

La garrapata común del ganado: antecedentes, problemática actual y alternativa de control

Francisco Cen-Pacheco¹ - Álvaro Peniche Cardeña² - M. Guadalupe Sánchez Otero¹ - K. Mondragón-Vásquez¹ - Jorge G. Domínguez Chávez¹ - Ulises Antonio Olivares¹

RESUMEN

Las garrapatas son artrópodos ampliamente distribuidos en las regiones tropical y subtropical, este hecho afecta a la producción pecuaria, ya que son vectores de enfermedades zoonóticas en diversas regiones de Asia, África, Australia y América. Hoy en día, estos ectoparásitos se han vuelto resistentes a varios tipos de plaguicidas comerciales. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto acaricida de las fracciones de Kupchan (n-hexano, diclorometano, acetato de etilo y acuoso) de cuatro especies de plantas recolectadas en Veracruz, México, a través del bioensayo de inmersión larvaria desarrollado por Shaw en 1968. Los resultados obtenidos indican que tres de las plantas, *Citrus latifolia*, *Azadirachta indica* e *Inga jinicuil*, causan una significativa mortalidad ($\geq 76\%$) sobre larvas de garrapatas resistente a ivermectina y amitraz a una concentración de 10 %.

ABSTRACT

Ticks are arthropods widely distributed in tropical and subtropical regions, affecting livestock production and are the vectors of zoonoses in regions of Asia, Africa, this fact affects livestock production, as these arthropods are vectors of zoonotic diseases in various regions of Asia, Africa, Australia and America. Nowadays, these ectoparasites have become resistant to several classes of commercial pesticides. This study was aimed at determining the acaricidal effect of Kupchan fractions (n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate and aqueous) of fourth species of plants collected in Veracruz, Mexico, through of the adapted Shaw larval immersion test. The result indicates that three of the plants, *Citrus latifolia*, *Azadirachta indica* e *Inga jinicuil*, cause a significant mortality ($\geq 76\%$) on larvae of ticks resistant to ivermectin and amitraz at a concentration of 10 %.

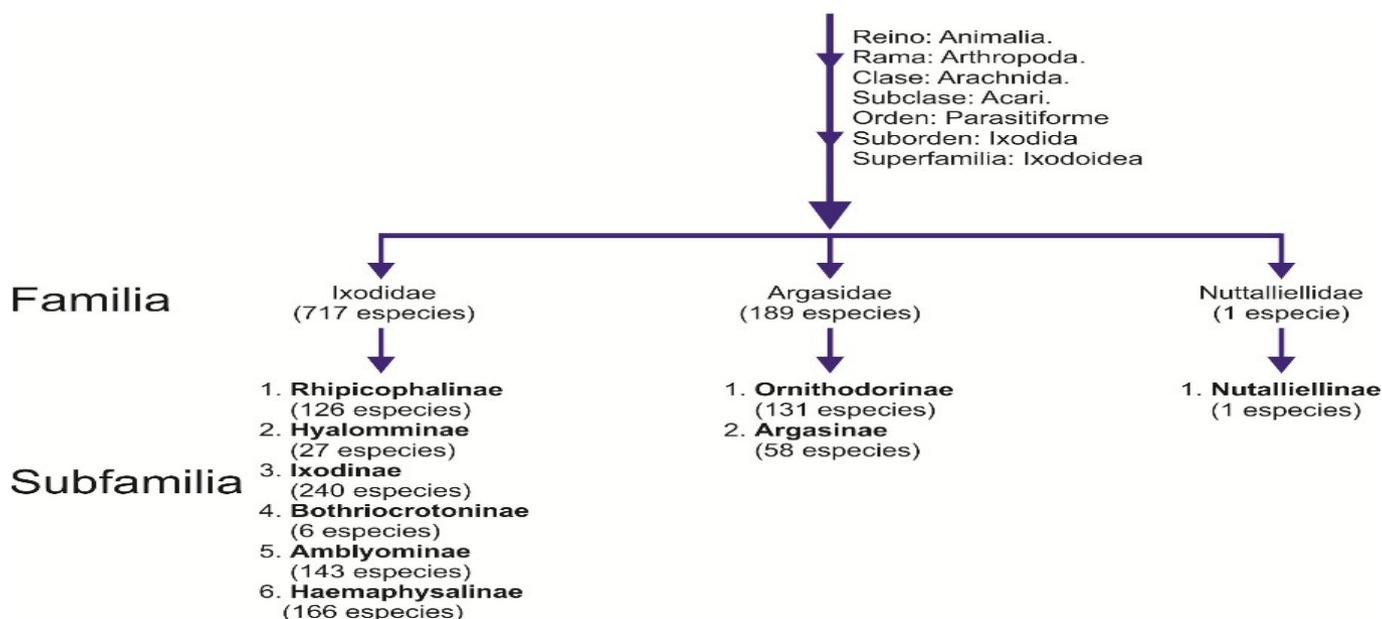
Introducción

Las garrapatas son parásitos hematófagos que infestan un gran número de vertebrados terrestres, incluidos reptiles, aves, perros y humanos; teniendo un gran impacto económico, médico veterinario y de salud pública. Se reconocen más de 900 especies diferentes de garrapatas distribuidas en todo

el mundo, concentradas principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del planeta. La taxonomía de las garrapatas, incluye tres familias (Ixodidae, Argasidae y Nuttalliellidae) que se incluyen dentro de la superfamilia Ixodoidea y esta a su vez está incluida dentro del suborden Ixodida (Esquema 1) (Nunes de Santana Campos, 2015; Cortés-Vecino, 2011).

1 Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana, Calle Iturbide s/n, Centro, 91700, Veracruz, Veracruz, México.

2 Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Igualdad, Veracruzana, 91710, Veracruz, México.



Esquema 1. Distribución taxonómica de familias y subfamilias de garrapatas con el número de nombres científicos validados (Cortés-Vecino, 2011).

Entre las relaciones filogenéticas establecidas, es importante destacar la del género *Boophilus* [Curtice, 1891], ya que recientes evidencias moleculares, citogenéticas, morfológicas, biogeográficas y de interacción con los hospederos, indican que *Boophilus* es un subgénero del género *Rhipicephalus* [Koch, 1844], por ser este última parafilética (es decir: incluye al ancestro común de los miembros, pero no a todos los descendientes de este) con respecto al primero (Murell, 2000; Murell 2003). La garrapata común del ganado, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (*R. microplus*), es considerado el ectoparásito de mayor importancia en las áreas de explotación pecuaria. Desde el punto de vista económico, las infestaciones por *R. microplus* producen pérdidas billonarias en el sector ganadero, debido a que estos parásitos extraen volúmenes importantes de sangre que conllevan a un mayor tiempo de crecimiento y ceba de animales, alterando al mismo tiempo la calidad y cantidad de producción de leche y carne. Además, las heridas en las pieles de los animales por las picaduras de las garrapatas, ocasionan en muchos casos infecciones en el animal por bacterias o por larvas de moscas, lo que produce un detrimento de la calidad del cuero (Nunes de Santana Campos, 2015).

R. microplus tiene importancia veterinaria por ser vector de enfermedades zoonóticas que, indirectamente, también diezman la actividad productiva del ganado e incluso causan altas tasas de mortalidad. Entre estas enfermedades se encuentran la babesiosis, cuyo agente causal es el hemoparásito *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, además de la anaplasmosis que es causada por la bacteria *Anaplasma marginale* (Fouche, 2016). Estas enfermedades tienen síntomas similares a la malaria, ya que ambos microorganismos parasitan los glóbulos rojos y finalmente los destruyen, originando la aparición de anemias muy severas que pueden llegar a provocar abortos espontáneos e incluso la muerte del animal.

Generalmente, el método más empleado para el control de *R. microplus*, se centran en el control de las formas parasitarias presentes en el ganado, mediante la aplicación de productos químicos, llamados ixodicidas, que suelen ser aplicados en baños de inmersión o de aspersión y que tienen acción eficaz y rápida sobre las garrapatas. Sin embargo, el abuso excesivo de estos productos, ha propiciado el desarrollo paulatino y progresivo de poblaciones de garra-

patas resistentes o multirresistentes hacia los principales plaguicidas utilizados como son los organoclorados, organofosforados, piretroides sintéticos, amidinas y lactonas macrocíclicas; esta problemática, se ha presentado en el devenir del tiempo, en la mayoría de los países de la zona tropical y subtropical (Fernández-Salas, 2012; Pérez-Cogollo, 2010). México, no es la excepción, ya que desde hace varios años se ha venido reportando el desarrollo de resistencia a varios de estos productos químicos (Rodríguez-Vivas, 2007; Rodríguez-Vivas, 2014). En efecto, en el período 2001-2014, tal y como se puede ver en la Tabla 1, las estadísticas referentes a la triple resistencia (organofosforados, piretroides, amidinas) que poseen poblaciones de *R. microplus* provenientes de los diferentes estados de la república mexicana, indican que los estados de Quintana Roo, Campeche, Tamaulipas, San Luis Potosí y Veracruz la incidencia de triple resistencia es superior al 68 %, mientras que los estados de Zacatecas y Sinaloa es inferior al 1 % (SAGARPA, 2015).

Todo lo anterior, está ocasionando que los ganaderos opten por estrategias de control que implican el aumento de dosis o el uso combinado de más de dos plaguicidas, lo que conlle-

va a acelerar el desarrollo de la resistencia y al mismo tiempo aumenta la concentración de los ixodicidas en los productos derivados del ganado (lácteos, cárnicos entre otros), así como en el medioambiente. Ante este panorama, es clara la necesidad de desarrollar alternativas biotecnológicas para el control de las garrapatas. Una de ellas es la obtención de sustancias acaricidas de origen natural que posean mecanismos de acción novedosos y eficaces (Benelli, 2016; Borges, 2011; Adenubi, 2016).

La utilización de plantas para el control de plagas no es algo novedoso; su antecedente de uso es tan antiguo como el del cultivo de plantas domésticas. Sin embargo, es realmente en los últimos años que se han desarrollado estudios químicos sobre plantas con la finalidad de identificar posibles sustancias para el control natural de las garrapatas. Esto se debe principalmente a la gran biodiversidad que poseen las plantas terrestres y a su bioquímica única, la cual genera una enorme cantidad de entidades químicas con una gran variedad estructural y con actividades biológicas importantes, que ha permitido desarrollar de forma directa o indirecta, más de la mitad de fármacos que se comercializan en la actualidad (Pavela, 2016).

Tabla 1. Resistencia y susceptibilidad a ixodicidas (organofosforados, piretroides, amidinas) en garrapatas *R. microplus*, 2001-2014. (SAGARPA, 2015).

| Estado | Muestras analizadas | % Triple resistencia | Estado | Muestras analizadas | % Triple resistencia |
|-------------------|---------------------|----------------------|-------------------|---------------------|----------------------|
| B. california sur | 2 | 0.0 | Morelos | 143 | 23.8 |
| Campeche | 201 | 79.1 | Nayarit | 289 | 33.6 |
| Chiapas | 324 | 54.9 | Nuevo León | 69 | 47.8 |
| Chihuahua | 2 | 0.0 | Oaxaca | 56 | 60.7 |
| Coahuila | 9 | 11.1 | Puebla | 683 | 67.3 |
| Colima | 290 | 57.9 | Querétaro | 19 | 5.3 |
| Distrito federal | 4 | 100.0 | Q. Roo | 888 | 81.2 |
| Durango | 0 | 0.0 | S. L. P. | 193 | 68.9 |
| Edo. de México | 159 | 37.7 | Sinaloa | 38 | 0 |
| Guanajuato | 5 | 0.0 | Tabasco | 241 | 66.8 |
| Guerrero | 598 | 41.6 | Tamaulipas | 2484 | 77.8 |
| Hidalgo | 57 | 66.7 | Veracruz | 526 | 77.7 |
| Jalisco | 1040 | 49.1 | Yucatán | 226 | 47.3 |
| Michoacán | 536 | 50.6 | Zacatecas | 191 | 0.5 |

En el presente trabajo, se utilizó una modificación del bioensayo de inmersión larvario desarrollado por Shaw en 1968, como método para detectar la actividad larvicida que poseen extractos de origen vegetal, así como para detectar la resistencia que poseen esta población de garrapatas frente a dos ixodicidas ampliamente usados en el sector pecuario de México.

2. Materiales y métodos

2.1. Recolección del material vegetal

Los especímenes de cuatro plantas, *Azadirachta indica*, *Citrus latifolia*, *Tagetes erecta* e *Inga jinicuil* fueron recolectadas en verano de 2015 de diferentes regiones alrededor del estado de Veracruz, México. Las plantas fueron identificadas con ayuda de taxónomos del Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA) de la Universidad Veracruzana. Un espécimen de cada especie recolectada fue añadido al herbario de la INBIOTECA.

2.2. Obtención de los extractos a evaluar.

El material vegetal, fue secado a temperatura ambiente (25-35 °C) por una semana y posteriormente fue triturado. El material seco y molido fue extraído a temperatura ambiente durante dos horas, usando metanol, el cual fue posteriormente removido a presión reducida

en un rotaevaporador y cada uno de los cuatro extractos resultantes, se fraccionaron por extracción líquido-líquido, usando el método de Kupchan (Kupchan, 1973), que consiste en redisolver el extracto inicialmente obtenido en un mezcla de metanol:agua (1:1) y posteriormente ponerla en contacto sucesivamente con disolventes de polaridad ascendente (n-hexano, diclorometano, acetato de etilo), que al ser separados permiten la obtención de cuatro mezclas de compuesto; aquellos que son solubles en n-hexano, en diclorometano, en acetato de etilo y los que se quedan en la mezcla metanol:agua (1:1) (Figura 1) (Tabla 2).

2.3. Recolección de las garrapatas

Garrapatas ingurgitadas de *R. microplus* fueron recolectadas del ganado infestado naturalmente, en un rancho localizado en el municipio de Puente Nacional, Veracruz, México (19°19'26'N; 96°29'04'W). Las garrapatas ingurgitadas fueron colocadas en cajas Petri e incubadas a 28 °C y 80 % de humedad relativa, para simular las condiciones adecuadas de ovoposición. Los huevos fueron recolectados y fueron colocados en viales de vidrio de 10 mL cerrados con una torunda para su incubación por 15-21 días aproximadamente, en las mismas condiciones de temperatura y humedad que se mencionaron anteriormente.

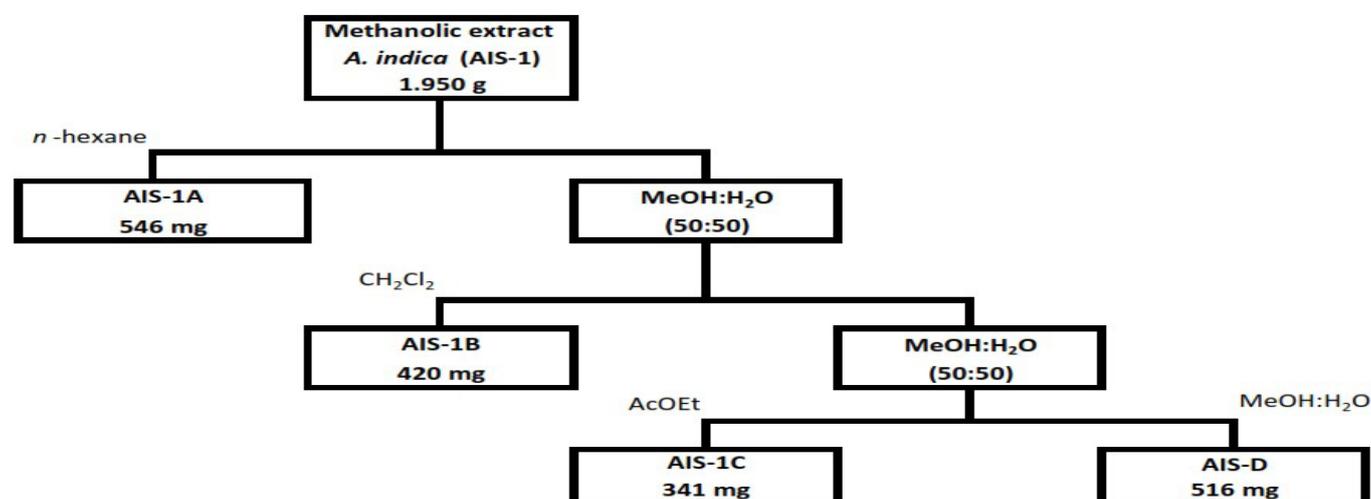


Figura 1. Fraccionamiento por el método de Kupchan para *A. indica*.

2.4. Bioensayo acaricida

La actividad acaricida de ivermectina, amitraz y de las fracciones obtenidas por el método de Kupchan, fueron determinadas por el bioensayo in vitro de inmersión larvaria (Shaw, 1968). Inicialmente, se prepararon las concentraciones a evaluar; en el caso del amitraz una única disolución discriminatoria al 0.01 %; en el caso de la ivermectina 12 diluciones seriadas al 30 % (0.01, 0.007, 0.0049, 0.00343, 0.0024, 0.00168, 0.00117, 0.00082, 0.00057, 0.0004 y 0.00028 %) y en el caso de las 16 fracciones Kupchan obtenidas de las plantas, estas fueron evaluadas a una única concentración (10 %), todas estas disoluciones fueron preparadas en un volumen final de 750 µL de agua al 1.0 % de etanol y 0.02 % de Triton X-100. Posteriormente, se colocaron aproximadamente 300 larvas en cada disolución con ayuda de una brocha y se sumergieron por 10 minutos. Seguidamente, se tomaron aproximadamente 100 larvas de cada disolución y se colocaron en sobres preparados con papel filtro que se sellaron con sujetapapeles en cada extremo y se pusieron a incubar por 24 horas a 28 °C y 80 % de humedad relativa. Tres réplicas para cada dilución, junto con un control de agua fueron evaluados. Pasado el tiempo de incubación, el número de larvas vivas y muertas fueron registrados y el porcentaje de mortalidad calculado usando la siguiente fórmula (FAO, 2004).

$$\%Mortalidad = \frac{Larvas_muertas}{Larvas_totales} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

2.5. Análisis estadístico

Los datos de dosis-respuestas fueron analizados por regresión probit logarítmica, usando SPSS 20.0 (95 % de intervalo de confianza) para establecer la dosis letal DL50 de la ivermectina.

3. Resultados

Cuatro fracciones fueron obtenidas de cada

extracto metanólico de las plantas, *Azadirachta indica*, *Citrus latifolia*, *Tagetes erecta* e *Inga jinicuil*. Así, las 16 fracciones fueron evaluadas para determinar su potencial acaricida contra larvas de *R. microplus*, usando el bioensayo de inmersión larvaria. La actividad acaricida de todas las fracciones fue evaluada a una concentración de 10 % (75 mg/750 µL), los resultados revelaron que la fracción de n-hexano de *A. indica* (AIS-1A) y las fracciones de n-hexano y diclorometano de *C. latifolia* (CLC-1A y CLC-1B), presentan un 100 % de mortalidad sobre las larvas de *R. microplus*, mientras que la fracción de diclorometano de *I. jinicuil* (IJS-1B) mostró una actividad de 76 % de mortalidad (Figura 2). Al mismo tiempo, la resistencia de las poblaciones de garrapatas recolectadas fue establecida por exposición de las larvas a amitraz e ivermectina. En el caso del amitraz, la evaluación a la dosis discriminatoria (0.0002 %) únicamente muestra una mortalidad de 12 %, mientras que en el caso del ensayo a las 12 diferentes concentraciones de ivermectina (0.01 a 0.00028 %); la dosis letal cincuenta (LD50= 0.008 %) resultó ser muy elevada, indicando así que esta población de garrapatas posee alta resistencia hacia ambos acaricidas (Figura 2).

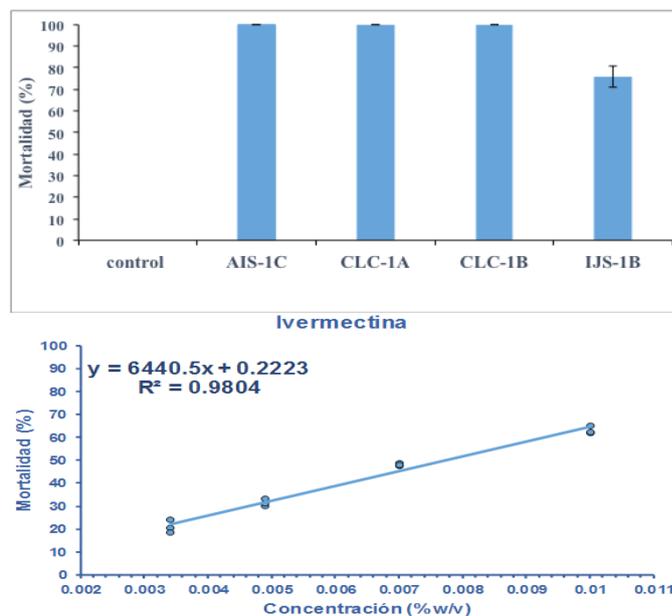


Figura 2. En la parte superior se muestran las fracciones más activas frente a larvas de garrapatas de *R. microplus*. En la parte inferior se muestra la relación de mortalidad dosis-respuesta sobre larvas de *R. microplus*.

4. Discusión

El uso indiscriminado de pesticidas sintéticos, ha llevado a la presencia de poblaciones resistentes de la garrapata común del ganado, *R. microplus*. Por esto surge la necesidad de implementar alternativas para el control de las infestaciones por garrapatas, hoy en día la perspectiva global en el control de garrapatas está cambiando hacia el uso de extractos de plantas, debido principalmente a su baja toxicidad, fácil obtención y actividad selectiva. Las plantas sintetizan una gran cantidad de compuestos que utilizan para su protección frente a patógenos y plagas. Muchas de estas sustancias se han convertido en la fuente de inspiración para el desarrollo de los plaguicidas semisintéticos que se comercializan en la actualidad. Es por ello, que ya se utilizan extractos de algunas especies vegetales como sustancias activas en los plaguicidas comerciales botánicos. Un ejemplo de esto es el extracto de las semillas de *A. indica* que ya se usa en fórmulas comerciales para el control de las garrapatas, aunque estas formulaciones no han sido aprobadas por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Hasta la fecha se contabilizan, 83 especies de plantas de 35 familias; entre las que destacan las familias Astereaceae, Fabaceae, Solanaceae, Meliaceae y Verbenaceae, las cuales representan el 45 % de todas las especies evaluadas. El método más utilizado fue el de inmersión de larvas, ninfas o garrapatas ingurgitadas en el extracto para determinar la actividad acaricida. La mortalidad fue usualmente evaluada a las 24 o 72 horas. De estas especies evaluadas, destacan las plantas *Euphorbia prostrata*, *Manilkara zapota* y *Piper tuberculatum* var. *allenii* que poseen una dosis letal $50\text{ DL}_{50} \leq 0.05\%$. Asimismo, las especies *Anisomeles malabarica*, *Andrographis lineata*, *Andrographis paniculata*, *Ricinus communis*, *Terminalia chebula*, *Achyranthes aspera*, *Pergularia daemia*, *Eclipta prostrata*, *Phyllanthus emblica*, *Cocculus hirsutus*, *Rhinacanthus nasutus*, *Solanum torvum*, *Cassia auriculata*, *Aegle marmelos*, *Annona squamosa* y *Acacia nilotica* poseen una DL_{50} en el rango de 0.01-0.05 %.

Lo anterior, hace evidente la importancia de la búsqueda de especies vegetales que puedan ser usadas en el control de las infestaciones por garrapatas; en este sentido, los resultados que se presentan en este trabajo son de gran relevancia, ya que podrían sentar las bases para el desarrollo en un futuro de acaricidas comerciales; particularmente de las fracciones de *C. latifolia* (n-hexano y diclorometano) que presentan actividades similares a la de *A. indica*; asimismo, la fracción de diclorometano de *I. jinicuil*, muestra una actividad muy relevante, siempre respecto a *A. indica*. Es importante destacar que las actividades acaricidas de estas plantas no habían sido reportadas previamente, según los resultados de nuestras búsquedas bibliográficas; y que las actividades de estas fracciones fueron establecidas sobre larvas de *R. microplus* con doble resistencia a amitraz e ivermectina.

5. Conclusión

De los resultados obtenidos, se puede concluir que de las 16 fracciones obtenidas por el método de Kupchan evaluadas a una concentración de 10 % en el bioensayo de inmersión larvaria, cuatro fracciones muestran una buena actividad inhibitoria sobre larvas de *R. microplus* ($\geq 76\%$ de mortalidad), mientras que el resto de fracciones resultaron tener muy baja o nula actividad ($< 30\%$). De acuerdo a los resultados registrados, tres de las fracciones (CLC-1A, CLC-1B y IJS-1A) podrían considerarse muy buenos acaricidas, ya que poseen una actividad comparable a la fracción activa de *A. indica* (AIS-1C), planta ya utilizada comercialmente para el control de las infestaciones por garrapatas. De este modo, estas plantas podrían ser utilizadas solas o combinadas, como una alternativa para el control de la garrapata *R. microplus* del ganado bovino. Para el futuro, se pretende realizar un estudio cromatográfico para identificar las sustancias presentes en estas fracciones y que son responsables de la actividad acaricida observada.

Referencias

- Adenubi, O.T., Fasina, F.O., McGaw, L.J., Eloff, J.N., Naidoo, V., (2016). Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. *South African Journal of Botany*. 105:178-193, <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.010>.
- Benelli, G., Pavela, R., Canale, A., Mehlhorn, H., (2016). Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases? *Parasitol. Res.* 115:2545-2560, <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-016-5095-1>.
- Borges, L.M.F., Sousa, L.A.D., Barbosa, C.S., (2011). Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 20:89-96, <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612011000200001>.
- Cortés-Vecino J.A., (2011). Garrapatas: estado actual y perspectivas. XX Congreso Latinoamericano de Parasitología. *Biomédica*, 31(sup.3):268-271. <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/564/694>
- FAO (Food Agriculture Organization of the United Nation), 2004. Module 1. Ticks: Acaricides Resistance: Diagnosis Management and Prevention in: Guidelines Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants. FAO Animal Production and Health Division, Rome.
- Fernández-Salas, A., Rodríguez-Vivas, R.I., Alonso-Díaz M.A., (2012). First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropic. *Vet. Parasitol.* 183(3-4):336-342, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.028>.
- Fouche, G., Ramafuthula, M., Maselela, V., Mokoena, M., Senabe, J., Leboho, T., Sakong, B.M., Adenubi, O.T., Eloff, J.N., Wellington, K.W., (2016). Acaricidal activity of the organic extracts of thirteen South African plants against *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.* 224:324-330, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.011>.
- Kupchan, S.M., Tsou, G., Sigel, C.W., (1973). Datiscacin, a novel cytotoxic cucurbitacin 20-acetate from *Datisca glomerata*. *J. Org. Chem.* 38(7):420-421. <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jo00947a041>.
- Murrell, A., Campbell, N.J., Barker, S.C., (2000). Phylogenetic analyses of the Rhipicephaline ticks indicate that the genus *Rhipicephalus* is paraphyletic. *Mol. Phylogenet. Evol.* 16(1):1-7. <https://doi.org/10.1006/mpev.2000.0762>.
- Murrell, A., Barker, S.C., (2003). Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Syst. Parasitol.* 56(1):69-72. <https://doi.org/10.1023/B:SYPA.0000003802.36517.a0>.
- Nunes de Santana Campos, R., Nascimento Lima, C.B., Passos Oliveira, A., Albano Araújo, A.P., Fitzgerald Blank, A., Barreto Alves, P., Nascimento Lima, R., Albano Araújo, V., Silva Santana, A., Bacci, L., (2015). Acaricidal properties of vetiver essential oil from *Chrysopogon zizanioides* (Poaceae) against the tick species *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.* 212(3-4):324-330, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.022>.
- Pavela, R., Canale, A., Mehlhorn, H., Benelli, G. (2016). Application of ethnobotanical repellents and acaricides in prevention, control and management of livestock ticks: A review. *Research in Veterinary Science*, 109:1-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.09.001>.
- Perez-Cogollo, L.C., Rodríguez-Vivas, R.I., Ramirez-Cruz, G.T., Rosado Aguilar, J.A., (2010). Survey of *Rhipicephalus microplus* resistance to ivermectin at cattle farms with history of macrocyclic lactones use in Yucatan, Mexico. *Vet. Parasitol.* 172:109-113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.030>.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Rivas, A.L., Chowell, G., Fragoso, S.H., C.R., García, Z., Smith, S.D., Williams, J.J., Schwager, S.J., (2007). Spatial distribution of acaricide profiles (*Boophilus microplus* strains susceptible or resistant to acaricides) in southeastern Mexico. *Vet. Parasitol.* 146(1-2):158-169, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.01.016>.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Miller, R.J., Ojeda-Chi, M.M., Rosado-Aguilar, J.A., Trinidad-Martínez, I.C., Pérez de León A.A., (2014). Acaricide and ivermectin resistance in a field population of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) collected from red deer (*Cervus elaphus*) in the Mexican tropics. *Vet. Parasitol.* 200(1-2):179-188, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.025>.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) (2015). Situación actual de la Campaña para el control de la Garrapata *Boophilus* spp. Impacto zoonosario. <http://conasamexico.org.mx/13/MemoriasRA-CONASA-2015/17-%20Parasitologia.pdf>
- Shaw, R.D., Cook, M., Carson, R.E., (1968). Developments in the resistance status of the southern cattle tick to organophosphorus and carbamate insecticides. *J. Econ. Entomol.* 61:1590-1594, <https://doi.org/10.1093/jee/61.6.1590>.