



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**EVALUACION DEL EFECTO IN VITRO DE COUMAPHOS,
SOBRE METANINFAS B. MICROPLUS (ACARIDA:
IXODIDAE)**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
BIBLIOTECA - UNAM**

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

A s e s o r e s :

Biol. Manuel Morales Soto

M.V.Z. Luis Ocampo Camberos



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	PAGINAS
I RESUMEN	1
II INTRODUCCION	2
III OBJETIVOS	9
IV HIPOTESIS DEL TRABAJO	9
V MATERIAL Y METODOS	10
VI RESULTADOS	11
VII DISCUSION	32
VIII CONCLUSIONES	35
IX BIBLIOGRAFIA	36

A MIS PADRES:

ARTURO ORTIZ CRUZ

MARIA ESTRADA OCAMPO

POR LA AMISTAD Y GRAN APOYO QUE

SIEMPRE ME HAN BRINDADO

**A TODAS LAS PERSONAS QUE DE ALGUNA
MANERA COLABORARON EN LA REALIZA -
CION DE ESTE TRABAJO.**

GRACIAS.

**A LA SRA. ROSA BAHENA POR SU COLA-
BORACION EN EL MECANOGRAFIADO DE -
ESTE TRABAJO.**

A MIS ASESORES:

**POR LAS ENSEÑANZAS Y AMISTAD QUE
COMPARTIERON CONMIGO.**

BIOL. MANUEL MORALES SOTO

M.V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS

RESUMEN.

Se evaluó el efecto de un ixodícida organofosforado (coumaphos) a distintas concentraciones. Estas fueron: (0.00093, 0.001161, --- 0.00355, 0.00629, 0.0111, 0.02578, 0.04420, 0.0657, 0.091%) sobre metaninfas de la garrapata Boophilus microplus (Can.) la técnica usada fue la de inmersión, posteriormente se realizaron conteos del número de especímenes que mudaban para cada lote experimental.

Los parámetros de evaluación fueron: porcentaje de individuos mudados y no mudados, porcentaje de machos y hembras mudados; tiempo de presentación de la muda. La evaluación estadística de los resultados se realizó por análisis probit para determinar la tendencia general de la respuesta de los individuos tratados.

Los resultados obtenidos muestran que el fenómeno de ecdisis tiene una distribución normal a través del tiempo pero existe un corrimiento de este debido al efecto del ixodícida y es mayor conforme se aumenta la concentración. Los días modales del lote testigo corresponden al quinto y séptimo, mientras los grupos experimentales muestran cambios en la distribución de la muda durante el tiempo.

La metodología propuesta permite evaluar la efectividad de los ixodícidas usados en el campo sobre los estadios parásitos de la garrapata que presentan una doble cutícula, conocidos como metalarva y metaninfa.

INTRODUCCION.

B. microplus es la garrapata de mayor importancia en la ganadería mundial, ya que es la especie de mayor distribución; se le encuentra en todas las regiones tropicales y subtropicales de Asia, Africa, Australia y América. Su importancia radica en que son vectores de patógenos y en especial por el daño directo que causan - sus hábitos alimenticios. (2, 4, 9, 21, 31).

El ciclo de vida de las garrapatas Boophilus se divide en dos fases: Una de vida libre fuera del huésped y otra parásita donde se alimenta de linfa y sangre. Esta fase inicia cuando una larva - infestante encuentra a un huésped al que se fija con su gnatosoma. Al quinto día esta larva hexápoda se convierte en metalarva, estado de crecimiento y muda el cual dura dos días; al cabo de éstos, - emerge una ninfa octópoda que vuelve a alimentarse durante cinco o seis días para transformarse en metaninfa. Este último estado es el paso previo a las formas adultas y dura dos días en el caso de los machos y de tres a cuatro en las hembras. Una vez fijado el adulto, se alimenta para después aparearse y producir una nueva generación. La duración de esta fase parásita es de 21 días y termina con el - desprendimiento de la hembra repleta de sangre, la que ya en el sue lo inicia su oviposición. (11, 25)

Sin embargo, en la naturaleza es difícil encontrar que las garrapatas que infestan a un huésped, estén sincronizadas al calendario antes mencionado; por lo que siempre coexisten diferentes estados de desarrollo a un mismo tiempo. Investigaciones al respecto han

determinado que, el estadio larval tiene una duración mínima de 4.5 y una máxima de 13.1 días y que el 50% de las larvas comienza la ecdisis a los 5.5 días postinfestación; mientras que las ninfas comienzan a mudar a partir del día 11.9 del ciclo y las últimas a los 20.3. Las hembras empiezan a alimentarse después del 18.9. El 50% comienza a desprenderse a los 21.9 y las últimas a los 35.5 días.

Los machos aparecen antes que las hembras, mudando el 50% a los 13.5 días, mientras que la mayoría de las hembras emergen a los 14.5. (6, 7, 14)

Durante todo este tiempo las garrapatas están influenciadas por condiciones denso-dependientes y de la respuesta del huésped a diferencia de la fase de vida libre, que depende de las condiciones abióticas.

En el combate de estos parásitos, se han utilizado productos tales como: Arsenicales, Organoclorados, Organofosforados, Carbamatos y recientemente Amidinas Cíclicas y Piretroides. (2, 13, 27)

El producto de más amplio uso en México es el Couamphos.- Siendo éste un organofosforado que presenta una toxicidad selectiva sobre artrópodos. Su mecanismo de acción es penetrando la cutícula por difusión simple; una vez dentro, inhibe en forma irreversible las colinesterasas provocando una acumulación de acetilcolina, que tiene como consecuencia una tetanización muscular, parálisis y finalmente la muerte. (2, 13)

Roulston y col., encontraron que el análogo oxigenado del couamphos es potente in vitro y difiere poco en su toxicidad para larvas libres y hembras repletas de B. microplus. Sin embargo, se han -

encontrado diferencias de toxicidad in vivo debido tal vez a diferencias en la tasa de penetración y estabilidad hidrolítica una vez dentro del ácaro. (28)

Balashov considera que la capa de cera, determina la tasa de penetración de los ixodícos y que ésta puede ser una de las causas principales de la tolerancia, en los estados alimentados y no necesariamente la mayor biomasa. (3)

El uso de estos ixodícos ha propiciado el establecimiento de métodos y técnicas que permiten evaluar sus efectos bajo condiciones de laboratorio. (1, 9, 15)

A excepción de las pruebas en ganado infestado natural o artificialmente, dichas técnicas están encaminadas a evaluar la susceptibilidad de los estadios de la fase libre; siendo poco lo estudiado sobre la parásita, ya que esta última es de difícil manejo. Por otra parte, los trabajos de investigación hechos sobre ganado estabulado, se han interpretado bajo criterios de dosis, mortalidad, efecto residual o repelente. (12, 22, 23, 26, 27, 30, 31)

Los resultados obtenidos en otras investigaciones señalan que, los estados de la fase parásita que presentan una doble cutícula, conocidos como metalarva y metaninfa, son los de más difícil combate. Esto se basa en el hecho de que, tales formas evolutivas presentan una cubierta que las envuelve totalmente y que las impermeabiliza del tóxico; considerando que dicha cubierta permite la protección contra el medio, mientras la garrapata deja de alimentarse y cambia su cutícula para crecer; a este fenómeno se le denomina ecdisis. (27)

Proceso de Ecdisis.

La ecdisis o muda, involucra cambios morfo-fisiológicos en los artrópodos. En general, es difícil determinar cuales son éstos, debido a la escasa información sobre el tema; sin embargo, diversos estudios realizados, permiten describir este fenómeno.

Dentro del proceso de muda, se encuentran relacionados procesos hormonales y fisiológicos, regulados a partir de neurosecreciones. De acuerdo con Balashov y otros autores (1972), en la corteza del singanglión o cerebro de las garrapatas sólo se encuentran motoneuronas y neuronas de asociación, mientras que dentro del neurópilo están las neuronas sensoriales. Así mismo, se encuentran también células que, a diferencia de las neuronas, presentan un citoplasma perinuclear muy grande. La concentración de secreciones en el citoplasma varía durante los diferentes periodos del ciclo vital de la garrapata. Se ha observado una intensa acumulación de neurosecreciones en las ninfas ingurgitadas antes de iniciar la muda y vuelve a reiniciarse la acumulación cuando el adulto se alimenta. Después de finalizada la muda o la alimentación del adulto, la cantidad de neurosecreciones es notablemente menor en muchos grupos de esta célula. (3, 10)

Binnington y Tatchell encontraron que las células posterodorsales del singanglión de B. microplus, eliminaban sus secreciones casi al inicio de la ecdisis. Es de suponer, por analogía con insectos, que dichas secreciones sean la llamada hormona cerebral (probablemente polipéptidos), la cual es transportada a órganos reproduc-

tores y a la placa membranosa, que puede ser análoga al cuerpo graso de los insectos (5, 24)

En esta placa se almacenan diversos metabolitos de la digestión y es activada por la hormona cerebral para liberar varios tipos de esteroides, comunmente llamados hormonas exuviales o ecdisonas. (24)

Estas a su vez, estimulan las actividades sintéticas necesarias para la muda, la cual comienza con la réplica del DNA y la división celular de la epidermis. Posteriormente, células especializadas forman una nueva epicutícula y otras sustancias presentes en las nuevas exocutículas y apicutícula. Esto se debe a la existencia de una capa o membrana que protege a la nueva cutícula contra las proenzimas que fueron liberadas en el fluido exuvial. (29, 20, 8, 18, 32, 33)

Una vez digeridas las capas internas de la cutícula ninfal se reabsorben las enzimas y los productos de la digestión. Al proceso descrito se le ha denominado apólisis, quedando una cubierta externa llamada exuvia ninfal y que consiste en casi enteramente la epicutícula ninfal y la cutícula dura de las patas y escudos, que no son digeridos.

Dentro de la exuvia ninfal, la nueva epidermis y la cutícula se moldean para formar a los adultos, con nuevas partes bucales y patas, además del orificio genital. (3, 20)

Una vez reabsorbido el líquido exuvial, la garrapata se libera de la vieja cutícula por una fisura de la línea lateral del cuerpo, proceso denominado ecdisis. (19, 33)

Después de la ecdisis, la cutícula endurece, pues es suave y -

semitransparente. Los adultos sin alimentarse continúan cambiando en su interior, observándose que, las células intestinales hipertrofiadas de la fase ninfal son reemplazadas gradualmente por epitelio aplanado indiferenciado. Muchas reservas de alimento quedan en el intestino aún después de la muda, para proveer de energía al individuo. Los alveolos de las glándulas salivales no han alcanzado su tamaño final, ni están llenas de secreciones. Los tubos de Malpighio, descargan paulativamente grandes cantidades de guanina, acumulada durante el período de intensa morfogénesis anterior. Así mismo, las células del epitelio del intestino y ovario continúan dividiéndose. (3)

Antecedentes Históricos.

Grahan y col., bañaron ganado Bos taurus X Bos indicus por inmersión con Coumaphos al 0.25% y observaron los efectos de éste, sobre las ninfas ingurgitadas, metaninfas, machos y hembras en todos los estados de ingurgitamiento. Encontraron que el número de ninfas se mantuvo en apariencia igual que al inicio de la prueba; sin embargo, casi no hubo sobrevivencia de estadio adulto después de 27 días postratamiento. (13)

En 1967, éstos mismos investigadores probaron varios ixodícidias en ganado Holstein, artificialmente infestado. El tratamiento fue tanto por inmersión como por aspersión. A los 1, 2 y 7 días postratamiento se colectaron muestras de adultos y metaninfas. Estas últimas fueron incubadas a 26°C y 60% de humedad durante un mes. Al ca-

bo de este tiempo, se hizo un conteo del número de sobrevivientes y ninguna metaninfa alcanzó el siguiente estadio.

Bonnin y col., al investigar sobre la efectividad de un acaricida de la serie de los Benzoazoles en una cepa de B. microplus - originaria de México, encontraron una fuerte tolerancia de las ninfas y metaninfas al ixodicida. (6)

Khan evaluó la eficacia de varios garrapaticidas, usando diferentes concentraciones sobre ganado Bos indicus naturalmente infestado y encontró que: las ninfas ingurgitadas y las metaninfas fueron más tolerantes que los otros estadios. "Watts en 1969, considero también a las metaninfas como más tolerantes y estableció esto como una causa de la falla en los programas de erradicación en Nueva Gales del Sur de Australia". (19)

González en sus investigaciones en Brasil, coincide en considerar a las formas metamórficas o en proceso de ecdisis, como las más tolerantes de los ixodicidas. (14)

Sin embargo, Grillo Torrado y Gutiérrez, en pruebas in vitro con metaninfas encontraron que, exposiciones de 15 minutos bajo la técnica de inmersión, tales formas mudaban a los estadios adultos después de 4 ó 5 días y morían pocas horas después. (17).

OBJETIVO.

Evaluar el efecto in vitro de Coumaphos a diferentes concentraciones sobre el estadio de metaninfas de la garrapata Boophilus microplus. Proponiendo una metodología que permita cuantificar la efectividad de los ixodicidas.

HIPOTESIS.

Diferentes concentraciones de Coumaphos sobre metaninfas provocan alteraciones en los procesos normales de ecdisis y sobrevivencia.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron dos bovinos hembras de la raza Aberdeen angus, para coleccionar metaninfas. Estos fueron infestados con aproximadamente 20,000 larvas de B. microplus con una edad de 12 días, provenientes de una cepa susceptible a los organofosforados caracterizada toxicológicamente en el Centro Nacional de Parasitología Animal. Las infestaciones fueron realizadas cada una cada dos meses, para realizar dos bioensayos.

Se coleccionaron manualmente metaninfas a los trece días postinfestación, procediendo a formar diez fotes con 100 metaninfas cada uno, nueve de ellos fueron tratados con diferentes diluciones de Coumaphos, partiendo de la concentración 0.1% para obtenerlas. Estas fueron: (0.00093, 0.001161, 0.00355, 0.00629, 0.0111, 0.02578, 0.04420, 0.0657, 0.091%).

La técnica usada fue la de inmersión (2, 25); siendo el tiempo de exposición de un minuto. Un lote fue tratado con agua destilada y sirvió de testigo en el bioensayo.

Posteriormente se incubaron los 10 lotes en cajas petri con fondo de papel filtro a $27 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y 75% de humedad relativa.

Las lecturas se hicieron diariamente, contando el número de individuos mudados, separándolos en vivos y muertos para cada sexo. El criterio de mortalidad fue la falta de movimiento interno y externo; para ello se utilizó un microscopio de disección.

Los resultados obtenidos fueron interpretados por método gráfico y análisis probit, para pruebas dosis-respuesta.

RESULTADOS.

El fenómeno de eclipsis tiene una distribución normal a través del tiempo pero existe un corrimiento debido al efecto del ixodici da. En el cuadro No. 1 se aprecia la distribución mencionada para el testigo y el desplazamiento en tiempo para las distintas concentraciones probadas, con respecto a los machos. Los días modales del lote testigo corresponden al quinto y séptimo, mientras los grupos experimentales muestran cambios en la distribución. También es notoria una disminución de individuos mudados conforme se aumenta la concentración.

Las hembras, siguen el mismo patrón de distribución; correspondiendo el valor modal al octavo día, como puede apreciarse en el cuadro No. 2.

En los cuadros 3 y 4 aparecen los porcentajes acumulados de individuos que no mudan bajo el efecto del coumaphos, separados por sexos. En ellos se observa que; los valores 50% aparecen entre el quinto y sexto día para los machos del grupo testigo y entre el octavo y noveno para las hembras no tratadas, así como el atraso al aumentar las concentraciones, de tal manera que en los casos extremos no se alcanza tal porcentaje.

Los cuadros 5 y 6 muestran el número de individuos mudados para cada concentración a través del tiempo. En el primero, el valor modal para el testigo corresponde al segundo día de lectura, donde el mayor número de machos mudaron, mientras que hay ligeras diferencias para los lotes experimentales. En cambio, en el cuadro No. 6, el valor modal de las hembras testigo aparece en el noveno día.

El porcentaje acumulado para los individuos no mudados del 2o. bioensayo aparecen en los cuadros No. 7 y 8. Coincidiendo en el mismo patrón descrito para los resultados del primer ensayo.

C U A D R O No. 1
 NUMERO DE METANINFAS B. MICROPLUS MACHOS, QUE MUDARON
 BAJO LOS EFECTOS DEL COUMAPHOS, DURANTE LOS DIAS LECTURAS
 (1º ENSAYO)

Nº	CONCENTRACION	D I A S										TOTAL	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11
45	TESTIGO	1	1	4	5	8	7	9	5	0	1	0	41
37	0.00093	1	3	2	4	5	6	5	2	0	0	1	29
38	0.001161	0	2	4	4	7	8	5	2	3	1	0	36
31	0.00355	0	0	5	5	2	3	8	2	0	2	0	27
30	0.00629	1	0	1	4	1	2	2	1	0	0	0	12
37	0.0111	0	4	6	9	6	2	1	2	0	0	0	30
24	0.02578	0	1	5	1	0	0	1	1	0	0	1	10
40	0.04420	0	1	2	0	0	4	1	3	2	0	0	13
27	0.06757	0	1	0	0	1	3	1	0	0	1	0	7
34	0.091	0	2	1	0	1	1	0	0	0	2	2	9

* CORRESPONDE AL NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS.

C U A D R O No. 2
 NUMERO DE METANINFAS B. MICROPLUS HEMBRAS, QUE MUDARON
 BAJO EL EFECTO DEL COUMAPHOS, DURANTE LOS DIAS DE LECTURA
 (1º ENSAYO)

N*	CONCENTRACION	D I A S										TOTAL	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11
51	TESTIGO			1	0	0	2	8	12	11	2	1	37
60	0.00093				0	2	3	7	15	9	9	0	40
59	0.001161				1	2	3	11	14	19	1	0	51
67	0.00355				1	2	4	11	18	9	3	0	48
68	0.00629				0	4	3	6	9	8	3	2	35
62	0.0111				0	5	3	11	6	2	5	1	33
73	0.02578				0	3	4	0	10	9	2	0	28
72	0.04420				0	1	1	3	7	5	3	0	20
71	0.06757			1	0	0	0	2	2	7	2	0	14
63	0.091				0	0	1	2	3	2	4	0	12

* CORRESPONDE AL NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS.

C U A D R O No. 3
 PORCENTAJE ACUMULADO DE METANINFAS B. MICROPLUS MACHOS
 NO MUDADOS BAJO EL EFECTO DEL COUMAPHOS
 (1° ENSAYO)

N*	CONCENTRACION	D I A S										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
45	TESTIGO	97.7	95.5	93.3	80.0	62.2	46.6	26.6	15.5	15.5	13.3	13.3
37	0.00093	97.2	89.1	83.7	72.9	59.4	43.2	29.7	24.3	24.3	24.3	21.6
38	0.001611	100	94.7	84.2	73.6	55.2	34.2	21.0	15.7	7.89	5.2	5.2
31	0.00355	100	100	83.8	67.7	61.2	51.6	25.8	19.3	19.3	12.9	12.9
30	0.00629	96.6	96.6	93.3	80.0	76.6	70.0	63.3	56.6	56.6	56.6	56.6
37	0.0111	100	89.1	72.9	46.8	32.4	27.0	24.3	18.9	18.9	18.9	18.9
24	0.02578	100	95.8	75.0	70.0	70.8	70.8	66.6	62.5	62.5	62.5	58.3
40	0.04420	100	97.5	92.5	92.5	92.5	82.5	80.0	72.5	67.5	67.5	67.5
27	0.06757	100	96.2	96.2	96.2	92.5	81.4	77.7	77.7	77.7	74.0	74.0
34	0.091	100	94.1	91.1	91.1	88.2	85.2	85.2	85.2	85.2	79.4	73.5

* CORRESPONDE AL NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS

C U A D R O No. 4
 PORCENTAJE ACUMULADO DE METANINFAS B. MICROPLUS HEMBRAS
 NO MUDADOS BAJO EL EFECTO DEL COUMAPHOS
 (1º ENSAYO)

N*	CONCENTRACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
51	TESTIGO	100	100	98	98	98	94.1	74.5	50.9	29.4	25.4	23.5
60	0.00093	100	100	100	100	96.6	91.6	80	55	40	25	25
59	0.001161	100	100	100	98.3	94.9	89.8	71.1	47.4	15.2	13.5	13.5
67	0.00355	100	100	100	98.5	95.5	89.5	73.1	46.2	32.8	28.3	28.3
68	0.00629	100	100	100	100	94.1	89.7	80.8	67.6	55.8	51.4	51.4;
62	0.0111	100	100	100	100	91.9	87	69.3	59.6	56.4	48.3	46.7
73	0.02578	100	100	100	100	99.9	90.4	90.4	76.7	64.3	61.6	61.1
72	0.0442	100	100	100	100	98.6	97.2	93	83.3	76.3	72.2	72.2
71	0.06757	100	100	98.5	98.5	98.5	98.5	95.7	92.9	83.0	80.2	80.2
63	0.091	100	100	100	100	100	98.4	95.2	90.4	87.3	80.9	80.9

* CORRESPONDE AL NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS.

C U A D R O No. 5
 NUMERO DE METANINFAS B. MICROPLUS MACHOS QUE MADURAN
 BAJO EL EFECTO DEL COUMAPHOS, DURANTE LOS DIAS DE LECTURA
 (2º ENSAYO)

N*	CONCENTRACION	D I A S												TOTAL	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13
33	TESTIGO	4	6	4	3	1	2	2	2	2	0	2	0	0	28
19	0.00093	2	2	3	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0	13
28	0.01161	2	1	7	4	7	0	1	0	0	0	0	0	0	22
25	0.00355	0	3	8	1	5	1	0	0	1	0	0	0	0	19
18	0.00629	0	5	1	2	0	1	1	0	0	1	0	0	0	11
26	0.0111	1	4	2	2	0	1	0	0	0	1	0	0	0	11
28	0.02578	1	3	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	7
29	0.04420	2	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
22	0.0657	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	6
30	0.091	2	4	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	9

* NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS.

C U A D R O No. 6
 NUMERO DE METANINFAS B. MICROPLUS HEMBRAS QUE MUDARON
 BAJO EL EFECTO DEL COUMAPHOS, DURANTE LOS DIAS DE LECTURA
 (2º ENSAYO)

N*	CONCENTRACION	D I A S											TOTAL		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		12	13
70	TESTIGO				0	4	6	6	6	14	3	8	8	6	61
76	0.00093				0	3	2	7	7	10	14	2	9	0	54
68	0.001161				0	3	4	4	4	13	9	7	5	4	53
70	0.00355				0	1	2	5	3	7	14	5	4	2	43
78	0.00629				1	2	1	1	4	6	4	2	0	5	26
70	0.0111		1		2	1	1	0	1	0	6	0	5	0	17
68	0.02578				0	0	0	0	2	0	4	1	1	0	8
66	0.04420			1	0	0	0	0	0	0	3	1	1	0	6
73	0.0657				0	0	0	0	2	0	6	4	1	0	13
66	0.091			1	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	4

* CORRESPONDE AL NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS.

C U A D R O No. 7
 PORCENTAJE ACUMULADO DE METANINFAS B. MICROPLUS MACHOS
 NO MUDADOS BAJO EL EFECTO DEL COUMAPHOS
 (2º ENSAYO)

N*	CONCENTRACION	D I A S												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
33	TESTIGO	87.8	69.6	57.5	48.4	45.4	39.3	33.3	27.1	21.2	21.2	15.1	15.1	15.1
19	0.00093	89.4	78.9	63.1	52.6	52.6	47.3	42.1	36.8	36.8	36.8	31.5	31.5	31.5
28	0.001161	92.8	89.2	64.2	50	25	25	21.4	21.4	21.4	21.4	21.4	21.4	21.4
25	0.00355	100	88	56	52	32	28	28	28	24	24	24	24	24
18	0.00629	100	72.2	66.6	55.5	55.5	50	44.4	44.4	44.4	38.3	38.8	38.8	38.8
26	0.0111	96.1	80.7	73	65.3	65.3	61.5	61.5	61.5	61.5	57.6	57.6	57.6	57.6
28	0.02578	96.4	85.7	82.1	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	75	75	75	75
29	0.04420	93.1	79.3	72.4	72.4	72.4	72.4	72.4	72.4	72.4	72.4	72.4	72.4	72.4
22	0.0657	90.9	81.8	81.8	81.8	72.7	72.7	72.7	72.7	72.7	72.7	72.7	72.7	72.7
30	0.091	93.3	80	73.3	73.3	73.3	73.3	73.3	73.3	73.3	70	70	70	70

* CORRESPONDE AL NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS.

C U A D R O No. 8
 PORCENTAJE ACUMULADO DE METANINFAS B. MICROPLUS HEMBRAS
 NO MUDADAS BAJO EL EFECTO DEL COUMAPHOS
 (2º ENSAYO)

N*	CONCENTRACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
70	TESTIGO				100	94.2	85.7	77.1	68.5	48.5	44.2	32.8	21.4	12.8
76	0.00093				100	96.0	93.4	84.2	75	61.8	43.4	40.7	28.9	28.9
68	0.001161				100	95.5	89.7	83.8	77.9	58.8	45.5	35.2	27.9	25
70	0.00355				100	98.5	85.7	88.5	84.2	74.2	54.2	47.1	41.4	38.5
78	0.00629			100	98.7	96.1	94.8	93.5	88.4	80.7	75.6	73	73	66.6
70	0.0111	100	98.5	95.7	94.2	92.8	92.8	91.4	91.4	82.8	82.8	75.7	75.7	
68	0.02578							100	97.0	97	91.9	89.7	88.2	88.2
66	0.0442	100	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	93.9	92.4	90.9	90.9
73	0.06757							100	97.2	97.2	89.0	83.5	82.1	82.1
66	0.091	100	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	93.9	93.9	93.9	93.9

* CORRESPONDE AL NUMERO DE INDIVIDUOS TRATADOS

En la gráfica 1 y 2, se presenta el porcentaje acumulado del número de individuos mudados a través del tiempo, en la primera aparecen las ojivas resultantes para los grupos machos y en la segunda, las obtenidas para las hembras; en ambas gráficas se observa, que los grupos tratados tardaron más tiempo, sin llegar a tener valores tan altos, conforme se incrementaba la concentración. Las gráficas 3 y 4 presentan las curvas obtenidas para ambos sexos del segundo ensayo. En éstas, también se puede observar que el porcentaje de muda se ve disminuído con el incremento de la concentración.

Estos mismos resultados fueron interpretados por medio del análisis probit, cuyos cálculos se realizaron en una minicalculadora Hewlett-Packard 77 y se presentan resumidos en los siguientes cuadros.

C U A D R O No. 9

Valores calculados para las líneas de regresión por análisis probit del primer bioensayo para los machos.

	X_4^{**}	X_5	X_6	X_7	X_8
4.75*	0.25	0.73	1.22	1.60	1.76
5.0	0.64	1.05	1.54	1.86	2.0
5.25	1.02	1.38	1.86	2.12	2.24
5.52	1.44	1.72	2.21	2.40	2.50
5.84	1.94	2.13	2.62	2.73	2.81
6.28	2.62	2.70	3.19	2.18	3.23

** X_n Corresponde a los días de lectura de los machos
* A la variable dependiente "Y" en unidades probit

C U A D R O No. 10

Valores calculados para las líneas de regresión por análisis probit del primer bioensayo para las hembras.

	X_8^*	X_9	X_{10}
4.75*	0.60	1.60	1.81
5.0	1.18	1.95	2.11
5.25	1.77	2.30	2.41
5.52	2.40	2.68	2.74
5.84	3.15	3.13	3.13
6.28	4.18	3.75	3.67

* La misma conotación de la tabla anterior, solo que se expresa para las hembras del primer ensayo.

C U A D R O No. 11

Valores calculados para las líneas de regresión por análisis probit del segundo bioensayo para los machos.

	X_4^{**}	X_5	X_6	X_7	X_8
4.75*	0.55	1.21	1.29	1.37	1.44
5.0	1.06	1.52	1.60	1.66	1.70
5.25	1.58	1.83	1.90	1.95	1.96
5.52	2.13	2.16	2.23	2.26	2.24
5.84	2.79	2.56	2.61	2.62	2.56
6.28	3.70	3.10	3.14	3.13	3.03

- * Porcentaje de muda expresados en unidades probit.
 ** Logaritmo de la concentración para cada día de lectura

C U A D R O No. 12

Valores calculados para las líneas de regresión por análisis probit - del segundo bioensayo para las hembras.

	x_7^{**}	x_8	x_9	x_{10}
4.75*	-	0.07	0.64	1.02
5.25	0.04	0.23	0.86	1.23
5.52	0.59	0.86	1.30	1.67
5.84	0.94	1.25	1.58	1.94
6.28	1.41	1.79	1.95	2.31

- * Porcentaje de muda expresado en unidades probit.
 ** Logaritmo de la concentración para cada día de la lectura.

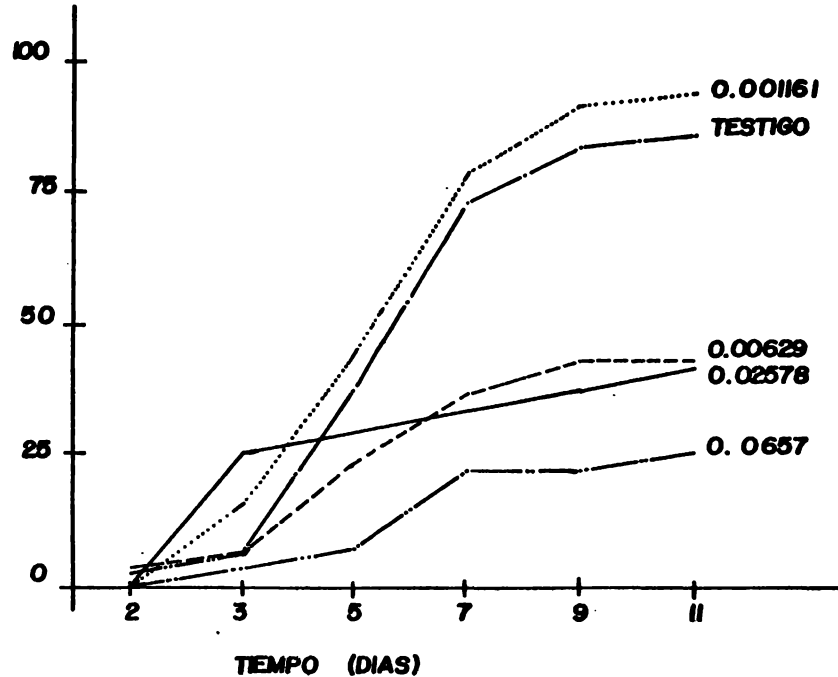
En los cuadros anteriores se resumieron los cálculos del análisis probit, donde la primera columna expresa los porcentajes de muda, de 40 a 90 transformados a unidades probit y las siguientes - columnas corresponden al logaritmo de la concentración multiplicada por mil y calculado para cada día de lectura. Los cuadros 1 y 2 dan los resultados para machos y hembras respectivamente del primer ensayo, los cuadros 3 y 4 los del segundo. Estos valores son mostrados en las gráficas 5, 6, 7 y 8.

GRAFICA No. 1

Porcentaje acumulado de machos mudados contra el tiempo; los números en las ojivas obtenidos corresponden a las distintas concentraciones utilizadas.

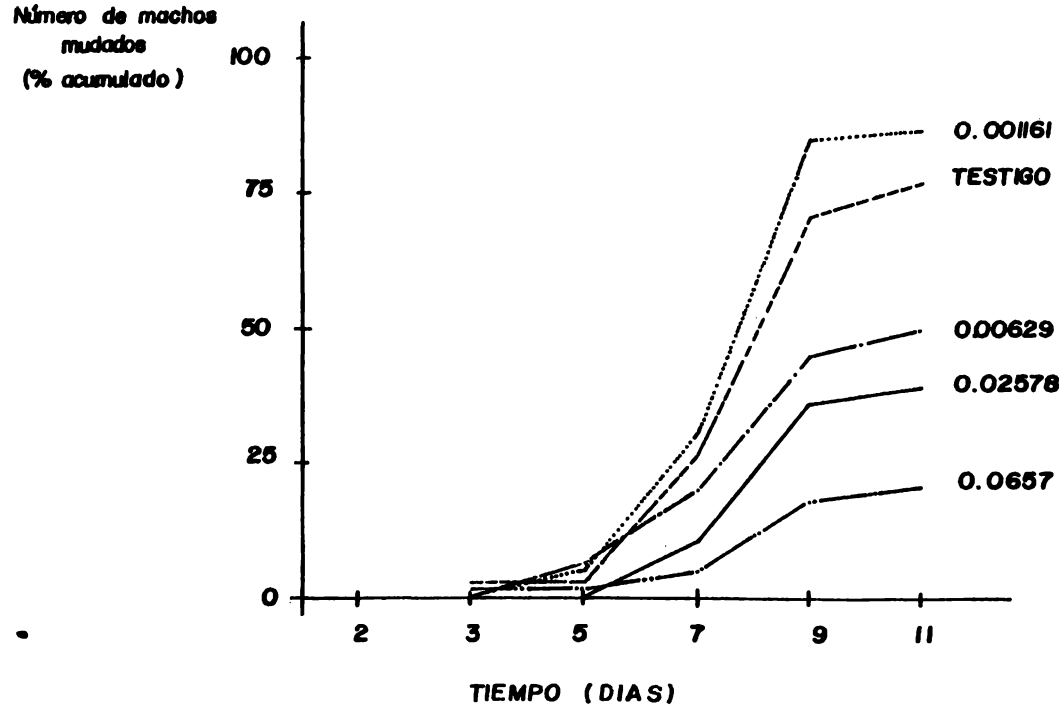
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FISIOLÓGICA - QUÍMICA

Número de machos mudados
(% acumulado)



GRAFICA. No.2

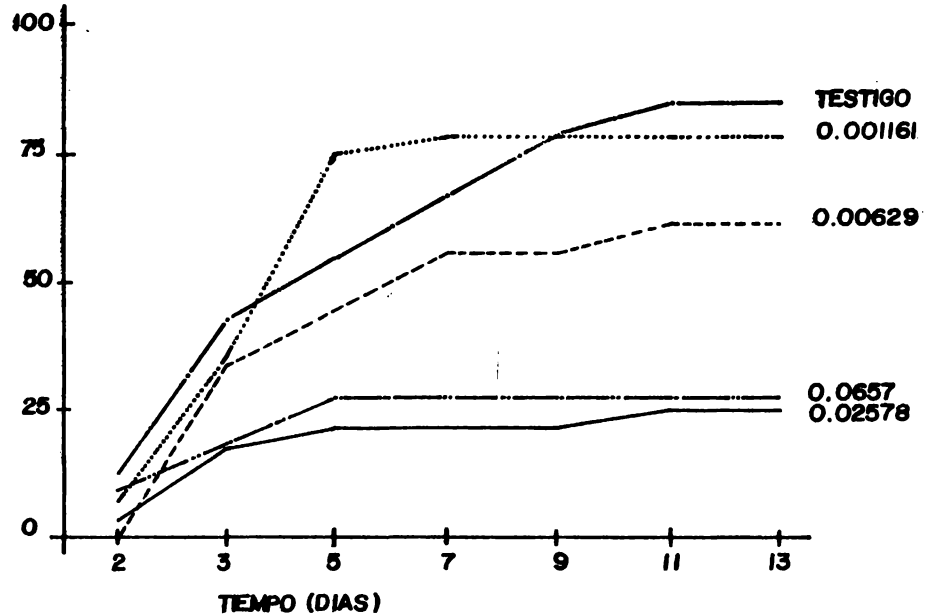
Porcentaje acumulado de hembras mudadas contra el tiempo; los números en las ojivas obtenidas corresponden a las distintas concentraciones utilizadas.



GRAFICA No.3

Porcentaje acumulado de machos mudados contra tiempo; los números de las olijas obtenidos corresponden a las distintas concentraciones utilizadas.

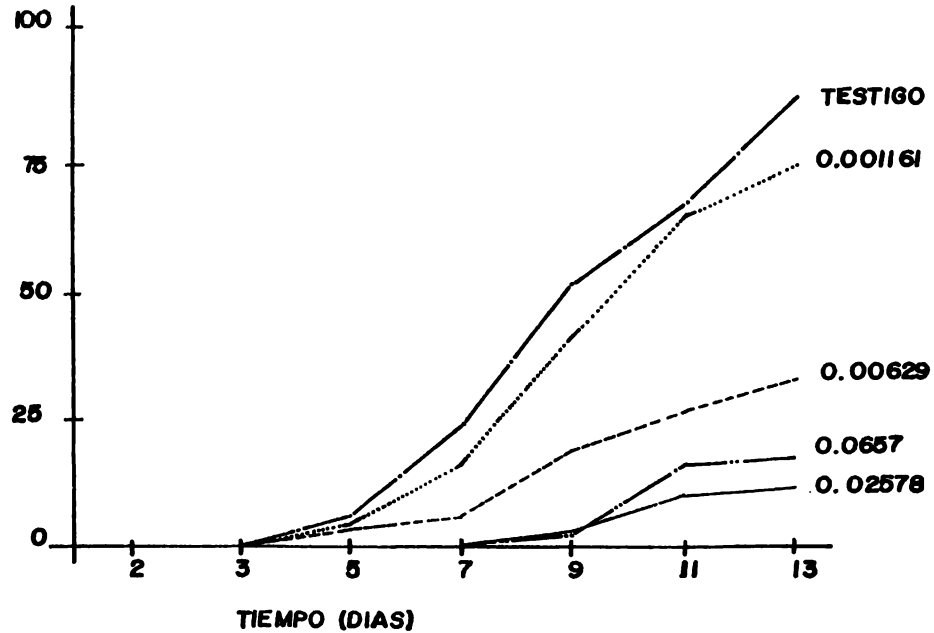
Número de machos mudados
(% acumulado)



GRAFICA No. 4

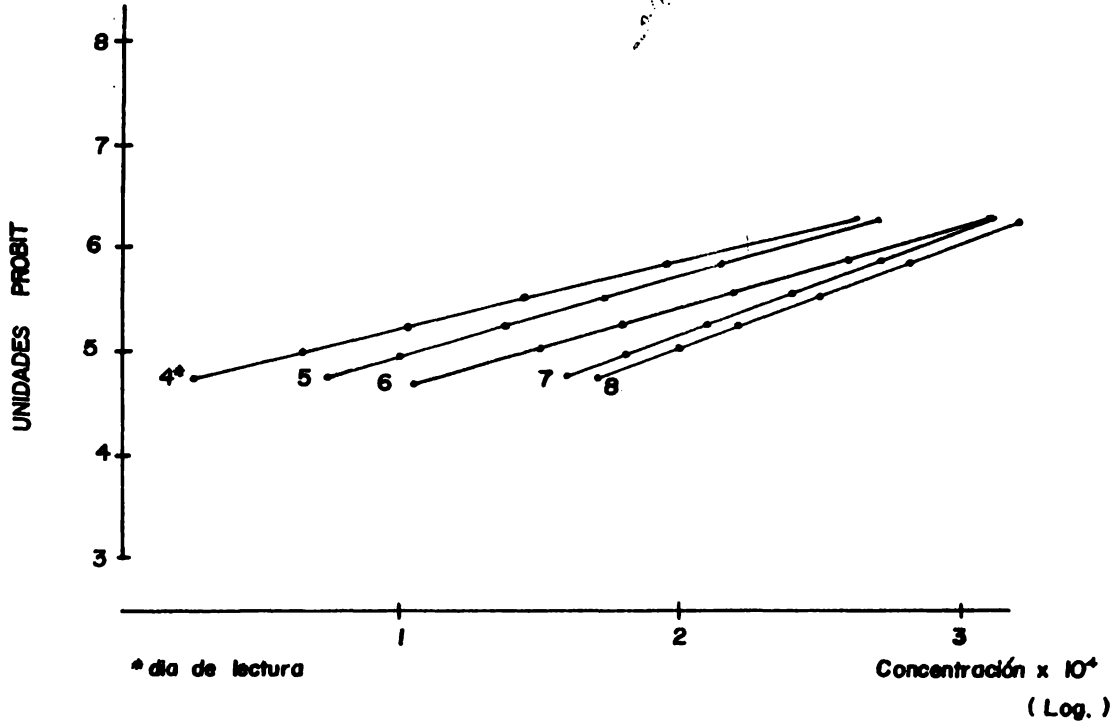
Porcentaje acumulado de hembras mudadas contra el tiempo; los números en las ojivas obtenidas corresponden a las distintas concentraciones utilizadas.

Número de machos mudados (% acumulado)



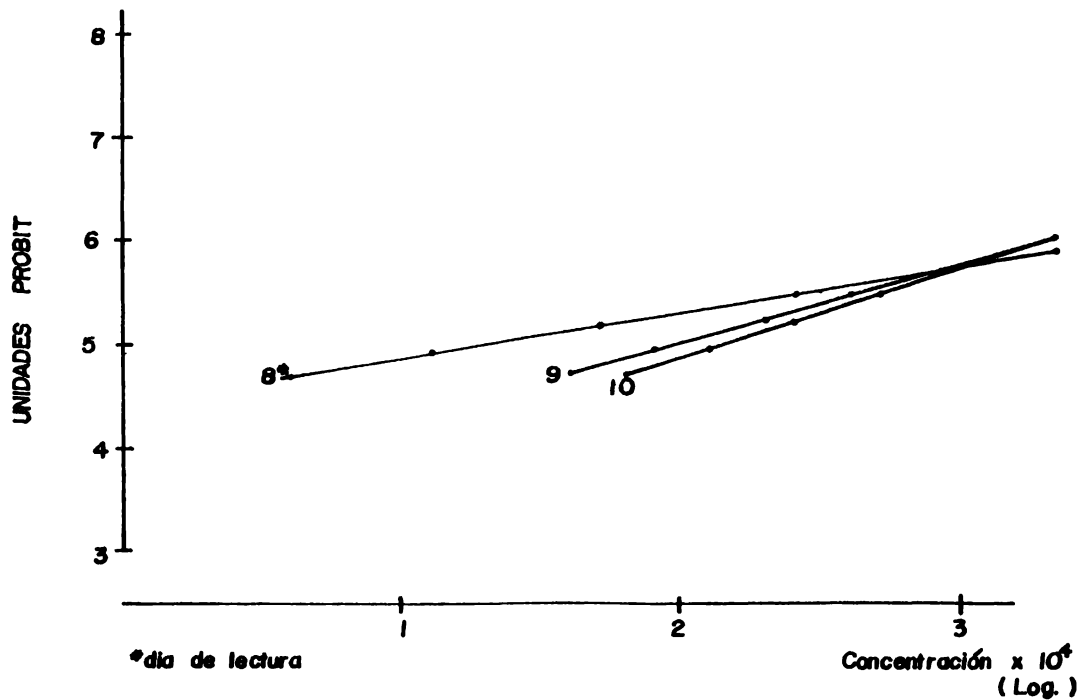
GRAFICA No. 5

GRAFICA PROBIT DEL PORCENTAJE DE MACHOS MUDADOS ATRAVES DE LOS DIAS DE LECTURA CONTRA EL LOGARITMO DE LA CONCENTRACION.



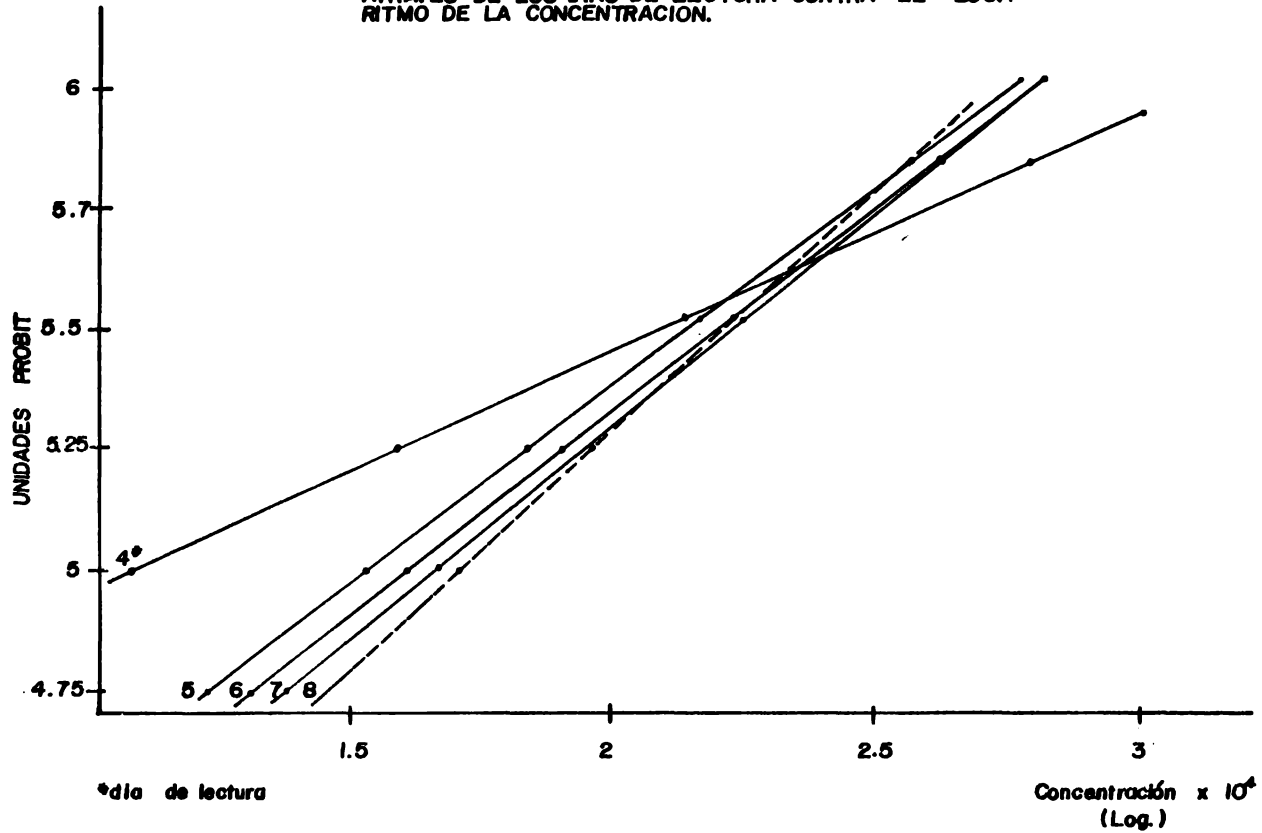
GRAFICA No. 6

GRAFICA PROBIT DEL PORCENTAJE DE HEMBRAS MUDADAS ATRAVES DE LOS DIAS DE LECTURA CONTRA EL LOGA-RITMO DE LA CONCENTRACION.



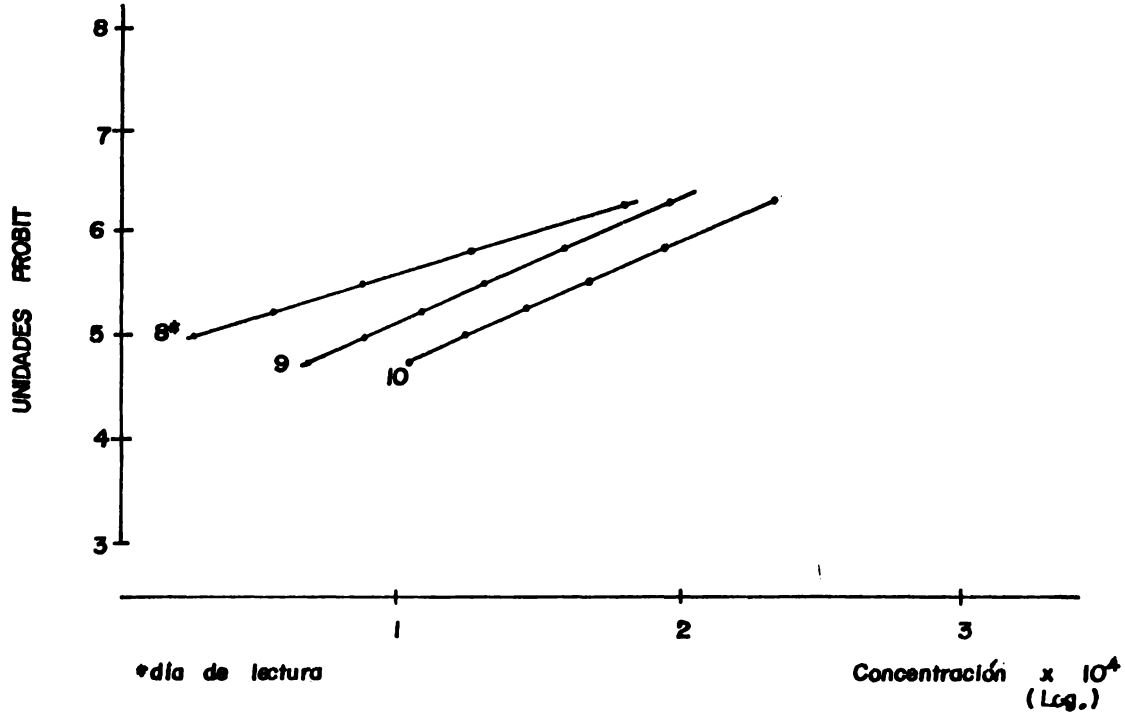
GRAFICA No. 7

GRAFICA PROBIT DEL PORCENTAJE DE MACHOS MUDADOS ATRAVES DE LOS DIAS DE LECTURA CONTRA EL LOGARITMO DE LA CONCENTRACION.



GRAFICA No. 8

GRAFICA PROBIT DEL PORCENTAJE DE HEMBRAS MUDADAS
ATRAVES DE LOS DIAS DE LECTURA CONTRA EL LOGARIT-
-MO DE LA CONCENTRACION.



DISCUSION.

Aunque no existen investigaciones específicas acerca del patrón de distribución temporal de la ecdisis, es de esperarse que como todo fenómeno biológico, tenga un comportamiento que se expresa como una curva normal. Esta es afectada por la humedad y la temperatura, pero se desconoce los rasgos óptimos para las garrapatas del género Boophilus.

Sin embargo, Graham y col. (13) al trabajar con metaninfas in vitro utilizaron 26°C y 60% de humedad, mientras que Grillo Torrado y Gutiérrez (17) emplearon 26°C y 80-90% de humedad, obteniendo una respuesta variable donde los individuos mudaron después de 10 a 15 días y de 4 a 5 días respectivamente.

En el presente trabajo la respuesta se obtuvo durante los primeros 13 días pos-tratamiento. En todos los casos se obtuvo una distribución casi normal. Así mismo, se encontró que las hembras presentan un umbral de tiempo para la respuesta, mayor que la de machos y también siguen una distribución normal.

A diferencia de los autores ya mencionados, en este trabajo se utilizó un amplio rango de concentraciones, lo que permitió observar distintos grados de respuesta a través del tiempo, como se muestra en los cuadros 3-4 y 7-8; este grado de respuesta es un corrimiento de la curva normal conforme al tiempo y una disminución de individuos mudados al aumentar la concentración del Coumaphos (gráficas de la 1 a la 4).

De acuerdo con las observaciones hechas por Bonnin y col. (6), Khan (19) y González (14) las formas metaninfales son más toleran -

tes a los ixodíctidos que otros estados de desarrollo. Probablemente porque aún cuando el tóxico penetre a la garrapata no tenga una actividad inmediata por falta de funcionalidad de la Acetilcolinesterasa. (Grillo Torrado y Gutiérrez).

Sin embargo, otros autores consideran que la cutícula meta--ninfal podría ser la causante de dicha tolerancia. Roulston y col. observaron diferencias en la tasa de penetración y estabilidad hidrolítica, mientras que Balashov (3) considera que la cepa de cera cuticular determina la tasa de penetración. En este trabajo no se pudo distinguir cual es la razón de la tolerancia metaninfal, pero se observó que existe un límite en la penetración del coumaphos, el que no se eleva al aumentar la concentración.

Así mismo, la metodología propuesta, permite evaluar y cuantificar la efectividad de los ixodíctidos usados en el campo sobre los estadios parásitos de la garrapata. El parámetro inhibición de la muda (IM), expresa el porcentaje de individuos no mudados a una concentración y tiempo dado. En las gráficas probit se muestran las rectas calculadas para los diferentes días de lectura; siendo notoria la diferencia estadística de la respuesta de machos y hembras, pero siendo constante para cada sexo.

La finalidad de graficar las distintas rectas obtenidas para cada día de lectura, es la de establecer cual de éstas representa la mejor respuesta; pudiéndose determinar los días indicativos para cada uno de los sexos. Como se puede apreciar en las gráficas 5 y 7, las rectas que corresponden a los quinto y sexto día son las de mejor pendiente y coinciden con la mínima mortalidad y valor 50% de -

muda en el lote testigo de machos, Mientras que para las hembras, las rectas calculadas del noveno y décimo día presentan las mejores características, como aparecen en las gráficas 6 y 8.

CONCLUSIONES.

El fenómeno de la ecdisis sigue aún en condiciones de laboratorio una distribución normal y se mantiene la diferencia de presentación cronológica de machos y hembras.

El coumaphos produce en las metaninfas, además de la muerte, la alteración de la curva normal de la muda a través del tiempo.

Dicho corrimiento es mayor conforme se aumenta la concentración y está acompañado de una disminución de individuos mudados.

El parámetro inhibición de la muda, provee de información práctica al describir la tolerancia natural de las metaninfas a los ixodícidias.

* B I B L I O G R A F I A *

- 1.- Aburto, A.: Evaluación del efecto de Cootoxicidad entre un organofosforado y un piretróide contra Boophilus microplus. Tesis Profesional. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.U.N.A.M México (1980)
- 2.- Aguirre, J A.: Algunas alteraciones Fisiológicas en hembras - Boophilus microplus repletas. tratadas con tres ixodíidas organofosforados. Tesis Profesional. Facultad de Med. Vet. y Zoot, U.N.A.M. México, D.F. (1980)
- 3.- Balashov, Y.S.: Bloodsucking ticks (Ixodoidea). Miscel. Publ. - Entomol. Soc. 8 (5): 376 pp. (1973)
- 4.- Barnett, S.F.: La lucha contra la garrapata del ganado, Ed. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (F.A.O.) Roma, Italia. (1961)
- 5.- Binnington, K.C. and Tatchell, R.J.: The nervous system and neurosecretory cell of Boophilus microplus (acarina, ixodidae). Zwiss Zool. 185 (3-4). 193-206. (1973)
- 6.- Bonin, W., Hororst, W., Klatt, P.: Experimental Testes on the acaricide Batestan; Blaven Hefte for dar tierarzt; 51,588-595 - (1973)
- 7.- Camino, L.M.: The development of an ltegrated pest management - system for the cattle tick. B. microplus (can. 1887) In Morelós

- Estate, México. Thesis Diss. PH. D. University of Florida pp. - 234 (1980)
- 8.- Coronado, R. y Marquez.: Introducción a la Entomología. Edit.- Limusa. México. 282 pp. (1980)
- 9.- Cortés. S.: Evaluación de tres ixodícidias organofosforados utilizados el análisis Probit. Tesis Profesional. Escuela de Ciencias Biológicas, U.A.E.M. Morelos (1982)
- 10.- Chown, Y.S.: Cheng, P.C., and Lin, S.H.: Motor neuron map of tropical cattle tick Boophilus microplus (canestrini) (Acarina Ixodidae) Int. S. Morphol. Embryol. 2, 305-311. (1973)
- 11.- De la Vega, R.: Estudio de la Biología de Boophilus microplus. Informe técnico. Vicerrectoría de Investigación Agropecuaria. - La Habana, Cuba. (1975)
- 12.- Drummond, R.C., Ernest, J.E., Treviño, J.L. and Gladney, W.J.: Test of Acaricides for control of Boophilus microplus and annulatus U.S. Livestock insects laboratory. Agr. serv. USDA Kerville, Texas. 78028 (1975)
- 13.- Drummond, R.O., Ghaham, O.H. y Treviño S.L.: Evaluación of insecticides for the control of Boophilus annulatus (say) and B. microplus (canestrini) (acarida; ixodidae) on cattle. Proceedings of the 2nd. International Congress of Acarology.
- 14.- González, J.C.; O Controle de carrapato dos Bovinos, Livraria - Saluna Editora. Porto Alegre (Brasil). Sulina. (1975).

- 15.- Grillo Torrado, J.N., Gutiérrez, R.O., Arrieta, A.P.: Método para medir la actividad de los acaricidas sobre las larvas de garrapatas. Evolución de sensibilidad. Buenos Aires, Rev. - Invest. Agrop. Serie 4. Patología Animal. 6 (14). 135-58(1969)
- 16.- Grillo Torrado, J.N. Gutiérrez, R.C., Arrieta, A.P.: Comparación de la actividad (in vitro) e (in vivo) de los garrapaticidas organofosforados. Rev. de Invest. Agrop. INTA Argentina serie 4. Patol. Anim. 8 (3), (1971)
- 17.- Grillo Torrado, J.N., Gutiérrez, R.O., Arrieta, A.P.: Susceptibilidad de la metaninfa de la garrapata B. microplus (can) - Frente a los acaricidas organofosforados. Buenos Aires. Rev. - Med. Vet. 52 (2): 3-9, (1971)
- 18.- Hinton, H.E.: Notes on neglected phases in metamorphosis and a reply to J.M. Whitten. Ann. Entomol. Soc. Amer. 69 (3) 550 - 556 (1978)
- 19.- Khan, M.H.: Field Test in port Blair With some newer insecticides for the control of cattle tick Boophilus microplus (can.) - Indian Veterinary Journal. 57 (1): 27-30. (1980)
- 20.- Lees, A.D.: Transpirations and the structure of the epicuticle in ticks. J. Exp. Biol. 23, 279-410 (1947)
- 21.- López León, A., Ruiz, R., Torre de la, A. Solís, S., Rojas, B. y Díaz, E.; Manual de garrapatas para médicos veterinarios del F.C.N.C.G. Campaña Nacional contra la Garrapata. México, D.F. - Capit. 1, 2 y 3 (1979)

- 22.- Marín, L.F.: Determinación del comportamiento de Boophilus spp. Hacia cinco ixodíctidas organofosforados en pruebas de campo y laboratorio. Linares, Nuevo León, Tesis Profesional. Fac. de - Med. Vet. y Zoot. UNAM. México, D.F. (1979)
- 23.- Méndez, A.: Evaluación de cuatro productos simpaticomiméticos sobre garrapatas Boophilus microplus. Tesis Profesional. Fac.- de Med. Vet. y Zoot., UNAM, México, D.F. (1980)
- 24.- Menn, J.J. and Beroza, M.: Insect Juvenile hormones. Academic Press. New York. 341 pp. (1972)
- 25.- Monroy, F.: Determinación del efecto butóxido de piperonilo co mo sinergista de ixodíctidas de uso comercial contra Boophilus microplus. Tesis Profesional. ENEP IZTACALA. UNAM México.(1982)
- 26.- Morales, M.: Revisión de Conceptos Generales de la Resistencia de los Ixodíctidos. C.N.P.A., F.C.N.C.G., S.A.R.H. (1981). Sin pu blicar.
- 27.- Morales, M.: Algunos conceptos y técnicas para el estudio de - la Resistencia. C.N.P.A., F.C.N.C.G., S.A.R.H. (1981). Sin pu blicar.
- 28.- Roulston, W.J. Schntner, C.A. and Schnitzerling, H.J.: Metabo- lism of coumaphos in larvae of the cattle tick Boophilus micro- plus. Aust. J. Biol. Sci. 19, 619-633 (1966)
- 29.- Savory, T.: Arachnida. 2a. ed. academic, Press, London. 340 pp. (1977).

- 30.- Stone, B.F. and Knowles, Ch. O.: A laboratory Method for evaluation of chemicals Causing the detachment of cattle tick. J. Aust. Ent. Soc. 12: 165-172. (1973)
- 31.- Treviño, J.B.; Evaluación in vitro de siete ixodicidas organofosforados comerciales contra Boophilus microplus. Tesis Profesional . Fac. de Med. Vet, y Zoot., UNAM, México, D.F. (1976)
- 32.- Wigglesworth, V.B.; Transpiration through the cuticle for insects. S. Exp. Biol, 21: 97-114 (1945)
- 33.- Wihhten, J.M.: Definition of insect instars in terms of "Apolysis" or "Ecdysis". Ann. Entomol. Soc. Amer. 69 (3) 556-559 - (1976)