



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Efecto de la presión selectiva con cumafós sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* utilizando una técnica de inmersión de hembras adultas

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

ROBERTO LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR:

Dr. Marco Antonio Muñoz Guzmán

CO-ASESOR:

Dr. Fernando Alba Hurtado

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2015



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.



Profesionales de la FES Cuautitlán

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: M. en A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos **La Tesis:**

“Efecto de la presión selectiva con cumafós sobre una cepa de Rhipicephalus microplus utilizando una técnica de inmersión de hembras adultas”

Que presenta el pasante: **ROBERTO LÓPEZ LÓPEZ**

Con número de cuenta: **30303233-1** para obtener el Título de: **Médico Veterinario Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Diciembre de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Juan Pablo Martínez Labat	
VOCAL	M.V.Z. Concepción Oswelia Serna Huesca	
SECRETARIO	Dr. Marco Antonio Muñoz Guzmán	
1er SUPLENTE	M. en C. Javier Alejandro Buendía Jiménez	
2do SUPLENTE	M.V.Z. Melitón Lara Rocha	

NOTA: Los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).
En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.
(Art 127 REP)
HHA/Vc

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marco Antonio Muñoz Guzmán y al Dr. Fernando Alba Hurtado, por brindarme su confianza, por darme la oportunidad de realizar este trabajo y por contribuir a mi formación profesional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por apoyarme en mi formación académica, por permitirme ser parte de esta gran institución y convertirme en un profesionista y una mejor persona.

Al M. en C. César Cuenca Verde por su apoyo técnico durante la realización de este trabajo

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM PAPIIT IN216913 y PAPIIT IN 215314.

A todos, muchas gracias.

DEDICATORIAS

A mi madre quien con mucho esfuerzo y dedicación me ha apoyado durante toda mi vida tanto de estudiante como personal y ha sido mi guía día a día para ser en una mejor persona y lograr ésta meta y aunque no se lo demuestre la amo mucho.

A la Sra. Sofía Mustri, que aunque ya no se encuentra con nosotros fue parte indispensable en mi formación.

A la Sra. Raquel y a su hija María de Lourdes, quienes con su apoyo pude lograr esta meta.

*“El conocimiento no debe comenzar por la puerta falsa de la
inteligencia, sino por la de los sentidos”*

Daniel Cosío Villegas

ÍNDICE

Índice.....	6
Índice de figuras.....	8
Abreviaturas.....	9
Resumen.....	10
Introducción.....	11
Situación en México de la garrapata	
<i>Rhipicephalus spp.</i>	11
Generalidades de <i>R. microplus</i>	14
Clasificación taxonómica.....	14
Morfología.....	14
Ciclo biológico.....	16
Patogenia.....	17
Control químico.....	18
Resistencia a los acaricidas.....	19
fases de resistencia a los acaricidas.....	19
Mecanismo de resistencia a los acaricidas.....	20
Organofosforados.....	21
Cumafós.....	21
Situación actual del cumafós en México.....	23
Cepa San Alfonso.....	23
Justificación.....	25
Hipótesis.....	26
Objetivos.....	27
Objetivo general.....	27
Objetivos particulares.....	27

Material y métodos.....	28
Ubicación.....	28
Técnica de presión selctiva con cumafós.....	28
Técnica de inmersión de hembras adultas.....	29
Análisis estadístico.....	30
Resultados.....	31
Discusión.....	36
Conclusiones.....	39
Referencias bibliograficas.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Situación actual en México de la garrapata *Rhipicephalus microplus*...12

Figura 2. Macho y Hembra de *Rhipicephalus microplus*...14

Figura 3. Ciclo biológico de *Rhipicephalus microplus*. ..16

Figura 4. Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de oviposición (%Iov) producidos por cumafós sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de presionarla selectivamente 3 veces con media dosis de cumafós...31

Figura 5. Media (\pm DS) de los porcentajes de eclosión (%Ec) producidos por cumafós sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de presionarla selectivamente 3 veces con media dosis de cumafós...31

Figura 6. Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de oviposición (%Iov) producidos por amitraz sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de presionarla selectivamente 3 veces con media dosis de cumafós...32

Figura 7. Media (\pm DS) de los porcentajes de eclosión (%Ec) producidos por amitraz sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de presionarla selectivamente 3 veces con media dosis de cumafós...32

Figura 8. Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de oviposición (%Iov) producidos por flumetrina sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de presionarla selectivamente 3 veces con media dosis de cumafós...33

Figura 9. Media (\pm DS) de los porcentajes de eclosión (%Ec) producidos por flumetrina sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de presionarla selectivamente 3 veces con media dosis de cumafós...33

Figura 10. Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de la oviposición (%IOv) producidos por cumafós, triclorfón y malatión sobre la cepa San Alfonso y la cepa Media Joya (susceptible)...34

ABREVIATURAS

% Ec	Porcentaje de eclosión.
% IOv	Porcentaje de inhibición de la oviposición.
%Ov	Porcentaje de oviposición.
# HO	Número de hembras que ovipositaron.
ANDEVA	Análisis de varianza.
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations.
FES-C	Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
NOM	Norma Oficial Mexicana.
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
TIA	Técnica de Inmersión de Adultas

RESUMEN.

El objetivo de este estudio fue demostrar el efecto de la subexposición al cumafós sobre el estado de resistencia de una cepa de *Rhipicephalus microplus* portadora de genes de resistencia. Se utilizaron dos cepas de *R. microplus*, una susceptible (cepa Media Joya) y otra con baja frecuencia de genes de resistencia (cepa San Alfonso) a ixodicidas convencionales. Hembras repletas de la cepa San Alfonso fueron sometidas a presión selectiva *in vitro* con media dosis terapéutica de cumafós y a partir de estas hembras se obtuvieron larvas con las cuales se realizaron infestaciones en bovinos y presiones *in vitro* subsecuentes, por cuatro generaciones. En cada generación, una parte de las hembras colectadas de la cepa San Alfonso y hembras repletas de la cepa Media Joya, se utilizaron para la realización de la técnica de Inmersión de hembras repletas en cumafós, flumetrina o amitraz y se midió el porcentaje de inhibición de la oviposición y el porcentaje de eclosión en cada cepa. En la última generación presionada de la cepa San Alfonso, se probaron otros dos organofosforados diferentes al cumafós que fueron triclorfón y malatión. Se observó un incremento gradual de la resistencia al cumafós en la cepa San Alfonso en relación directa al número de presiones selectivas con este acaricida, reflejada por la disminución gradual del porcentaje de inhibición de la oviposición y el aumento del porcentaje de eclosión ($p < 0.05$). Al mismo tiempo que se incrementó la resistencia al cumafós en la cepa San Alfonso, se observó incremento de la resistencia de la cepa a la flumetrina y disminuyó su resistencia al amitraz. Todos los ixodicidas utilizados produjeron inhibición drástica de la oviposición (97 a 98%) e inhibición total de la eclosión sobre la cepa susceptible (Media Joya) durante todo el experimento ($p < 0.05$). Las hembras repletas de la última generación presionada de la cepa San Alfonso, mostraron mayor ($p < 0.05$) resistencia al triclorfón y malatión que hembras repletas de la cepa susceptible. Estos resultados demuestran que la subexposición repetida al cumafós incrementa significativamente la resistencia a éste y a otros organofosforados en una población de garrapatas con antecedentes de resistencia múltiple, y sugieren que también se afecta la dinámica de resistencia de estas poblaciones a otros grupos de acaricidas.

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas son los ectoparásitos hematófagos más importantes del ganado en las áreas tropicales y subtropicales del mundo (Baxter y Barker, 1998).

Rhipicephalus microplus es la especie de garrapatas más importante en éstas áreas ya que produce grandes pérdidas económicas para la ganadería. Los efectos derivados de la infestación por garrapatas incluyen: anemia, reducción en el crecimiento, reducción en parámetros reproductivos, reducción en la producción de carne y leche, disminución en la calidad de las pieles, parálisis y transmisión de enfermedades como babesiosis y anaplasmosis (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2007).

R. microplus es una garrapata originaria del sureste de Asia, pero se ha distribuido a través de los trópicos como Australia, Este y Sur de África y Centro de América. Fue introducida a México junto con *R. annulatus* por el sur de Estados Unidos (Barré *et al.*, 2008).

La estrategia más utilizada para controlar las garrapatas consiste en romper el ciclo de ésta a través de la aplicación de tratamientos con acaricidas, sobre el cuerpo de los animales infestados a intervalos específicos determinados por la región ecológica y eficacia residual del acaricida (Rodríguez, 2002).

Situación en México de la garrapata *Rhipicephalus microplus*.

Las garrapatas *Rhipicephalus sp* (*Boophilus sp*) a través de su acción directa o del efecto indirecto sobre la producción animal, causan pérdidas a la ganadería bovina. El daño de la piel es causado por el piquete y los abscesos que se desarrollan producen apreciables pérdidas en el valor de ésta, además provocan la pérdida de sangre y transmiten toxinas al animal. En el caso de las vacas lecheras estos abscesos, frecuentemente están involucrados en la afectación y la pérdida de uno o más cuartos de la glándula mamaria con la consecuente disminución de la producción láctea. Además, las garrapatas tienen un efecto nocivo directo sobre la ganancia de peso de los animales; en el ganado de engorda, cada garrapata adulta repleta de sangre es capaz de reducir la ganancia de peso diaria en 0.6 g.

Debido a su importancia económica y sanitaria la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* ha sido la principal especie a la que se enfoca el control, en las campañas realizadas en México. De las 77 especies de garrapatas identificadas en México, 14 son importantes para la producción animal: *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *annulatus*, *Amblyomma cajennense*, *A. americanum*, *A. maculatum*, *A. imitator*, *Dermacentor variabilis*, *D. albipictus*, *D. nigrolineatus*, *D. accidentalis*, *Anocentor nitens*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Otobius megnini* y *Argas*

persicus. (SENASICA – SAGARPA, 2013). En México se estima que las pérdidas producidas en la ganadería bovina por garrapatas y las enfermedades que transmiten son de aproximadamente 48 millones de dólares (USD) anualmente. (Rodríguez et al., 2006). Los antecedentes de la erradicación de la garrapata *Rhipicephalus spp.* se remontan a la segunda década del siglo pasado. Básicamente, señalan la preocupación del sector pecuario por los daños ocasionados por la garrapata y una serie de acciones aisladas de lucha, desarrolladas por algunos estados de la República, tales como Sonora y Tabasco.

En el estado de Sonora se inició un programa que condujo a la liberación de 2.5 millones de hectáreas de este ectoparásito, gracias a esto, se establecieron las características técnicas esenciales de la Campaña conservadas hasta la fecha. En el año de 1992, con la creación de la Subsecretaría de Ganadería de la entonces Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), el programa de control de la garrapata *Rhipicephalus sp.* dependió operativa y técnicamente de la Dirección General de Salud Animal. A partir de 1996, con la nueva estructura de la Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria (CONASAG), el control de la garrapata se realiza de forma individualizada por los productores, con la asesoría y el apoyo del Gobierno Federal, a través de la SAGARPA y el SENASICA; los gobiernos estatales; las organizaciones de productores y los organismos auxiliares de Sanidad Animal en los estados (SENASICA, 2013).

La situación zoonosanitaria de la campaña contra la garrapata del género *Rhipicephalus sp.*, actualmente está referida a cada una de las fases del programa (Figura 1). La fase libre ocupa una porción importante del Norte del país, así como áreas del centro; comprende 94.4 millones de hectáreas, las cuales equivalen al 47.88% del territorio nacional. Las zonas en fase de erradicación comprenden a 1.1 millones de hectáreas que se ubican en las áreas en las cuáles el parásito ha sido eliminado por efectos de la Campaña y representan un 0.57% del territorio nacional. Las áreas en fase de control en este momento alcanzan una superficie total de 101.6 millones de hectáreas y representan el 51.5% del país (SAGARPA, 2013).

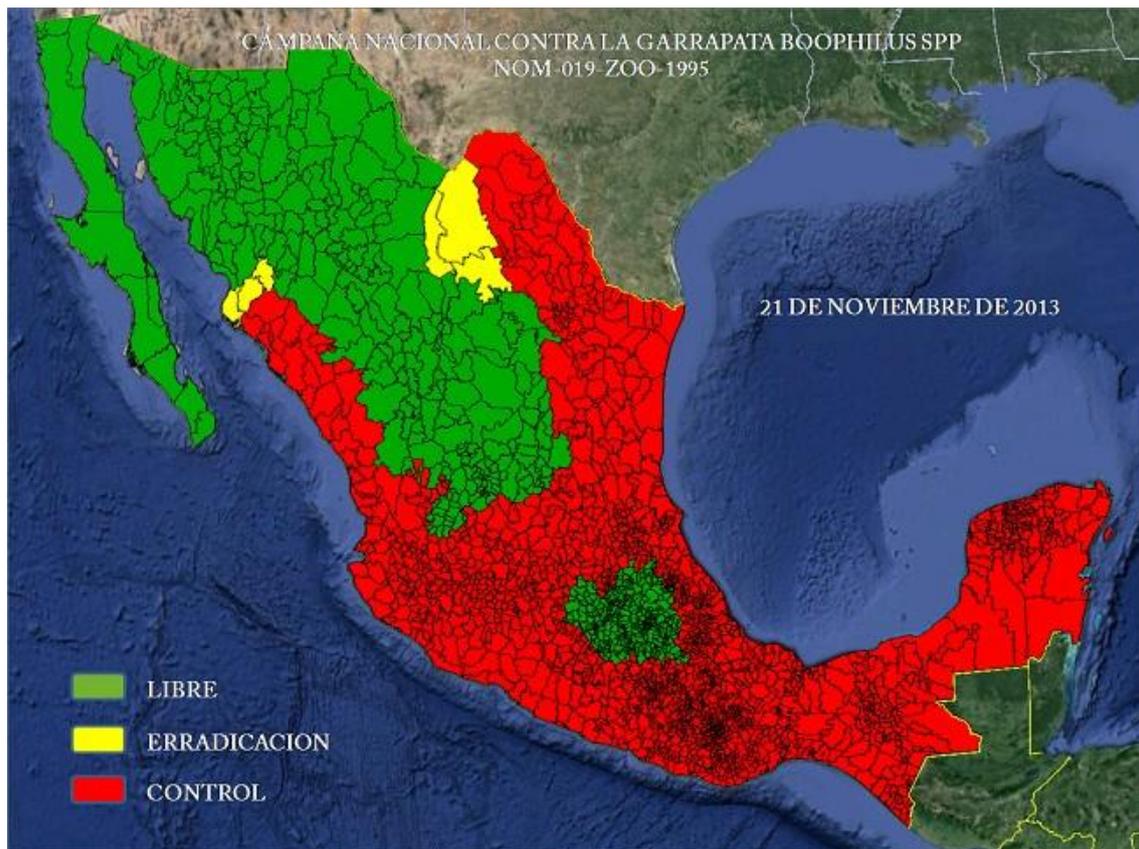


FIGURA 1: Situación actual de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en México. (SAGARPA, 2013).

Los acaricidas organofosforados fueron profusamente utilizados en la Campaña Nacional de erradicación de la garrapata entre 1974 y 1984 en México. Los organofosforados empleados durante ese periodo incluyeron cumafós, clorpyrifos, clorfenvinfos, diazinón y etión. El primer caso de resistencia a organofosforados se detectó en garrapatas *R. microplus* en un rancho en el Sur de México (Tuxpan, Veracruz) en 1983. La cepa de garrapatas establecida a partir de esa ubicación demostró tener de 10 a 14 veces la resistencia a la dosis terapéutica de cumafós, clorpyrifos y etión. La resistencia a los organofosforados pronto se generalizó en las regiones central y meridional de México. A continuación, se introdujeron en México en 1986 los acaricidas piretroides sintéticos, para aliviar los problemas de resistencia a organofosforados. La resistencia a piretroides sintéticos fue detectada por primera vez en 1993 y pronto se difundió de manera extensiva. Los niveles de resistencia a piretroides sintéticos fueron generalmente en la escala de 10 – 350 veces, con la excepción de 2 poblaciones de garrapatas en las que se detectó un incremento en la resistencia en más de 1000 veces. Como resultado de la intensa presión de selección por el uso de organofosforados y piretroides sintéticos, se encontró que *R. microplus* ha desarrollado resistencia a ambas clases de acaricidas en por lo menos 15 Estados de la República mexicana. Junto con los piretroides sintéticos también se introdujo en 1986, el amitraz,

pero su uso fue inicialmente limitado debido a un costo mayor. El uso de amitraz se volvió mas frecuente después de 1993, cuando empezaron los problemas de resistencia a piretroides sintéticos y obstaculizaron los esfuerzos para controlar la garrapata en el país. El primer caso de resistencia al amitraz en México se informó en 2002 (Rodríguez – Vivas *et. al.*, 2012)

Normativa oficial

En México se la Norma Oficial Mexicana “NOM-019-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la Garrapata *Boophilus spp.* En ella se informa sobre la identificación de focos de resistencia de las garrapatas *Boophilus spp* a productos de las familias de los organofosforados y piretroides en unidades de producción de San Luis Potosí, Veracruz y Tabasco, en 1993 (Armendáriz, 2003).

Generalidades de *Rhipicephalus microplus*.

Clasificación taxonómica.

R. microplus (Canestrini, 1887) pertenece al phylum *Arthropoda*, Clase *Arachnida*, Orden *Acarina*, Suborden *Metastigmata*, y Familia *Ixodidae* (Quiroz, 1984; Encinas, 1999; Soulsby, 1988). Las 5 especies del género *Boophilus* descritas por Curtice en 1891, han sido reclasificadas con base en su relación con garrapatas del género *Rhipicephalus*, tomando en cuenta la filogenia y la evolución de las garrapatas rhipicefalinas y debido a que existe una fuerte evidencia molecular (secuencias de ADN comparadas por PCR), morfológica (la falta de ornamentación del escudo), zoogeográfica histórica (origen Afrotropical/Oriental) y distributiva mundial, se ha determinado que el género *Rhipicephalus* está ampliamente relacionado con el género *Boophilus*; proponiendo a éste último como subgénero. Debido a que existe una gran cantidad de información bajo el género *Boophilus* algunos autores sugieren que las especies del mismo se refieren como *Rhipicephalus (Boophilus) sp.* (Barker *et. al.*, 2002; Murrel *et. al.*, 2003).

Morfología.

El cuerpo de las garrapatas está cubierto por un exoesqueleto formado por una capa cuticular quitinosa. El cuerpo está formado por una porción anterior denominada gnatosoma, y una porción posterior denominada idiosoma (Figura 2). Las garrapatas pertenecientes a la Familia *Ixodidae* (garrapatas duras) poseen escudo y el gnatosoma se encuentra en posición anterior con respecto

al idiosoma (Quiroz, 1984). *R. microplus* es una garrapata dura, de color café oscuro, las hembras llegan a medir hasta 1.5 cm cuando están repletas y los machos hasta 0.5 cm. El gnatosoma es corto y su escudo es de color café sin ornamentaciones (Barker *et. al.*, 2002). Los machos poseen un escudo que cubre casi todo el cuerpo, no así en las hembras en las que el escudo es pequeño y cubre aproximadamente un octavo del cuerpo, por lo que tienen la capacidad de expandir la cutícula para repletarse (Encinas, 1999).

El gnatosoma o capítulo está formado por los órganos bucales y forma un canal de alimentación en el cual el alimento pasa hacia el esófago. Las estructuras que lo conforman son: base del capítulo, palpos, quelíceros e hipostoma. Los quelíceros y los palpos están adaptados para la captación de los alimentos, además de una función quimiosensorial. El hipostoma posee una serie de prolongaciones cortantes en su superficie externa, que permiten el desgarre de la piel para la fijación de la garrapata a su hospedero (Anderson y Magnerelli, 2008). En el caso de *R. microplus*, la base del capítulo es de forma hexagonal y los palpos no rebasan en tamaño al hipostoma (Kang *et. al.*, 1985).

El idiosoma está formado por una parte anterior o propodosoma y una posterior o histerosoma. En el propodosoma se encuentran las patas y el poro genital, mientras que en el histerosoma se encuentran los espiráculos respiratorios y el ano. La producción de huevos depende de factores ambientales, pero de manera general se estima que una garrapata grávida libera de 2500 a 3500 huevos y la puesta de 5 a 15 días. **La larva o pinolillo** Presenta 3 pares de patas y por lo general se puede apreciar el mayor porcentaje de larvas repletas entre el sexto y noveno día. Miden aproximadamente 1.0 mm de largo, y son de color blanco cremoso. **La ninfa** presenta cuatro pares de patas y una doble fila de dientes en el hipostoma. Las ninfas repletas miden entre 2.5 mm y 4.0 mm y son de color gris oscuro. Este estadio todavía no presenta el orificio genital.

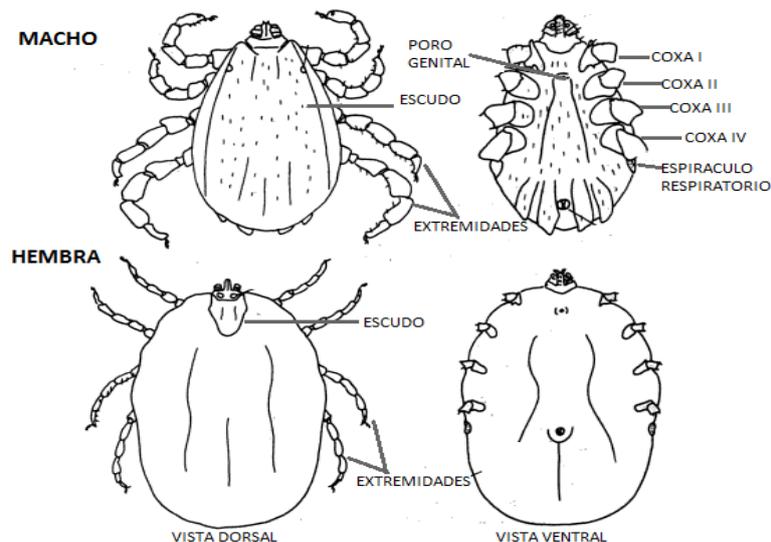


Figura 2: Morfología externa de *R. microplus*. Vistas dorsal y ventral de macho y hembra adultos. (Adaptado de Quiroz, 1984).

Ciclo biológico

Rhipicephalus microplus presenta un ciclo de vida directo utilizando a los bovinos como hospederos definitivos para completar su desarrollo (Cordero, 1999). Las garrapatas tienen 4 estadios evolutivos en su ciclo vital: huevo, larva, ninfa y adulto (figura 3).

El ciclo biológico puede durar entre 4 y 10 meses; y comprende 2 fases: la fase de vida libre o fase no parásita, y la fase parásita. La fase de vida libre inicia cuando la hembra repleta se desprende del hospedero y busca un lugar para ovipositar. El periodo de preoviposición es de 2 a 39 días y el periodo de oviposición es de 4 a 44 días. Cada hembra de *R. microplus* pone de 2500 a 3500 huevos. Después los huevos se incuban de 14 a 146 días hasta la eclosión de las larvas (Soulsby, 1988).

En la fase de vida libre se presentan 2 etapas: la etapa pasiva y la etapa de búsqueda. Durante la etapa pasiva las larvas recién nacidas adquieren la madurez para buscar al hospedero alimentándose de su vitelo. Dentro de la etapa de búsqueda, las larvas suben a las puntas de los pastos para encontrar a su hospedero, al que detectan por medio de la emisión de dióxido de carbono, la vibración y el calor corporal (Anderson y Magnarelli, 2008).

La fase parásita comienza una vez que las larvas han hallado a su hospedero, se adhieren a su pelaje, insertan en la piel sus piezas bucales y comienzan a alimentarse. Mientras se alimenta, la larva realiza la muda a ninfa y posteriormente a adulto. El macho adulto busca a la hembra para la cópula. Posteriormente la hembra fecundada se ingurgita (repleción de sangre) y finalmente se desprende del hospedero, para llevar a cabo la oviposición en el suelo (Quiroz, 1984).

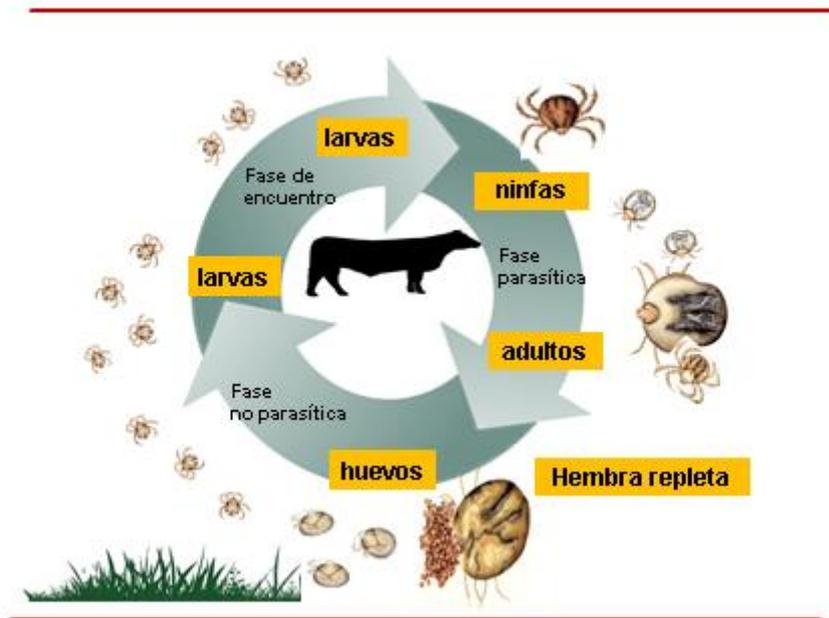


Figura 3: Ciclo biológico de *R. microplus*. Los estadios de la garrapata que ocurren sobre el hospedero son la fase parasítica, y los que ocurren en el suelo pertenecen a la fase no parasítica (Fernández, 2006).

Patogenia

Los daños que *R. microplus* genera a su hospedero se deben a las acciones patógenas traumática, expoliatriz, inoculatriz, tóxica y antigénica. La acción traumática es causada por la perforación de la piel del hospedero con las piezas bucales de la garrapata al momento de alimentarse. La acción expoliatriz consiste en la sustracción de sangre y líquidos tisulares, cuyo principal efecto es la anemia. En este sentido, el estado adulto es capaz de consumir entre 0.5 ml y 1.2 ml de sangre, por lo que el grado de infestación de los animales está directamente relacionado al total de la pérdida del volumen sanguíneo (entre más garrapatas haya mayor será la pérdida de sangre). Además, la anemia puede agravarse debido a hemoparásitos transmitidos que pueden tener acción lítica sobre los eritrocitos (Quiroz, 1984; Jonsson, 2006).

La acción inoculatriz, corresponde a la introducción de agentes patógenos causantes de otras enfermedades en el hospedero. Las garrapatas son vectores de microorganismos tales como protozoarios, rickettsias, espiroquetas y virus. *R. microplus* es el principal transmisor de *Babesia bigemina* en Australia, Panamá y América, *Babesia argentina* en Australia y Argentina, y *Anaplasma marginale* en Australia y América (Soulsby, 1988; Uilenberg, 1995; De Castro, 1997).

Las acciones tóxica y antigénica son asociadas a las secreciones salivales de la garrapata que son inyectadas por la herida y que contribuyen a prevenir la coagulación de la sangre y la reacción inflamatoria, además de que inhiben el dolor causado por la presencia de la garrapata (Quiroz, 1984).

Control químico de *R. microplus*

El éxito de un acaricida depende de la toxicidad del principio activo, calidad del producto, su correcta dosificación o de la superficie alcanzada en el cuerpo del animal. Se pueden emplear diferentes métodos para la aplicación de un ixodicida de acuerdo a las características del producto, como baño de inmersión, aspersion, aplicación epicutánea y aplicación parenteral (Kevin *et al.*, 2012).

1.- Baño de inmersión: En ésta técnica se sumerge al ganado en la solución ixodicida. Se ha visto que éste método es el más efectivo para el control de las garrapatas; sin embargo, las instalaciones deben contar con un corral de acopio, manga de manejo, tina y escurridor, lo cual resulta muy gravoso para las pequeñas unidades de producción pecuaria (George *et al.*, 2004; NOM-019-ZOO-1994).

2.- Baño de aspersion: éste procedimiento consiste en la aplicación del ixodicida mediante el uso de una bomba de rociado, la cual puede ser accionada de manera manual o mecánica. Las instalaciones que se recomiendan son: un corral de acopio y una manga de manejo, en la cual se rocía el ixodicida a una presión constante, con lo que se asegura que el producto se disperse por toda la superficie corporal del animal (NOM-019-ZOO-1994).

3.- Aplicación epicutánea: Por éste método se coloca el fármaco directamente en la piel del animal, por la línea media dorsal, desde la cruz hasta la región coccígea. El ixodicida se dispersa en la piel del animal y posteriormente es ingerido por el parásito (NOM-019-ZOO-1994).

4.- Aplicación parenteral: consiste en la inyección del fármaco, que al absorberse y alcanzar niveles sanguíneos adecuados, tiene efecto sobre las garrapatas que se encuentran alimentándose (NOM-019-ZOO-1994).

Resistencia a los ixodicidas

La resistencia se define como la capacidad de un organismo de soportar dosis mayores de un tóxico, que normalmente serían letales para la mayoría de los individuos en una población típica de la misma especie (Rodríguez, 2012). La resistencia de *R. microplus* a organofosforados, piretroides sintéticos y amitraz se ha descrito alrededor del mundo, principalmente en Australia y Latinoamérica (Rodríguez, 2012).

En México la existencia y propagación de resistencias a ixodicidas comerciales es un serio problema que afecta a la ganadería vacuna. La historia de las resistencias en el ámbito mundial comienza en Australia en 1937 con los arsénicos, extendiéndose en 1950 a los ciclodienos clorinados, en 1954 al DDT y en 1964 a los organofosforados. En México desde 1981 se identificaron poblaciones de garrapatas resistentes a los organofosforados, distribuidas en áreas tropicales bajas del Golfo de México y la península de Yucatán, la zona conocida como las Huastecas. En 1993 apareció resistencia a piretroides en Soto la Marina, Tamaulipas y Emiliano Zapata, Tabasco. Para 1998 el fenómeno de la resistencia había sido constatado en 13 estados de México. En 2002 se notificó resistencia a amitraz en Tabasco, presentando la cepa “San Alfonso” también resistencia a organofosforados y piretroides (Armendáriz, 2003).

Cepa Tuxpan. Fue la primera evidencia de resistencia a ixodicidas en México. Se aisló en 1981 en el municipio de Tuxpan, Veracruz y presentó un patrón de resistencia a organofosforados (Ortiz *et. al.*, 1995).

Cepa Tempoal. Denominada así por su procedencia (Tempoal, Veracruz) y fue caracterizada por una resistencia mixta (organofosforados y organoclorados) (Aguirre y Santamaría, 1986).

Cepa La mora. Originaria del municipio de Emiliano Zapata, Tabasco, fue detectada en el año de 1993 como una de las primeras cepas resistentes a piretroides (Grapain, 2010).

Fases de resistencia.

En México se han reportado cepas de *R. microplus* resistentes a diferentes ixodicidas como organofosforados (cepas Caporal, San Román, Tuxpan y Tempoal), piretroides (cepas Corrales, Soto la Marina, Aldama, Cenotillo y Tecax) y amidinas (San Alfonso), así como cepas doble (La Mora) y triple resistentes (San Alfonso) (Grapain, 2010).

Los cambios genéticos que confieren resistencia “fisiológica” a las garrapatas se fundamentan en modificaciones bioquímicas que conllevan a la no presentación de efectos tóxicos del ixodicida en ellas.

Existen tres fases en el desarrollo de la resistencia a los ixodicidas (Alonso-Díaz *et al.*, 2006).

- a) Fase de establecimiento: esta ocurre cuando aparece el alelo resistente en una población, generalmente es un proceso dado por mutaciones naturales, independiente a la presión de selección.
- b) Fase de desarrollo o diseminación: es el aumento del número de individuos resistentes después del uso de ixodicidas químicos. En éste pueden ocurrir dos métodos de selección: la selección rápida ocurre cuando el gene de resistencia es dominante o parcialmente dominante y permite la selección de heterocigotos. La selección lenta se da cuando los alelos son recesivos. En ésta fase aún no son detectables las fallas de los ixodicidas llevándose a cabo la dispersión hacia otras regiones en forma desapercibida.
- c) Fase emergente: el alelo resistente es lo suficientemente común en la población. En ésta la eficacia de los ixodicidas ha disminuido considerablemente debido a la alta presión de selección.

Mecanismos de resistencia

Existen cuatro mecanismos de resistencia los cuales son:

1.- Penetración reducida: ésta acción se presenta en la cutícula de la garrapata donde se dan cambios mediados por varios compuestos químicos que disminuyen la penetración del ixodicida.

2.- Incremento en la detoxificación: en éste aspecto, la garrapata intensifica el metabolismo del fármaco mediante reacciones de hidrólisis, oxidación, reducción y conjugación cuyo objetivo es limitar la acción del ixodicida y/o transformar sustratos liposolubles en hidrosolubles, promoviendo su excreción. Éste proceso es el más frecuente que desempeña un rol significativo en la resistencia a organoclorados, organofosforados, piretroides sintéticos, carbamatos, y endectocidas. La detoxificación incrementada se concreta mediante diversos sistemas enzimáticos inespecíficos tales como las oxidasas de función mixta (OFM), hidrolasas (esterasas y carboxiesterasas) y las S-transferasas de glutatión (Georghiu, 1994; Chevillón *et al.*, 1999).

3.- Sensibilidad reducida en los sitios blancos.

Aquí se consideran dos acciones importantes:

- a) Insensibilidad en el sistema nervioso, mecanismo que implica alteraciones en el canal de sodio (Na⁺) neuronal; resistencia cruzada entre DDT y análogos, también a todos los piretroides, donde el primero es asociado con canales sódicos y el segundo con alteración de la

fosforilación de las proteínas y regulación del calcio intracelular, ambos implicados en la liberación de neurotransmisores. La resistencia por insensibilidad también comprende a los ciclodienos en relación con el receptor gabaérgico, inclusive se demostró resistencia cruzada entre ciclodienos y fipronil, fármacos que comparten el modo de acción al interactuar con el ionóforo asociado al ácido gamma-aminobutírico (GABA) (Mullin y Scott, 1992; French-Constant *et al.*, 2004).

- b) Menor actividad de acetilcolinesterasa, mecanismo que se relaciona con modificaciones en ésta enzima en presencia de los compuestos inhibidores organofosforados y carbamatos (Guerrero *et al.*, 2007).

4.- Resistencia no fisiológica: la cual, no está vinculada con el ingreso o la acumulación química, más bien se encuentra referida a modificaciones en la conducta de las garrapatas inducida en el momento que establece contacto con el producto químico; así, éstos ectoparásitos se desplazan hacia las regiones corporales del ganado donde no exista evidencia de la presencia del ixodicida (Errecalde *et al.*, 2003).

Organofosforados

Son compuestos que poseen un átomo de fósforo en el centro de la molécula, son derivados del ácido fosfórico, cuyos grupos hidroxilos están sustituidos por elementos como flúor, azufre, cloro, grupos amino y radicales orgánicos. Son lipofílicos de rápida absorción por la piel y se acumulan en tejido graso, de donde se liberan lentamente al torrente sanguíneo y otros líquidos fisiológicos. Tienen una permanencia prolongada de 4 a 8 días. Los compuestos más usados de éste grupo son: Clorfenvinfos, Clorpirifos, Cumafós y Diazinon, triclorfón y malatión (Tapia, 2004).

Cumafós

Naturaleza química.

El cumafós es un material cristalino de blanco a marrón (similar a la arena o el azúcar) con un ligero olor a azufre.

Acción farmacológica.

Se utiliza para el control de las verminosis intestinales, así como para el control de ectoparásitos.

Farmacocinética.

Por sus características liposolubles, se absorbe fácilmente por piel. Se distribuye en todos los tejidos. Se excreta por vía renal, heces, sudor, y por vía aérea. En ganado bovino deberá evitarse el consumo de leche hasta una semana especialmente cuando se utilizó cumafós.

Farmacodinamia.

Inactiva la acetil-colinesterasa irreversiblemente tanto en los mamíferos como en los parásitos y se presentan signos típicos de sobrestimulación colinérgica. Los parásitos así tratados serán incapaces de coordinarse y serán expulsados fácilmente del intestino o no podrán seguir aferrados a su sitio, en el caso de los ectoparásitos.

Posología.

Para verminosis intestinal:

Bovinos. 15mg/kg PO

Ovinos: 8mg/kg PO

Garrapaticida.

10ml/10L de agua para aspersión

1L/1000L de agua para inmersión

Contraindicaciones

No se debe utilizar en hembras gestantes, ni en animales sensibles a la fórmula. Debe evitarse el consumo de leche y carne de animales tratados con éste medicamento.

Efectos colaterales y toxicidad.

La toxicidad es en virtud de los efectos de la Dietil-colinesterasa. Los efectos colinérgicos se dividen en nicotínicos y muscarínicos.

- Muscarínicos: Disnea, broncoconstricción, aumento de secreciones bronquiales, salivación, lagrimeo, miosis, aumento de secreciones gastrointestinales.
- Nicotínicos: Temblor, espasmos musculares, con la consecuente fatiga de los músculos intercostales, esto provoca una disnea aún más marcada.

Presentación comercial.

Asuntol baño 0.2%

La resistencia al cumafós y a los organofosforados en general se da por un gene recesivo que codifica para una acetilcolinesterasa que no se ve afectada por estos acaricidas, por lo que es común que cuando las cepas adquieren resistencia a uno de ellos, se vuelven resistentes a varios organofosforados.

Situación actual del cumafós en México

Los acaricidas organofosforados fueron profusamente utilizados en la Campaña Nacional de erradicación de la garrapata entre 1974 y 1984 en México. Los OPs empleados durante ese período incluyen coumaphos, chlorpyriphos, chlorfenvinphos, diazinón y Etión. El primer caso de resistencia a OPs se detectó en garrapatas *R. (B). microplus* de un rancho en el sur de México (Tuxpan, Veracruz) en 1983 (Rodríguez *et. Al.*, 2012).

La resistencia múltiple a los pesticidas en el territorio Mexicano continúa extendiéndose a razón de la presión que se ha ejercido mediante el empleo de garrapaticidas durante los últimos años y actualmente poblaciones de garrapatas han sido diagnosticadas resistentes a organofosforados, piretroides y amidinas (Rosario-Cruz *et al.* 2009).

Cepa San Alfonso.

La cepa San Alfonso fue reportada por Soberanes *et al.* (2002) como el primer aislamiento resistente a Amitraz en México y una de las primeras cepas triple resistentes. Los autores reportaron porcentajes de control de 22, 24 y 26% para el Amitraz, cumafós y flumetrina respectivamente en esta cepa. La cepa San Alfonso ha sido mantenida y utilizada en FES-Cuautitlán como cepa de referencia para la evaluación de nuevos ixodicidas desde 2008 (Prado-Ochoa *et al.*, 2014; Pérez-González *et al.*, 2014), sin embargo debido a su largo mantenimiento en el laboratorio, la cepa actualmente ha dejado de mostrar resistencia al Amitraz y a Cumafós. Es sabido que los genes de resistencia son recesivos por lo que es probable que la pérdida de la característica fenotípica de resistencia en la cepa se deba a fenómenos de heterocigosis con genes de susceptibilidad, por lo que la presión de la cepa a través de las generaciones con uno de los acaricidas mencionados puede restablecer rápidamente la resistencia en la población.

JUSTIFICACIÓN

Debido a un abuso en la utilización de los acaricidas, se han generado diferentes mecanismos de resistencia a los mismos. Conocer la evolución de la resistencia de una cepa de *R. microplus* presionada sistemáticamente con un organofosforado a través de varias generaciones, nos puede ayudar a evaluar el impacto de la subutilización de los acaricidas. Por lo anterior, en este trabajo se pretende evaluar el efecto de la subexposición a un organofosforado en la cepa San Alfonso, la cual fue reportada en el año 2002 como triple resistente y que por haber sido mantenida en el laboratorio perdió ésta característica, sin embargo se considera una cepa portadora de genes de resistencia.

HIPÓTESIS

La presión selectiva con cumafós aumenta la resistencia a éste y a diversos ixodicidas en una cepa de *Rhipicephalus microplus* portadora de genes de resistencia.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Demostrar el efecto de la subexposición a un producto comercial ixodicida sobre el estado de resistencia de una cepa de *Rhipicephalus microplus* portadora de genes de resistencia.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Presionar selectivamente con dosis subterapéuticas de cumafós a una cepa de *R. microplus* portadora de genes de resistencia por varias generaciones.
- 2.- Medir por medio de la Técnica de Inmersión de Adultas (TIA) diferentes parámetros reproductivos de *R. microplus* subexpuestas a cumafós.
- 3.- Determinar la resistencia de la cepa de *R. microplus* presionada selectivamente a otros organofosforados.
- 4.- Determinar la susceptibilidad de la cepa de *R. microplus* presionada a otros ixodicidas comerciales.
- 5.- Comparar los parámetros evaluados de la cepa presionada selectivamente con una cepa susceptible a ixodicidas comerciales (Cepa Media Joya).

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de realización.

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular de Parásitos (L-1) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria en Salud Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Los animales fueron mantenidos en los corrales de Posgrado de la misma Facultad.

Cepas de *R. microplus*. Se utilizaron dos cepas de *R. microplus* mantenidas en el laboratorio desde hace varios años. La cepa “Media Joya” es susceptible a amidinas, piretroides y organofosforados. La cepa “San Alfonso” originalmente fue reportada como cepa de referencia con resistencia a organofosforados, piretroides y amidinas, sin embargo, esta cepa ha sido mantenida por muchos años en el laboratorio. En la fecha de inicio del presente estudio, la cepa mostraba susceptibilidad a cumafós y amitraz y fue sólo resistente al piretroide flumetrina.

Diseño experimental.

Se infestaron bovinos con aproximadamente 20,000 larvas de la cepa Media Joya o San Alfonso, durante esta etapa, los animales se mantuvieron en infestaderos diseñados *ad hoc* por 21 días, posteriormente se recolectaron las hembras repletas desprendidas utilizando para ello charolas situadas debajo de los infestaderos. Una parte de las hembras colectadas de cada cepa se utilizó para la realización de la TIA con cumafós, flumetrina y amitraz. En el caso de la cepa San Alfonso, otra parte fue utilizada para establecer presión selectiva empleando media dosis de cumafós y así obtener de huevos y larvas con las cuales se realizaron infestaciones y presiones subsecuentes por cuatro generaciones. En cada una de las generaciones anteriormente mencionadas, se realizaron pruebas de inmersión de hembras repletas con cumafós, flumetrina y amitraz. En la última generación se probaron otros dos organofosforados diferentes al cumafós que son el triclorfón y el malathión.

Técnica de presión selectiva con cumafós.

Las garrapatas colectadas se lavaron, secaron y pesaron para después ser seleccionadas con base en la integridad de sus piezas bucales para asegurar

la oviposición. Se sumergieron cien garrapatas en una solución de 0.1mg/ml (media dosis de Cumafós) por media hora en agitación constante. Después se decantó el líquido y se recuperaron las garrapatas, se secaron con papel absorbente y se colocaron en cajas Petri en grupos de 20 garrapatas cada una. Posteriormente las garrapatas se incubaron en estufa entomológica a 28 °C con humedad relativa de 70-90% por 15 días. El número de hembras que ovipositaron fue registrado, se recuperaron sus huevos y se distribuyeron en frascos de vidrio a razón de 1g por frasco, se les colocó 1 tapón de algodón y se incubaron en estufa entomológica a 28 °C con humedad relativa del 70-90% hasta la eclosión de las larvas. Se utilizaron larvas de un mes de nacidas para llevar a cabo la infestación subsecuente.

Técnica de inmersión de hembras repletas.

Las garrapatas colectadas se lavaron, secaron y pesaron, después se seleccionaron hembras en repleción con integridad de sus piezas bucales para asegurar la oviposición. Se realizó una dilución de cada fármaco utilizado (flumetrina 0.03 mg/ml, cumafós 0.2mg/ml y amitraz 0.2mg/ml) en agua destilada y un grupo control este solo contuvo agua destilada. Por triplicado se sumergieron 10 hembras repletas en 25 ml de cada dilución de los diferentes ixodicidas por 30 minutos. Un grupo testigo de 10 hembras sumergidas en agua se utilizó en cada prueba. Posterior a la inmersión, las garrapatas se extrajeron, se secaron y se colocaron en cajas de Petri colocándolas dorsalmente sobre cinta adhesiva para su incubación en estufa entomológica a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ con una humedad relativa de 80 a 90% por 14 días. Se registró el número de hembras que ovipositaron (#HO), y el porcentaje de oviposición (%Ov) para cada tratamiento. Se separó la masa de huevos para pesarla y posteriormente se colocaron en frascos de cristal para incubarlos hasta la completa eclosión de las larvas (5 semanas). Finalmente se contaron en microscopio estereoscópico la totalidad de huevos no eclosionados y de larvas eclosionadas contenidos en un centímetro cuadrado, para obtener el porcentaje de eclosión (%Ec).

Análisis estadístico.

Los datos de #HO, %IOv y %Ec fueron analizados por ANDEVA una vía con un nivel de confianza del 95%, con el software Statisticafor Windows 7 de Statsoft®. Las diferencias entre los promedios de las garrapatas tratadas y las testigos fueron determinadas por pruebas de Tukey.

RESULTADOS

Los tres ixodicidas utilizados (cumafós, flumetrina y amitraz) produjeron inhibición drástica de la oviposición (97 a 98%) e inhibición total de la eclosión (%Ec = 0) sobre la cepa Media Joya (susceptible) durante todo el experimento (Figura 4).

Se observó un decremento gradual ($p < 0.05$) del %IOv producida por el cumafós sobre la cepa San Alfonso de *R. microplus* en relación directa al número de presiones selectivas con este acaricida (Figura 4). Por otro lado, el %Ec de la cepa aumentó en relación directa al número de ciclos de presión selectiva y fue mayor ($p < 0.05$) en el segundo y tercer ciclo de presión selectiva que en el primero (Figura 5).

En el caso del amitraz, se observó un incremento gradual ($p < 0.05$) del %IOv producida por este acaricida sobre la cepa San Alfonso en relación directa al número de presiones selectivas con cumafós (Figura 6). Sin embargo, este acaricida redujo ($p < 0.05$) drásticamente el %Ec de la cepa en los tres ciclos de presión selectiva con el cumafós (Figura 7).

En el caso de la flumetrina, no se observaron diferencias en los %IOv ($p > 0.05$) producidos por este acaricida sobre la cepa San Alfonso (Figura 8). Sin embargo, el %Ec aumentó con el número de ciclos de presión selectiva y fue mayor ($p < 0.05$) en el segundo y tercer ciclos que en el primero (Figura 9).

Los %IOv producidos por cumafós, triclorfón y malatión sobre la cepa San Alfonso y la cepa Media Joya (susceptible) se muestran en la figura 10. El cumafós produjo %IOv del 17.1% en la cepa San Alfonso y del 98.4% en la cepa Media Joya, el troclorfón produjo %IOv del 8.1% y del 82.5% respectivamente y el malatión produjo %IOv del 6.6% y del -6.0% (aumento de la oviposición) respectivamente sobre las mismas cepas. El cumafós y triclorfón produjeron mayores %IOv en la cepa Media Joya que en la cepa San Alfonso ($p < 0.05$) no observándose esta diferencia en el caso del malatión ($p > 0.05$) (Figura 10).

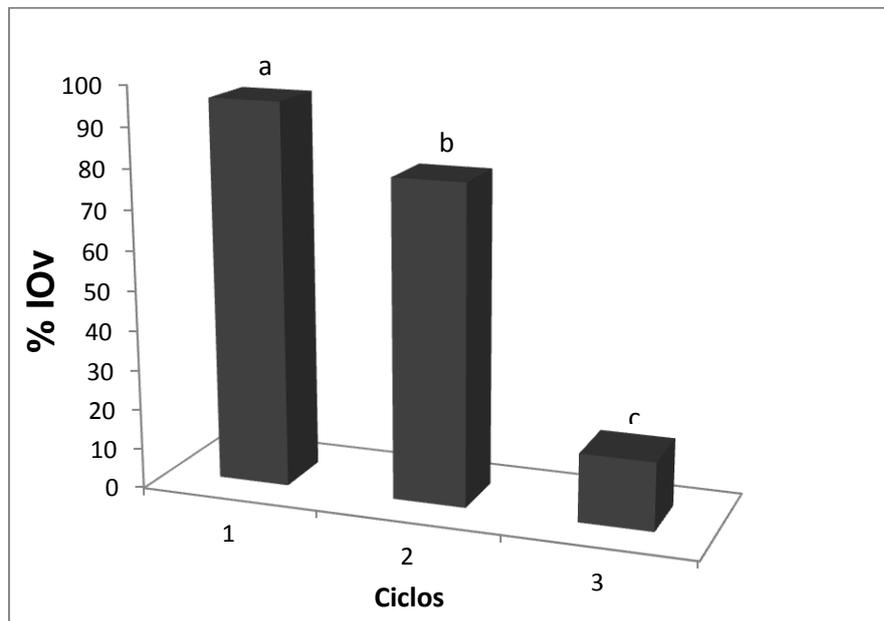


Figura 4.- Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de oviposición (%IOV) producidos por cumafós sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de 3 ciclos de presión selectiva con media dosis de cumafós (letras diferentes indican diferencia significativa $p < 0.05$).

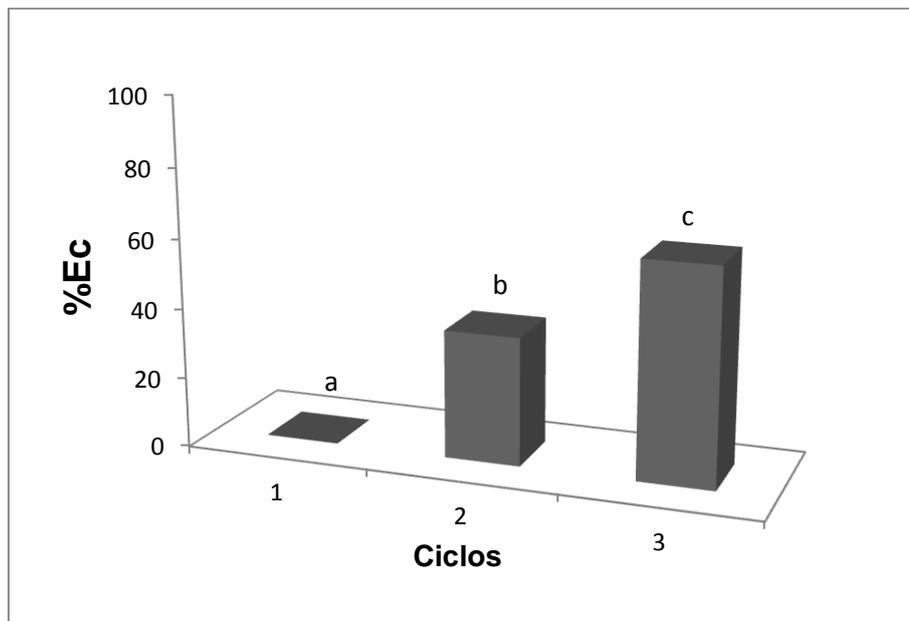


Figura 5.- Media (\pm DS) de los porcentajes de eclosión (%Ec) producidos por cumafós sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de 3 ciclos de presión selectiva con media dosis de cumafós. (letras diferentes indican diferencia significativa $p < 0.05$).

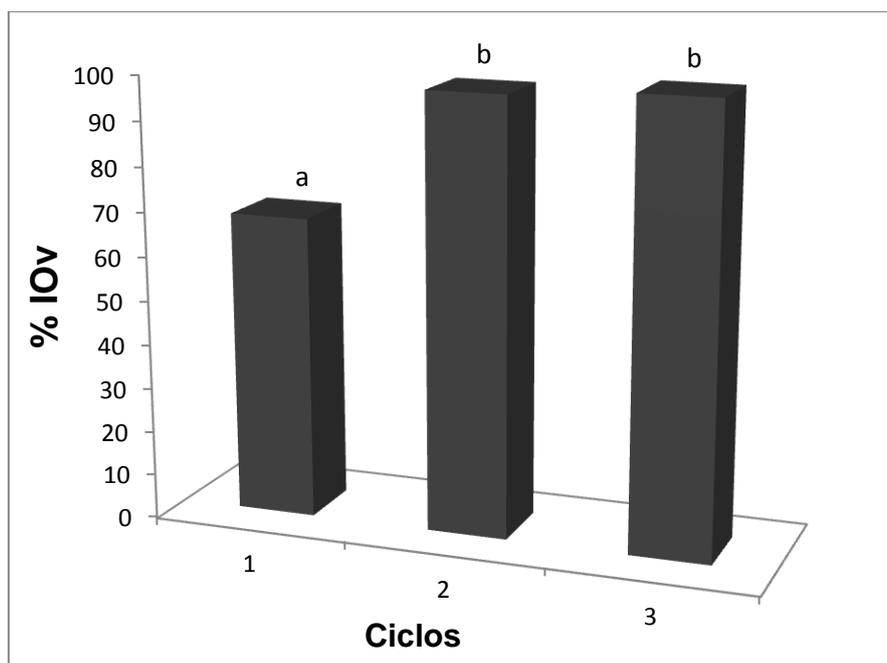


Figura 6.- Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de oviposición (%IOV) producidos por amitraz sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de 3 ciclos de presión selectiva con media dosis de cumafós (letras diferentes indican diferencia significativa $p < 0.05$).

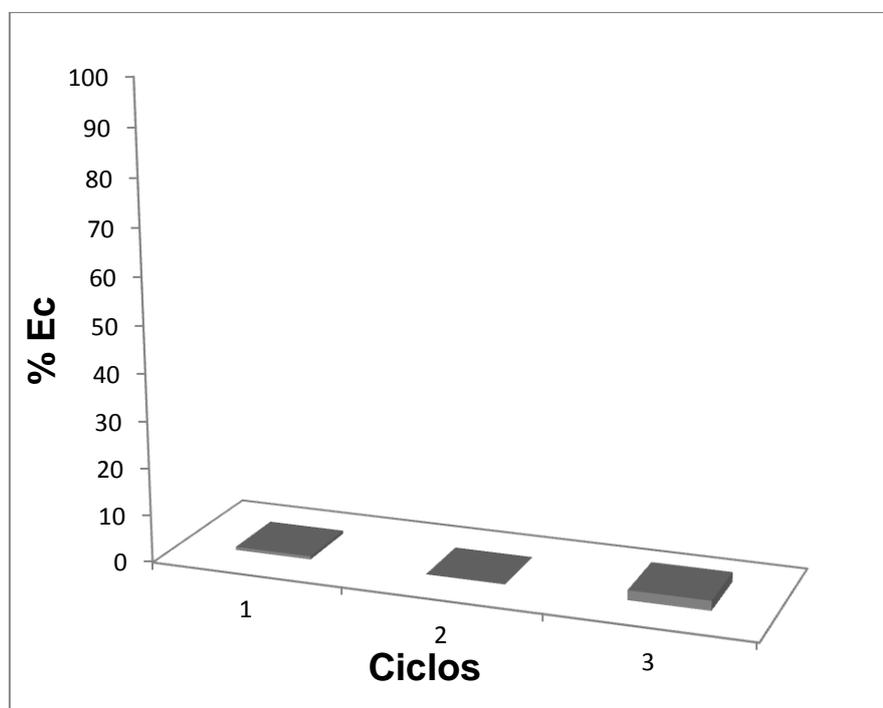


Figura 7.- Media (\pm DS) de los porcentajes de eclosión (%Ec) producidos por amitraz sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de 3 ciclos de presión selectiva con media dosis de cumafós.

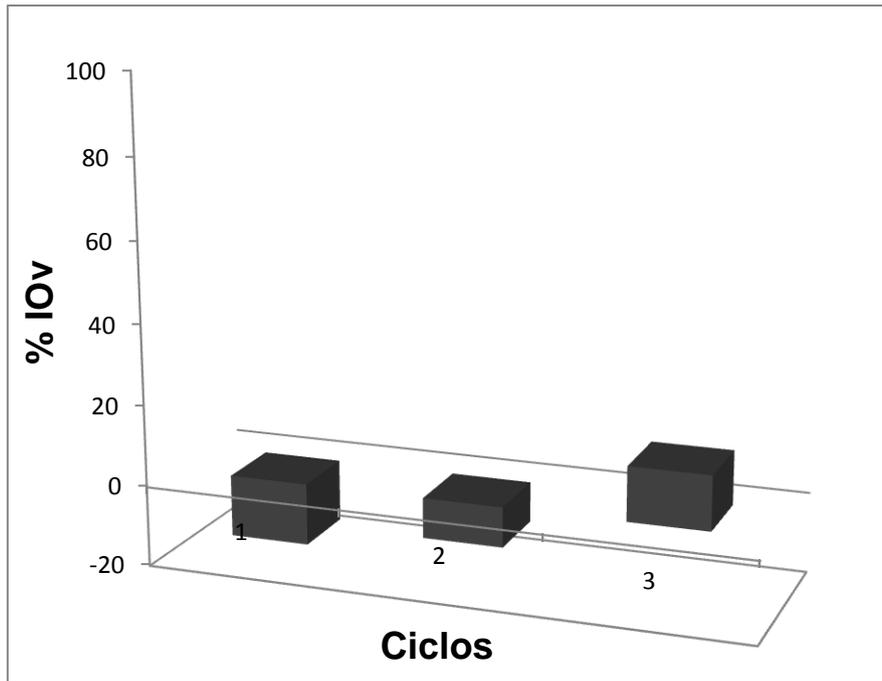


Figura 8.- Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de oviposición (%IOV) producidos por flumetrina sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de 3 ciclos de presión selectiva con media dosis de cumafós.

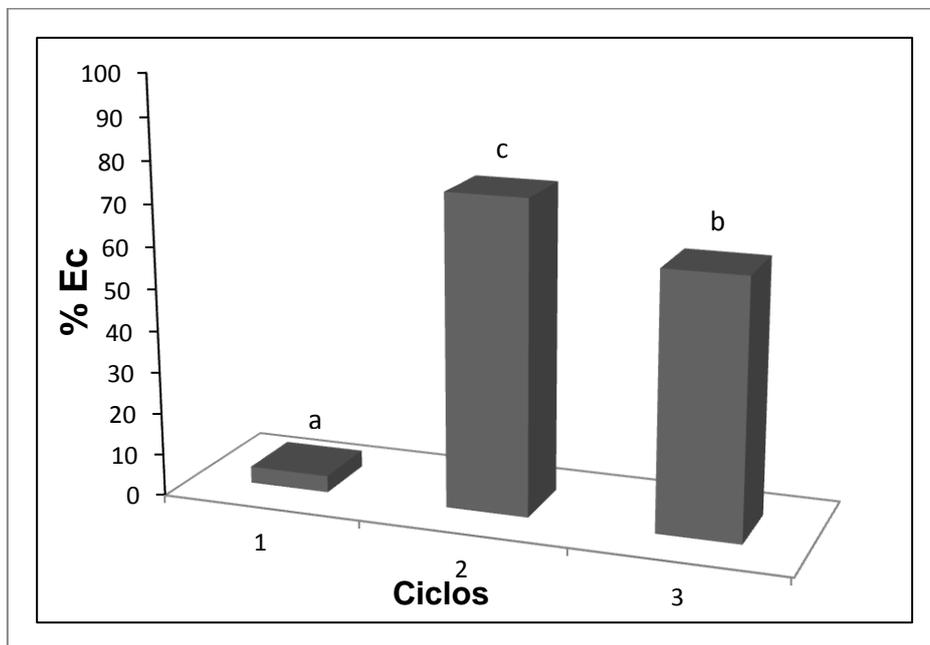


Figura 9.- Media (\pm DS) de los porcentajes de eclosión (%Ec) producidos por flumetrina sobre una cepa de *Rhipicephalus microplus* después de 3 ciclos de presión selectiva con media dosis de cumafós (letras diferentes indican diferencia significativa $p < 0.05$).

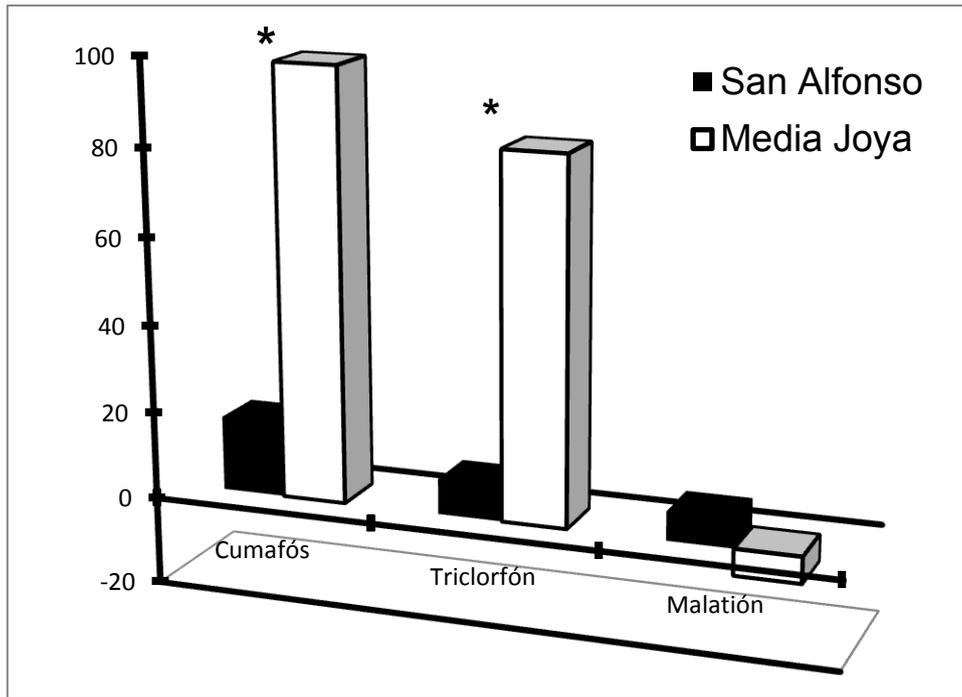


Figura 10. Media (\pm DS) de los porcentajes de inhibición de la oviposición (%IOv) producidos por cumafós, triclorfón y malatión sobre la cepa San Alfonso y la cepa Media Joya (susceptible) * diferencia significativa entre cepas.

DISCUSIÓN

El abuso en la utilización de los acaricidas ha generado resistencia a los mismos. La rapidez con la cual se genera esta resistencia depende de diversos factores como la exposición a bajas dosis (subexposición) de los acaricidas, la frecuencia de aplicación y a la aparición de genes de resistencia en la población de garrapatas. En este trabajo se estudió la evolución de la resistencia de una cepa de *R. microplus* que fue sometida a presión sistemática con cumafós para evaluar el impacto de la subutilización de los acaricidas. Los resultados de este estudio mostraron la rapidez con la cual una cepa de garrapatas fenotípicamente susceptibles pero con genes de resistencia en la población, recupera la resistencia a un acaricida debido a la subexposición al mismo.

Todas las poblaciones de seres vivos en el planeta están sujetas a variaciones en el ambiente que las obligan a adaptarse a las nuevas condiciones. La forma más común de adaptación es la selección positiva de genes mutantes que aleatoriamente ofrecen ventajas al individuo que los posee sobre sus congéneres. En el caso de las resistencias a acaricidas, generalmente aparecen individuos resistentes con genes mutados, pero que están en muy bajo número en la población. En este trabajo se utilizó una población de garrapatas de las cuales se conocían sus antecedentes de resistencia, cuando a esta cepa se le sometió a una subexposición con cumafós (primer ciclo de presión selectiva) y posteriormente se evaluaron sus parámetros reproductivos, se observaron %IOv del 95 % y %Ec del 0.1%, en el segundo ciclo de presión selectiva, se observó una leve recuperación del %IOv aunque no fue significativa ($p > 0.05$), sin embargo el porcentaje de eclosión fue mayor ($p > 0.05$) al del primer ciclo (36%). En el tercer ciclo de presión selectiva la cepa se mostró resistente teniendo un %IOv del 17%, un %Ec del 61% de sus huevos.

Haque *et al.*, (2014), observaron inhibición completa de la eclosión de huevos de *R. microplus* utilizando 20 ppm de flumetrina y 250 ppm de amitraz utilizando una técnica de inmersión directa de los huevos. En este trabajo en la cepa "Media Joya" no fue posible evaluar la actividad del cumafós y el amitraz sobre la eclosión de huevos, debido a que inhibieron completamente la oviposición a concentraciones de 200 ppm. En el caso de la flumetrina, utilizándola a 30 ppm sólo algunas garrapatas ovipositaron pocos huevos sin embargo el %Ec fue cero.

Reyes-Domínguez *et al.*, (2013), reportaron un porcentaje promedio de resistencia del 16% para el cumafós en 16 ranchos de Veracruz, por otro lado

Armendariz (2003), reportó porcentajes de resistencia al cumafós del 1.8 y 7.7% con una diferencia de dos meses en garrapatas de Tamaulipas. En el presente estudio, la resistencia de la cepa San Alfonso al cumafós incrementó nueve veces en un lapso de 9 meses (3 veces por ciclo de presión), mientras que en el estudio de Armendariz la resistencia a este ixodicida incrementó 4.2 veces en dos meses. Los resultados anteriores demuestran la velocidad con la cual una población de garrapatas puede volverse resistente a un ixodicida, tanto en condiciones de campo como en condiciones de laboratorio y sugieren su alta capacidad de adaptación a la presencia de ixodicidas.

Por otra parte, Fuentes-Manzo *et. al.*, (2011), realizaron un trabajo en 24 ranchos de 2 municipios del estado de Veracruz en el cual reportaron un porcentaje promedio de resistencia para cipermetrina del 44.3% y del 29.4 % para amitraz. En el presente estudio los porcentajes de resistencia en el primer ciclo de presión selectiva con cumafós de la cepa San Alfonso fueron del 100% para flumetrina y del 35.7% para amitraz, sin embargo en el tercer ciclo de presión selectiva con cumafós los porcentajes de resistencia fueron del 96% para flumetrina y del 3.3% para amitraz. Los dos estudios mostraron mayores porcentajes de resistencia a los piretroides que al amitraz, sin embargo en el presente trabajo, conforme se presionó a la cepa San Alfonso con cumafós se observó aumento de la resistencia a este ixodicida pero con disminución de la resistencia a la flumetrina y al amitraz. En el caso de este último la resistencia disminuyó más de 10 veces. Estos resultados sugieren que la utilización de un ixodicida podría afectar positivamente la resistencia de una cepa a dicho ixodicida pero también puede afectar negativamente a la resistencia a otros ixodicidas, lo anterior debe ser confirmado o descartado en estudios posteriores con otros ixodicidas.

El mecanismo de acción de todos los organofosforados es la inhibición de la acetilcolinesterasa. Es sabido que la resistencia a estos ixodicidas es debida a una mutación en la enzima que produce resistencia a más de un organofosforado al mismo tiempo. En este trabajo, después de llevarse a cabo la presión selectiva con cumafós durante tres ciclos se demostró también la resistencia de la cepa a otras moléculas de la misma familia. Los resultados mostraron %IOv de 8.1 para el triclorfón y de 6.6 para el malatión, mientras que los %Ec fueron del 60.1 para el triclorfón y del 61.0 para el malatión. Lo anterior confirma la resistencia cruzada a los varios organofosforados que puede ser adquirida por una cepa cuando se utiliza uno de ellos en forma inadecuada (subexposición).

Los riesgos que conlleva la mala utilización de los ixodicidas en el control de *R. microplus* además la aparición de resistencia en las garrapatas, son el

incremento de costos por tratamientos ineficaces y las pérdidas productivas debidas a las altas cargas parasitarias (Rodríguez *et. al.*, 2012; Tapia, 2004). El presente estudio pone en evidencia que la subutilización del cumafós incrementa la resistencia al mismo en una población de garrapatas. Lo anterior sugiere que en el campo la resistencia puede verse incrementada utilización de productos caducos (lo cual reduce la potencia de los mismos) o posiblemente por la acumulación residual de producto en el ambiente al que están expuestas las fases de vida libre de las garrapatas.

CONCLUSIONES

La subexposición repetida al cumafós incrementó significativamente la resistencia al mismo (%Ec) en una población de garrapatas con antecedentes de resistencia múltiple (cepa "San Alfonso").

La subexposición al cumafós disminuyó la resistencia al amitraz (%Ec) en la misma población anteriormente mencionada.

En la población de garrapatas subexpuestas al cumafós también se observó resistencia a otros organofosforados (malatión y triclorfón).

En la cepa susceptible (Media Joya) no se observó resistencia a ninguno de los ixodicidas evaluados (cumafós, amitraz, flumetrina, malatión y triclorfón).

REFERENCIAS

- Aguirre J., Santamaría V., 1986. Purificación y caracterización toxicológica de garrapatas *Boophilus microplus* resistentes a ixodicidas organofosforados y organoclorados. VII Reunión Anual Asc. Mex. de Parasitología Veterinaria. A.C. Ciudad Victoria, Tamps. México.
- Alonso-Díaz M.A., Rodríguez – Vivas R.I., Fragoso-Sánchez H., Rosario-Cruz R. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch. Med. Vet. 2006;38:105-113.
- Anderson J.F., Magnarelli L.A. Biology of ticks. Infect. Dis. Clin. N. Am. 2008;22:195-215.
- Armendariz G. I. Informe de un caso de resistencia múltiple a ixodicidas en *Rhipicephalus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en Tamaulipas México. Rev. Vet. Méx. 2003;34: 397-400.
- Barker S.C., Murrel A. Phylogeny. Evolution and historical zoogeography of ticks: a review of recent progress. Exp. Appl. Acarol. 2002;28:55-68.
- Barré N., Li A., Miller R., Gäia H., Delathiere J.M., Davey R., George J. *In vitro* and *in vivo* evaluation of deltamethrin and amitraz mixtures for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in New Caledonia. Vet. Parasitol. 2008;155:110-119.
- Baxter G., Barker S., Acetylcholinesterase cDNA of the cattle tick: *Boophilus microplus* characterization and role in organophosphate resistance. I. Bio. Mol. Biol. 1998;28:581-599.
- Chevillon Ch., Raymond M., Guillemaut T., Leonorman T., Pasteur N. Biol. J. linnean soc. 1999;68:147-157.
- Cordero del C.M. Rojo V.F.A. Martínez F.A.R. Sánchez A.C. Hernández R.S. Navarrete L.C.I. Diez B.P. Quiroz R.H. Carvalho V.M. Parasitología Veterinaria. Mc Graw-Hill Interamericana, Madrid 1999.
- De Castro J.J. Sustainable tick and tick-borne disease control in livestock improvement in developing countries. Vet. Parasitol. 1997;71:77-97.
- Encinas A., Oleaga A., Pérez R. Garrapatas duras. En: Cordero del C.M. Parasitología Veterinaria. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana, 1999:420-429.
- Errecalde C.A., Prieto G.F., Luders C.F., García-Ovando C.H. Naturaleza y control de la quimiorresistencia en ectoparásitos. Rev. Col. Cs. Pec. 2003;16:257-267.
- French-Constant R.H., Daborn P.J., Le Goff G. The genetics and genomics of insecticide resistance. Trends in Genetics. 2004;20:163-170.
- Fuentes-Manzo Y., Peniche- Cardeña A.E.J., Martínez-Herrera D.I., Romero-Salas D., Schleske-Morales I., Soto-Rodríguez I., Rosado-Aguilar J.A., Rodríguez-Vivas R.I., Barradas-Piña F.T. Resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a cipermetrina y amitraz en bovinos de Actopan y Veracruz, Veracruz. XXIV reunión científica-tecnológica

- forestal y agropecuaria Veracruz y III del Trópico mexicano 2011. México 2011:445-448.
- George J.E., Pound J.M., Davey R.B. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitol.* 2004;129:S353-S366.
 - Georghiu G.P., Principles of insecticide resistance management, *Phytoprotection.* 1994;75:51-59.
 - Grapain C.J. Resistencia de *Rhipicephalus microplus* a ixodicidas en México. (trabajo recepcional en la modalidad de monografía). Veracruz México: Universidad Veracruzana 2010.
 - Guerrero F.D., Bendele K.G., Chen A.C., Li A.Y., Miller R.J., Pleasance E., Varhol R., Rousseau M.E., Nene V.M. *Insect molecular biology.* 2007;16:49-60.
 - Haque M., Jyoti., Singh N.K., Rath S.S. Effect of various acaricides on Hatchability of eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Biom. R. Int.* 2014;1:1-5.
 - Jonsson N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet. Parasitol.* 2006;137:1-10.
 - Kang Y.B., Jang D.H. Scanning electron microscopic observations on the surface structure of the tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) female specimens. *Kor. J. Parasitol.* 1985;23:313-323.
 - Kevin B.T., Andrew C.C., Ronald B.D., Félix D.G., Howell J.M., Kammlah D.M., Andrew Y.L. Nuevos enfoques para el control de *Rhipicephalus microplus*. *Rev. Mex. C. Pec.* 2012;3:25-40.
 - Murrell A., Campbell N.J.H., Barker S.C. The value of idiosyncratic markers and changes to conserved tRNA sequences from the mitochondrial genome of hard ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae) for Phylogenetic inference. *Syst. Biol.* 2003;52:296-310.
 - Mullin Ch., Scott A.J.G. Biomolecular basis for insecticide resistance. ACS. Symposium series; American Chemical Society. Washington. D.C.
 - NOM-019-ZOO-1994 recuperado en Diciembre de 2013 de www.normateca.sagarpa.gob.mx.
 - Ortiz E., Santamaría V., Ortiz N., Soberanes C., Osorio M., Franco B., 1995. Purificación y caracterización toxicológica de garrapatas *Boophilus microplus* resistentes a ixodicidas organofosforados y organoclorados. VII Reunión Anual Asc. Mex. De Parasitología Veterinaria, A.C. Ciudad Victoria, Tamps. México.
 - Pérez-González I.E., Prado-Ochoa M.G., Muñoz-Guzmán M.A., Vázquez-Valdez V.H., Velázquez-Sánchez A.M., Cuenca-Verde C., Avila-Suárez B.L., Angeles E., Alba-Hurtado F. Effect of new ethyl And methyl carbamates on *Rhipicephalus microplus* larvae and adult ticks resistant to conventional ixodicides. *Vet. Parsistol.* 2014;199:235-241.

- Prado M.G. evaluación *in vitro* de la eficacia de nuevos carbamatos sobre garrapatas *Boophilus microplus*. (Tesis de maestría en ciencias de la salud y de la producción animal) Cuautitlán Izcalli (Estado de México). México: UNAM, 2009.
- Prado-Ochoa M.G., Muñoz-guzmán M.A., Albrego-Reyes V.H., Velázquez-Sánchez A.M., Lara-Rocha M., Cuenca-Verde C., Ángeles E., Alba-Hurtado F. Effect of new ethyl and methyl carbamates on biological parameters and reproduction of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Vet. Parasitol.*2014;194: 49-57.
- Quiroz R.H. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Limusa, México 1984.
- Reyes-Dominguez I.J., Arieta-Román R.J., Fernández-Figueroa JA., Romero-Figueroa M.Z., Peniche-Cardena AJE. Resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a ixodicidas en ranchos bovinos del municipio de San Juan Evangelista, Veracruz, México. *REDVET, Rev. Electrón. Vet.* 2013;14:1-6.
- Rodríguez-Vivas R.I. Enfermedades de importancia económica en producción animal. 2002:571-592.
- Rodríguez-Vivas R.I., Rosado AA., Basto-Estrella G., García V.Z., Rosario C.R., Fragoso S.H. Manual técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino. IFARVETUADY-SAGARPA-INIFAP. Publicación técnica 4. Octubre de 2006. Disponible en: URL: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4813s/y4813s00.pdf>.
- Rodríguez-Vivas R.I., Rodríguez-Arévalo F., Alonso-Díaz M.A., Fragoso-Sánchez H., Santamaría V.M., Rosario-Cruz R. Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the state of Yucatán, México. *Prev. Vet. Med.* 2007;75:280-286.
- Rodríguez V.R., Hodgkinson J.E., Trees A.J. Resistencia a los acaricidas en *Rhipicephalus microplus*: situación actual y mecanismos de resistencia. *Rev. Mex. Cs. Pec.* 2012;3:13-20.
- Rosario-Cruz, R., Almazan, C., Miller, R.J., Dominguez-Garcia, D.I., HernandezOrtiz, R., de la Fuente, J. 2009. Genetic basis and impact of tick acaricide resistance. *Frontiers in Bioscience.* 14: 2657-2665.
- SAGARPA 2013. Recuperado en diciembre de 2013, de www.conasa.org.mx/conasaplanestrategarrap.pdf.
- SENASICA 2013. Recuperado en diciembre de 2013, de www.senasica.gob.mx.
- Soulsby E. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. México: Interamericana, 1988.
- Soberanes C.N., Santamaría V.M., Fragoso S.H., García V.Z. Primer caso de resistencia al amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. *Téc. Pec. Méx.* 2002;40:81-92.

- Tapia G. Un modelo para predecir el tiempo que tarda para desarrollarse la resistencia de las garrapatas *Boophilus microplus* a los ixodicidas. (tesis de doctorado), México D.F. UNAM. 2004.
- Uilenberg G. International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. Vet. Parasitol. 1995;57:19-41.