Haemonchus contortus* como modelo, en el cuál se determinó que a la concentración a la que se presenta el 100% de inhibición es de 100µg/mL (Pereyra, 2005).

JUSTIFICACIÓN

Las garrapatas del género *Boophilus sp*, producen cuantiosas pérdidas económicas tanto en México como en otros países. La principal medida de control es la utilización de sustancias ixodicidas, sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos ha generado cepas de garrapatas resistentes a éstos. Por lo anterior, es necesario implementar nuevas estrategias para su control. Entre estas opciones se encuentra el desarrollo de nuevas moléculas pertenecientes a la familia de los carbamatos, a las cuales las garrapatas no han generado resistencia.

Hasta el momento, nuestro grupo de investigación ha evaluado la eficacia de 18 nuevos carbamatos diseñados y sintetizados en la FES-Cuautitlán sobre garrapatas del género *Boophilus microplus* de una cepa susceptible a ixodicidas convencionales, seis de ellos han tenido una alta efectividad sobre la inhibición de la eclosión de larvas y otros dos tuvieron efecto sobre mortalidad de larvas; sin embargo, la cepa evaluada fue una cepa susceptible a ixodicidas que ya están disponibles en el mercado, pero no se ha evaluado su eficacia sobre cepas resistentes a dichos ixodicidas. Por lo anterior, en el presente proyecto se evaluó el efecto de estos ocho carbamatos sobre cepas de garrapatas resistentes a ixodicidas convencionales y sobre una muestra colectada directamente de campo.

Con esta evaluación pretendemos contribuir con los estudios previos por los que todo nuevo principio activo debe pasar antes de ser comercializado, ya que se pretende que los derivados del ácido carbámico sean una alternativa en el control de garrapatas.

HIPÓTESIS

- Los carbamatos de nueva síntesis LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919, LQM934, LQM938 y LQM996 de nueva síntesis, producen la muerte de larvas, inhibición de oviposición de hembras repletas y eclosión de larvas de garrapatas *Boophilus microplus* resistentes a ixodicidas como amidinas, piretroides y organofosforados.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar *in vitro* la eficacia de ocho carbamatos diseñados y sintetizados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por medio de las Técnicas de Paquete de Larvas e Inmersión de Adultas, en dos cepas de garrapatas *Boophilus microplus*, resistentes a ixodicidas convencionales y en garrapatas obtenidas directamente de campo (de un rancho con historial de resistencia a acaricidas comerciales).

Objetivos particulares

- Establecer las cepas “San Alfonso” y “La Mora” *in vitro* en el laboratorio 1 de Unidad de Investigaciones Multidisciplinarias en Salud Animal (UIMSA-1) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, así como mantener la fase parásita de dichas cepas, mediante la infestación artificial de bovinos.
- Colectar una muestra poblacional de campo de garrapatas *Boophilus microplus* y mantener la fase no parásita *in vitro* dentro de la UIMSA-1, así como mantener su fase parásita mediante la infestación de bovinos.
- Evaluar mediante la TPL la mortalidad inducida por los carbamatos identificados como: LQM934 y LQM938, sobre larvas de las cepas “San Alfonso” y “La Mora”, así como de larvas de las garrapatas obtenidas de campo.
- Evaluar los efectos sobre la oviposición y eclosión de larvas mediante la TIA inducidos por los carbamatos identificados como: LQM904, LQM914, LQM906, LQM917, LQM919 y LQM996 sobre garrapata

adultas de las cepas “San Alfonso” y “La Mora”, así como en las obtenidas de campo.

- Determinar el Índice de resistencia de cada uno de los carbamatos, en cada una de las cepas de garrapatas, así como en las obtenidas de campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación

Este trabajo se realizó en la UIMSA-1 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

Material biológico

- **Cepas de garrapatas de *Boophilus microplus***

Para realizar este trabajo se utilizaron dos cepas de garrapatas resistentes a acaricidas convencionales: cepa “San Alfonso” (cepa caracterizada como resistente a organofosforados, amidinas y piretroides) y “La Mora” (resistente a organofosforados y piretroides), las cuales fueron donadas por el Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA).

- **Garrapatas de campo *Boophilus microplus***

Se utilizaron garrapatas de campo, las cuales fueron recolectadas de la siguiente forma:

Obtención de garrapatas de campo

- Las garrapatas fueron obtenidas del rancho San Vicente ubicado en el municipio de Aldama, Tamaulipas. Dicho rancho se dedica a la crianza y engorda de ganado. Muchos de los animales engordados en este rancho provienen de diferentes explotaciones cercanas, por lo que las

garrapatas colectadas podrían darnos una idea del grado de resistencia de las garrapatas en la zona.

- Se obtuvo una muestra de 44 garrapatas hembras repletas de entre 5 y 8 mm, las cuales fueron trasladadas a la UIMSA-1 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Las garrapatas fueron puestas en frascos de cristal con tapa rosca con entrada de aire, además de contener en el interior un algodón húmedo,
- Las garrapatas fueron incubadas en cajas Petri durante 15 días (a una temperatura de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ y 80% humedad relativa), Se hizo la separación de la masa de huevos (un total de 2.588 g de huevos), ésta se separó en viales (con 1 g de huevos en cada vial), donde nuevamente se incubaron, hasta que cumplieron un mes de eclosión y se utilizaron para infestar artificialmente bovinos (como se describe más adelante).

Se mantuvo la fase no parásita de las cepas “San Alfonso” y la “La Mora”, así como las garrapatas de campo, fueron mantenidas dentro de la UIMSA-1, en incubadoras a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ Y 80% de humedad. La fase parásita se mantuvo por medio de infestaciones artificiales de bovinos.

Animales

Para el mantenimiento de la fase parásita de cada una de las cepas, se utilizaron 6 bovinos de raza Holstein de 170 a 250 kg de peso. Los bovinos fueron mantenidos en infestaderos, durante aproximadamente 30 días.

Infestación de bovinos

El método de infestación tanto para las cepas “San Alfonso”, “La Mora” como para las garrapatas obtenidas de Campo fue la misma, y se realizó de la siguiente forma:

- **Adaptación de los bovinos a los infestaderos.** Tres días previos a la infestación, los bovinos fueron introducidos a los infestaderos, para

lograr que los animales se adaptaran a su nueva situación. En estos infestaderos los animales se encontraban limitados en su movimiento (las características de los infestaderos se muestran en el anexo). Durante toda esta etapa, la alimentación de los bovinos fue a base de alfalfa, avena y concentrado. Se realizó una vigilancia de los animales 3 veces al día para evitar que éstos se llegaran a lastimar y para que tuvieran alimento todo el tiempo.

*En el caso de los animales infestados con garrapatas de campo se les dio tratamiento preventivo con Dipropinato de Imidocarb (Imizol® a dosis de 2 mL por cada 100 kg), para evitar posibles infecciones por *Anaplasma* y/o *Babesia*, ya que no se sabía si estas garrapatas estaban libres de parásitos. El tratamiento fue reforzado después de 15 días de su primera aplicación.

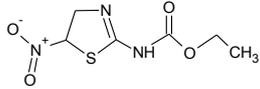
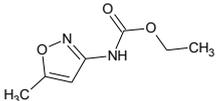
- **Infestación.** Esta consistió en aplicar con un pincel sobre el dorso del bovino 1 g de larvas de *B. microplus* (20,000 larvas aproximadamente) de un mes de vida. Al bovino se le sujetó previamente la cola con cinta adherente, para evitar que se sacudiera.
- **Recolección de hembras adultas.** Del día 21 posterior a la infestación y hasta el día 26, se hizo la recolección de garrapatas que caían sobre charolas o se colectaban directamente del bovino las hembras que median de 5 a 8 mm. Las garrapatas fueron llevadas a la UIMSA-1 donde se lavaron con agua corriente y se secaron con papel absorbente. Una parte de estas garrapatas fueron utilizadas para mantener la colonia y otra para la TIA.
- **Tratamiento garrapaticida.** Con la finalidad de eliminar cualquier garrapata restante del cuerpo del bovino y evitar la dispersión de éstas, el día 27 post-infección, los bovinos fueron bañados con amitraz y tratados con ivermectina (200 µg por kg de peso vivo, subcutáneo).
- **Liberación de los bovinos.** Al día 29 posterior a la infestación, los bovinos fueron regresados a los corrales para su recuperación.

Carbamatos evaluados

Los carbamatos evaluados en este trabajo fueron diseñados en la Unidad de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, bajo la dirección del Dr. Enrique Ángeles Anguiano. Estos se sintetizaron usando aril y alquiminas con hidruro de sodio y dietilcarbonato de benceno, se purificaron mediante cromatografía en columna y se recrystalizaron. Su estructura fue dilucidada mediante técnicas comunes de espectroscopía. Estos compuestos están sujetos a una patente (Ordaz-Pichardo *et al*; 2004).

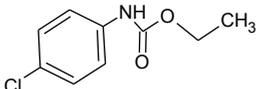
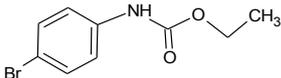
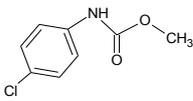
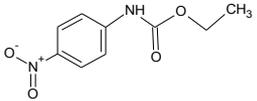
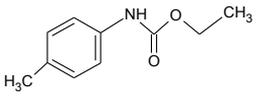
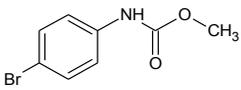
Los carbamatos evaluados en este trabajo se identificaron con las claves: LQM938, LQM934, LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 (el nombre químico y la fórmula de estos carbamatos se presentan en los tablas 1 y 2). Los dos primeros se utilizaron para evaluar mortalidad de larvas (TPL) y los seis siguientes para evaluar el porcentaje de inhibición de oviposición y disminución del porcentaje de eclosión de larvas (TIA). La selección de los carbamatos utilizados se realizó con base a los resultados de un trabajo previo, en el mismo laboratorio, donde se demostró su efectividad en una cepa de *Boophilus microplus* “susceptible” a acaricidas convencionales (Prado, 2009).

Carbamatos evaluados sobre larvas (TPL).

CLAVE DEL CARBAMATO	ESTRUCTURA	NOMBRE QUÍMICO	PM (g/mol)
LQM 938		Carbamato de etil (5-nitro-4,5-dihidro-1,3-tiazol-2-ilo)	219.22
LQM 934		Carbamato de etil (5-metil-1,2-oxazol-3-ilo)	170

Cuadro 1. Estructura química de los carbamatos evaluados por medio de la técnica de Paquete de Larvas

Carbamatos evaluados sobre hembras adultas (TIA)

CLAVE DEL CARBAMATO	ESTRUCTURA	NOMBRE QUÍMICO	PM (g/mol)
LQM 996		Carbamato de etil (4-clorofenilo)	199.63
LQM 919		Carbamato de etil (4-bromofenilo)	244
LQM 917		Carbamato de metil (4-clorofenilo)	185.61
LQM 914		Carbamato de etil (4-nitrofenilo)	210
LQM 906		Carbamato de etil (4-metilfenilo)	179
LQM 904		Carbamato de metil (4-bromofenilo)	230

Cuadro 2. Estructura química de los carbamatos evaluados por medio de la técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

Técnica de Paquete de Larvas (Procedimiento)

La prueba se realizó de acuerdo al método descrito por Stone y Haydock (1962). La misma metodología fue usada para evaluar la cepa “San Alfonso”, “La Mora” y las garrapatas obtenidas de campo.

- Preparación de concentración inicial o solución madre.

Para la preparación de la solución madre, se consideró el valor porcentual de la solución a preparar, el volumen requerido y la concentración en que está el principio activo del químico a evaluar. Como diluyente se utilizó el tricloroetileno y como fijador el aceite de oliva en proporción 2:1.

Para conocer los gramos de principio activo necesarios para preparar la solución madre se empleó la siguiente fórmula (figura 6).

$$\frac{(\%C.I)}{(f^3)} \cdot \frac{(100\%)}{(\%C.F.T.)} = \text{g de producto}$$

%CI= Concentración (%) que se desea obtener

f= valor fraccionario que se asigna al volumen que se desea preparar

(3)= constante, valor fraccionario del aceite de oliva en la mezcla, considerando que el tricloroetileno se evapora en la mezcla

%CFT= Porcentaje de concentración de la forma técnica del químico a utilizar

Figura 6. Fórmula para calcular los gramos de producto o de principio necesarios para preparar la solución madre.

- Preparación de diluciones

Se prepararon diluciones seriadas a partir de la solución madre. La elección del factor de dilución dependió de los resultados obtenidos previamente en la cepa susceptible (Prado, 2009).

Como dilución control se utilizó la mezcla de aceite de oliva y tricloroetileno, una parte de aceite de oliva por dos partes de tricloroetileno.

- Impregnación de papeles filtro

Para los paquetes de larvas se utilizaron rectángulos de papel filtro Wathman No. 1 de 7.5 x 8.5 cm, previamente identificados con el nombre del producto utilizado y la dilución. Los papeles se impregnaron con las diluciones de los químicos a evaluar y se realizaron al menos dos repeticiones de cada dilución y testigos. La impregnación se realizó con la ayuda de una micropipeta graduada con capacidad de 1,000 μ l y se emplearon 670 μ l de la dilución correspondiente por cada papel. Una vez impregnados los papeles se sujetaron con prensapapeles y se colgaron en un soporte de alambre galvanizado. Se dejaron secar por una hora con la finalidad de que se evaporara el tricloroetileno y en la superficie del papel quedara sólo el aceite de oliva y el químico a evaluar.

- Armado y llenado de paquetes

Los paquetes se armaron doblando los rectángulos de papel filtro por la mitad, con la cara impregnada con el químico hacia adentro y sellando los extremos libres con prensapapeles. Se comenzó armando los paquetes a partir de los testigos hasta la concentración mayor del producto.

Para llenar los paquetes se armó una trampa. Dicha trampa consistió en una charola de plástico con agua y detergente en polvo, y en el interior se colocó una caja Petri de cristal con el fondo hacia arriba, un par de vasos de precipitados con una aguja de disección y un pincel, y por último el vial conteniendo las larvas sobre la caja Petri.

Para esta técnica se utilizaron larvas de siete a catorce días de edad. El llenado de paquetes se realizó colocando cada paquete, comenzando con los testigos, sobre la caja Petri. Con la ayuda del pincel y la aguja de disección se tomaron del borde del vial aproximadamente 100 larvas y se dejaron caer dentro del paquete. Cada paquete se cerró con un prensapapeles.

- Incubación

Los paquetes se colocaron en una charola y se introdujeron en una estufa entomológica a temperatura de 28 ± 2 °C y con un rango de 80 a 90% de humedad relativa, en donde permanecieron por 24 horas.

- Lectura de resultados.

Transcurrido el tiempo de incubación, se contaron las larvas de los paquetes de los grupos tratados y de los testigos. Las larvas sobrevivientes fueron capturadas con cinta adhesiva y se contabilizaron tanto muertas como vivas con ayuda de un contador de mesa. Todas las larvas con capacidad de caminar o deslizarse se consideran como vivas. Posteriormente se calcularon los porcentajes de respuesta de mortalidad por dilución y sus valores medios.

- Índice de Resistencia. Este valor se obtiene con la siguiente fórmula (Bianchi *et al.* 2002).

$$IR = \frac{CL_{50} \text{ Resistente}}{CL_{50} \text{ susceptible}}$$

Figura 7. Fórmula para calcular el índice de resistencia por medio de LPT.

El criterio para decidir si la cepa es o no resistente fue el siguiente (Bianchi *et al.* 2002):

- Susceptible ($IR \leq 3$)
- Tolerante ($3 \geq IR \geq 5$)
- Resistente ($IR \geq 5$)

Técnica de Inmersión de Hembras Adultas (procedimiento)

La prueba se realizó de acuerdo al método descrito por Drummond *et al.* (1967). La misma metodología se usó para evaluar la cepa “San Alfonso”, “La Mora” y las garrapatas obtenidas de campo.

- Preparación de concentración inicial y diluciones

La cantidad (mg) de cada carbamato evaluado, se disolvió primero en 1mL de sulfóxido de dimetilo (DMSO), debido a que los carbamatos no son hidrosolubles. Una vez disuelto el carbamato se aforó con agua destilada. Se agregaron 25mL de la solución a evaluar en cada vaso de precipitado. Como testigos se utilizó uno con agua destilada y otro con 1mL de DMSO aforado a 25 mL con agua destilada. Se realizaron tres réplicas de cada concentración y testigos.

- Garrapatas

Las garrapatas adultas repletas recién recolectadas, se lavaron con agua corriente y se secaron con toallas de papel. Posteriormente fueron pesadas en grupos de 10 garrapatas en una balanza analítica.

- Inmersión

Se colocó cada grupo de 10 garrapatas en un vaso de precipitados que contenía 25mL de la dilución del químico a evaluar. Las garrapatas permanecieron inmersas durante 30 minutos.

- Incubación.

Transcurrido el tiempo de inmersión, se decantó la solución y las garrapatas de cada grupo se secaron con toallas de papel. El grupo de garrapatas se adhirió dorsalmente con cinta doble adhesivo en cajas de Petri desechables. Cada caja se identificó, con el nombre de la cepa, la fecha de realización de la técnica, clave de carbamato y concentración.

Las cajas de Petri con las garrapatas se incubaron en la estufa entomológica a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura y 80-90% de humedad relativa, durante siete días.

Transcurridos los siete días de incubación, se contó el número de garrapatas que ovipositaron en cada grupo. Posteriormente se incubaron por siete días más, bajo las mismas condiciones para obtener la oviposición completa de las garrapatas.

- Separación de la masa de huevos.

La masa de huevos de cada grupo tratado y testigos, fue retirada con ayuda de una espátula. Los huevos se pesaron en una balanza analítica y se colocaron en viales de cristal identificados con los mismos datos que la caja Petri. Los viales se taparon con una torunda de algodón. Los viales con los huevos se incubaron bajo las mismas condiciones por 14-30 días hasta la eclosión de las larvas.

- Conteo de la eclosión

Los viales se colocaron en una estufa a 60°C por dos horas con la finalidad de matar las larvas.

Para contar los huevos eclosionados y no eclosionados, primero se homogeneizó el contenido de cada vial. Se tomó una muestra aleatoria, lo suficientemente grande para llenar un campo de 100mm^2 . Con ayuda de un microscopio estereoscópico se contaron los huevos sin eclosionar y los cascarones de todo el campo.

- Parámetros evaluados

Porcentaje de hembras que ovipositaron. Se calculó tomando los datos del número de hembras que ovipositaron en cada grupo tratado y controles, empleando la siguiente fórmula, figura 8.

$\frac{\text{Hembras que ovipositaron}}{\text{Hembras totales}} \times 100 = \text{Porcentaje de hembras que ovipositaron}$

Figura 8. Fórmula para calcular el porcentaje de hembras que ovipositaron.

Índice de oviposición. Para calcular el porcentaje de inhibición de oviposición de cada grupo, primero se calculó el índice de oviposición (IO) (figura 9).

$$(g) \text{ IO} = \frac{\text{Peso de huevos}}{\text{Peso de hembras (g)}}$$

Figura 9. Fórmula para calcular el índice de oviposición.

Porcentaje de inhibición de la oviposición. Este valor se obtiene a partir del IO. Se calculó el porcentaje de inhibición de oviposición de cada grupo con la fórmula de la figura 8 (Sardá-Ribeiro, *et al.*, 2007).

$$\% \text{ de IO} = \frac{\text{IO grupo testigo} - \text{IO grupo tratado}}{\text{IO grupo testigo}} \times 100$$

Figura 10. Fórmula para calcular el porcentaje de inhibición de oviposición.

- Índice de Resistencia. Este valor se obtiene con la siguiente fórmula (Bianchi *et al.* 2002)

$$\text{IR} = \frac{\text{CIE}_{50} \text{ Resistente}}{\text{CIE}_{50} \text{ susceptible}}$$

Figura 11. Fórmula para calcular el índice de resistencia por medio de AIT

El criterio para decidir si la cepa es o no resistente fue el siguiente (Bianchi *et al.* 2002):

- Susceptible (IR ≤ 3)
- Tolerante (3 ≥ IR ≥ 5)
- Resistente (IR ≥ 5)

Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los datos de mortalidad de larvas (TPL), índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión (TIA) se realizó por ANOVA de una vía con un nivel de confianza del 95%, con el “software Statistica 7 de StatSoft®”. También se realizó la prueba Tukey con el mismo software; dicho análisis se realizó para determinar los grupos con efecto estadísticamente significativo en relación al grupo testigo.

Los datos de mortalidad de larvas obtenidos por medio de la Técnica de Paquete de Larvas se analizaron por medio de metodología Probit (dosis-respuesta), usando el software Polo-Plus (Le-Ora, 2004). Este análisis permitió conocer las concentraciones letales 10, 50, 90 y 99, con un intervalo de confianza (I.C) del 95%.

Los datos de eclosión de larvas obtenidos de la TIA, también fueron analizados por metodología Probit, para determinar las concentraciones de Inhibición de la Eclosión (CIE) 10, 50, 90 y 99.

RESULTADOS

Mantenimiento de la cepa de garrapatas *B. microplus*

Durante el tiempo de realización del estudio se obtuvieron tres generaciones de la cepa de *Boophilus microplus* “San Alfonso”, dos generaciones de la cepa “La Mora”, resistentes a ixodicidas comerciales. También se logró aislar garrapatas de campo y obtener dos generaciones de dichas garrapatas. La fase parásita de las garrapatas se mantuvo mediante la infestación artificial de bovinos en las instalaciones de posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. La fase no parásita se mantuvo en el laboratorio UIMSA 1, de la misma facultad.

El mantenimiento de estas cepas proporcionó el material biológico (larvas y adultas) suficiente para la realización de las técnicas de Paquete de Larvas e Inmersión de Adulta de este proyecto.

Resultados de la Técnica de Paquete de larvas

En las tablas 3, 4 y 5, se muestran los datos obtenidos de la mortalidad de larvas producida por el carbamato LQM938 en las cepas “San Alfonso”, “La Mora” y en las garrapatas de campo respectivamente. No se observó una mortalidad significativa a las concentraciones utilizadas en este primer ensayo, por lo cual, se realizó otra serie de diluciones, que fueron probadas nuevamente en todas las cepas. Estos datos se muestran en las tablas 6 (cepa “San Alfonso”), 7 (cepa “La Mora”) y 8 (campo).

El carbamato LQM934 también fue probado en las cepas ya mencionadas, los datos de mortalidad media se muestran en las tablas 9 (cepa “San Alfonso”), 10 (cepa “La Mora”) y 11 (campo).

La mortalidad producida por los carbamatos LQM938 y LQM934, demostraron tener efecto significativo en relación al grupo testigo, por lo cual fueron sometidos a un análisis Probit, donde se obtuvieron las concentraciones letales 10, 50, 90 y 99, (tabla 12 y 13) .

Índice de resistencia

Los datos de índice de resistencia a los productos LQM934 y LQM938 en las cepas ya mencionadas, se muestran en la tabla 14. Estos datos se obtuvieron relacionando las CL₅₀ de estos ensayos, con la CL₅₀ de una cepa susceptible de referencia obtenidos en análisis previos (Prado, 2009). Los índices de resistencia de los productos fueron ≤ 3 , por lo cual se los consideran como susceptibles a estos carbamatos.

Resultados de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas

Los seis carbamatos (LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996) evaluados por medio de la TIA, sobre la cepa “San Alfonso”, “La Mora” y las garrapatas aisladas de campo, tuvieron efecto significativo ($p \leq 0.005$) sobre el aumento de porcentaje de inhibición de oviposición y en la disminución del porcentaje de eclosión de las larvas.

Estos carbamatos también afectaron las características físicas de los huevos ovipositados por las garrapatas de las diferentes cepas tratadas, ya que si bien el porcentaje de hembras que ovipositaron no fue significativa ($p \geq 0.5$), los huevos se observaron desecados y con poca adherencia entre ellos (figura 12).



Figura 12. a) Oviposición de garrapatas *B. microplus*, de un grupo testigo de la cepa "San Alfonso".
b) Oviposición de garrapatas *B. microplus*, la cepa "San Alfonso", sometidas a tratamiento con el carbamato LQM919 (a una concentración de 1mg/ml).

Los resultados obtenidos de cada uno de los carbamatos en cada una de las cepas son los siguientes:

- **Cepa “San Alfonso”**

Los resultados obtenidos de la evaluación por medio de la TIA con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 en la cepa “San Alfonso” se muestran en las tablas 15 a 20 y en las figuras 13 a 18, respectivamente, en los cuales se demuestra la efectividad de dichos carbamatos sobre la cepa triple resistente, ya que los seis carbamatos mostraron un efecto significativo sobre los índices de oviposición, porcentajes de inhibición de oviposición y porcentajes de eclosión a la concentración de 1mg/mL, sin embargo, los carbamatos con mayor efecto fueron LQM904, LQM919 y LQM996, los cuales tuvieron un efecto significativo en concentraciones de hasta 0.25mg/mL. También se muestra que los carbamatos no tuvieron efecto significativo sobre el porcentaje de oviposición a ninguna concentración.

- **Cepa “La Mora”**

La evaluación de los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 en la cepa Mora (con características de doble resistencia) por medio de la TIA, se muestran en las tablas 21 a 26 y figuras 19 a 24, respectivamente, en los cuales se demuestra la efectividad de los carbamatos sobre los índices de oviposición, porcentajes de inhibición de oviposición y porcentajes de eclosión a la concentración de 1mg/mL. Los carbamatos con mayor efecto sobre estos valores fueron LQM914, LQM919 y LQM996, éstos tuvieron un efecto significativo en concentraciones de hasta 0.25mg/mL. También se muestra que los carbamatos no tuvieron efecto significativo sobre el porcentaje de oviposición a ninguna concentración.

- **Garrapatas aisladas de Campo**

Las tablas 27 a 32 y las figuras 25 a 30 muestran los resultados de la evaluación de los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996, respectivamente, por medio de la TIA en las garrapatas aisladas de campo. Los carbamatos LQM904, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996, tuvieron efecto significativo sobre los índices de oviposición, porcentajes de inhibición de oviposición y porcentajes de eclosión a concentraciones de 0.25mg/mL, mientras que el LQM906 tuvo efecto significativo sobre estos valores únicamente a la concentración de 1mg/mL. Ninguno de los carbamatos mostró efecto sobre el porcentaje de oviposición.

Concentraciones de Inhibición de Eclosión (CIE)

Los datos obtenidos de los porcentajes de eclosión de larvas, de los ensayos de la TIA con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917 LQM919 LQM996, en cada una de las cepas, fueron sometidos al análisis Probit. Los resultados de dicho análisis se muestran en la tabla 33 para la cepa “San Alfonso”, tabla 34, para la cepa “La Mora” y la tabla 35 en el caso de las garrapatas aisladas de campo. El análisis demostró que todos los carbamatos tuvieron efecto tanto sobre las cepas “San Alfonso” y “La Mora”, así como sobre las garrapatas obtenidas de campo, inhibiendo la eclosión de larvas, aunque cabe mencionar que para lograr este efecto, las concentraciones de los carbamatos presentaron variación tanto entre el carbamato utilizado como en la cepa tratada. Con base a las concentraciones requeridas para inhibir la eclosión podemos decir, que el producto más eficaz fue el LQM996, ya que obtuvo las CIE más bajas en todas las cepas tratadas, en comparación con los otros carbamatos. En el caso de la cepa “San Alfonso” fueron $CIE_{50}=0.077\text{mg/mL}$ y $CIE_{99}=0.589\text{mg/mL}$; en la cepa “La Mora” fueron: $CIE_{50}=0.082\text{mg/mL}$ y $CIE_{99}=0.452\text{mg/mL}$; y en las garrapatas de campo, $CIE_{50}=0.129\text{mg/mL}$ y $CIE_{99}=0.265\text{mg/mL}$. Cabe mencionar que el producto que en general requirió mayores concentraciones para lograr la inhibición de la eclosión fue el LQ906.

Índice de Resistencia

Las CIE₅₀ obtenidas de las pruebas de TIA, sirvieron para obtener los valores de índice de resistencia para cada uno (tabla 36), en relación a los datos obtenidos en análisis previos sobre una cepa susceptible de referencia (Prado, 2009), los cuales en general fueron ≤ 3 , por lo que se puede considerar que fueron susceptibles a estos carbamatos. Los valores de índice de resistencia para LQM914 no se pudieron obtener, debido a que en las pruebas anteriores realizadas en una cepa susceptible, éste no se adecuó al modelo Probit. Sin embargo, dicho carbamato tuvo el efecto de inhibir completamente la eclosión de larvas a la concentración de 0.25mg/mL.

CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración (%) de LQM938	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	35.11 \pm 16.36	P \geq 0.05	-3.56 - 73.80
0.25	58.76 \pm 13.61	P \leq 0.001	26.57 - 90.95
0.235	73.72 \pm 10.31	P \leq 0.001	49.33 - 98.10
0.220	54.01 \pm 5.46	P \leq 0.001	41.10 - 66.93
0.205	59.27 \pm 12.13	P \leq 0.001	30.57 - 87.96
0.190	43.74 \pm 8.20	P \geq 0.05	24-34 - 63.14
0.175	33.22 \pm 5.66	P \geq 0.05	19.82 - 46.62
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 3. Mortalidad de larvas de la cepa "San Alfonso" producida por el carbamato LQM938. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencia estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

CEPA "LA MORA"			
Concentración (%) de LQM938	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	69.30 \pm 11.53	P \leq 0.001	32.60 - 106.00
0.25	27.43 \pm 3.82	P \geq 0.05	15.26 - 39.61
0.235	29.64 \pm 1.21	P \geq 0.05	25.77 - 33.51
0.220	27.48 \pm 7.46	P \geq 0.05	3.72 - 51.23
0.205	24.73 \pm 4.92	P \geq 0.05	9.05 - 40.40
0.190	30.29 \pm 4.87	P \geq 0.05	14.79 - 45.80
0.175	31.20 \pm 7.50	P \geq 0.05	7.32 - 55.08
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 4. Mortalidad de larvas de la cepa "La Mora" producida por el carbamato LQM938. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

GARRAPATAS DE CAMPO			
Concentración (%) de LQM938	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	97.88 \pm 0.78	P \leq 0.001	96.02 - 99.73
0.25	96.37 \pm 2.07	P \leq 0.001	91.48 - 101.27
0.235	95.94 \pm 1.15	P \leq 0.001	93.21 - 98.66
0.220	94.16 \pm 2.38	P \leq 0.001	88.51 - 99.81
0.205	93.59 \pm 1.90	P \leq 0.001	89.10 - 98.09
0.190	67.13 \pm 7.72	P \leq 0.001	48.86 - 85.40
0.175	77.23 \pm 6.15	P \leq 0.001	62.68 - 91.79
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 5. Mortalidad de larvas de garrapatas aisladas de campo, producida por el carbamato LQM938. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

CEPA SAN ALFONSO			
Concentración (%) de LQM938	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	93.82 \pm 0.62	P \leq 0.001	91.83 - 95.82
0.5	94.18 \pm 0.75	P \leq 0.001	91.79 - 96.58
0.25	70.97 \pm 4.45	P \leq 0.001	56.78 - 85.15
0.125	22.10 \pm 3.12	P \leq 0.001	12.17 - 32.03
0.065	3.61 \pm 1.03	P \geq 0.05	0.33 - 6.89
0.03125	4.14 \pm 2.56	P \geq 0.05	-4.02 - 12.31
0.015625	4.39 \pm 2.80	P \geq 0.05	-4.54 - 13.32
0.0078125	6.60 \pm 1.93	P \geq 0.05	0.45 - 12.75
0.00390625	4.30 \pm 1.90	P \geq 0.05	-1.74 - 10.35
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 6. Mortalidad de larvas de la cepa "San Alfonso" producida por el carbamato LQM938. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencia estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía)

CEPA "LA MORA"			
Concentración (%) de LQM938	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	96.70 \pm 2.97	P \leq 0.001	87.23 \pm 106.17
0.5	89.97 \pm 7.23	P \leq 0.001	66.94 - 113.00
0.25	84.42 \pm 4.77	P \leq 0.001	69.23 - 99.62
0.125	28.69 \pm 4.05	P \leq 0.001	15.80 - 41.58
0.065	7.59 \pm 2.49	P \geq 0.05	-0.33 - 15.52
0.03125	8.59 \pm 2.01	P \geq 0.05	2.17 - 15.02
0.015625	12.56 \pm 4.10	P \geq 0.05	-0.49 - 25.62
0.0078125	12.22 \pm 0.80	P \geq 0.05	9.67 - 14.78
0.00390625	5.41 \pm 0.83	P \geq 0.05	2.75 - 8.06
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 7. Mortalidad de larvas de la cepa "La Mora" producida por el carbamato LQM938. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencia estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

GARRAPATAS DE CAMPO			
Concentración (%) de LQM938	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	99.79 \pm 0.20	P \leq 0.001	99.26 - 100.32
0.5	99.07 \pm 0.57	P \leq 0.001	97.58 - 100.55
0.25	99.61 \pm 0.26	P \leq 0.001	98.92 - 100.30
0.125	64.80 \pm 8.14	P \leq 0.001	43.87 - 85.73
0.065	24.99 \pm 5.21	P \leq 0.001	11.58 - 39.39
0.03125	7.35 \pm 1.54	P \geq 0.05	3.36 - 11.33
0.015625	6.41 \pm 0.84	P \geq 0.05	4.25 - 8.58
0.0078125	6.76 \pm 2.09	P \geq 0.05	1.37 - 12.15
0.00390625	6.32 \pm 1.64	P \geq 0.05	2.09 - 10.56
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 8. Mortalidad de larvas de garrapatas aislada de campo, producida por el carbamato LQM938. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración (%) de LQM934	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	77.16 \pm 3.04	$P \leq 0.001$	69.96 - 84.36
0.91	46.11 \pm 9.27	$P \leq 0.001$	24.18 - 68.04
0.82	40.51 \pm 10.14	$P \leq 0.001$	16.52 - 64.50
0.73	40.53 \pm 10.37	$P \leq 0.001$	16.00 - 65.05
0.64	50.98 \pm 5.47	$P \leq 0.001$	38.02 - 63.93
0.55	21.11 \pm 6.49	$P \geq 0.05$	5.74 - 36.48
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 9. Mortalidad de larvas de la cepa "San Alfonso" producida por el carbamato LQM934. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencia estadística ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

CEPA "LA MORA"			
Concentración (%) de LQM934	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	77.72 \pm 5.20	P \leq 0.001	61.16 - 94.29
0.91	63.54 \pm 6.78	P \leq 0.001	41.95 - 85.12
0.82	45.24 \pm 5.71	P \leq 0.001	27.05 - 63.42
0.73	23.58 \pm 4.16	P \geq 0.05	10.34 - 36.83
0.64	7.38 \pm 2.24	P \geq 0.05	0.24 - 14.52
0.55	2.73 \pm 1.20	P \geq 0.05	-1.09 - 6.56
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 10. Mortalidad de larvas de la cepa "La Mora" producida por el carbamato LQM934. Se presenta la media y el error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencia estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

GARRAPATAS DE CAMPO			
Concentración (%) de LQM934	Mortalidad Media (\pm E.E.)	Valor p	I.C. 95%
1	88.51 \pm 2.60	P \leq 0.001	82.36 - 94.66
0.91	27.77 \pm 3.74	P \leq 0.001	18.92 - 36.62
0.82	15.83 \pm 4.58	P \leq 0.001	4.99 - 26.68
0.73	10.87 \pm 1.84	P \geq 0.05	6.51 - 15.24
0.64	7.62 \pm 1.39	P \geq 0.05	4.32 - 10.93
0.55	4.41 \pm 1.67	P \geq 0.05	0.45 - 8.38
Testigo	0.00 \pm 0.00		

Tabla 11. Mortalidad de larvas de garrapatas aisladas de campo, producida por el carbamato LQM934. Se presenta la media y su error estándar (\pm EE), el valor p y el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias de los datos de mortalidades obtenidos de ocho repeticiones de la Técnica de Paquete de Larvas. Los asteriscos (*) indican las diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre ese grupo tratado y el testigo (Anova una vía).

CARBAMATO LQM938 (ANÁLISIS PROBIT)					
CEPA SAN ALFONSO		CEPA LA MORA		GARRAPATAS DE CAMPO	
CONCENTRACIÓN LETAL (%)	INTERVALO DE CONFIANZA 95%	CONCENTRACIÓN LETAL (%)	INTERVALO DE CONFIANZA	CONCENTRACIÓN LETAL (%)	INTERVALO DE CONFIANZA
CL ₁₀ =0.036	0.023 - 0.051	CL ₁₀ =0.023	0.014 - 0.032	CL ₁₀ =0.048	0.036 - 0.059
CL ₅₀ =0.167	0.127 - 0.224	CL ₅₀ =0.137	0.101 - 0.193	CL ₅₀ =0.102	0.089 - 0.117
CL ₉₀ =0.764	0.515 - 1.332	CL ₉₀ =0.822	0.504 - 1.679	CL ₉₀ =0.215	0.177 - 0.290
CL ₉₉ =2.644	1.486 - 6.195	CL ₉₉ =3.548	1.727 - 10.530	CL ₉₉ =0.395	0.293 - 0.648

Tabla 12. Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la mortalidad de larvas sometidas a TPL con el carbamato LQM938 a diferentes concentraciones en las cepas "San Alfonso", "La Mora" y en garrapatas obtenidas de campo. Muestra las concentraciones letales (CL₁₀, CL₅₀, CL₉₀ y CL₉₉) en cada cepa.

CARBAMATO LQM934 (ANÁLISIS PROBIT)					
CEPA SAN ALFONSO		CEPA LA MORA		GARRAPATAS DE CAMPO	
CONCENTRACIÓN LETAL (%)	INTERVALO DE CONFIANZA	CONCENTRACIÓN LETAL (%)	INTERVALO DE CONFIANZA	CONCENTRACIÓN LETAL (%)	INTERVALO DE CONFIANZA
CL ₁₀ =0.382	0.145 - 0.503	CL ₁₀ =0.654	0.622 - 0.680	CL ₁₀ =0.812	0.620 - 0.861
CL ₅₀ = 0.825	0.735 - 0.975	CL ₅₀ =0.851	0.829 - 0.877	CL ₅₀ =0.930	0.897 - 0.961
CL ₉₀ =1.781	1.304 - 5.392	CL ₉₀ =1.108	1.054 - 1.184	CL ₉₀ = 1.065	1.006 - 1.381
CL ₉₉ =3.334	1.954 - 23.147	CL ₉₉ =1.373	1.271 - 1.526	CL ₉₉ =1.188	1.077 - 1.906

Tabla 13. Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la mortalidad de larvas sometidas a TPL con el carbamato LQM934 a diferentes concentraciones en las cepas “San Alfonso”, “La Mora” y en garrapatas obtenidas de campo. Muestra las concentraciones letales (CL₁₀, CL₅₀, CL₉₀ y CL₉₉) en cada cepa.

Carbamato	Índice de Resistencia “San Alfonso”	Índice de Resistencia “La Mora”	Índice de Resistencia “Campo”
LQM934	1.2810	1.3214	1.4440
LQM938	0.7389	0.6061	0.4513

Tabla 14. Índice de resistencia a los carbamatosnLQM934 y LQM938 de la cepa “San Alfonso”, “La Mora” y las garrapatas obtenidas de campo.

CARBAMATO: LQM 904 CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.11 (±0.01)*	68.55 (±3.85)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.14 (±0.01)*	58.89 (±4.66)*	11.87 (±2.83)*
(0.25 mg/mL)	0.15 (±0.02)*	55.41 (±6.40)*	50.54 (±3.98)*
(0.125 mg/mL)	0.27 (±0.01)*	24.81 (±2.85)*	61.83 (±1.72)
(0.0625 mg/mL)	0.32 (±0.01)	10.32 (±3.24)	67.25 (±2.60)
(0.03125 mg/mL)	0.32 (±0.01)	11.09 (±5.81)	66.63 (±1.15)
Testigo (H ₂ O)	0.37 (±0.02)	0.00 (±0.00)	65.55 (±1.70)
Testigo (DMSO)	0.38 (±0.01)	-5.75(±4.55)	66.29 (±1.05)

Tabla 15. Efectividad del carbamato LQM904 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "San Alfonso". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 906 CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.25 (±0.01)*	27.57 (±4.43)*	0.42 (±0.35)*
(0.5 mg/mL)	0.28 (±0.02)	19.19 (±4.25)	9.36 (±2.33)*
(0.25 mg/mL)	0.33 (±0.01)	4.65 (±4.03)	21.36 (±5.71)*
(0.125 mg/mL)	0.35 (±0.01)	-0.90 (±4.48)	56.86 (±2.73)
(0.0625 mg/mL)	0.37 (±0.01)	-7.56 (±6.39)	56.08 (±1.91)
(0.03125 mg/mL)	0.36 (±0.01)	-4.21 (±4.15)	66.09 (±2.11)
Testigo (H ₂ O)	0.35 (±0.02)	0.00 (±0.00)	65.55 (±1.70)
Testigo (DMSO)	0.36 (±0.01)	-3.39 (±4.68)	66.29 (±1.05)

Tabla 16. Efectividad del carbamato LQM906 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "San Alfonso". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

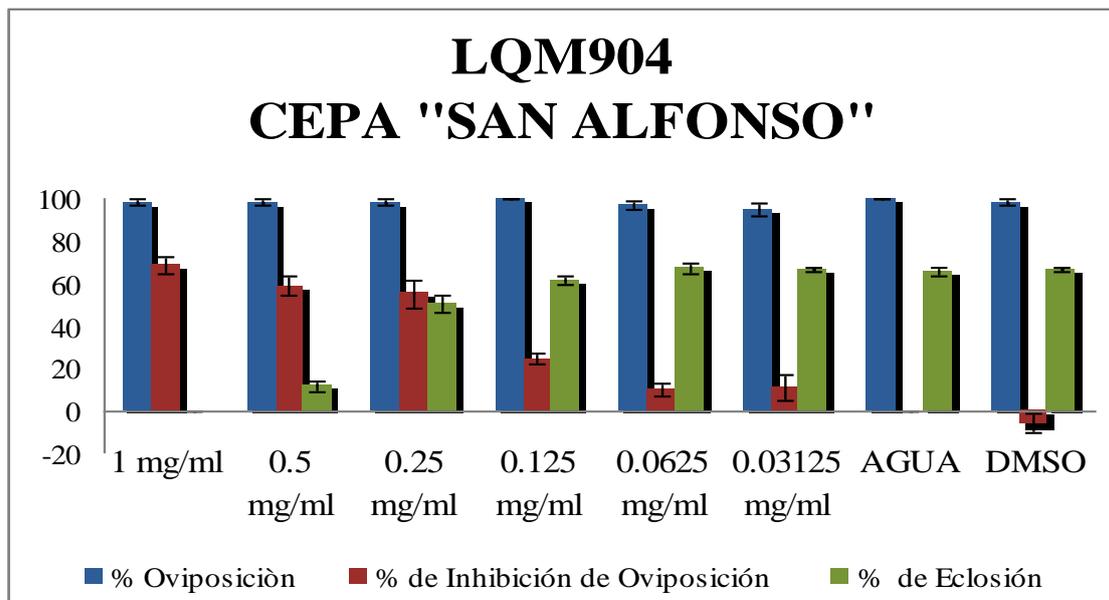


Figura 13. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM904 en la cepa "San Alfonso". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

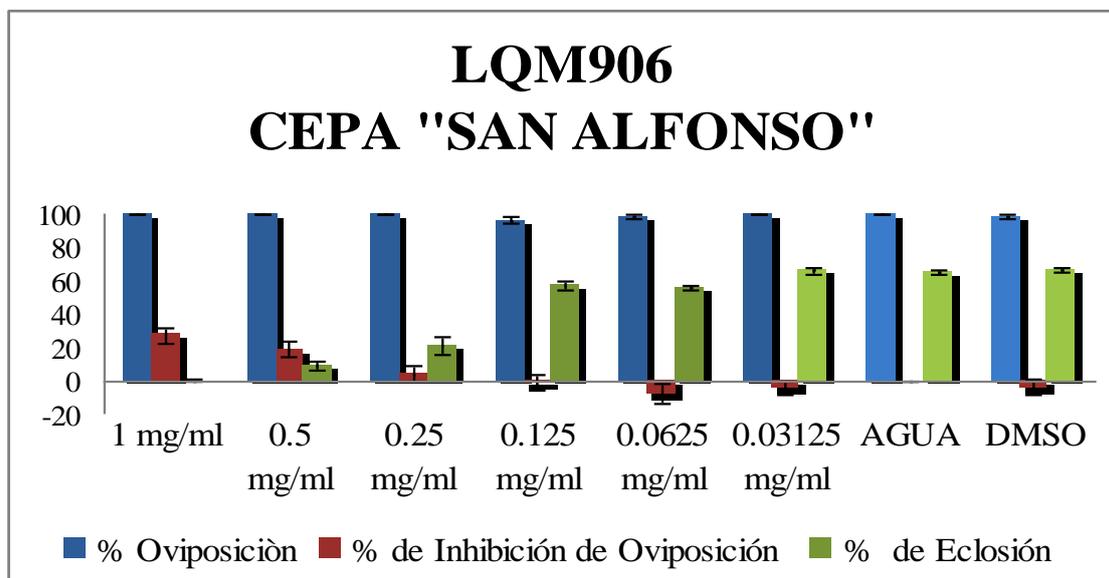


Figura 14. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM906 en la cepa "San Alfonso". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 914 CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.14 (±0.01)*	55.59 (±4.90)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.14 (±0.00)*	56.14 (±3.34)	0.55 (±0.20)*
(0.25 mg/mL)	0.17 (±0.01)*	47.74 (±5.92)*	1.22 (±0.31)*
(0.125 mg/mL)	0.27 (±0.02)	16.62 (±6.88)	32.40 (±1.97)*
(0.0625 mg/mL)	0.32 (±0.01)	2.22 (±8.44)	51.78 (±3.76)*
(0.03125 mg/mL)	0.33 (±0.02)	0.36 (±6.55)	66.76 (±2.27)
Testigo (H ₂ O)	0.33 (±0.02)	0.00 (±0.00)	71.17 (±3.73)
Testigo (DMSO)	0.34 (±0.02)	-5.18 (±9.91)	72.01 (±1.60)

Tabla 17. Efectividad del carbamato LQM914 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "San Alfonso". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 917 CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.15 (±0.01)*	52.26 (±5.49)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.17 (±0.02)*	45.19 (±7.99)*	2.08 (±0.61)*
(0.25 mg/mL)	0.27 (±0.01)	14.95 (±6.23)	10.46 (±1.29)*
(0.125 mg/mL)	0.27 (±0.01)	14.79 (±6.21)	26.08 (±3.32)*
(0.0625 mg/mL)	0.31 (±0.03)	4.31 (±9.92)	44.45 (±8.68)*
(0.03125 mg/mL)	0.32 (±0.01)	-1.01 (±6.03)	50.58 (±6.80)*
Testigo (H ₂ O)	0.33 (±0.02)	0.00 (±0.00)	70.50 (±2.87)
Testigo (DMSO)	0.36 (±0.01)	-13.65 (±7.60)	74.35 (±1.77)

Tabla 18. Efectividad del carbamato LQM917 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "San Alfonso". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

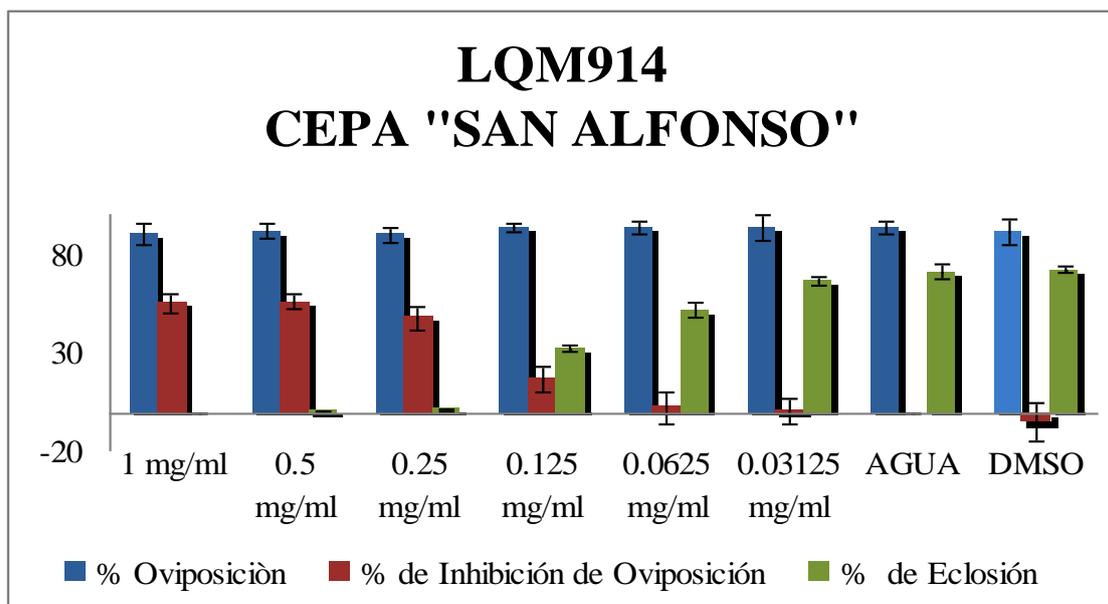


Figura 15. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM914 en la cepa "San Alfonso". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

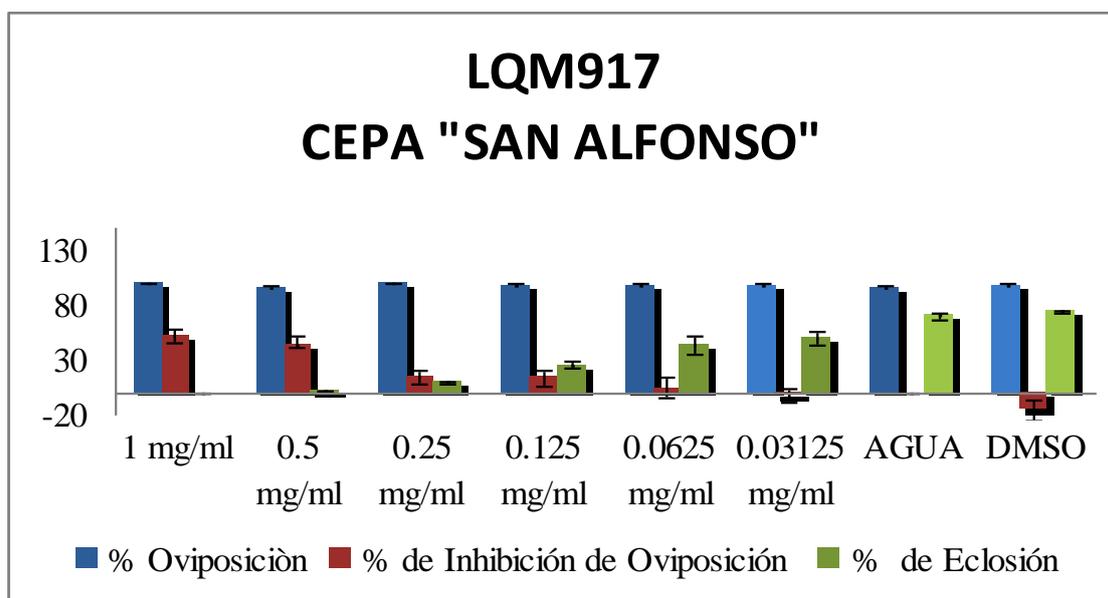


Figura 16. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM917 en la cepa "San Alfonso". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 919 CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.07 (±0.01)*	75.42 (±3.28)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.09 (±0.01)*	68.36 (±3.98)*	1.09 (±0.68)*
(0.25 mg/mL)	0.12 (±0.01)*	59.22 (±5.24)*	5.12 (±1.59)*
(0.125 mg/mL)	0.18 (±0.01)*	39.51 (±5.73)*	13.90 (±2.14)*
(0.0625 mg/mL)	0.24 (±0.01)*	20.04 (±5.11)	25.14 (±3.80)*
(0.03125 mg/mL)	0.28 (±0.01)	5.73 (±7.24)	43.13 (±4.28)*
Testigo (H ₂ O)	0.30 (±0.01)	0.00 (±0.00)	72.25 (±0.38)
Testigo (DMSO)	0.30 (±0.01)	-0.60 (±6.98)	69.45 (±0.59)

Tabla 19. Efectividad del carbamato LQM904 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "San Alfonso". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 996 CEPA "SAN ALFONSO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.10 (±0.01)*	63.48 (±3.84)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.11 (±0.00)*	63.34 (±3.15)*	0.78 (±0.28)*
(0.25 mg/mL)	0.17 (±0.01)*	42.67 (±5.40)*	7.68 (±1.81)*
(0.125 mg/mL)	0.21 (±0.00)*	29.44 (±2.32)*	23.67 (±3.25)*
(0.0625 mg/mL)	0.27 (±0.01)	10.83 (±2.77)	39.94 (±2.54)*
(0.03125 mg/mL)	0.29 (±0.02)	-0.12 (±9.18)	67.49 (±2.20)*
Testigo (H ₂ O)	0.30 (±0.00)	0.00 (±0.00)	71.42 (±1.73)
Testigo (DMSO)	0.34 (±0.01)	-14.59 (±5.42)	71.46 (±1.26)

Tabla 20. Efectividad del carbamato LQM996 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "San Alfonso". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

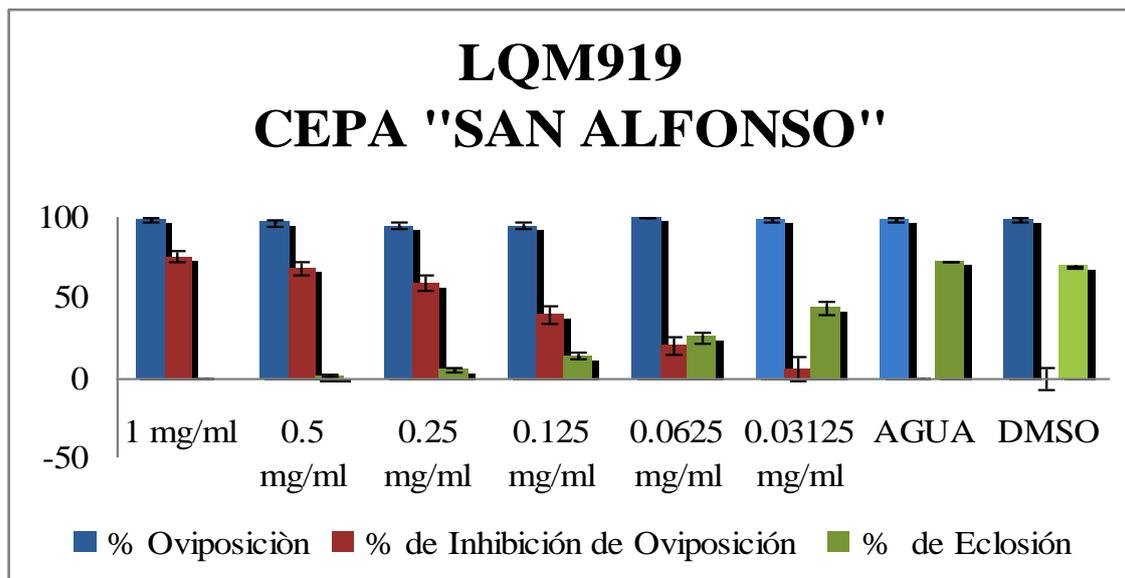


Figura 17. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM919 en la cepa "San Alfonso". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

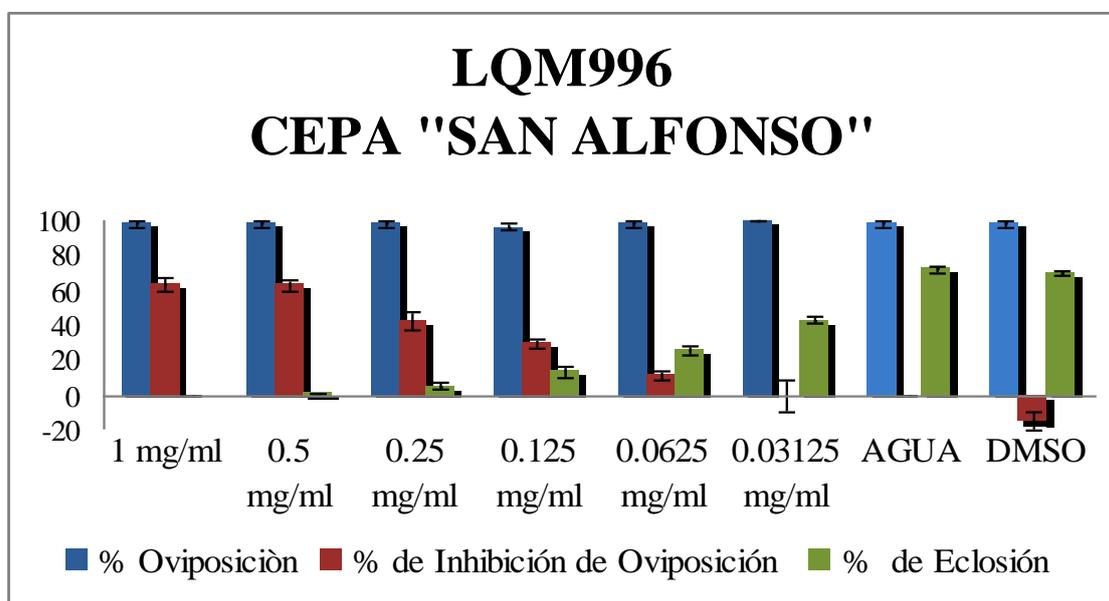


Figura 18. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM996 en la cepa "San Alfonso". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 904 CEPA "LA MORA"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.18 (±0.01)*	48.09 (±7.09)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.21 (±0.02)*	40.44 (±6.06)*	0.47 (±0.23)*
(0.25 mg/mL)	0.26 (±0.01)*	25.54 (±6.14)	9.45 (±1.54)*
(0.125 mg/mL)	0.34 (±0.02)	3.73 (±9.60)	59.71 (±6.71)*
(0.0625 mg/mL)	0.40 (±0.02)	-14.66 (±14.48)	53.38 (±2.06)*
(0.03125 mg/mL)	0.36 (±0.02)	-2.78 (±7.67)	64.90 (±1.56)
Testigo (H ₂ O)	0.37 (±0.03)	0.00 (±0.00)	74.33 (±2.75)
Testigo (DMSO)	0.38 (±0.02)	-7.36 (±8.75)	69.66 (±2.52)

Tabla 21. Efectividad del carbamato LQM904 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "La Mora". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 906 CEPA "LA MORA"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.28 (±0.01)*	33.46 (±5.12)*	1.82 (±0.45)*
(0.5 mg/mL)	0.35 (±0.02)	17.51 (±5.69)	9.14 (±2.84)*
(0.25 mg/mL)	0.35 (±0.02)	17.76 (±5.71)	28.97 (±8.47)*
(0.125 mg/mL)	0.41 (±0.02)	2.13 (±8.12)	48.48 (±8.29)*
(0.0625 mg/mL)	0.37 (±0.01)	12.16 (±5.46)	60.55 (±2.39)
(0.03125 mg/mL)	0.37 (±0.02)	13.12 (±7.48)	73.74 (±4.24)
Testigo (H ₂ O)	0.44 (±0.02)	0.00 (±0.00)	74.33 (±2.75)
Testigo (DMSO)	0.36 (±0.02)	14.52 (±7.93)	69.66 (±2.52)

Tabla 22. Efectividad del carbamato LQM906 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "La Mora". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

LQM904 CEPA "LA MORA"

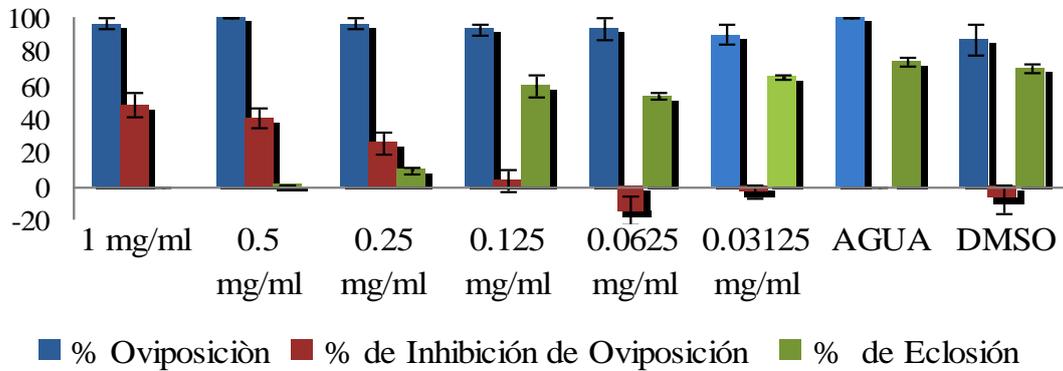


Figura 19. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM904 en la cepa "La Mora". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

LQM906 CEPA "LA MORA"

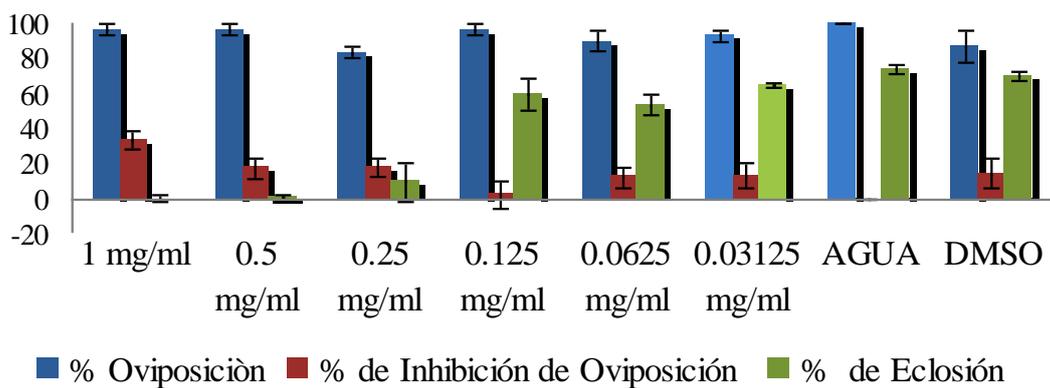


Figura 20. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM906 en la cepa "La Mora". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 914 CEPA "LA MORA"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.17 (±0.02)*	50.07 (±3.84)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.15 (±0.01)*	59.15 (±3.34)*	0.42 (±0.22)*
(0.25 mg/mL)	0.18 (±0.01)*	50.34 (±4.23)*	10.56 (±4.47)*
(0.125 mg/mL)	0.26 (±0.03)	25.59 (±10.02)	45.46 (±8.41)*
(0.0625 mg/mL)	0.36 (±0.01)	-1.30 (±8.15)	66.46 (±3.43)
(0.03125 mg/mL)	0.38 (±0.02)	-6.80 (±8.97)	67.09 (±8.00)
Testigo (H ₂ O)	0.37 (±0.03)	0.00 (±0.00)	74.33 (±2.75)
Testigo (DMSO)	0.38 (±0.02)	-7.19 (±8.70)	69.66 (±2.52)

Tabla 23. Efectividad del carbamato LQM914 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "La Mora". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 917 CEPA "LA MORA"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.15 (±0.00)*	52.55 (±4.11)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.21 (±0.01)*	36.97 (±4.32)*	0.14 (±0.14)*
(0.25 mg/mL)	0.28 (±0.01)*	13.42 (±9.50)	3.46 (±0.58)*
(0.125 mg/mL)	0.35 (±0.01)	6.63 (±8.26)	23.58 (±2.50)*
(0.0625 mg/mL)	0.34 (±0.01)	-5.70 (±6.96)	23.49 (±1.28)*
(0.03125 mg/mL)	0.40 (±0.01)	-24.14 (±8.41)	66.01 (±1.61)
Testigo (H ₂ O)	0.33 (±0.02)	0.00 (±0.00)	74.33 (±2.75)
Testigo (DMSO)	0.36 (±0.01)	-12.25 (±8.19)	69.66 (±2.52)

Tabla 24. Efectividad del carbamato LQM917 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "La Mora". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

LQM914 CEPA "LA MORA"

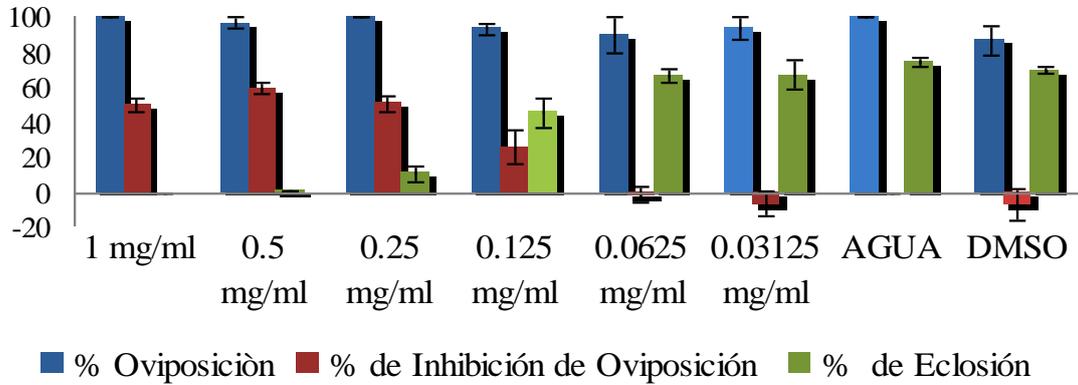


Figura 21. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM914 en la cepa "La Mora". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

LQM917 CEPA "LA MORA"

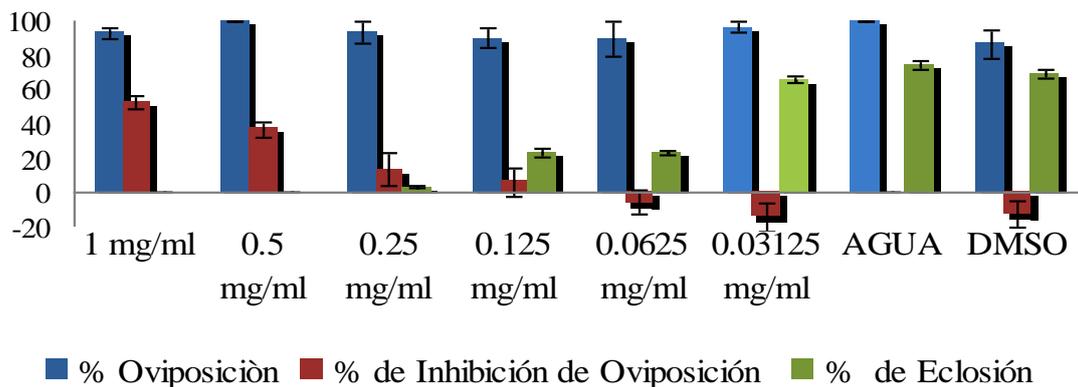


Figura 22. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM917 en la cepa "La Mora". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 919 CEPA "LA MORA"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.11 (±0.01)*	64.88 (±3.64)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.15 (±0.01)*	51.87 (±6.55)*	0.59 (±0.36)*
(0.25 mg/mL)	0.19 (±0.01)*	40.36 (±5.03)*	6.43 (±2.86)*
(0.125 mg/mL)	0.30 (±0.02)	6.35 (±9.47)	16.90 (±3.59)*
(0.0625 mg/mL)	0.32 (±0.02)	1.97 (±8.18)	31.81 (±4.88)*
(0.03125 mg/mL)	0.34 (±0.01)	-7.68 (±10.66)	44.58 (±8.63)*
Testigo (H ₂ O)	0.34 (±0.02)	0.00 (±0.00)	74.33 (±2.75)
Testigo (DMSO)	0.36 (±0.01)	-11.98 (±8.12)	69.66 (±2.52)

Tabla 25. Efectividad del carbamato LQM919 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "La Mora". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 996 CEPA "LA MORA"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.10 (±0.00)*	72.66 (±2.74)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.16 (±0.01)*	58.99 (±4.80)*	0.57 (±0.31)*
(0.25 mg/mL)	0.21 (±0.01)*	46.07 (±5.43)*	4.18 (±0.24)*
(0.125 mg/mL)	0.27 (±0.01)*	30.40 (±6.39)	24.03 (±1.01)*
(0.0625 mg/mL)	0.34 (±0.01)	10.53 (±8.15)	44.89 (±1.97)*
(0.03125 mg/mL)	0.35 (±0.02)	6.49 (±11.43)	70.92 (±2.65)*
Testigo (H ₂ O)	0.40 (±0.02)	0.00 (±0.00)	74.33 (±2.75)
Testigo (DMSO)	0.35 (±0.02)	9.46 (±4.09)	69.66 (±2.52)

Tabla 26. Efectividad del carbamato LQM996 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en la cepa "La Mora". Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

LQM919 CEPA "LA MORA"

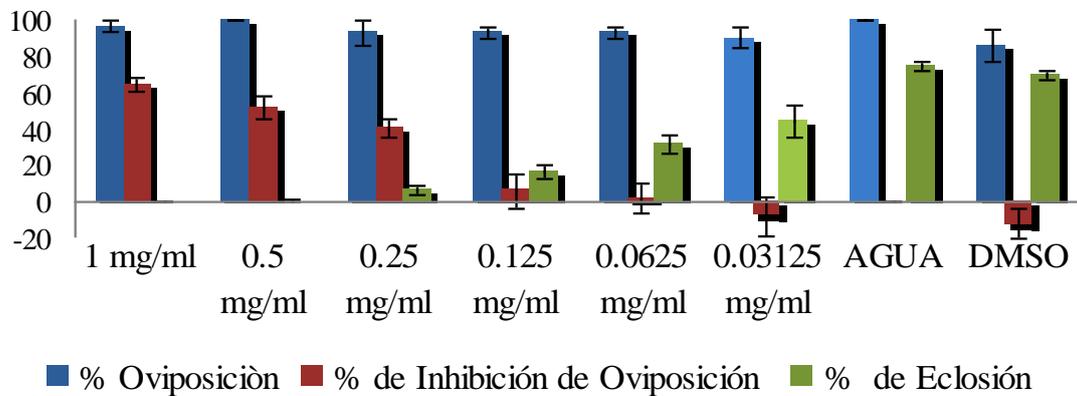


Figura 23. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM919 en la cepa "La Mora". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

LQM996 CEPA "LA MORA"

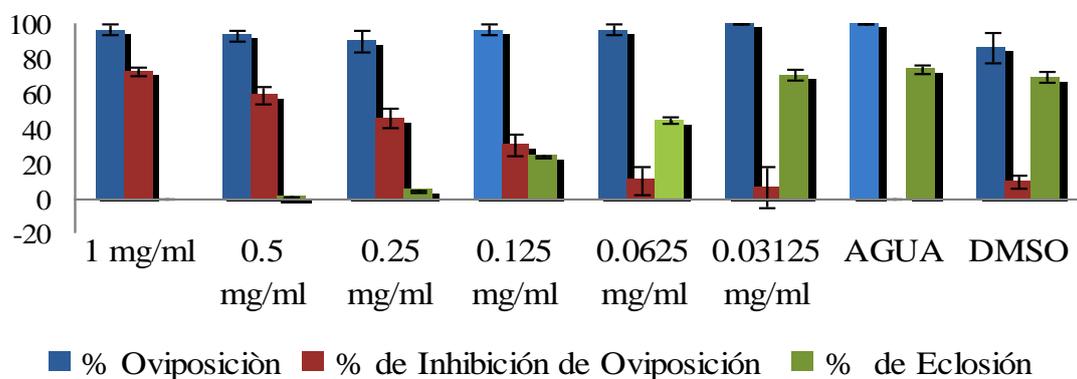


Figura 24. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM996 en la cepa "La Mora". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 904 GARRAPATAS DE "CAMPO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.15 (±0.01)*	64.35 (±3.31)*	0.32 (± 0.16)*
(0.5 mg/mL)	0.20 (±0.02)*	54.38 (±4.14)*	13.76 (±2.46)*
(0.25 mg/mL)	0.29 (±0.01)*	32.61 (±4.64)*	23.02 (±2.56)*
(0.125 mg/mL)	0.38 (±0.02)	13.59 (±2.91)	41.71 (±4.95)*
(0.0625 mg/mL)	0.42 (±0.01)	2.91 (±3.81)	64.35 (±4.50)
(0.03125 mg/mL)	0.44 (±0.02)	-0.28 (±2.23)	64.90 (±1.56)
Testigo (H ₂ O)	0.447718 (±0.02)	0.00000 (±0.00)	75.97981(±3.20)
Testigo (DMSO)	0.417140 (±0.01)	5.78294 (±4.09)	71.09291(±2.20)

Tabla 27. Efectividad del carbamato LQM904 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en las garrapatas obtenidas de campo. Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 906 GARRAPATAS DE "CAMPO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.28 (±0.01)*	34.73 (±3.69)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.39 (±0.01)	10.22 (±3.06)	4.50 (±1.74)*
(0.25 mg/mL)	0.42 (±0.01)	3.88 (±3.99)	13.81 (±4.06)*
(0.125 mg/mL)	0.44 (±0.01)	-0.04 (±4.75)	45.22 (±2.37)*
(0.0625 mg/mL)	0.46 (±)0.01	-4.21 (±3.31)	61.57 (±3.28)*
(0.03125 mg/mL)	0.46 (±0.01)	-6.16 (±6.73)	62.70 (±3.59)
Testigo (H ₂ O)	0.44 (±0.02)	0.00 (±0.00)	75.97 (±3.20)
Testigo (DMSO)	0.41 (±0.01)	5.78 (±4.09)	71.09 (±2.20)

Tabla 28. Efectividad del carbamato LQM906 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en las garrapatas obtenidas de campo. Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

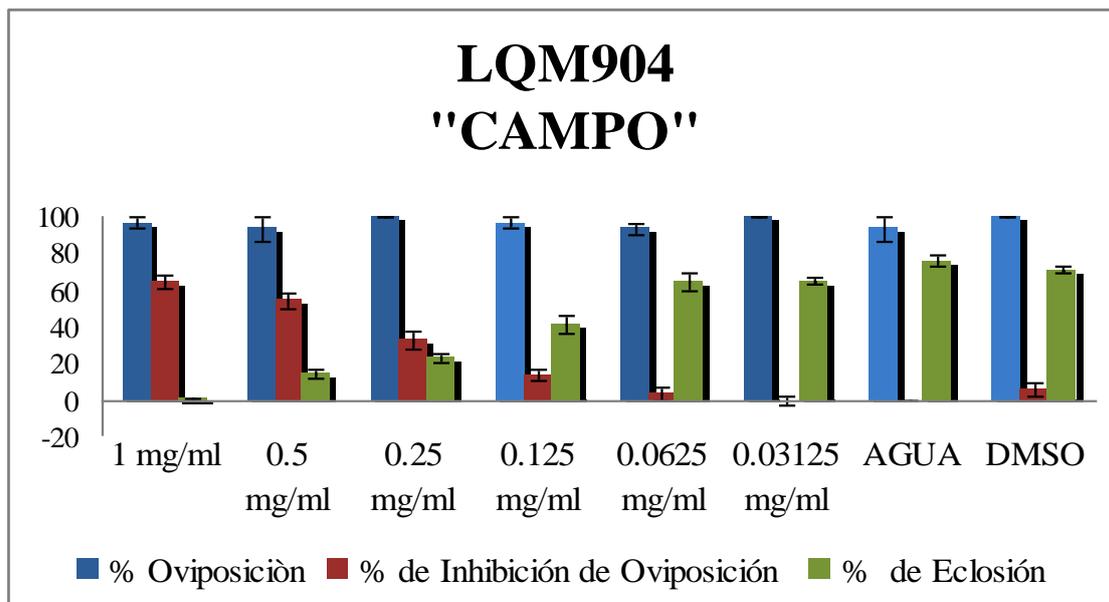


Figura 25. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM904 en las garrapatas aisladas de "Campo". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas

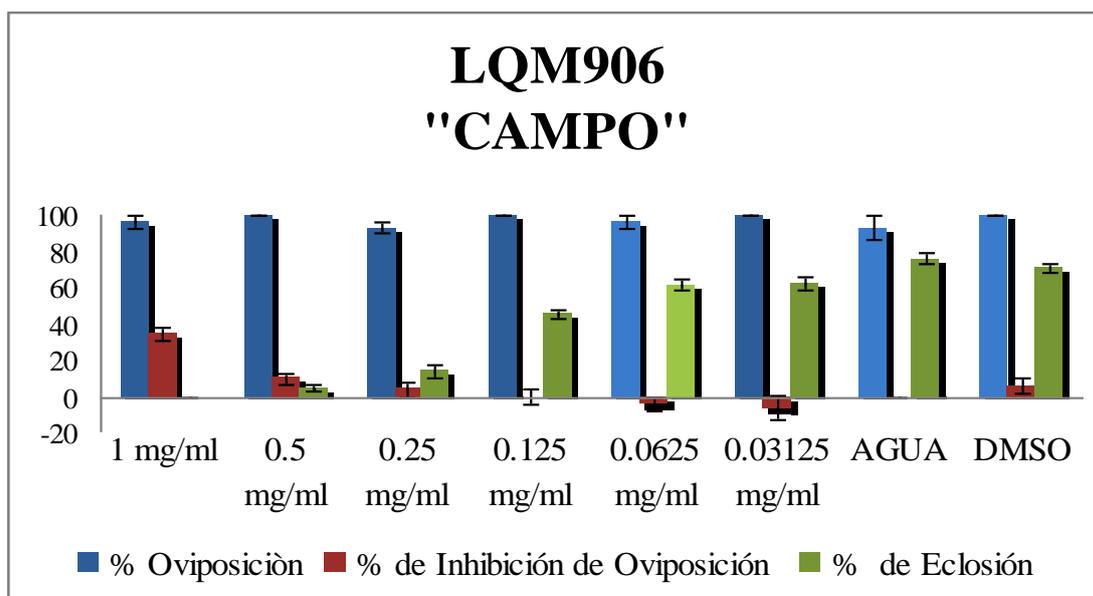


Figura 26. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM906 en las garrapatas aisladas de "Campo". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 914 GARRAPATAS DE "CAMPO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.18 (±0.01)*	58.68 (±2.07)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.19 (±0.01)*	55.65 (±0.93)*	0.87 (±0.67)*
(0.25 mg/mL)	0.19 (±0.01)*	56.95 (±2.34)*	7.96 (±2.53)*
(0.125 mg/mL)	0.35 (±0.03)	22.13 (±6.14)*	47.79 (±9.30)
(0.0625 mg/mL)	0.42 (±0.02)	5.01 (±2.83)	53.03 (±19.96)
(0.03125 mg/mL)	0.48 (±0.03)	-8.60 (±6.91)	67.39 (±5.06)
Testigo (H ₂ O)	0.44 (±0.02)	0.00 (±0.00)	75.97 (±3.20)
Testigo (DMSO)	0.41 (±0.01)	5.78 (±4.09)	71.09 (±2.20)

Tabla 29. Efectividad del carbamato LQM914 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en las garrapatas obtenidas de campo. Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 917 GARRAPATAS DE "CAMPO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.14 (±0.01)*	67.53 (±3.23)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.20 (±0.02)*	54.28 (±2.75)*	0.47 (±0.24)*
(0.25 mg/mL)	0.35 (±0.01)*	20.83 (±3.05)*	9.79 (±1.21)*
(0.125 mg/mL)	0.43 (±0.02)	2.87 (±3.24)	17.83 (±2.86)*
(0.0625 mg/mL)	0.44 (±0.01)	0.41 (±4.45)	34.19 (±12.77)*
(0.03125 mg/mL)	0.42 (±0.02)	3.13 (±6.76)	57.62 (±4.07)
Testigo (H ₂ O)	0.44 (±0.02)	0.00 (±0.00)	75.97 (±3.20)
Testigo (DMSO)	0.41 (±0.01)	5.78 (±4.09)	71.09 (±2.20)

Tabla 30. Efectividad del carbamato LQM917 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en las garrapatas obtenidas de campo. Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

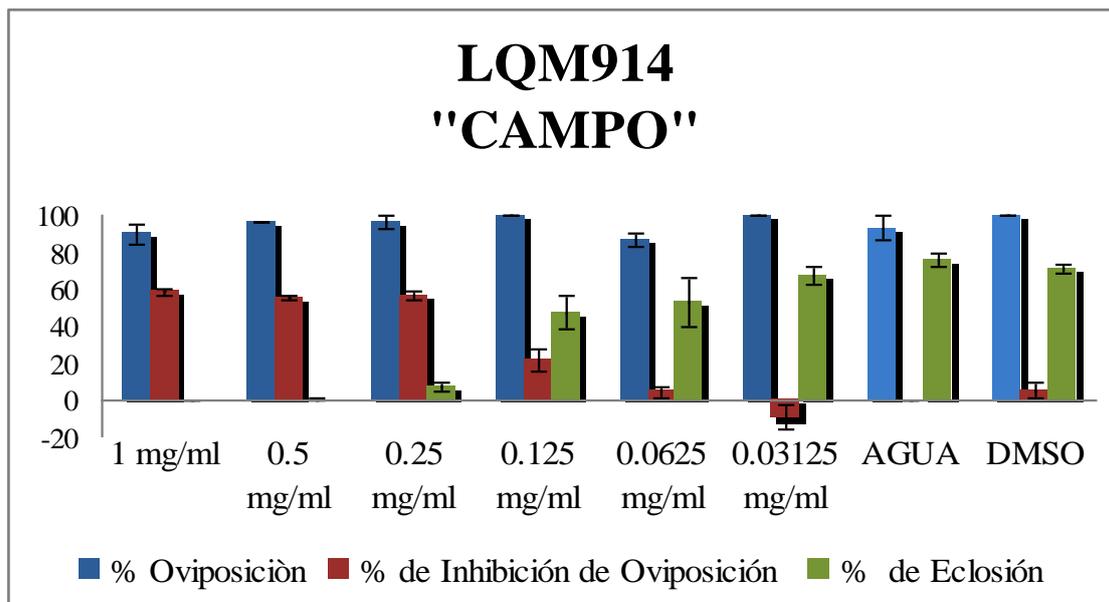


Figura 27. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM914 en las garrapatas aisladas de "Campo". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

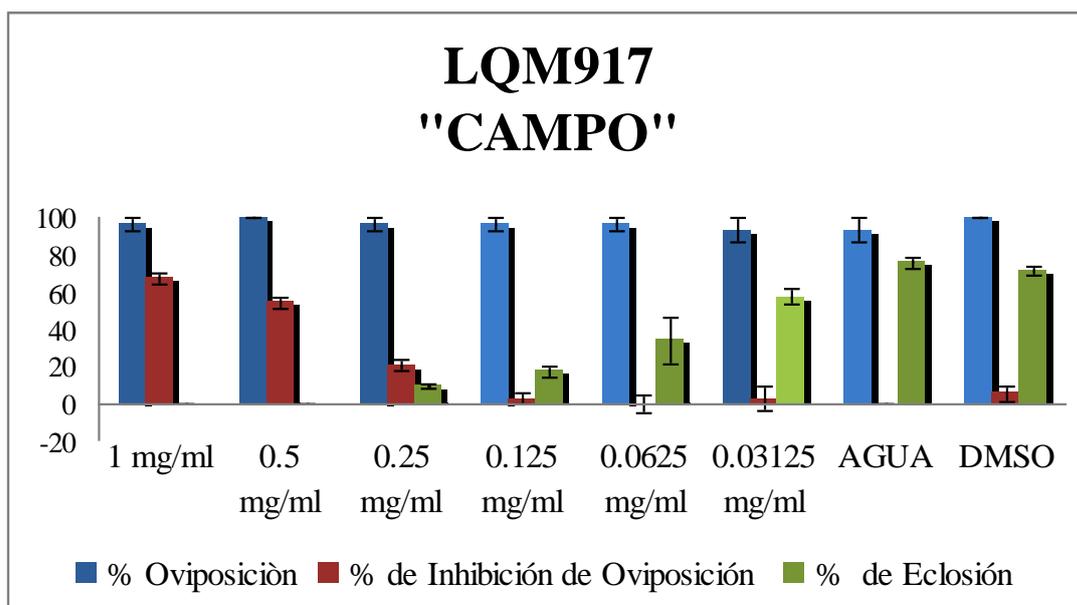


Figura 28. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM917 en las garrapatas aisladas de "Campo". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CARBAMATO: LQM 919 GARRAPATAS DE "CAMPO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.10 (±0.015)*	76.64 (±2.55)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.16 (±0.029)*	64.29 (±5.17)*	0.93 (±0.30)*
(0.25 mg/mL)	0.24 (±0.029)*	46.80 (±4.41)*	19.55 (±3.45)*
(0.125 mg/mL)	0.38 (±0.026)	14.28 (±4.51)	46.83 (±5.86)*
(0.0625 mg/mL)	0.42 (±0.022)	5.433 (±2.61)	62.87 (±5.99)
(0.03125 mg/mL)	0,44 (±0.021)	-0.81 (±4.65)	76.01 (±4.51)
Testigo (H ₂ O)	0.44 (±0.023)	0.00 (±0.00)	75.97 (±3.20)
Testigo (DMSO)	0,41 (±0.017)	5.78 (±4.09)	71.09 (±2.20)

Tabla 31. Efectividad del carbamato LQM919 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en las garrapatas obtenidas de campo. Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

CARBAMATO: LQM 996 GARRAPATAS DE "CAMPO"			
Concentración	Índice de Oviposición (±EE)	% de Inhibición de Oviposición (±EE)	% de Eclosión (±EE)
(1 mg/mL)	0.13 (±0.01)*	68.91 (±3.26)*	0.00 (±0.00)*
(0.5 mg/mL)	0.18 (±0.01)*	65.43 (±5.47)*	0.62 (±0.11)*
(0.25 mg/mL)	0.28 (±0.01)*	35.74 (±3.51)*	8.61 (±2.11)*
(0.125 mg/mL)	0.38 (±0.01)	13.36 (±2.95)	39.66 (±1.26)*
(0.0625 mg/mL)	0.45 (±0.01)	-3.17 (±3.48)	68.40 (±2.81)
(0.03125 mg/mL)	0.46 (±0.01)	-5.00 (±4.47)	68.73 (±2.14)
Testigo (H ₂ O)	0.44 (±0.02)	0.00 (±0.00)	75.97 (±3.20)
Testigo (DMSO)	0.41 (±0.01)	5.78 (±4.09)	71.09 (±2.20)

Tabla 32. Efectividad del carbamato LQM996 sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión a diferentes concentraciones en las garrapatas obtenidas de campo. Cada resultado representa la media (±EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas. Los asteriscos (*) indican las diferencias significativas entre estos grupos y los grupos testigo.

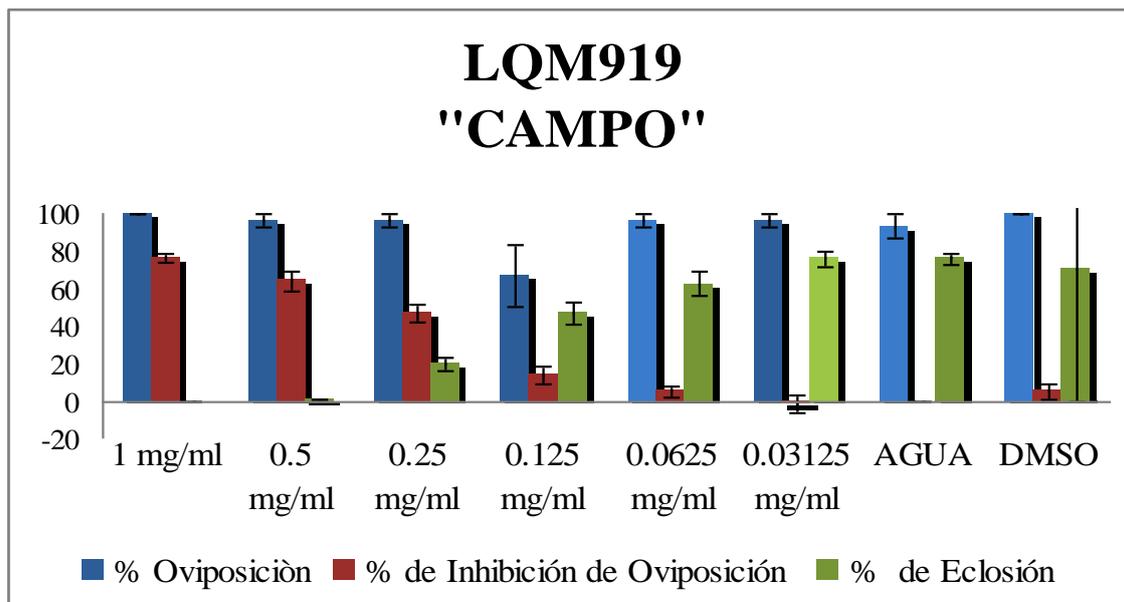


Figura 29. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM919 en las garrapatas aisladas de "Campo". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

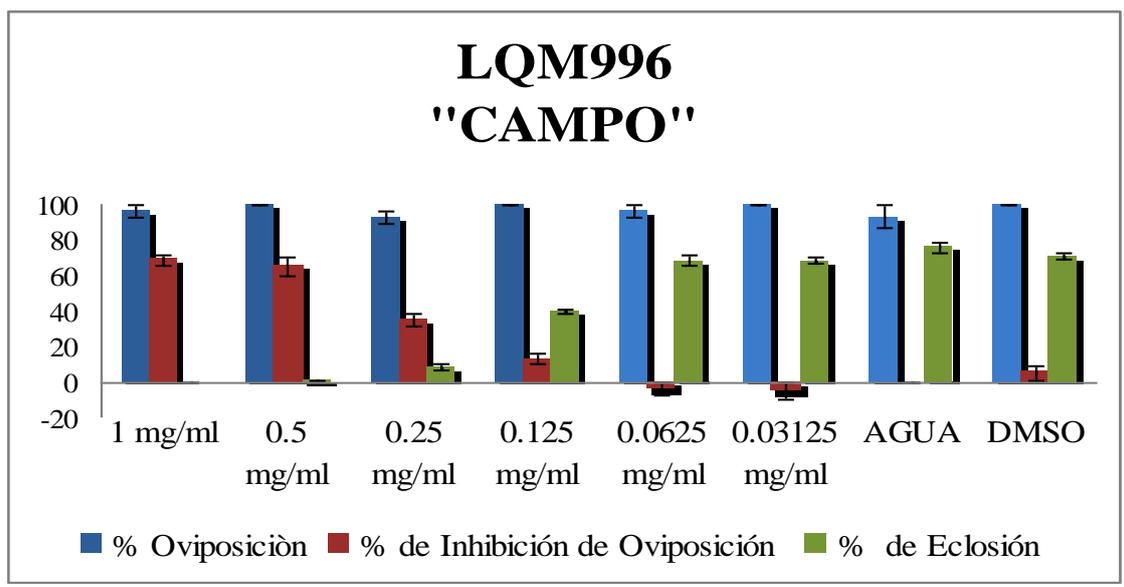


Figura 30. Porcentaje de hembras que ovipositaron, porcentaje de inhibición de la oviposición y porcentaje de eclosión de larvas inducido por el carbamato LQM996 en las garrapatas aisladas de "Campo". Cada barra representa la media (\pm EE) de los datos obtenidos de seis repeticiones de la Técnica de Inmersión de Hembras Adultas.

CEPA SAN ALFONSO (ANÁLISIS PROBIT)								
CARBAMATO	CIE ₁₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE ₅₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE ₉₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE ₉₉ (mg/mL)	IC 95%
LQM904	0.177	0.134 - 0.212	0.316	0.281 - 0.345	0.564	0.514 - 0.643	0.904	0.765 - 1.179
LQM906	0.063	0.041 - 0.084	0.177	0.148 - 0.205	0.498	0.414 - 0.646	1.156	0.845 - 1.869
LQM914	0.042	0.033 - 0.050	0.096	0.086 - 0.105	0.218	0.194 - 0.253	0.427	0.352 - 0.555
LQM917	0.017	0.010 - 0.025	0.071	0.055 - 0.088	0.295	0.229 - 0.418	0.938	0.615 - 1.770
LQM919	0.010	0.007 - 0.015	0.046	0.037 - 0.054	0.200	0.167 - 0.250	0.668	0.485 - 1.033
LQM996	0.025	0.021 - 0.030	0.077	0.070 - 0.084	0.237	0.211 - 0.270	0.589	0.490 - 0.739

Tabla 33. Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la eclosión de larvas obtenidas de la oviposición de garrapatas sometidas a la TIA de la cepa "San Alfonso", con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996. Muestra la s concentraciones de la inhibición de la eclosión (CIE₁₀, CIE₅₀, CIE₉₀ y CIE₉₉) y sus intervalos de confianza (IC) de los carbamatos evaluados.

CEPA LA MORA (ANÁLISIS PROBIT)								
CARBAMATO	CIE ₁₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE ₅₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE ₉₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE ₉₉ (mg/mL)	IC 95%
LQM904	0.098	0.023 - 0.134	0.166	0.105 - 0.198	0.280	0.228 - 0.619	0.428	0.303 - 2.205
LQM906	0.052	0.030 - 0.074	0.174	0.136 - 0.212	0.580	0.453 - 0.829	1.549	1.034-2.948
LQM914	0.067	0.042 - 0.087	0.137	0.112 - 0.160	0.280	0.236 - 0.368	0.502	0.379- 0.830
LQM917	0.020	0.012 - 0.027	0.061	0.049 - 0.073	0.188	0.149 - 0.265	0.470	0.320 - 0.873
LQM919	0.012	0.006 - 0.018	0.050	0.037 - 0.063	0.215	0.167 - 0.305	0.703	0.456 - 1.386
LQM996	0.032	0.028 - 0.036	0.082	0.077 - 0.088	0.210	0.193 - 0.231	0.452	0.394 - 0.531

Tabla 34. . Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la eclosión de larvas obtenidas de la oviposición de garrapatas sometidas a la TIA de la cepa "La Mora", con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996. Muestra la s concentraciones de la inhibición de la eclosión (CIE₁₀, CIE₅₀, CIE₉₀ y CIE₉₉) y sus intervalos de confianza (IC) de los carbamatos evaluados.

GARRAPATAS DE CAMPO (ANÁLISIS PROBIT)								
CARBAMATO	CIE₁₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE₅₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE₉₀ (mg/mL)	IC 95%	CIE₉₉ (mg/mL)	IC 95%
LQM904	0.037	0.023 - 0.052	0.152	0.124 - 0.180	0.618	0.499 - 0.823	1.939	1.341 - 3.297
LQM906	0.046	0.029 - 0.063	0.132	0.108 - 0.154	0.376	0.312 - 0.491	0.882	0.640- 1.454
LQM914	0.060	0.019 - 0.091	0.128	0.080 - 0.160	0.270	0.215 - 0.441	0.498	0.341- 1.418
LQM917	0.014	0.006 - 0.022	0.055	0.040 - 0.070	0.223	0.171 - 0.333	0.696	0.437 - 1.526
LQM919	0.063	0.043 - 0.081	0.147	0.123 - 0.169	0.344	0.293 - 0.430	0.687	0.527 - 1.033
LQM996	0.063	0.053 - 0.071	0.129	0.119 - 0.138	0.265	0.241 - 0.297	0.477	0.409 - 0.580

Tabla 35. . Análisis Probit (Polo-Plus Le-Ora Software) de la eclosión de larvas obtenidas de la oviposición de garrapatas sometidas a la TIA de las garrapatas obtenidas de campo, con los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996. Muestra la s concentraciones de la inhibición de la eclosión (CIE₁₀, CIE₅₀, CIE₉₀ y CIE₉₉) y sus intervalos de confianza (IC) de los carbamatos evaluados.

Carbamato	Índice de Resistencia San Alfonso	Índice de Resistencia La Mora	Índice de Resistencia Campo
LQM904	0.4780	0.1482	0.0559
LQM906	1.3308	1.3082	0.9924
LQM914	*****	*****	*****
LQM917	0.5182	0.4452	0.4014
LQM919	0.4742	0.5154	1.5154
LQM996	0.6363	0.6776	1.0661

Tabla 36. Índice de resistencia a los carbamatos LQM904, LQM906, LQM914, LQM917, LQM919 y LQM996 de la cepa "San Alfonso", "La Mora" y las garrapatas obtenidas). Los asteriscos (*) refieren que no se pudo determinar el índice de resistencia.

DISCUSIÓN

Las infestaciones de garrapatas *Boophilus microplus* en el ganado bovino, se encuentran ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales de varias partes del mundo, incluyendo México. Una de las estrategias más utilizadas para controlar la infestación con garrapatas *Boophilus microplus* en bovinos, es la aplicación de ixodicidas sobre el cuerpo de estos a intervalos específicos. Los diferentes tipos de productos que se han utilizado para el control de garrapatas, incluyen los arsenicales, organoclorados, organofosforados, carbamatos, amidinas cíclicas, piretroides, fenilpirazolonas y lactonas macrocíclicas.

Una alternativa para el manejo de la resistencia hacia los ixodicidas es el desarrollo de nuevos fármacos hacia los cuales no se haya desarrollado resistencia, por lo anterior en este proyecto se evaluaron productos químicos de la familia de los carbamatos diseñados y sintetizados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM, los cuales ya habían sido probados previamente por nuestro grupo sobre una cepa de garrapatas de referencia, susceptible a acaricidas.

La evaluación de los carbamatos LQM934 y LQM938, se realizó mediante la Técnica de Paquete de Larvas, desarrollada por Stone y Haydock (1972). Se eligió dicha técnica ya que es propuesta por la Organización Mundial para la Agricultura y Alimentación (FAO) como la metodología de elección para la detección de resistencia a acaricidas; además, muchos investigadores la han utilizado para evaluar el efecto de nuevos productos (Sardá-Ribeiro *et al.*, 2007; de Freitas Fernandes *et al.*, 2007; Bock *et al.*, 2004; Sabatini *et al.*, 2001).

Los carbamatos evaluados por TPL, tuvieron efecto sobre la mortalidad de las larvas. Los datos obtenidos de las diferentes diluciones con cada carbamato permitieron la estimación adecuada de las concentraciones letales, por medio del análisis Probit. Los resultados obtenidos demuestran que el mayor efecto a

menor concentración lo produjo el carbamato LQM938, esto coincide con los datos obtenidos por Prado (2009). Sin embargo, las CL₅₀ de cada cepa para ambos carbamatos, fueron mucho más elevadas en comparación con la cepa susceptible (Prado, 2009), además se observó que a una concentración al 1% no se produjo el 100% de mortalidad en ninguna de las cepas, y los intervalos de confianza obtenidos por Probit, fueron muy amplios, por lo que es necesario hacer pruebas posteriores para obtener rangos más estrechos en los intervalos de confianza de las concentraciones letales.

El criterio para tomar una larva como muerta fue la parálisis o incapacidad de movimiento. Al ser observadas las larvas tratadas al microscopio, la mayoría estaban paralizadas lo cual concuerda con el mecanismo de acción descrito para los carbamatos convencionales el cual es la inhibición de la acetilcolinesterasa (Baxter *et al.*, 1998). Algunos reportes indican que existe resistencia cruzada entre los organofosforados y los carbamatos, ya que comparten el mecanismo de acción anteriormente descrito. La resistencia a organofosforados se ha asociado a un aumento en la actividad de estererasas y a la actividad de la citocromo monoxigenasa P450 por las garrapatas (Chevillon *et al.*, 2007), mecanismos que también pueden provocar resistencia a los carbamatos. Este estudio demostró que las cepas San Alfonso, La Mora y las garrapatas obtenidas de campo, resultaron ser susceptibles a los carbamatos, aunque estos demostraron ser menos eficaces que en la cepa susceptible, por lo que se requieren más estudios para demostrar el mecanismo de acción de los carbamatos de nueva síntesis.

Hay que mencionar que al evaluar el efecto de estos dos productos por medio de TIA en la cepa susceptible (Prado, 2009), no provocaron la muerte de las garrapatas tratadas ni afectaron la oviposición, por lo que no se consideraron estos carbamatos para dicha prueba en las cepas resistentes, sin embargo no existen formas de determinar *in vitro* si algún fármaco provoca parálisis de las garrapatas adultas y que por lo tanto cause desprendimiento del hospedador. Por lo anterior, es necesario en futuros trabajos realizar otras pruebas *in vivo*, para evaluar los efectos de dichos carbamatos sobre los diferentes estadios de la garrapata (larva, ninfa y adultos).

Basada en la escala de resistencia adoptada por Bianchi (2002), el cual reporta que un IR menor a tres, indica una población susceptible, las cepas de garrapatas resistentes, así como las garrapatas obtenidas de campo evaluadas, fueron clasificadas como susceptibles a la actividad de ambos carbamatos (LQM934 y LQM938).

También se evaluaron 6 carbamatos mediante la TIA descrita por Drummond *et al.* (1976) la cual ha sido ampliamente utilizada para el diagnóstico de susceptibilidad a acaricidas y para el diagnóstico de resistencia a acaricidas en la garrapata *Boophilus microplus* (de Freitas Fernandes *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2006; Sardá-Ribeiro *et al.*, 2007; Alonso-Díaz *et al.*, 2007). Para realizar dicha técnica se hicieron modificaciones, como la utilización de DMSO para disolver a los carbamatos, ya que estos no son hidrosolubles por lo que se solubilizaron primero en DMSO antes de agregar el agua. Como no se ha documentado el efecto del DMSO sobre las garrapatas, se utilizó un grupo testigo adicional en el que se trató a las garrapatas con DMSO y agua, no se encontró diferencia significativa en ninguno de los parámetros evaluados en la prueba, entre este grupo y el testigo de únicamente agua. Por lo que concluimos que los efectos observados se deben al carbamato evaluado y no al DMSO.

Las concentraciones para TIA se realizaron en base a las utilizadas por Prado (2009) en la cepa susceptible, las cuales fueron de 1mg/mL de cada producto. Ninguno de los productos tuvo efecto sobre el porcentaje de hembras que ovipositaron, sin embargo demostraron tener efecto significativo sobre el índice de oviposición, porcentaje de inhibición de oviposición y porcentaje de eclosión de larvas. El índice de oviposición es la relación entre el peso de las garrapatas y el peso de los huevos, se observó que el índice de oviposición de las garrapatas tratadas por estos carbamatos fue significativamente menor que el índice de oviposición del grupo testigo, lo cual indica que la cantidad y peso de los huevos producidos por las garrapatas tratadas fue menor que la de los controles. El porcentaje de inhibición de oviposición es un dato que se obtiene a partir de los índices de oviposición, en los seis carbamatos se observaron

porcentajes de inhibición de oviposición por arriba del 50% lo cual indica que estos productos son capaces de inhibir la oviposición en más del 50%. Los huevos producidos por las garrapatas tratadas tuvieron alteraciones morfológicas, se observaron de menor tamaño, de coloración oscura, desecados y con poca adherencia entre ellos. Dichos huevos fueron incubados para verificar su viabilidad y resultaron ser no viables ya que no eclosionaron. Esto se reflejó en los resultados de inhibición de eclosión, ya que en los grupos tratados con estos productos se inhibió la eclosión en valores cercanos al 100%. Lo anterior sugiere que si bien estos productos no matan a las garrapatas si pueden ser utilizados para eliminar o reducir el número poblacional de la siguiente generación.

Los datos obtenidos de estos ensayos mostraron que existe una relación dosis-respuesta de los efectos observados, ya que los datos de eclosión permitieron la estimación de las concentraciones de inhibición de eclosión por medio del análisis Probit. Dicho análisis mostró que el carbamato que tiene mayor actividad a una menor concentración es el LQM996, ya que sus CIE_{99} en la cepa "La Mora" y en las garrapatas de "campo", fueron las más bajas, aunque en la cepa San Alfonso, fue ligeramente más elevado este valor que el carbamato LQM914, siendo éste el segundo carbamato con mayor actividad, aunque cabe mencionar que la efectividad de los seis carbamatos fue la misma, ya que todos los productos produjeron la Inhibición de la eclosión de larvas.

Las $CIE'_{s_{99}}$ obtenidas de los productos evaluados en este trabajo pueden compararse con las $CIE'_{s_{99}}$ obtenidas por Prado (2009) sobre la cepa susceptible de *B. microplus*, en el cuál se encontró que en el carbamato LQM996 fue de 0.279mg/kg, así como también se comparan con las concentraciones efectivas de acaricidas organofosforados sobre la cepa susceptible de *B. microplus* obtenida mediante la técnica de inmersión de adultas reportadas por otros autores, los cuales obtuvieron las siguientes concentraciones efectivas: Coumafos 200ppm, Clorfenvinfos 300ppm, clorpirifos 300ppm, Etion 560ppm, flumetrina 40 ppm, cipermetrina 200ppm, amitraz 150ppm y deltametrina 20ppm (Foil *et al.*, 2004), un ejemplo de las concentraciones obtenidas en este proyecto son las del carbamato LQM 996,

del cual se obtuvo que en la cepa San Alfonso= 0.589 mg/mL que equivalen a 589 ppm, en “La Mora” = 0.452mg/mL o 452ppm y en las garrapatas de campo 0.477mg/mL o 477ppm. Por lo que la cantidad de producto requerido para inhibir la oviposición y/o eclosión de larvas es equivalente a la cantidad de producto requerido por otros grupos químicos presentes en el mercado por lo que su aplicación podría ser rentable, con la ventaja de que son efectivos contra cepas de garrapatas que ya son resistentes a ellos.

Es importante mencionar que los productos que tuvieron las actividades antes mencionadas, no tuvieron actividad larvicida. Ya que al ser evaluada su eficacia sobre larvas por medio de la técnica de paquete de larvas (Prado, 2009), no se observó parálisis ni muerte de las larvas tratadas a ninguna de las concentraciones de los productos. Lo anterior podría indicar que el mecanismo de acción de los productos que afectan la oviposición de las garrapatas tratadas es diferente al mecanismo descrito tradicionalmente para los carbamatos, de inhibir la enzima acetilcolinesterasa en las garrapatas. Booth *et al.* (1986) demostró que el tratamiento de hembras repletas con precoceno produce la desecación de huevos por la ausencia de una capa externa que los protege de la pérdida de agua. Dicha capa es producida por las células glandulares del órgano de Gene en la garrapata y estos autores también demostraron que el precoceno destruye el órgano de Gene (Booth *et al.* 1986). Los carbamatos evaluados en este trabajo con actividad sobre la inhibición de la oviposición tuvieron un efecto similar sobre los huevos, probablemente tengan el mismo mecanismo de acción del precoceno (6, 7-dimetoxi-2, 2-dimetil cromono). Futuros trabajos donde se evalúe por microscopía óptica y electrónica la integridad de dicho órgano responderán esta pregunta.

Por otra parte los carbamatos con actividad sobre la inhibición de la eclosión tienen una estructura química similar a los bencimidazoles, así como entre ellos, por lo que probablemente tienen el mismo mecanismo de acción. Estos carbamatos tienen algunas similitudes con la estructura química de los carbamatos benzimidazoles, los cuales han mostrado tener interacción con los centros de organización de los microtúbulos, especialmente con uno de los dímeros que los forman, la β tubulina, de algunos protozoarios, helmintos y hongos, provocando efectos en la morfología y sobre el índice mitótico en

dichos parásitos (Katiyar *et al.*, 1994; Chavez *et al.* 1992; Penedo *et al.*, 2007). Por lo anterior se requiere realizar estudios para determinar si este podría también ser un mecanismo de acción de los nuevos carbamatos sobre *B. microplus*.

Los resultados obtenidos de la evaluación en pruebas de laboratorio de estas nuevas moléculas son muy alentadores. Sin embargo, antes de utilizar dichos productos en pruebas de establo o de campo, es necesario evaluar su potencial tóxico. La toxicidad de los carbamatos presentes en el mercado es muy variada, en general son de media o baja toxicidad exceptuándose algunos productos como el carbaril, aldicarb, carbofurán, metomil, lannate, metavin y nudrin que son de toxicidad alta. El metomil está clasificado como altamente tóxico; el Aldicarb está clasificado como extremadamente tóxico ya que su DL₅₀ (dosis necesaria para matar el 50% de la población de prueba) se encuentra entre 0.3 y 0.9 mg/kg (de peso) en animales de experimentación (EPA, 1997); el propoxur se clasifica como ligeramente tóxico sin embargo es carcinogénico en animales de laboratorio; el carbaril se considera muy tóxico, con una DL₅₀ oral en ratas de 225 mg / kg y causa dermatitis alérgica en perros y dermatitis aguda e irritaciones en los seres humanos, mientras que la toxicidad de los benzimidazoles es baja (Pan pesticide database, 2009).

Por lo anterior son necesarios estudios futuros para determinar la toxicidad de los nuevos carbamatos utilizados en este proyecto. Los estudios toxicológicos que se requieren deben ajustarse a la guía técnica correspondiente de la Organización Mundial de la Salud y realizarse de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio emanadas de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (INE, 2007).

Uno de los logros tecnológicos más importantes del siglo XX es el desarrollo de drogas cada vez más eficaces en el control de una amplia gama de especies parasitarias (Nari y Hansen 1999). Para la industria farmacéutica este constante desarrollo de productos químicos es cada vez más preocupante por el frecuente desarrollo de resistencia y, en consecuencia, la presencia de residuos en productos de origen animal (Nari y Hansen, 1999). Normalmente, la presencia de residuos es la respuesta al aumento en la frecuencia de

aplicación y/o la dosis de drogas, lo cual puede repercutir en el comercio internacional (Kunz y Kemp 1994, Nari y Hansen 1999). La resistencia cruzada y múltiple afecta negativamente la vida útil de los nuevos insecticidas y la efectividad de nuevos productos incluso antes de posicionarse en el mercado. Por lo que el uso potencial de los productos evaluados abre una posibilidad muy interesante para contribuir al control de las garrapatas en los sistemas de producción bovina.

CONCLUSIONES

Los productos utilizados para la prueba de Inmersión de TIA (LQM917, LQM904, LQM919, LQM906, LQM996 y LQM914), fueron efectivos en las cepas “San Alfonso”, “La Mora” y las obtenidas de campo, ya que tuvieron efecto sobre el porcentaje de inhibición de oviposición, eclosión y estado físico de los huevos observados, aunque las concentraciones letales varían entre ellas.

Los productos LQM938 y LQM934, también tuvieron efecto significativo sobre la mortalidad de larvas en las cepas “San Alfonso”, “La Mora” y las obtenidas de campo.

Este estudio demostró que los carbamatos de nueva síntesis, pueden ser una buena opción para el control de garrapatas que han demostrado ser resistentes a acaricidas, por lo que es importante destacar el conjunto de investigaciones multidisciplinarias que se llevan a cabo en la UIMSA-1 de Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, que tienen la finalidad de determinar la toxicidad de los carbamatos de nueva síntesis, para tener la posibilidad de su uso en los animales con un uso terapéutico.

ANEXO

Infestaderos

Los infestaderos fueron diseñados para limitar a los bovinos en su movimiento y evitar que éstos pudieran aplastar lo menos posible a las garrapatas localizadas en su cuerpo (figura 31), así como para facilitar la recolección de éstas al momento de su desprendimiento del bovino.

El material de construcción de los infestaderos es de fierro tubular, al frente se localiza una manga de sujeción para la cabeza. Las medidas de las jaulas son: 2m de longitud, 75 cm de ancho, 110cm de altura y con una separación del piso de 15 cm, esto para poder colocar las charolas de recolección debajo de las jaulas, las cuales son de plástico. El piso de las jaulas es una reja de un polímero plástico antiderrapante de uso industrial.

Los infestaderos se mantuvieron en un corral aislado, con malla ciclónica y techado, con un drenaje independiente y con alejamiento físico de más de 300 m de otros bovinos, además de tener una separación de 2.5 m de un infestadero a otro, además de tener un cerco de cal, para evitar el escape de las garrapatas.



Figura 31. Infestaderos. Muestra el material de la jaula y el piso así como la manga de sujeción para la cabeza y localización del comedero y bebedero

REFERENCIAS

- Aguirre, E., Aburto, S. 1983. Determinación de las dosis discriminantes como medio diagnóstico de susceptibilidad en garrapatas *B. microplus*. IV Reunión Anual de Parasitología Vet. FMVZ-UNAM, México.
- Aguirre, E., Santamaría, V. 1986. Purificación toxicológica de garrapatas *B. microplus* resistentes a ixodicidas organofosforados y organoclorados. VII Reunión Anual de Parasitología Vet., Cd. Victoria, Tamaulipas, México.
- Allen, J., Doube, B., Kemp, D. 1977. Histology of bovine skin reactions to *Ixodes holocyclus*. Can. J. of Comp. Med. (41): 26-35.
- Alonso-Díaz, M., López-Silvia, B., Magalhaes-Labarthe, A., y Rodríguez-Vivas, R. 2007. Infestación natural de hembras de *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 (Acari:Ixodidae) en dos genotipos de bovinos en el trópico húmedo de Veracruz, México. Vet. Méx. 38 (4): 503-509.
- Alvarez, V., Bonilla, I., Chacón, C. 1999. Situación de la resistencia de la garrapata **B. microplus** (Canestrini, 1887) a organofosforados y piretroides en Costa Rica. *Rev. Cient. Vet.* (22): 41-60.
- Anderson, J., Magnarelli, L. 2008. Biology of ticks. Infectious disease clinics of North America (22): 195-215.
- Anónimo. Informe sobre los trabajos de caracterización con la cepa "Tuxpan" de *B. microplus*. 1983. Departamento de Constatación. CNPA. F.C.N.C.G.
- Angus, B. 1996. The history of the cattle tick **Boophilus microplus** in Australia and achievements in its control. J. Parasitol. (26): 1341-1355.
- Baker, J., Janet, D., Wendy, R. 1979. Ixodical resistance in **Boophilus microplus** (Canestrini) en la república de Sudáfrica and Transkei. *J. Afric. Vet Assoc* 50, 296- 301.
- Baxter G., Barker. S. 1998. Acetylcholinesterase cDNA of the cattle tick: *Boophilus microplus* characterization and role in organophosphate resistance. I. Bio. And Mol. Biol. (28): 581-599.
- Benavides, O., Romero, A., Rodríguez, B. 1989. Situación actual de la resistencia de la garrapata **Boophilus microplus** a acaricidas en Colombia. El diagnóstico de resistencia. *Carta Fedegan* (61): 13-18.
- Bernabe Pérez A. 2007. Evaluación antiparasitaria de nueve principios de síntesis derivados del ácido carbámico utilizando como modelo el cestodo *Hymenolepis nana* var *fraterna* en ratones de la cepa CD1 con infestación inducida. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

Bianchi, M., Barré, N., Messad, S. 2002. Factors related to cattle infestation level and resistance to acaricides in *Boophilus microplus* tick populations in New Caledonia. *Vet. Parasitol.* (112): 75-89

Booth, T., Beatdle, D., y Hart, D. 1986. The effects of precocene treatment on egg wax production in Gene's organ and egg viability in the cattle tick *Boophilus microplus* (Acarina: ixodidae) an ultrastructural study. *EXP. Appl. Acarol.* (2): 187-189.

Bull, M., Swindale, S., Overend, D., y HESS, e. 2000. Suppression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron-an acarine growth regulator. *Aust. Vet. J.* (74): 468.

Cafrune, M., Aguirre, D., Mangold, A., Guglielmone, A. 1995. Experimental studies of the rate of infection of *Boophilus microplus* eggs with *Babesia bovis*. *R. Vet. Sci.* (58): 284-285.

Chen, A., Haiqui, H., y Davey, R. 2007 Mutations in a putative octopamine receptor gene amitraz-resistant cattle ticks. *Vet. Parasitol.* (148): 379-383.

Chevillon, C., Basile, K., Barré, N., Durand, P., Arnathau, C., y de Meeüs, T. 2007. Direct and indirect inferences on parasite mating and gene transmissions patterns Pangamy in the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Infec., Gen. Evol.* (7): 298-304.

Coetzee, B., Stanford, G., Davis, T. 1987. Resistance by the blue tick (***Boophilus decoloratus***) to the synthetic pyrethroid, fenvalerate. **Onderstepoort J. Vet** (54): 83-86.

Conacyt- Sagarpa. 2005. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas en el sureste de México. Folleto técnico No.1.

Cordero, M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, C., Navarrete, I., Díez, P., Quiroz, H., Carvalho, M. 2001. *Parasitología Veterinaria*. Edit. Mc. Graw-Hill. Interamericana.

Corrier, D., Vizcaino, O., Terry, M., Betancourt, A., Kuttler, K., Carson, C., Trevino, G., Ristic, M. 1979. Mortality, weight loss and anemia in *Bos Taurus* calves exposed to *Boophilus microplus* ticks in the tropics of Colombia. *Trop. A.H. Produc.* (11): 215-221.

Cury, M., Limab, W., Guimaraes, M., Carvalho, M. 2002. Hematological and coagulation profiles in dog experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet 1886). *Vet. Parasitol.* (104): 139-149.

Drummond, R., Graham, O., Ernest, S. 1967. Evaluation of insecticides for the control of **B. annulatus** (Say) and **B. microplus** (Canestrini) (Acarina: Ixodidae) on cattle. **II International Congress on Acarology**. 493-498.

Duncan, C. 1997. Dynamics and impact of tick borne disease of cattle. *Tropical Animal Health. Prod* (29): 1S-3S.

Estrela, A., Seixas, A., y Termignoni, C. 2007. A cysteine endopeptidase from tick (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) larvae with vitellin digestion activity. *Comp. Biochem. And Physiol.* (148): 410-416.

Fariás, N. 1999. Situación de la resistencia de la garrapata **Boophilus microplus** en la región sur de Río Grande del Sur de Brasil. **Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal**. Puerto Vallarta, Jalisco, México. 25-30.

Fernández Ruvalcaba, M., Zhioua, E., y García Vázquez, Z. 2005. Infectividad de *Metarhizium anisopliae* en contra de cepas de garrapata *Boophilus microplus* sensible y resistente a los organofosforados. *Téc. Pecu. Méx.* 43 (3): 433-440.

Foil, L., Coleman, P., Eisler, M., Fragoso Sánchez, H., García Vázquez, Z., Guerrero, F., *et al.* 2004. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. *Vet. Parasitol.* (125): 163-181.

French, R., Steichen, J., Rocheleau, T., Aronstein, J., Roush, R. 1993. A single-amino acid substitution in a gamma aminobutyric acid subtype A receptor locus associated with cyclodiene insecticide resistance in **Drosophila** populations. In: **Proceeding of the National Academic Science**. U.S.A. (90): 1957-1961.

Furlong, J. 1999. Diagnóstico de la susceptibilidad de la garrapata del ganado **Boophilus microplus** a los acaricidas en el estado de Minas Gerais, Brasil. **Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal**. Puerto Vallarta, Jalisco. México. 41-46.

García, J. 2000. Métodos básicos para el estudio de la Sensibilidad a los antimicrobianos. SEIMC. Cap (11): 54.

George, J., Pound, J., y Davey, R. 2004. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitol.* (129): S353-S366.

Guerrero, O. 2002. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de nuevos derivados del ácido carbámico sobre *Helicobacter pylori*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.

Hagen, S., Kopp, J., Liebisch, A. 1999. Estudios de resistencia a acaricidas en la garrapata bovina **Boophilus microplus** en América Central. **Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal**. Puerto Vallarta, Jalisco. México. 33.

He, H., Chen, C., Davey, R., Ivie, G. 2002. Molecular cloning and nucleotide sequence of a new P450 gene, CYP319A1, from the cattle tick, **Boophilus microplus**. *Insect Biochem Molec* (32): 303-309.

Horak, I., Camicas, J., y Keirans, J. 2002. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodidae): a World list of valid tick names. *Exp. Appl. Acarol* (28): 27-54.

Jamroz, R., Guerrero, F., Pruetz, J., Oehler, D., Miller, R. 2000. Molecular and biochemical survey of acaricide resistance mechanisms in larvae from Mexican strains of the southern cattle tick, **Boophilus microplus**. *Journal Insect Physiology* (46): 685-695.

Jongejan, F., y Uilenberg, G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitol.* (129): S3-S14. Jonsson, N., Matschoss, A., Pepper, P., Green, P., y Ansell, J. 2000. Resistance of Holstein-Friesian cows to infestation by the cattle tick (*Boophilus microplus*). *Vet. Parasitol.* (89): 297-305.

Jonsson, N. 2006. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Veterinary Parasitology*, 137, 1-10.

Kashino, S., Resende, J., Sacco, A., y Rocha, C. 2005. *Boophilus microplus*. The pattern of bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. *Exp. Parasitol* (110): 12-21.

Katiyar, S., Gordon, V., MacLaughlin y Edlind, T. 1994. Antiprotozoal Activities of Benzimidazoles and correlations with B-Tubulin Sequence. *Antimicrobial A. Chem.* 2086-2090.

Kemp, D., Thulner, F., Gale, K., Nari, A., Sabatini, G. 1998. Acaricide resistance in the cattle ticks **Boophilus microplus** and **Boophilus decoloratus**. Report to the Animal Health Services. FAO. 1-32.

Klaasen C. 2001. Toxicology. The basic science of poison. 6° ed. Mc Graw-Hill. USA.773-783.

Kunz, S., y Kemp, D. 1994. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. **Review Scientific Technology**. OIE (13): 1249-1286.

Liu, Z., Valles, M., Dong, K. 2000. Novel point mutations in the German cockroach para-sodium channel gene are associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. **Insect Biochem Molec** (30): 991-997.

Metcalf, R. 1989. Insect resistance to insecticides. **Pesticide Sci** (26): 333-358.

Miller, R., Davey, R., George, J. 1999. Characterization of pyrethroid resistance and susceptibility to coumaphos in Mexican **Boophilus microplus** (Acari: Ixodidae). **J Med Entomol** (36): 533-538.

Miller, T. 1998. Mechanism of resistance to pyrethroid insecticides. **Parasitol Today** (4): 8-12.

Minero, C. 1997. Comparación de la eficacia anticestódica de dos principios de nueva síntesis contra el Praciquantel, usando *Hymenolepis nana* como modelo en ratones. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

Nari A, H J Hansen. 1999. Resistencia de los ecto y endoparásitos: soluciones actuales y futuras. 67ª sesión general. **Organización Internacional de Epizootias**. París, Francia.

Nolan, J. (1981) Current developments in resistance to amidine and pyrethroid tickicides in Australia. in tick Biology and Control Edited by : G.B. Whitehead, G.B. and Gibson J.D. Australia. Uni. Rhodes. Grahamstown South Africa.

Odilón, A. 1993. Síntesis de carbamatos a partir de aminas aromáticas. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.

Ordaz-Pichardo., Ángeles-Anguiano, E., Villa-Treviño, S., Arriaga-Alba, M., y Garza-Amaya, M. 2002. Evaluación *In vitro* de derivados del ácido carbámico como inhibidores del crecimiento de *Entamoeba histolytica*. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas. 5 (2): 127-137.

Ordaz-Pichardo, C., Shibayama, M., Villa-Treviño, S., y De la Garza, M. 2004. Patenete n° PA/a/2004003417 (Instituto Mexicano de la propiedad industrial). México.

Ortega, D. 2005. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de los derivados del ácido carbámico en *C. albicans* y *C. neoformans*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

Pereyra, N. 2005. Determinación de la actividad antihelmíntica de nueve principios de nueva síntesis de derivados de 4-hidroxifenil carbamato de etilo usando *Haemonchus contortus* como modelo *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

Quiroz, H., 1996. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Edit.Uthea, Noriega editores, México. 757-802.

Riek, R. 1957. Studies on the reactions of animals to infestation with ticks I. tick anemia. Aust. J. Agric. (8): 209-214.

Rodríguez-Vivas, R., Rosado, A., Basto, G., Sotero, Z., Rosario, R., Fragoso, H. 2006. Manual Técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino. Publicación Técnica No.4 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán.

Ruiz, L. 2004. Prueba de susceptibilidad a derivados del ácido carbámico de *Aspergillus fumigatus* y *Trichophyton mentagrophytes*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.,G. 2007.

Scott, J., Cochran, D., Siegfried, B. 1990. Insecticide toxicity, synergism and resistance in German cockroach (*Dictyoptera: Blattellidae*). **J Econ Entomol** (83): 1698-1703.

Shaw, R. 1966. Culture of an organophosphorus resistant strain of **B. microplus** and an assessment of its resistance spectrum. **B Entomol Res** (56): 389-405.

Solís, S. 1991. Ecología de las garrapatas *Boophilus*: Perspectivas de un panorama. **Memorias del II Seminario Internacional de Parasitología Animal. Garrapatas y enfermedades que transmiten**. Morelos, México. 19-30.

Spickett, A. 1994. Tick ecology. *International J. Parasitol.* 24(6): 845-849.

Strydom, T., Peter, D. 1999. Acaricidas y resistencia en *Boophilus spp* en Sudáfrica. **Memorias del IV Seminario Internacional de Parasitología Animal**. Puerto Vallarta, Jalisco. México. 35-40.

Stone, B. y Haydock K. (1972) A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus*. *Bull. Entomol. Res.* (53): 563-578.

Rajput, Z., Hu, S., Chen, W., Arijo, A., y Xiao, C. 2006 Importance of ticks and their chemical and immunological control in livestock. *J. of Zhejiang University Science B.* (7): 912-921.

Ribeiro, J., Spielman, A. 1986. *Ixodes dammini*: Salivary anaphylatoxin inactivating activity. *Exp. Parasitol.* (62): 292-297.

Turni, C., Lee, R., Jackson, L. 2002. Effect of salivary gland extracts from the tick, *Boophilus microplus*, on leucocytes from Brahman and Hereford cattle. *Parasite immunology* (24): 355-361.

Vargas, M., Montero, C., Pérez, D., Joglar, M., Machado, H., Oliva, R., Castillo, E., Leonart, R. 2005. La aplicación de una dosis de refuerzo con inmunógeno Gavac Plus es suficiente para estimular un nivel efectivo de inmunidad en rebaños con más de un año sin inmunización. Congreso de Biotecnología 2005. La Habana, Cuba.

Wikel, S., Ramachandra, R., Bergman, D. 1994. Tick-induced modulation of the host immune response. *J. Parasitol.* (24): 59-66.

Willadsen, P. 2004. Anti-tick vaccines. *Parasitol.* (129): S367-S387.

Woodham C B, O A González, L A López, M R Guereña. 1983. Progresos en la erradicación de las garrapatas **Boophilus** en México 1960-1980. **Rev Mund Zoot** (48): 18-24.