

**Universidad Autónoma de Sinaloa**  
**Colegio en Ciencias Agropecuarias**  
**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**  
**Maestría en Ciencias Agropecuarias**



**TESIS:**

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA, GENÉTICA Y  
GEORREFERENCIACIÓN DE LA GARRAPATA  
*Rhipicephalus microplus* EN SINALOA.

**Que para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Agropecuarias**

**PRESENTA:**

Claudia Leonor Barraza Tizoc

**DIRECTORA DE TESIS:**

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

**CO-DIRECTORA DE TESIS:**

Dra. Idalia Enríquez Verdugo

**ASESORES**

Dra. Nohemí Castro Del Campo  
Dr. Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola  
MC. Jaime Eleazar Borbolla Ibarra

**Culiacán, Sinaloa, México; a septiembre 2019**

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR CLAUDIA LEONOR BARRAZA TIZOC,  
BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA  
SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA            Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

CO-DIRECTORA    Dra. Idalia Enríquez Verdugo

ASESORES            Dra. Nohemí Castro del Campo

Dr. Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola

MC. Jaime Eleazar Borbolla Ibarra

CULIACÁN, SINALOA, SEPTIEMBRE DEL 2019

**MC. JAIME ELEAZAR BORBOLLA IBARRA**  
**DIRECTOR**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**PRESENTE.-**

**Los abajo firmantes, miembros del Jurado de Grado, hacemos constar que la tesis:**

**“IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA, GENÉTICA Y GEORREFERENCIACIÓN DE LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* DE SINALOA”**

Presentada como requisito parcial para obtener el Grado de Maestra en Ciencias Agropecuarias por la:

C. Claudia Leonor Barraza Tizoc

Ha sido revisada y considerando que cumple con los requisitos necesarios se otorga el VOTO APROBATORIO, para ser impresa y defendida en el Examen de Grado de la fecha que la Universidad asigne para ello.

Atentamente,

Dra. Nohemí Castro del Campo  
Gaxiola  
Presidenta

Dr. Miguel Ángel Rodríguez  
Secretario

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho  
Vocal A

Dra. Idalia Enríquez Verdugo  
Vocal B

MC. Jaime Eleazar Borbolla Ibarra  
Vocal C



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

## COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE  
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 20 de enero del año 2020, la que suscribe María Candelaria López Caro, alumna del Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 93147, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho y de la Dra. Idalia Enríquez Verdugo y cede los derechos del trabajo titulado “IDENTIFICACIÓN MORFOLOGÍA GENÉTICA Y GEOREFERENCIACIÓN DE LA GARRAPATA RHIPICEPHALUS MICROPLUS EN SINALOA”, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

---

Claudia Leonor Barraza Tizoc

CORREO ELECTRÓNICO: [barrazatizoc@gmail.com](mailto:barrazatizoc@gmail.com)  
CURP: BATC771203MSLRZL00

## DEDICATORIA

## AGRADECIMIENTOS

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN.....	X
ABSTRACT .....	XI
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
2.1. Generalidades de las garrapatas.....	3
2.2. Clasificación de las garrapatas. ....	3
2.2.1. Reclasificación de las garrapatas. ....	4
2.3. Ciclo de la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	4
2.3.1. Etapa parasítica de <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	5
2.3.2. Etapa no parasítica de <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	6
2.3.3. Reproducción de la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	7
2.3.4. Calentamiento global e impacto en los ciclos biológicos de los vectores. ....	8
1.4. Adaptación de las garrapatas al hospedador.....	9
1.5. Evolución de las garrapatas .....	10
1.6. Vectores de importancia en la medicina veterinaria. ....	14
2.6.1. Pérdidas económicas por garrapatas <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	15
2.6.2. Importancia de los vectores y calentamiento global.....	16
2.7. Enfermedades transmitidas por garrapatas a los animales. ....	16
2.8. Detección morfológica de garrapatas. ....	18
2.9. Detección Genética de las garrapatas. ....	19
2.9.1. Diversidad genética de garrapatas.....	19
2.9.2. Homología genética de <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	20
2.9.3. Genoma de las garrapatas <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	21
2.9.4. Flujo de genes de garrapatas.....	24
2.10. Distribución de las garrapatas. ....	25
2.10.1. Factores que favorecen la distribución de las garrapatas.....	27
2.10.2. Distribución de <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	28
2.10.3. Distribución de la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> en México. ....	30

2.11.	Georreferenciación de la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	31
2.11.1.	Factores climáticos en Sinaloa que Influyen en el ciclo de vida de <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	31
2.12.	La garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> en Sinaloa. ....	32
III.	HIPÓTESIS.....	33
IV.	OBJETIVO GENERAL.....	34
V.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	35
5.1	Descripción del área de estudio. ....	35
5.2.	Criterios de inclusión. ....	36
5.3.	Recolecta. ....	36
5.4.	Identificación morfológica de las garrapatas. ....	36
5.5.	Clave para hembras de <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	36
5.6.	Clave para machos de <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	37
5.7.	Extracción de ADN de <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	37
5.8.	Amplificación del gen 16S ARNr de <i>Rhipicephalus microplus</i> por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). ....	38
5.9.	Secuenciación. ....	38
5.10.	Análisis <i>In Silico</i> .....	38
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
VII.	CONCLUSIÓN .....	54
VIII.	LITERATURA CITADA.....	55

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1.- Georreferenciación de las áreas geográficas de colecta de garrapatas <i>R. microplus</i> en el estado de Sinaloa.....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1.-	Esquema del ciclo biológico de la garrapata <i>R. microplus</i> .....	8
2.-	Puntos de ocurrencia para las especies modeladas en Rumania.....	25
3.-	Mapa de la distribución de <i>H. marginatum</i> en Rumania según el modelo.....	26
4.-	Mapas de la distribución de <i>R. annulatus</i> según el modelo en Rumania.....	26
5.-	Mapa de México donde se muestra el Estado de Sinaloa y los municipios de colecta de garrapatas de bovinos.....	35
6.-	Claves de las estructuras anatómicas de las garrapatas <i>R. microplus</i> .....	36
7.-	Garrapatas adultas de <i>R. microplus</i> .....	40
8.-	Electroforesis donde se visualiza el ADN genómico.....	42
9.-	Productos del PCR con el gen <i>16S ARNr</i> de <i>R. microplus</i> aislados de ganado bovino de Sinaloa, México.....	43
10.-	Multialineamiento de secuencias de nucleótidos del gen <i>16S ARNr</i> de <i>R. microplus</i> aislados de ganado bovino de Sinaloa, México.....	45
11.-	Árbol filogenético basado en las secuencias de nucleótidos del gen <i>16S ARNr</i> de <i>R. microplus</i> .....	49
12.-	Temperaturas máximas y mínimas, precipitación pluvial del 2014 al 2018.....	53

## **RESUMEN**

Las garrapatas son los segundos vectores más importantes en el mundo y las principales en la medicina veterinaria. *Rhipicephalus microplus* Se considera como la garrapata parásito más importante económicamente en el mundo, se desarrolla en un solo huésped, todas las etapas del ciclo de vida como parásitos en el ganado bovino, en México, se distribuye en 65 % del territorio nacional. Por lo cual el objetivo de este trabajo fue la caracterización morfológica y genética de *R. microplus* en ganado bovino de las diferentes regiones geográficas de Sinaloa. Es un tipo de estudio observacional, transversal, descriptivo. Como criterio de inclusión se colectaron al menos 5 garrapatas por bovino que se encontraban alimentándose de bovinos en UPP de la sierra, valle y costa, se analizaron datos climatológicos de los municipios de Culiacán, Guasave y Elota durante los años 2014 al 2018. Las garrapatas se analizaron por claves morfológicas y genes del 16S *ARNr* mitocondrial, las muestras se secuenciaron y su similitud se analizó en la base de datos de BLAST. Como resultado el total de garrapatas correspondieron morfológicamente y genéticamente a *R. microplus*, la georreferenciación de los UPP muestreadas oscilaron entre 7 - 954 msnm, las temperaturas máximas fueron de 39.1°C con una mínima de 9°C. Esta investigación contribuye a una identificación morfológica, genética y georreferenciación de la garrapata *R. microplus* en regiones de la sierra, valle y costa del Estado de Sinaloa México, por lo cual debe considerarse como adecuado para el desarrollo de la garrapata del ganado bovino.

**PALABRAS CLAVES:** Georreferenciación, Garrapata, *R. microplus*, morfológica y genética.

## **ABSTRACT**

Ticks are the second most important vectors in the world and the main vectors in veterinary medicine. *Rhipicephalus microplus* It is considered as the most economically important parasitic tick in the world, it develops in a single host, all stages of the life cycle as parasites in cattle, in Mexico, it is distributed in 65% of the national territory. Therefore, the objective of this work was the morphological and genetic characterization of *R. microplus* in cattle of the different geographical regions of Sinaloa. It is a type of observational, cross-sectional, descriptive study. As an inclusion criterion, at least 5 ticks per bovine that are feeding on bovine animals in the UPP of the sierra, valley and coast were collected, the climatological data of the municipalities of Culiacán, Guasave and Elota during the years 2014 to 2018 are analyzed. Ticks were analyzed by morphological keys and mitochondrial 16S rRNA genes, samples were sequenced and their similarity was analyzed in the BLAST database. As a result, the total ticks corresponded morphologically and genetically to *R. microplus*, the georeferencing of the sampled UPPs ranged from 7 - 954 meters above sea level, the maximum temperatures were 39.1 ° C with a minimum of 9 ° C. morphological, genetic and georeferencing of the *R. microplus* tick in regions of the sierra, valley and coast of the State of Sinaloa Mexico, so it must affect as suitable for the development of the cattle tick.

**KEY WORDS:** Georeferencing, Tick, *R. microplus*, morphological and genetic.



## I. INTRODUCCIÓN

Las garrapatas pertenecen al suborden Ixodida el cual comprende alrededor de 907 especies las cuales están divididas en tres familias; Ixodidae con 720 especies, Argasidae 186 especies y Nuttalliellidae con una sola especie (Klompen *et al.*; 1996; Bowman y Nutall, 2008; Velayutham *et al.*, 2012) con rango de expansión de algunas especies debido a los cambios en las condiciones climáticas, son consideradas los segundos vectores en medicina veterinaria más importantes en el mundo, transmiten patógenos causales de enfermedades en animales domésticos y silvestres (Andreotti *et al.*, 2011) repercutiendo en la ganancia de peso, producción de leche (Almazan *et al.*, 2010; Bastos *et al.*, 2010). La garrapata *Rhipicephalus microplus* (*R. microplus*) tiene una distribución en regiones tropicales y subtropicales (de la Fuente, 2008) anteriormente este género de garrapata se clasificaba como *Boophilus microplus* después de estudios de filogenia se reclasificó dentro del género de *Rhipicephalus* (Beati y Keirans, 2001) son seis especies validadas en el subgénero *Rhipicephalus* (*Boophilus*) con base en estudios con marcadores moleculares, las especies ampliamente distribuidas son *R. annulatus* y *R. microplus* del subgénero *Boophilus* y durante mucho tiempo han sido consideradas como las mismas especies con base en morfología y genética (Murrell *et al.*, 2000; Burger *et al.*, 2014). Estimaciones evolutivas indican el origen de las garrapatas surgieron hace  $300 \pm 27$  millones de años, mientras los linajes del prostriate y metastriate de garrapatas duras divergieron  $241 \pm 28$  millones de años, las cuales difieren en su tipo de morfología y ciclo biológico de desarrollo, la competencia en rango de huéspedes y vectores. *R. microplus* es un miembro del metastriate de las garrapatas en el que se incluye numerosos géneros y especies de importancia médica y veterinaria (Jeyaprakash y Hoy, 2009). La diferencia morfológica y genética entre las cepas de *R. microplus* se han documentado en la literatura (García- García *et al.*, 1999), el estudio del ARNr mitocondrial que revela la base genética fundamental en biología de estos linajes de garrapatas (Barrero, 2012), las especies de *R. microplus* en Sud África y Australia podrían considerarse diferentes especies a las de Costa Rica, Paraguay, Perú y Uruguay (Low *et al.*, 2015). Por lo que las poblaciones de garrapatas de

regiones sierra, valle y costa del Estado, presentan similitud genética. El objetivo fue identificar morfológicamente, genéticamente y georreferenciación de garrapatas de sierra, valle y costa de Sinaloa.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Generalidades de las garrapatas.

Las garrapatas son ectoparásitos obligados de mamíferos, aves y reptiles, que se alimentan de sangre, y se le clasifican como garrapatas duras o blandas. *R. microplus* se considera como la garrapata parásito más importante económicamente en el mundo, se desarrolla en un solo huésped, todas las etapas del ciclo de vida como parásitos en el ganado bovino, se distribuyen en zonas tropicales y subtropicales donde son endémicas, la distribución geográfica y hábitat de las garrapatas se ha ampliado en los últimos años con un rango de expansión para algunas especies debido a los cambios en las condiciones climática, ocasionalmente se puede encontrar en otros huéspedes como; caballos, cabras, ovejas, cerdos y algunos animales silvestres como el jaguar (*Panthera onca*) (Almazán *et al.*, 2012), afectando la ganadería, y como consecuencia de su parasitismo y reduce la ganancia de peso, producción de leche, y son vectores de patógenos importantes en animales como *Babesia ovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma marginale* (Almazan *et al.*, 2010).

### 2.2. Clasificación de las garrapatas.

La clasificación taxonómica de las garrapatas las cuales pertenecen al; Phylum; Artrópoda, Clase; Arachnida, Orden; Parasitiforme, suborden; Ixodida (Parola y Raoult, 2001) y se clasifican en tres Familias: Ixodida que esta representadas por 907 especies, correspondiendo 186 especies a Argasidae y una especie Nuttalliellidae (Bowman y Nutall, 2008). Existe una estrecha relación genética entre *Boophilus* y *Rhipicephalus*, y se considera recientemente a *Boophilus* spp como una subespecie de *Rhipicephalus* spp, sin embargo estas presentan diferencias morfológicas entre ellas, y en sus ciclos de vida (Estrada-Peña *et al.*, 2006). Actualmente se describen seis especies válidas en el subgénero *Rhipicephalus* (*Boophilus*) donde *R. annulatus* y *R. microplus* son las especies más ampliamente distribuidas y durante mucho tiempo se han considerado como especies hermanas con base en la morfología (Burger *et al.*, 2014). Con respecto

a marcadores moleculares se presentan tres subtipos: uno que comprende las garrapatas de América y África; otra, que comprende las garrapatas de Australia, Indonesia y Nueva Caledonia; y uno que comprende las garrapatas de la India y Nepal. Las garrapatas *R. microplus* de Australia, Indonesia y Nueva Caledonia se han reclasificado como *R. australis* (Low *et al.*, 2015).

### **2.2.1. Reclasificación de las garrapatas.**

Beati y Keirans (2001), estudiaron la filogenia de las garrapatas duras, usando secuencias mitocondriales 12S ADNr y características morfológicas, y como conclusión el género *Boophilus* es monofilético y se incluyó dentro del género *Rhipicephalus*. Las conclusiones de Murrell *et al.* (2001) Son similares donde se basa sobre secuencias de 12S ARNr, Citocromo Oxidasa I, un espaciador interno transcrito 2 del ARNr nuclear, 18S ARNr, así como en la morfología demuestra de forma concluyente la estrecha relación entre *Boophilus* y *Rhipicephalus* y estos autores relegan a *Boophilus* a un subgénero de *Rhipicephalus*, al igual que Barker y Murrell (2003) a pesar de las diferencias morfológicas entre ellos, son muy visibles así mismo hablar de las diferencias en el ciclo de vida. Horak *et al.* (2003) enlista los nombres de garrapatas válidos.

### **2.3. Ciclo de la garrapata *Rhipicephalus microplus*.**

Las garrapatas tienen dos estadios, uno parasítico y otro no parasítico. *R. microplus* es generalmente de un solo huésped, es decir pasa todo ciclo de vida parasitaria en el ganado. Los huevos eclosionan en el medio ambiente y las larvas se arrastran por encima de la hierba u otras plantas para encontrar un huésped. En el verano, *R. microplus* puede sobrevivir durante un tiempo de 3 a 4 meses sin alimentación. En temperaturas más frías, pueden vivir sin comida durante un máximo a seis meses. En la etapa de larvas se encuentran en la piel más suave en el interior del muslo, flancos, y patas delanteras. Después de la alimentación, las larvas mudan dos veces, para convertirse en ninfas y adultos machos o hembras. Cada etapa de desarrollo (larva, ninfa y adulto) sólo se alimenta una vez, pero la alimentación tiene lugar durante varios días. El macho adulto alcanza

la madurez sexual después de la alimentación, y se aparea con las hembras en alimentación, ya alimentada se desprende del huésped para depositar un único lote de huevos en el medio ambiente. Por lo general, estos huevos se colocan en las grietas o escombros, o debajo de las piedras. La garrapata hembra muere después de la oviposición. Las garrapatas en el subgénero *Boophilus* tienen un ciclo de vida que se puede completar en 3 a 4 semanas; esta característica puede dar lugar a una carga de garrapatas en particular sobre bovinos susceptibles en las zonas tropicales (Barrero *et al.*, 2011).

Durante el invierno, las bajas temperaturas previenen el rápido desarrollo el cual se realiza lentamente. En las latitudes norte la temperatura es el principal factor determinante de la longitud del ciclo de vida de garrapata mediante la regulación de la duración de los procesos de desarrollo. Los requisitos de temperatura para el desarrollo son específico de la especie y por lo general evitan la propagación de garrapatas más al norte, donde los grados totales acumulados en una año son demasiado bajos para permitir el desarrollo completo, la mortalidad depende de las pérdidas de agua, que están reguladas por la humedad relativa y el déficit de saturación de aire. Durante las migraciones, las garrapatas pierden agua que normalmente recuperan descendiendo a intervalos a la zona de arena donde pueden reabsorber el vapor de agua de la atmósfera (Estrada-Peña *et al.*, 2013). En los bovinos, los sitios predilectos de infestación fueron; la región púbica y la ingle *R. microplus* se un total de 25,000 garrapatas; 15, 000 larvas, 9,000 ninfas y 1000 adultas (Gaxiola-Camacho *et al.*, 2008).

### **2.3.1. Etapa parasítica de *Rhipicephalus microplus*.**

El estadio parasítico de las garrapatas lo realizan sobre su hospedero que es el bovino. Este estadio se realiza en un periodo de 21 días durante el cual la garrapata pasa por los estadios de larva (tres pares de patas), ninfa y adulto (cuatro pares de patas). La hembra adulta se alimenta lentamente por alrededor de una semana, llenándose rápidamente con sangre en las últimas 24 horas (García, 2010).

En Culiacán, Sinaloa se analizaron garrapatas *R. microplus* cepa Nativa vs cepa Media la Joya en el año de 2002, donde se mostraron diferentes picos de actividad para cada uno de los tres estadios parasíticos (larva, ninfas y adultos) en las 104 semanas de estudio, en el primer año se observó en la última semana de abril y las tres primeras de mayo un total de 4.122.89 larvas. El pico más alto ocurrió la segunda semana de mayo cuando se observaron 3924 larvas en total. Durante el segundo año la población de larvas fue más uniforme, con un conteo similar, el pico fue más alto en la primera semana de noviembre (Gaxiola-Camacho *et al.*, 2008).

### **2.3.2. Etapa no parasítica de *Rhipicephalus microplus*.**

En el estadio no parasítico las garrapatas se desprenden del hospedero y caen al suelo y empiezan a ovopositar aproximadamente 3000 huevos y al final las garrapatas mueren. De los huevos eclosionan las larvas que infestan los pastos hasta que las larvas infestan a sus hospederos y si no las larvas mueren. Este tiempo puede variar dependiendo de la temperatura y humedad presente en el ambiente, durante de verano duran aproximadamente 2 meses a 6 ó 7 meses en el invierno y son afectados adversamente por las temperaturas extremas y los niveles de humedad (García, 2010).

Se estudió en hembras adultas ingurgitadas en tres ambientes: laboratorio, sol y sombra durante dos años de estudio, las garrapatas en su ambiente natural de sol pesaron 240.96 mg, en sombra 250.12 mg, y en condiciones de laboratorio 236.18 mg: con respecto a la cepa Media Joya (MJ), en el laboratorio tuvo un promedio de peso de 197.17 mg, en el sol de 208.297 mg y en la sombra de 223.13 mg, puede observarse que el mayor peso promedio alcanzado fue por hembras nativas ingurgitadas en sombra, incluso mayor que la misma cepa en el laboratorio (Gaxiola-Camacho *et al.*, 2008). El potencial de ovoposición de una hembra ingurgitada está directamente relacionado con su capacidad de alimentarse, así que las hembras más pesadas muestran mayor valor de ovoposición tanto para el número de huevos puestos como el peso de la masa de huevos, lo que explica los IER más altos en la cepa nativa, la cual presentó pesos al ingurgitamiento más altos.

### **2.3.3. Reproducción de la garrapata *Rhipicephalus microplus*.**

El hallazgo de paternidad múltiple en *R. microplus* podría ayudar a explicar el nivel de endogamia débil y la ausencia de diferenciación genética encontrada en infrapoblaciones dentro del rebaño de vacas (Cutulle, Jonsson, & Seddon, 2010). La transmisión accidental de las larvas al buscar un huésped también puede contribuir a la reducción de apareamiento de hermanos, en consecuencia, decrece los niveles de endogamia en las hembras infrapoblacionales. Después de alimentarse se desprende del huésped para poner sus huevos en el pasto, pero al no caer de forma simultánea, se encuentran dispersos en diferentes partes de un prado, dando la oportunidad para que las larvas se mezcle con los derivados de la población desde el resto del ganado antes de que a su vez se suben de nuevo al ganado, donde se llevará a cabo el apareamiento (Cutulle *et al.*, 2010).

Los miembros del subfilo Chelicerata suelen tener cuerpos adultos que pueden dividirse en dos partes, o tagmata: el prosoma y el opisthosoma. Un par de queliceros un par de pedipalpos y cuatro pares de patas locomotoras son características de estos organismos (Santos *et al.*, 2013).

La otra explicación para la diferenciación débil o baja endogamia dentro de un infrapoblación en bovinos es propuesto por los trabajadores, donde se hace referencia del movimiento de las garrapatas entre las vacas durante su vida parasitaria (Chevillon *et al.* 2007). En cualquier huésped único y dentro de larvas, los niveles de consanguinidad entre las garrapatas podrían reducirse en el apareamiento múltiple, lo que aumenta la probabilidad de apareamiento entre medios hermanos en lugar de individuos hermanos completos, por diversas formas de competencia de esperma (Cutulle *et al.*, 2010).

Los modelos de población basados en procesos necesitan datos sólidos y completos sobre la respuesta de un animal a los factores climáticos para que puedan funcionar confiablemente en una amplia gama de condiciones climáticas. En el caso de las garrapatas Ixodidae, el clima desempeña un papel importante en el éxito de las etapas de vida libre por lo cual es esencial comprender la temperatura y humedad de cada etapa de vida (Sutherst & Bourne, 2006). Las larvas que se derivan de los huevos desarrollados a 35°C tienen la mitad de

posibilidades de vida al de las larvas que se eclosiona de huevos desarrollados a 30°C. Esto plantea la cuestión de la magnitud de tales legados etapa a etapa y su importancia ecológica. La baja temperatura también causa una mortalidad extensa en los hábitats más fríos. Las condiciones ambientales varían diariamente y también existe el potencial para las tendencias estacionales en la temperatura y la disponibilidad de humedad durante el período de incubación de los huevos de garrapata, que puede variar de alrededor de 4 semanas a más de 5 meses (Sutherst & Bourne, 2006).

Ciclo biológico de *R. microplus*

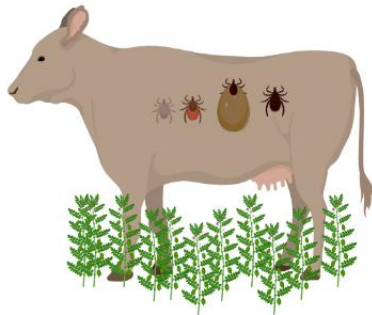


Figura 1. Esquema del ciclo biológico de un solo hospedador de la garrapata *R. microplus* donde se muestra las fases de larva, ninfa y hembra y macho.

#### **2.3.4. Calentamiento global e impacto en los ciclos biológicos de los vectores.**

El efecto invernadero es un efecto natural que permite la vida en la tierra; es causado por la acumulación en la atmósfera de una serie de gases, provocando que parte del calor del sol quede atrapado en ella (Lizana- Avila, 2009). Sin embargo, el clima ha propiciado un incremento de la actividad antropogénica produciendo el conocido calentamiento global que propicia que la temperatura aumente y el clima se modifique (Ramos-Castellanos, 2009), existe en la actualidad una preocupación universal por las causas y consecuencias del calentamiento global, en especial en el ámbito de la salud pública, porque se ha promovido que la distribución de los insectos vectores de enfermedades humanas

aumenten su zona de impacto y que los ciclos biológicos se extiendan de unos meses a todo el año (Sánchez-Yañez, 2014). El clima es una de las diversas causas de la aparición de enfermedades, principalmente por patógenos que pasan parte de su ciclo de vida fuera del huésped (Baylis, 2017). Los cambios temporales y espaciales en la temperatura, precipitación y humedad están ligados a los cambios climáticos y a la vez repercuten en la ecología y biología de vectores, de hospederos intermedios y consecuentemente aumenta el riesgo de la transmisión de enfermedades (Githeko *et al.*, 2000). Se especula que el cambio climático tendrá consecuencias inusuales para la salud humana, especialmente debido a las enfermedades transmitidas por vectores, las especies como mosquitos, garrapatas, insectos triatóminos, moscas de arena y moscas negras, tienden a ser más activos durante temperaturas altas (Lee *et al.*, 2013). El clima y la variación de las tierras afectan directamente los procesos biológicos de los vectores, en cuanto a la supervivencia y abundancia (Odgen *et al.*, 2008). La transmisión de muchas enfermedades son afectadas por la temperatura ambiental, aunque no es el único factor (Gubler *et al.*, 2001).

#### **1.4. Adaptación de las garrapatas al hospedador.**

Las garrapatas se adaptaron a un sistema hemostático de vertebrados ya existente y complejo, de ser depredadores de vida libre, a gran variedad de mecanismos anti-hemostáticos, evolucionó durante este proceso e incluye coagulación de la sangre, así como inhibidores de la agregación plaquetaria, las principales familias de garrapatas se adaptaron de forma independiente a un ambiente de alimentación de sangre, esto se apoya en las principales diferencias observadas en todos los procesos relacionados con la alimentación de sangre para las garrapatas duras y blandas, los eventos de duplicación de genes desempeñaron un papel importante en la evolución de las nuevas funciones proteicas implicadas en las interacciones garrapata-hospedador, ocurrió durante el cretácico tardío y fue estimulado por la radiación de aves y mamíferos placentarios, lo que proporcionó numerosos nuevos nichos para que las garrapatas se adaptaran a un nuevo estilo de vida, la alimentación de sangre tiene

varias implicaciones que tendrán que investigarse en términos de proyectos de genomas de garrapatas y desarrollo de vacunas (Mans y Neits, 2004).

La variación en la gama de huéspedes puede influir en la divergencia intraespecífica de la cepa, en tamaños pequeños de población la transmisión es limitada entre los hospedadores pueden dar lugar a fuertes cuellos de botella genéticos, que reducen la diversidad y crean el potencial de divergencia genética a surgir entre las cepas de los desplazamientos, la adaptación a diferentes huéspedes, también podría ser un factor de divergencia de la cepa, además de producir divergencia en el blanco de la selección, la evolución de adaptación es a menudo acompañado por un barrido selectivo, lo que puede crear divergencia genética adicional entre las cepas (Aardema y Loewenich, 2015).

### **1.5. Evolución de las garrapatas**

Alrededor de 15.000 especies y 400 géneros de artrópodos hematófagos surgieron durante las épocas del Jurásico y Cretácico, 145-65 millones de años (Mans *et al.*, 2002). Estimaciones moleculares indican que las garrapatas surgieron  $300 \pm 27$  millones de años, mientras que el de prostriate y metastriate linajes de garrapatas duras divergieron  $241 \pm 28$  Millones de años. *R. microplus* es un miembro del linaje metastriate de las garrapatas que incluye numerosos géneros y especies de importancia médica y veterinaria (Barrero, 2011).

El grupo Metastriate comprende 4 subfamilias por orden de divergencia del origen de clados como *Amblyomminae* (*Amblyomma* y *Aponomma*), *Haemaphysalinae* (*Haemaphysalis*), y las hermanas *Hyalomminae* (*Hyalomma*) y *Rhipicephalinae*. La subfamilia *Rhipicephalinae* abarca 9 géneros, entre ellos *Rhipicephalus* (75 especies), *Dermacentor* (30 especies), *Margaropus* (3 especies) y *Boophilus* (5 especies) (Beati y Keirans, 2001). Los linajes de prostriate y metastriate difieren notablemente en muchos aspectos de biología, como el tipo de ciclo de desarrollo, la competencia en rango de huéspedes y vectores (Barrero *et al.*, 2011). Los análisis comparativos entre conjuntos de genes de estos linajes, incluyendo ARNmt puede revelar la base genética de las diferencias fundamentales en la

biología de estos linajes de garrapata. *I. scapularis* es un miembro del linaje prostriate que comprende el único género *Ixodes* (Krakowetz *et al.*, 2011b)

Las pruebas genéticas mitocondriales y nucleares combinadas y congruentes revelan que *A. cajennense* es un conjunto de seis especies distintas que evolucionaron separadamente entre sí desde al menos 13.2 millones de años en el más temprano y 3.3 millones de años en los últimos linajes. Los modos de diversificación temporal y espacial de los seis linajes se superponen a la historia filogeográfica de otros organismos con similares distribuciones trans-amazónicas existentes y son consistentes con la hipótesis predominante actual de que la diversidad neotropical encuentra a menudo sus orígenes en el Mioceno después de que el levantamiento andino cambió la topología y por consiguiente el clima y la ecología de los Neotrópicos (Beati *et al.*, 2013). Esta hipótesis propone que las garrapatas asociadas con los huéspedes primitivos, deben ser primitivos a sí mismos y que surgió de cada linaje de garrapata cuando el taxón más antiguo de su anfitrión actual surgió, en general, se sigue los principios de las viejas reglas de parasitología, en el que los parásitos se representan como dependiente sobre sus huéspedes en casi todos los aspectos de su biología (Klompen, 1996). El más importante de estos métodos es el uso de la sistemática filogenética para producir derivados de forma independiente de parásitos, las filogenias permiten a rigurosas pruebas de hipótesis adaptativas, así como hipótesis de coespeciación o vicarianza (Klompen, 1996). Los mecanismos evolutivos de adaptación a un entorno alimentándose de sangre pueden ser estudiados por la identificación y caracterización de componentes anti-hemostáticos que son secretadas durante la alimentación de organismos hematófagos (Mans *et al.*, 2002).

La adaptación de los artrópodos hematófagos a un entorno de alimentación de sangre implica una adaptación específica a un eficiente sistema hemostático existente. Es interesante observar que los mecanismos similares para la inhibición de sistema hemostático del huésped han evolucionado varias veces. Por el contrario, en vertebrados la cascada de coagulación de la sangre ha evolucionado desde 400 millones de años y en su forma actual hace 200 millones de años (Mans *et al.*, 2002). Las preguntas que todavía se deben resolver son la

naturaleza de los antepasados no hematófagos y cómo estos mecanismos anti-hemostáticos evolucionaron, comprender las estrategias anti-hemostáticas de artrópodos que se alimentan de sangre podría arrojar luz en el ámbito de la diversidad exhibida por estos artrópodos y permitir el desarrollo de nuevas estrategias de control e identificación (Mans *et al.*, 2002). Los análisis de los patrones de las asociaciones de garrapatas en huésped no es compatible con el punto de vista general aceptado, la evolución surgió a través de la adaptación y especificidad hospedero, coespeciación, por el contrario, las porciones considerables de estos patrones parecen encajar una hipótesis en la los cuales las restricciones impuestas por la biogeografía y la especificidad ecológica en vez de especificidad de huésped, conducir a los patrones de acogida-asociación observada, sugieren que la biogeografía y la especificidad ecológica tienen un papel mucho más importante en la evolución de la garrapata, son muy interesantes a este respecto, y a diferencia de otros grupos, tales como pulgas, mosquitos, y ninfas, cada etapa de la vida activa experimenta la doble presión de la supervivencia dentro y fuera de un anfitrión (Komplen, 1996).

A escala global se espera que el aumento de la biodiversidad conduce a una mayor la diversidad de parásitos y la exposición (McCoy *et al.*, 2013), a escalas más locales, el efecto de la adición de la biodiversidad puede ser más variable (Salkeld *et al.*, 2013). Con la adición de huéspedes altamente competentes para el patógeno o el vector, o aumentando la biodiversidad del vector, el riesgo de transmisión puede aumentar (McCoy *et al.*, 2013). En particular, el modelo de efecto de dilución que predice las reducciones en el riesgo de enfermedad con aumentos en la biodiversidad del huésped, ha ganado popularidad significativa durante la última década (Randolph y Dobson, 2012).

En estudios recientes que abordan esta cuestión mediante un enfoque genético de la población y donde muestran que los registros de especies simples no son suficientes para determinar si es o no un verdadero hospedador del parásito. Después, proporcionaron un ejemplo de cómo la especialización de acogida en un vector como la garrapata puede afectar la circulación de patógenos mediante la transmisión de enfermedad como la de Lyme, donde las bacterias desarrollan su

ciclo utilizando a las aves marinas (McCoy *et al.*, 2013). Las garrapatas, tanto duras (Ixodidae) y blandas (Argasidae), explotan a sus huéspedes por sólo un corto período de tiempo (horas o días) durante la alimentación de sangre y por lo tanto su supervivencia depende en gran medida de su capacidad para hacer frente a las condiciones del medio ambiente abiótico de los largos períodos fuera del hospedador en su ciclo de vida, este estilo de doble vida ha dado lugar a un debate sobre el papel relativo del huésped y de factores como el hábitat en la determinación de los límites de ambos rangos de distribución de garrapatas y su evolución, a modo de ejemplo, señalan que una garrapata secundariamente se puede alimentar de cualquier tipo de hospedador una vez desalojados durante la alimentación de sangre, ya que sus sentidos están excitados o se pierden, este comportamiento da lugar con frecuencia a registros de hospedadores erróneos, sin embargo, reconocen que la especificidad del hospedador en las garrapatas está estrechamente ligada a las características ecológicas de las mismas especies del huésped, en términos contradictorios de si las garrapatas tienden a ser específicas de huésped o generalista para alimentarse. Sin embargo, por la re-evaluación de las escalas espaciales y temporales considerados en los análisis de uso de hospedadores, ambos puntos de vista pueden ser apoyados en la escala de la distribución geográfica mundial de una especie, las garrapatas tienden a ser generalistas de alimentación. La mayoría de las especies tienen grandes repertorios de posibles especies huésped y pueden filogenéticamente diversas en especies de huéspedes que comparten los mismos hábitats ecológicos. Los estudios realizados en otros ectoparásitos sugieren igualmente que la similitud ecológica del entorno de alimentación puede ser más importante que el anfitrión de similitudes filogenéticas en la determinación de la gama de huéspedes de un parásito (Krasnov *et al.*, 2010). La flexibilidad ecológica y capacidad de un organismo para colonizar y formar nuevas asociaciones, parece ser un marco adecuado para comprender el uso de alimentación de la garrapata a escalas espaciales grandes (Agosta y Klemens, 2008). Dada la complejidad de la interfaz de huésped de la garrapata y las características del ciclo vital de estos ectoparásitos, la capacidad de explotar un grupo altamente diversificado de los

ejércitos parece contraria a la intuición (Sunter *et al.*, 2008; Nene, 2009). Las garrapatas son capaces de formar rápidamente poblaciones de alimentación asociada a distintas comunidades locales y las diferentes poblaciones pueden mostrar diferencias tanto en la preferencia de alimentación y el rendimiento, en este sentido, los registros de observaciones simples y especies hospedadoras no son suficientes para determinar si una especie de garrapata es un especialista o un generalista; por lo que se requiere información detallada sobre los patrones de uso de alimentación, la escala local también es el apropiado para considerar si queremos predecir mejor la circulación y la exposición de patógenos (McCoy *et al.*, 2013). El riesgo para los seres humanos y los animales domésticos, porque es en estas escalas espaciales la transmisión se lleva a cabo, a fin de tener en cuenta explícitamente este contraste en el uso de alimentación entre las escalas locales y globales, una medida más adecuada de la especialización de alimentación en las especies de garrapatas sería estimar el volumen de alimentación (o diversidad beta) en el uso de alimentación en todo el rango geográfico (Krasnov *et al.*, 2011) a cuestión de las garrapatas es el destino de los especialistas locales y generalista mundial, lo que hacen las garrapatas divergir en grupos genéticos de alimentación locales asociada continúan hacia la especiación, o se perciba la adaptación basándose simplemente en la plasticidad fenotípica y acondicionamiento ecológico. La evolución de la especialización se considera que es un paso esencial hacia la especiación (Schluter, 2000). Si las garrapatas con frecuencia evolucionan en especialización de alimentación y esto conduce a la especiación (McCoy *et al.*, 2013).

#### **1.6. Vectores de importancia en la medicina veterinaria.**

Un vector es un agente que tiene la capacidad de transmitir un patógeno de un hospedador a otro. Los artrópodos son un grupo de organismos compuestos por insectos, arañas, crustáceos, algunos se alimentan de sangre, como los mosquitos y garrapatas (Gubler *et al.*, 2001), son los vectores de mayor diversidad de patógenos que transmiten desde ARN víricos, parásitos protozoarios a animales y humanos (Mercado-Curiel *et al.*, 2014). Las principales formas de transmitir

enfermedades sensibles al clima es por medio de los alimentos, agua, aerosoles, fómites y vectores (Baylis, 2017). El incremento del clima genera que los artrópodos cambien su temperatura interna, comportamiento, fisiología, supervivencia y desarrollo (Githeko *et al.*, 2000). El potencial epidémico depende de la interacción de muchos virus, hospedadores y parámetros ambientales, los modelos no pueden predecir con precisión el riesgo real de casos humanos sin incorporar determinantes humanos, virales y ambientales específicos del sitio de la transmisión (Gubler *et al.*, 2001). Los cambios en la distribución de vectores en México, se debe a que los programas de salud pública destinados al control de vectores se deciden Estado por Estado, dependiendo de los presupuestos de la administración estatal y la importancia percibida de las medidas de control de mosquitos y las enfermedades transmitidas por vectores en cada uno de los 31 Estados del país. La información de referencia permite la detección de cambios en la distribución o abundancia de especies y la detección de especies introducidas de vectores que se han extendido más allá de su distribución natural o áreas biogeográficas (denominadas especies invasoras) y que pueden causar impactos económicos y de salud humana (Bond *et al.*, 2014).

#### **2.6.1. Pérdidas económicas por garrapatas *Rhipicephalus microplus*.**

Las pérdidas económicas mundiales debido a la infestación de garrapatas se estiman de \$14000-18000 millones de dólares, y los costos del manejo de las enfermedades transmitidas por ellas (ETG) en el ganado de Pakistán e India se ha estimado en \$498.7 millones de dólares por año (Minjauw y McLeod, 2003). En 1977 los costos globales de las ETG en el ganado se estimaron entre \$13.9 y 18.7 mil millones dólares por año (De Castro, 1997), en el 2005 las pérdidas económicas mundiales causadas por *R. microplus* se estimaron en \$8 mil millones de dólares al año (Sossai *et al.*, 2005). El mayor rebaño de ganado en el mundo, está situado en Brasil en Estado de Río Grande del Sur tiene una manada de 14.5 millones de bovinos (ANUALPEC, 2012), el impacto económico en la industria ganadera de este país por la presencia de la garrapata *R. microplus* está estimado en \$2 billones de dólares anualmente (Andreotti *et al.*, 2011), el control de estos

vectores se ha estimado entre \$2.50 y \$25 dólares por animal al año (Pegram, 2001). Se han notificado pérdidas anuales (en millones de dólares) en Australia \$5.1, Kenia \$5.4, Zimbabue \$6.8, Tanzania \$21.6, Sudáfrica \$19.4, China \$57.2, India \$3.1 Indonesia y Filipinas \$0.6 (Andreotti *et al.*, 2011). El impacto económico tiene consecuencia de pérdidas directas por mortalidad, abortos, reducción de la producción de carne y leche además de los efectos indirectos asociados con la aplicación de medidas de control de garrapatas y enfermedades (Almazán *et al.*, 2010). En México las pérdidas económicas por garrapatas *R. microplus* se han estimado en \$130.91 millones de dólares (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017).

### **2.6.2. Importancia de los vectores y calentamiento global.**

Uno de los problemas ambientales más urgentes del siglo XXI es el cambio climático, un término que se refiere a la variación en el clima en una región específica o globalmente en el tiempo, las grandes cantidades de los gases de efecto invernadero emitidos a la atmósfera son una de las principales causas, las alteraciones climáticas se asocian con aumentos y disminuciones de temperatura y humedad relativa, así como en los niveles del mar y un clima más extremo, como consecuencia es la proliferación de poblaciones de artrópodos, los cuales en su mayoría son vectores de patógenos que causan enfermedades a los animales y humanos, se estima que poblaciones de insectos aumentarán su expansión y densidad en regiones cálidas, dentro del vector biológico el patógeno se ve afectado por las temperaturas ya sean máximas o mínimas y la tasa de infección y la probabilidad exitosa de transmisión a otro hospedador (Gluber *et al.*, 2001).

### **2.7. Enfermedades transmitidas por garrapatas a los animales.**

La mayoría de las enfermedades transmitidas por vectores exhiben un patrón estacional distinto, lo que sugiere claramente que son sensibles al clima, por lo que las variaciones meteorológicas (precipitaciones, temperatura y otras) afectan tanto a los vectores como a los patógenos que transmiten (Gubler *et al.*, 2001). Todos estos factores también afectan la distribución espacial y temporal de los vectores y reservorios, que a su vez afectan la epidemiología y la dinámica de la

transmisión de patógenos (Moo-Llanes *et al.*, 2013). Además, las altas temperaturas pueden aumentar o disminuir la tasa de supervivencia, dependiendo del vector, su comportamiento, ecología y muchos otros factores, entre ellos los demográficos y sociológicos (Gubler *et al.*, 2001). Las bacterias son microorganismos que han desarrollado simbiosis con las garrapatas, como en *R. microplus* (Andreotti *et al.*, 2011) virus, piroplasmas, rickettsias, borrelias, anaplasmas y babesias (de la Fuente *et al.*, 2008) estos patógenos tienen un impacto en la producción, reduce la ganancia de peso, producción de leche (Bastos *et al.*, 2010). Se estima que los patógenos transmitidos por garrapatas son responsable de más de 100,000 casos de enfermedades en humanos en el mundo (de la Fuente *et al.*, 2008). Esto es un problema creciente en todo el mundo por vectores artrópodos, y las garrapatas son los segundos vectores de enfermedades a los humanos y los más importantes en los animales (Jones *et al.*, 2008). La actividad de búsqueda del hospedero de las garrapatas, la reproducción y la supervivencia dependen de varios factores que, a su vez, tienen un impacto directo en la distribución y abundancia de garrapatas (Estrada-Peña *et al.*, 2013). Estos incluyen cobertura de vegetación, disponibilidad del huésped, condiciones de humedad y temperatura, fotoperiodo y actividades humanas, se puede encontrar información sobre la fisiología ecológica de las garrapatas en otros lugares (Randolph, 2009; Dantas-Torres, 2015) entre estas enfermedades se encuentra las bacterias del género *Anaplasma* el cual comprende seis especies; *A. marginale*, *A. centrale*, *A. ovis*, *A. phagocytophilum*, *A. bovis* y *A. platys* (Dumler *et al.*, 2001), la anaplasmosis bovina causada por *A. marginale*, los rumiantes pueden ser infectados por cinco de las seis especies pertenecientes al género *Anaplasma* (Inokuma *et al.*, 2007). Estos patógenos pueden coinfectar simultáneamente un organismo (Gray, 2006). Las cuales se han identificado en garrapatas *D. andersoni* y *R. microplus* (Sparagano y Jongejan, 1999) y en *I. ventralloii* (Antunes *et al.*, 2016). El protozooario intraeritrocítico *Babesia* spp se distribuye por el mundo y afecta a diversos animales domésticos y salvajes, principalmente el ganado, así como a humanos (Schnittger *et al.*, 2012). Los parásitos protozoarios *B. bovis*, *B. bigemina* y *B. microti* se han detectado en

garrapatas *R. microplus* (Sparagano y Jongejan, 1999). Son causantes de la babesiosis en animales y humanos, es una gran preocupación en la salud pública y en la producción animal debido a la gravedad de los brotes, animales portadores y la naturaleza zoonótica ocurre en regiones tropicales y subtropicales del mundo (Kirupanathan *et al.*, 2016). La babesiosis bovina en México, comúnmente conocida como fiebre del ganado (Cantu-C *et al.*, 2009). También se ha reportado seis especies de *Theileria*, *T. parva*, *T. annulata*, *T. buffeli/orientalis*, *T. lestoquardi*, *T. sergenti* en garrapatas *R. appendiculatus*, *Haemaphysalis dromedarii*, *H. marginatum marginatum*, *H. marginatum rufipes*, *H. longicornis* y *H. anatolicum anatolicum* (Sparagano y Jongejan, 1999). Antunes *et al.* (2016) reportaron por primera vez la detección de *T. annulata* en *I. ventalloi*. Las garrapatas *R. microplus* y *R. annulatus*, son plagas del ganado en regiones endémicas de México e invasivas a lo largo de la frontera con Texas (Goolsby *et al.*, 2016). En garrapatas *A. variegatum*, *A. hebraeum*, se ha identificado la bacteria *Cowdria ruminantium* que infectan de a los animales (Sparagano y Jongejan, 1999). En varios países del continente americano, la fiebre manchada es un problema emergente de salud pública, que es producida por el cocobacilo polimorfo *Rickettsia rickettsii* (Álvarez-Hernández *et al.*, 2015). También se han asociado *R. conorii*, *R. prowazekii*, *R. typhi*, *R. africae*, identificados en garrapatas *I. scapularis*, *A. americanum* y *A. variegatum* (Sparagano y Jongejan, 1999).

## **2.8. Detección morfológica de garrapatas.**

La detección morfológica de las garrapatas, se realiza mediante el empleo de técnicas convencionales basadas en las características morfológicas, biológicas y ecológicas (Domínguez-García *et al.*, 2010). En Grecia se identificaron en perro, ovinos y caprinos por morfología, las especies con la distribución más amplia fueron *R. sanguineus* (64.8%), *R. bursa* (25.9%) y *Dermacentor marginatus* (4.1%), mientras que las especies recolectadas con menos frecuencia fueron *I. ricinus*, *I. gibbosus*, *H. parva*, *H. sulcata*, *H. punctata*, *H. marginatum*, *H. excavatum*, *H. dromedarii*, *H. rufipes* y *H. impeltatum* (Chaligiannis *et al.*, 2018). En Corea en cerdos de granja y jabalí se identificaron por claves dicotómicas las

garrapatas *H. longicornis*, *H. flava*, *I. nipponensis*, *I. turdus* y *A. testudinarium* y en jabalíes, *H. flava*, *H. longicornis* y *A. testudinarium* (Chae *et al.*, 2017), en Egipto se tomaron muestras de garrapatas en perros y camellos, las garrapatas fueron identificadas por morfología, en los caninos se identificaron *R. sanguineus*, y en los camellos se reportó *H. dromedarii* (Abdullah *et al.*, 2016), Etiopia en bovinos se identificó morfológicamente *Amblyomma* spp, *Hyalomma* spp y *Rhipicephalus* spp (Kemal *et al.*, 2016), en Filipinas en ganado bovino con presencia de ectoparásitos se identificó morfológicamente garrapatas de *R. microplus* (Ybañes *et al.*, 2013).

## **2.9. Detección Genética de las garrapatas.**

Las secuencias de genomas mitocondriales son de utilidad en los datos de investigación para la identificación y relaciones filogenéticas, y es la solución para la diversidad entre los linajes de garrapatas, el uso de secuencias del genoma mitocondrial, así como la *cox1*, *12S ARNr*, *16S ARNr*, y los marcadores de *ITS2* (El espaciador transcrito interno (ITS) es un fragmento de ARN no funcional ubicado entre los ARN ribosómicos estructurales ARNr de una transcripción precursora común, que es especialmente útil para diluir las relaciones entre especies congénicas y géneros estrechamente relacionados (Hao *et al.*, 2010), se utilizan para hacer frente a las relaciones filogenéticas entre las especies del subgénero *Boophilus*, son marcadores moleculares comunes, para determinar cuál de estos tienen la mayor capacidad de resolver y determinar las relaciones entre las especies del subgénero *Boophilus* (Burger *et al.*, 2014). El gen *16S ARNr* es útil para la separación de especies debido a su baja variabilidad genética intraespecífica, lo cual facilita la asignación de especies y da un rango de distancia interespecífica ligeramente mayor, se sugiere que este marcador sea utilizado en los estudios sobre relaciones interespecíficas (Paternina *et al.*, 2016). La utilización de técnicas moleculares y diferentes criterios de clasificación se ha propuesto con base en evidencias moleculares que el género *Boophilus curtice*, sea incluido como subgénero de *Rhipicephalus* (Murrell y Barker, 2003).

### **2.9.1. Diversidad genética de garrapatas.**

El estudio de las relaciones filogenéticas de las garrapatas nos proporciona un conocimiento fundamental de su historia evolutiva y nos conduce a una mejor comprensión de su asociación con patógenos (Beati y Keirans, 2001), la variación genética entre diez aislamientos de la garrapata del ganado, *R. microplus* en varios lugares de Madrás, donde se utilizaron diversos oligonucleótidos aleatorios para analizar la variación genómica entre los colectados en un área en particular, lo cual no reveló ninguna relación cercana, se reportaron observaciones similares para las variaciones genéticas con base en la distancia y condiciones geográficas en las poblaciones de insectos vectores en diferentes ubicaciones con marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic) (de Souza *et al.*, 2001; Ayres *et al.*, 2003; Paduana *et al.*, 2006) y alozimas (Failloux *et al.*, 1995). La diversidad genética revelada sobre los diversos aislamientos de *R. microplus* como resultado del análisis de marcadores moleculares, podría ser causada por restricciones en el flujo de genes de garrapata, posiblemente debido a la falta de consanguinidad o debido a la selección procedente de diferentes presiones ecológicas, además se realizó el primer análisis de marcadores moleculares de *R. microplus* de la India (Velayutham *et al.*, 2012). Las referencia de poblaciones y el estudio de genética sobre la diversidad utilizando marcadores moleculares, excepto unos pocos estudios que se limitan únicamente a las especies raras de garrapatas. La comparación de las pequeñas secuencias de genes bien elegidos, la convierte en una herramienta poderosa para establecer relaciones evolutivas (Filogenia) entre procariotas (Uilenberg *et al.*, 2004).

### **2.9.2. Homología genética de *Rhipicephalus microplus*.**

El alto grado de similitud genética entre las poblaciones de América del Norte de *R. microplus* es particularmente sorprendente. Esto cuando se realizan todas las comparaciones la misma especie, resulta una identidad promedio de 0,985 + 0,013, se comparó la cepa de los valores promedio de identidad entre la cepa de Puerto Rico, poblaciones del sur de México y las colonias del norte de México 0,978 a 0,999 (Sattler *et al.*, 1986). Todas las comparaciones de población *R. microplus* caen por encima de 0,97, que es el intervalo generalmente aceptado para las poblaciones de la misma especie excepto la cepa de Puerto Rico en

comparación con cepas de Roma y Camerún S / G. El examen de las frecuencias alélicas de estas 3 cepas reveló que muestran una frecuencia inusualmente alta de al menos 1 alelo normalmente poco frecuente, esto es apoyado, por el valor de los loci polimórficos de 0,092, lo que indica que el 90,7% de la variación genética se debe a las diferencias dentro de las muestras, con sólo el 9,3% debido a las diferencias entre las muestras, si se consideran las 4 poblaciones naturales, sólo el 5,0% de la variación genética se debe a diferencias entre poblaciones (Sattler, 1997). También se observaron pequeños niveles de diferenciación genética entre poblaciones geográficamente separadas de *Aponomma hydrosauri*, *A. albolimbatus* y *A. limbatum* (Bull *et al.*, 1984), y *A. americanum*, lo que sugiere que no es una característica inusual de las poblaciones de garrapatas. Se deben desarrollar medidas de control biológico de las garrapatas del ganado, no hay indicios de estos datos que existen subdivisiones dentro de las especies que limitaría la eficacia de tales procedimientos (Sattler *et al.*, 1986).

El árbol filogenético del uso del gen 16S ARNr reveló dos clados genéticos para *R. microplus*. Un clado bien soportado comprendía *R. microplus* de China e India y era hermano de *R. annulatus*, *R. microplus* de China fue el miembro basal, formando un subclado con *R. microplus* de la India. *R. australis* (anteriormente identificado como *R. microplus*) de Australia, Nueva Caledonia e Indonesia formó un clado bien definido, *R. microplus* de Malasia, Japón, África (Mozambique, Sudáfrica y Tanzania) y las Américas (es decir, Argentina, Bolivia, Brasil, Costa Rica, Paraguay, Perú y Uruguay) formaron el clado B (Low *et al.*, 2015).

### **2.9.3. Genoma de las garrapatas *Rhipicephalus microplus*.**

En la base genómica GenBank se encuentra reportadas 13497 secuencias nucleotídicas ADN lineal de la garrapata del bovino *R. microplus*, cada secuencia cuenta con un número en GenBank, describiéndose desde 51 pb (HN109447.1) hasta 869 pb (HN109164.1) descrita por (Moolhuijzen *et al.*, 2011) ([www.ncbi.nlm.nih.gov/nucgss](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucgss)).

Está disponible una base de datos llamada CattleTickBase sobre las secuencia de la garrapata *R. microplus* donde de cada gen se analiza su porcentaje de identidad

y ayuda a predecir las proteínas putativas de las secuencias, la cual integra el análisis de las secuencias de nuevos vectores, para identificar los mecanismos genómicos para un control efectivo de *R. microplus* en infestaciones de ganado, Cattleickbase es un proyecto de colaboración entre el Estado de Queensland Australia (Departamento de Desarrollo e Innovación Económica del Empleo), el Centro de Genómica Comparada de la Universidad de Murdoch y el Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos ha generado una gran cantidad de datos nuevos y ha llevado a la creación de este recurso genoma en línea de *R. microplus*. El genoma mitocondrial completo de la cepa Deutsch de 193 *R. microplus* se ensambló a través de una combinación de fuentes de secuencia y 194 enfoques de montaje acceso del GenBank KP143546, no seleccionados y seleccionadas por ADN genómico (McCooke *et al.*, 2015).

El tamaño del genoma y la organización del ADN repetitivo se determinaron en las garrapatas *I. scapularis* y *R. microplus* utilizando la cinética de reabsorción, el genoma de *I. scapularis* contiene aproximadamente 2.15 pg ( $2,1 \times 10^6$  Mbp) de ADN y no contiene repliegue (FB), 27% altamente repetitivo (HR), 39% moderadamente repetitivo (MR) y 34% de ADN único, el genoma de *R. microplus* contiene 7.5 pg ( $7,1 \times 10^6$  Mbp) de ADN, y consiste en 0.82% de FB, 31% de HR, 38% de RM y 30% de ADN único, en ambas especies, las secuencias repetitivas se producen en una mezcla de largo y corto período de interspersión, pero la mayoría (65-80%) del ADN sigue un patrón de período corto interspersión, el tamaño y la organización del genoma en las dos especies de garrapatas hasta ahora examinadas son distintos de otros artrópodos al tener una mayor proporción de MR, una menor proporción de ADN único y HR de complejidad de secuencia baja (Ullmann *et al.*, 2005). Existe una considerable heterogeneidad genética dentro y entre poblaciones de *I. scapularis* en toda su área de distribución en los EE.UU. basada en los análisis de RAPD-PCR y secuencias de la mitocondrial (tm) Genes 12S y 16S ARNr (Qiu *et al.*, 2002; Trucha *et al.*, 2009). De los mitogenomas descritos en el Clustal Walignment, el 99,9% de los nucleótidos de garrapatas del ganado brasileño y camboyano presentan nucleótidos alineados idénticos a la garrapata *R. microplus* de Texas, mientras que el 96,0% de los

nucleótidos de *R. australis*, tiene nucleótidos alineados idénticos a la garrapata de Texas (McCooke *et al.*, 2015).

Las relaciones filogenéticas entre las diversas garrapatas del ganado *Rhipicephalus* con las reportadas por Burger *et al.* (2014). Los análisis filogenéticos basados tanto en la *cox1* y *16S ARNr* sugiere que el *R. microplus* de China clado B es una especie críptica probable dentro del complejo *R. microplus* existente, además, el uso de esta medida de carácter general, la garrapata del ganado australiano parece ser una especie diferente de las garrapatas del ganado de Texas, Camboya y Brasil. En el análisis de garrapatas de Texas, Brasil y Australia, se identificaron 401 y 9 cambios de nucleótidos en sinónimo el gen regiones que comparan el mitogenoma de Texas, de codificación a la de Australia y Brasil, respectivamente, se identificó 112 y 3 cambios de nucleótidos no sinónimos en el gen que codifica estas regiones, del total de 513 y 12 nucleótidos de diferencia equivale al 3,38% y 0,08% entre el de Texas y Australia y de Texas y Brasil, respectivamente (McCooke *et al.*, 2015).

El uso de codones fue muy similar entre los mitogenomas de la garrapata de ganado de Texas y Australia. La mayor diferencia fue en el uso de ATA y un uso de los TCA como un codón de inicio en garrapatas de Texas en comparación con las de Australia, las frecuencias de mono- y di-nucleótidos fueron casi idénticos entre los dos mitogenomas (McCooke *et al.*, 2015). La frecuencia en porcentaje para A, G, C y T, en los mitogenomas de garrapatas de Texas fue del 38,8, 11,2, 9,1 y 40,9 %, mientras que para el de Australia fue del 38,9, 11,3, 8,8, y 41,0%. Todas las frecuencias de di-nucleótidos estaban dentro de 0,1% de cada una, este análisis revela diferencias interesantes en las garrapatas de diferentes países. Algunas de estas diferencias plantean preguntas sobre clasificaciones de especies existentes de *R. microplus* (McCooke *et al.*, 2015). Es importante identificar y clasificar las poblaciones de garrapatas del ganado correctamente y establecer algunas metodologías de control, en particular el uso de vacunas en los bovinos, ya que muestran resultados inconsistentes (Almazán *et al.*, 2010).

El tamaño del genoma de la garrapata del ganado *R. microplus* es tres veces mayor que la de *I. scapularis* (Barrero *et al.*, 2011), por lo tanto podemos anticipar

que otros miARNs de *R. microplus* son susceptibles de ser identificados una vez que el genoma completo esté disponible, se han secuenciado los genomas MT de sólo dos garrapatas *Rhipicephalus*: todo el genoma TM de *R. sanguineus* y 13 fragmentos de contorno del gen del genoma TM de *R. australis* (Burger *et al.*, 2014).

Las relaciones filogenéticas entre las especies *Boophilus* no son bien estudiadas, y la mayoría de los estudios de investigación de estas relaciones se han basado en secuencias parciales de los genes *12S ARNr* y *16S ARNr* (Murrell *et al.*, 2000, 2001; Beati y Keirans, 2001; Labruna *et al.*, 2009; Estrada-Peña *et al.*, 2012). Sin embargo, el análisis molecular (Beati y Keirans, 2001) ha confirmado la relación de especies hermanas entre *R. annulatus* y *R. microplus* sugerido por morfología Feldman-Mühsam y Shechter, 1970. La total evidencia de filogenia realizada por Murrell *et al.* (2001) se apoya firmemente con la secuencias de *R. microplus* de Brasil 14,905 bp, Cambodia 14,903 bp, China 14,864 bp, y para *R. australis* 14,891 bp, *R. geigy* 14,948 bp, *R. annulatus* 9,756 bp, *R. kohlsi* 9,678 bp, *R. appendiculatus* 9,569 bp, *D. nitens* 14,839 bp (Burger *et al.*, 20015).

#### **2.9.4. Flujo de genes de garrapatas.**

*R. microplus* se encuentra en el sur, el este y el sudeste de Asia, América Central y del Sur incluyendo México, África oriental y meridional, las poblaciones *R. microplus* que se han secuenciado, se dividen en dos clados se incluye Malasia, Japón, África (Mozambique, Sudáfrica y Tanzania) y en América (Argentina, Bolivia, Brasil) (Low *et al.*, 2015). Recientemente, garrapatas del ganado de Australia conocida anteriormente como *R. microplus* fueron reintegrados como una especie separada y se nombró como *R. australis*, esta especie no se encuentra Filipinas, Camboya, Tahití, Nueva Caledonia y las islas de Borneo, Sumatra, Java y Nueva Guinea (Estrada-Peña *et al.*, 2012). En Australia se puede observar poblaciones de *R. microplus* con resistencia a los acaricidas, pero no se analizaron poblaciones para observar la diversidad. *R. microplus*, la variación genética entre las cepas de dos poblaciones (González y Coatzacoalcos), tienen resistencia a los piretroides; otras dos poblaciones (La Corrales y San Felipe)

cuentan con mecanismos de insensibilidad para resistencia a los piretroides, por lo tanto es necesario localizar y entender el loci para dilucidar el mecanismo de la resistencia y mejorar la capacidad de rastrear y retrasar la evolución de la resistencia (Tapia-Pérez *et al.*, 2003). La introducción de ganado con garrapatas a las regiones de América del Norte puede haber dado lugar a un flujo suficiente de genes para evitar la divergencia genética entre poblaciones geográficamente distantes (Sattler *et al.*, 1986).

## **2.10. Distribución de las garrapatas.**

Las poblaciones de garrapatas y hospederos mamíferos están influenciadas por el uso, la cobertura, y el tipo de suelo, la elevación, la latitud, el cambio de la duración y aumento de la temperatura (Githeko *et al.*, 2000). Las especies de garrapatas *H. anatolicum anatolicum* y *R. microplus*, son los principales vectores transmisores de enfermedades a humanos y animales además de ser las de mayor distribución (Kumar *et al.*, 2012), la distribución de la garrapata *H. marginatum* y *R. annulatus* está determinada principalmente por la temperatura y la disponibilidad de hospedadores particularmente rumiantes, aunque las etapas larvarias también se alimentan comúnmente de homeotermos pequeños, como las aves (ECDC, 2015). En la última década se ha registrado un incremento de infestaciones de garrapatas fuera del área de cuarentena de Estados Unidos, por un aumento de rango del clima el cual es propicio para la supervivencia de la garrapata, y aumenta el riesgo de reintroducción de la fiebre del ganado en las zonas productoras del sur de Texas (Busch *et al.*, 2014; Giles *et al.*, 2014). Los modelos actuales predicen un aumento de temperaturas, tanto a corto (año 2050) como a largo plazo (año 2070), y está relacionado con posibles cambios de los otros factores, resultando puntos de ocurrencia (figura 2), y distribución (figura 3 y 4) para las especies *H. marginatum* y *R. annulatus* en Rumania (Mihalca *et al.*, 2012).

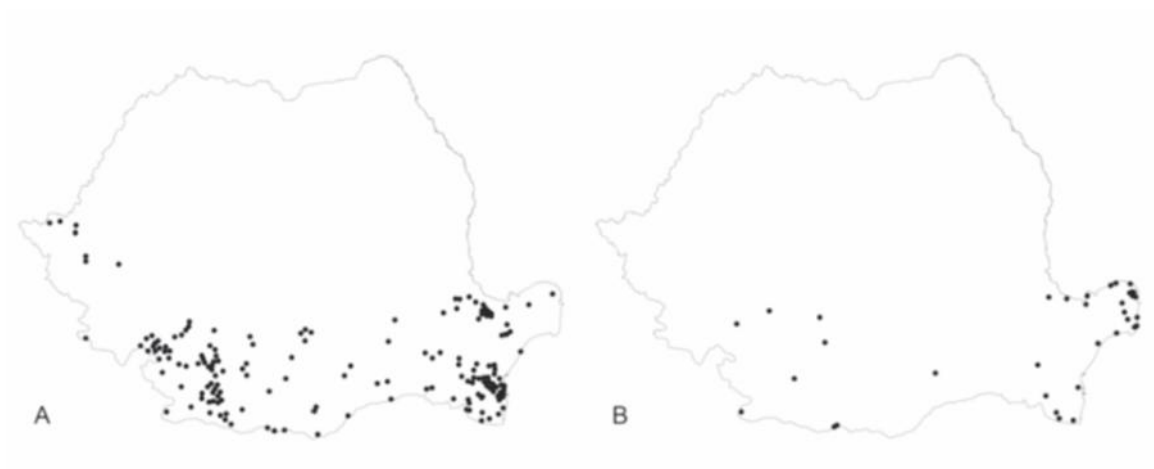


Figura 2. Puntos de ocurrencia para las especies modeladas en Rumania: A) *H. marginatum*; B) *R. annulatus* (Mihalca *et al.*, 2012).

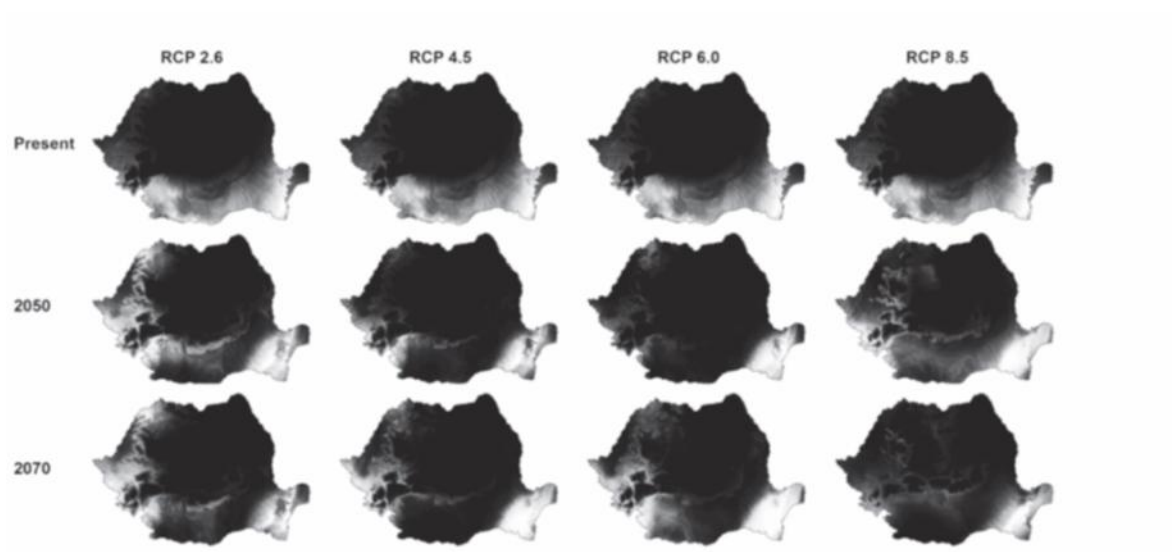


Figura 3. Mapa de la distribución de *H. marginatum* en Rumania según el modelo. Probabilidad de ocurrencia desde cerca de 0 (negro) a cerca de 1 (blanco) (Mihalca *et al.*, 2012).

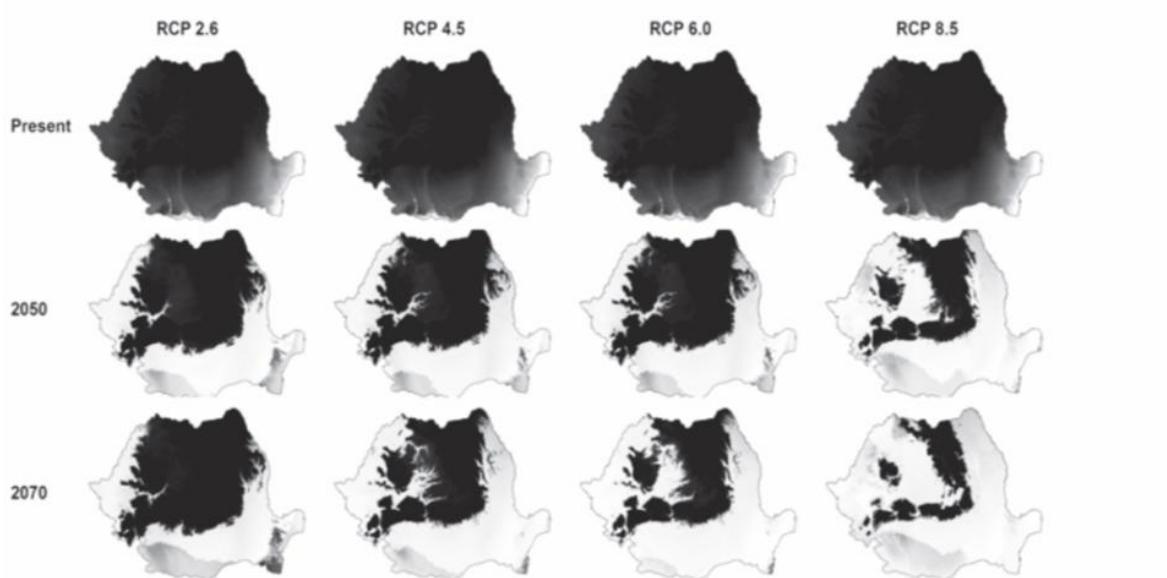


Figura 4. Mapas de la distribución de *R. annulatus* según el modelo en Rumania. Probabilidad de ocurrencia desde cerca de 0 (negro) hasta cerca de 1 (blanco) (Mihalca *et al.*, 2012).

La distribución geográfica de *I. ricinus* está relacionada con factores climáticos tales como la humedad, suelo y temperatura, y con el tipo de vegetación, uso de la tierra y fragmentación (Jore *et al.*, 2014). Se han realizado predicciones de la distribución de *I. ricinus* resultando que las poblaciones podrían emerger en áreas en las que actualmente no existen, lo que representa un mayor riesgo para la salud humana en esas áreas (Andersen *et al.*, 2017).

#### **2.10.1. Factores que favorecen la distribución de las garrapatas.**

En México como en otros países el movimiento de los animales en temporada de lluvias en las regiones del valle, sierra y costa, donde se alimenta principalmente de esquilmos provenientes de la agricultura, en Sinaloa es la principal actividad, por lo cual los subproductos se aprovecha para la alimentación del ganado, permitiendo la movilización del ganado dentro del mismo estado, otras de las actividades comunes es el intercambio rotacional de sementales en la ganadería,

estas actividades favorecen la distribución de las garrapatas en el Estado ( Gaxiola *et al.*,2008).

La distribución geográfica y hábitat de las garrapatas se ha ampliado en los últimos años, para la garrapata *I. scapularis* están influenciados por factores climáticos (por ejemplo, temperatura y precipitaciones) y la disponibilidad de los hábitats y anfitriones adecuados (Ogden *et al.*, 2005), en los últimos años, su área de distribución se ha expandido desde los EE.UU. hacia el norte en el sur de Canadá, donde se predijo que dentro de los próximos 10-20 años, las condiciones climáticas serán mucho más favorable para el establecimiento de poblaciones en partes de Terranova, Isla del Príncipe Eduardo y Saskatchewan (Krakowetz *et al.*, 2011). La temperatura tiene un papel central en la regulación del ciclo de vida de la garrapata, incluyendo el desarrollo de las fases de muda (o huevos depositados) y los períodos en el que las garrapatas búsqueda de un huésped en la vegetación (Estrada-Peña *et al.*, 2013).

Estrada-peña *et al.* (2006) estudiaron los factores climáticos influyen en la distribución geográfica de *R. microplus* en México, describieron que está presente en regiones con condiciones cálidas y humedad, estando ausentes en las regiones montañosas y centrales a temperaturas de 19.97° C y 4.22° C. Las garrapatas *R. microplus* que se distribuyen en Latinoamérica se desarrollan a temperaturas de 12.5° C y 18° C con un promedio de 24° C y 30° C, por otra parte Bustillos *et al.* (2015) concluyen que la temperatura y humedad son los principales factores para el desarrollo de garrapata debido a un incremento en su número cuando las condiciones climáticas de temperatura promedio son 28° C y 80% de humedad relativa a una altitud de 1000 msnm. Cortés *et al.* (2010) encontró garrapatas desde los 0 msnm hasta los 2900 msnm. Bustillo *et al.* (2015) observaron una similitud en la tendencia a disminuir el número de especímenes conforme aumenta la precipitación.

#### **2.10.2. Distribución de *Rhipicephalus microplus*.**

Existe poca evidencia de cómo o cuándo *R. microplus* se distribuyó en América (Labruna *et al.*, 2009), algunas de las hipótesis mencionan que es probable por el

movimiento del ganado de la India o de África en los siglos XVI y XVII (Burger *et al.*, 2014), otras hipótesis mencionan que la garrapata *R. microplus* no es autóctona del continente americano, los cinco siglos que han transcurrido desde su llegada con los animales de los colonizadores europeos, ha permitido desarrollar un alto grado de adaptación a la ambiente, actualmente, esta especie es una importante plaga del ganado en grandes áreas de Brasil, Argentina, Uruguay, Paraguay y Colombia. La distribución geográfica de *R. annulatus*, *R. microplus* y *R. australis*, se han visto modificadas por el comercialización del ganado, la propagación de *R. microplus* no está bien documentada, se cree que se originó en la India y luego se extendió a Madagascar y África del Sur. Las garrapatas *R. decoloratus* África subsahariana, mientras que *R. geigy* en la región tropical de África subsahariana (Estrada-Peña *et al.*, 2006). Después de haber sido erradicada de Puerto Rico, se detectó una vez más en 1978, donde se extendió rápidamente por toda la isla, en 1980, se calculó que el 90% de los ranchos se vieron afectados por *R. microplus*, el desarrollo de las poblaciones de garrapatas permanentes ha sido registrado en las zonas consideradas como libres (Estrada-Peña, 1999). Los patrones de distribución de las especies pueden estar auto correlacionada debido a la dinámica de la población y los factores históricos, incluyendo los que conducen a la evolución (Estrada-Peña *et al.*, 2013). Las cepas de *R. microplus* de América Latina y Australia se caracterizaron, empleando una cepa de *R. annulatus* para la comparación a nivel molecular y demostrar las diferencias existentes entre las cepas de *R. microplus* y sugerir herramientas para caracterizar esta diversidad genética (de la Fuente *et al.*, 2000). *R. microplus* se encuentra en el sur, el este y el sudeste de Asia, América Central, México, África oriental y meridional (Kolonin, 2009). Recientemente, garrapatas del ganado de Australia conocida anteriormente como *R. microplus* fueron reintegrados como una especie separada, *R. australis*, y no se encontró esta especie de Australia en las Filipinas, Camboya, Tahití, Nueva Caledonia y las islas de Borneo, Sumatra, Java y Nueva Guinea (Estrada-Peña *et al.*, 2012). Las distribuciones de *R. microplus* y *R. annulatus* a lo largo la frontera entre Texas y México, reveló una frontera estable parapátrica entre las dos especies (Lohmeyer *et al.*, 2011), experimentos

de apareamiento entre *R. microplus* y *R. annulatus* establecieron que estas dos especies confirman que no se pueden reproducir entre ellas (Graham *et al.*, 1972; Thompson *et al.*, 1981; Davey *et al.*, 1983; Lohmeyer *et al.*, 2011), se han encontrado cepas geográficamente dispares *R. microplus* de Mozambique y Argentina para producir cruces fértiles, pero los cruces entre cualquiera de las cepas y *R. australis* son infértiles (Labruna *et al.*, 2009) en México se reporta la presencia de *R. microplus* en Sinaloa (Gaxiola *et al.*, 1996), en Yucatán, Emiliano Zapata, y Tabasco (Soberanes *et al.*, 2002), en Tuxpan, Veracruz y Coahuila, (Rosario-Cruz *et al.*, 2009). En Cuba la cepa Argentina A se obtuvo de CICV-INTA de Buenos Aires (Nuñez *et al.*, 1972). Las cepas mexicanas se obtuvieron del Centro Nacional de Parasitología, en Cuernavaca, México. Las cepas de la garrapata Camcord, de la población cubana de Yeerongpilly, Tuxpan, Mora y A se mantienen en el laboratorio como cepas de referencia. Los datos correspondientes a las cepas Yeerongpilly y YBm22M8 (Australia), MexBm86 (México) y YBm02 (Venezuela) se obtuvieron de Tellam *et al.* (1992) y Cobon *et al.* (1996). La cepa de *R. annulatus* se obtuvo del Centro Nacional de Parasitología Animal, Cuernavaca, México (Fragoso *et al.*, 1998; Fuentes *et al.*, 2000).

### **2.10.3. Distribución de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en México.**

En México por su amplia distribución las garrapatas de mayor importancias son *R. microplus* y *Amblyoma cajennense*. El género *Rhipicephalus* presenta 5 especies a nivel mundial (CENAPA, 2004; USDA, 2017). El estatus zoonosanitario en México de la garrapata *R. microplus*, se reconoce a los Estados de Sonora, Tlaxcala, Aguascalientes, Baja California y Chihuahua (con excepción de los municipios de Morelos, Guadalupe y Calvo) y el Norte de Baja California Sur como libres del ectoparásito, en fase de erradicación se encuentran municipios de Los Cabos y la parte sur de La Paz en BCS; en el norte de Sinaloa; Ahome, Choix y El Fuerte en su margen derecho del río El Fuerte; en Coahuila los municipios de la zona del desierto: Cuatrociénegas, Ocampo y Sierra Mojada (USDA, 2017). Aproximadamente mil millones de reses, la mayoría de las cuales se encuentran en el trópico, están en riesgo de infestación de diversas especies de garrapatas o

enfermedades transmitidas por garrapatas (Pegram *et al.*, 1993). Gaxiola *et al.* (1996) describen la presencia de la garrapata *R. microplus* en bovinos en Sinaloa, así mismo Rodríguez *et al.* (2009) ubican a Sinaloa como una de las zonas con una prevalencia de >50%; Alcalá-Canto *et al.* (2018) reportaron 5571 registros georreferenciados de colecta e identificación de garrapatas *Rhipicephalus* spp en México desde el año de 1970 a 2017, donde en Sinaloa fueron 435 muestras de 14 municipios.

### **2.11. Georreferenciación de la garrapata *Rhipicephalus microplus*.**

En México se reportaron 5571 registros georreferenciados para *Rhipicephalus* spp de 1970 a 2017 donde se reportó la distribución de la garrapata *R. microplus*. Donde las garrapatas se identificaron por claves dicotómicas, los sitios de muestreo para Sinaloa de 1970 a 2017, con un total de 435 garrapatas, sin embargo, actualmente, no hay un solo conjunto de datos incluidas las ubicaciones de *Rhipicephalus* georreferenciadas en todo el país, que apoyaría más estudios de modelado y haría posible de predecir la posible propagación de la garrapata, lo que lleva a los veterinarios a tomar medidas de control oportunas, modelando la distribución geográfica potencial de la marca usando su distribución actual y datos basados en un rango de parámetros ambientales, se incluyeron infecciones naturales en la base de datos y *Rhipicephalus* spp., las ocurrencias se registraron una sola vez cuando se informaron en la misma ubicación y fecha (Alcalá-Canto *et al.*, 2018).

#### **2.11.1. Factores climáticos en Sinaloa que Influyen en el ciclo de vida de *Rhipicephalus microplus*.**

En un estudio realizado por Gaxiola *et al.* (2008) en Culiacán Sinaloa donde se consideró el comportamiento de los factores climáticos, como temperatura, precipitación, humedad, época del año, se registraron los datos a una temperatura promedio anual de 26.5°C, la humedad de 66,6 %, evaporación 175.1 y una precipitación 48.5 mm, además se observó el comportamiento del ciclo de vida, donde se mostró una mayor actividad de larvas de *R. microplus* en los meses de

primavera y en menor presencia julio y agosto; siendo estos últimos meses con temperatura, humedad y precipitación más altas. El mayor aumento de la población de garrapatas adultas para el primer periodo se presentó durante el verano, en los meses de julio y agosto, observándose unos picos medianos en la primavera y unas pequeñas elevaciones durante el otoño, sostenidos por tres semanas en diciembre y durante dos semana en marzo antes de la primavera, cuando la temperatura, humedad, precipitación y evaporación fueron altas se observó el aumento poblacional mayor , en julio; se observó que durante el segundo año las garrapatas adultas presentaron el pico poblacional más elevado en diciembre, lo cual debió verse favorecido por la precipitación pluvial que se presentó durante los meses de septiembre y octubre con un aumento de humedad en esos meses.

#### **2.12. La garrapata *Rhipicephalus microplus* en Sinaloa.**

La detección de *R. microplus* en Culiacán, Sinaloa en dos sindicaturas se colectaron garrapatas de 58 animales, se observaron e identificaron por claves dicotómicas resultando *R. microplus* el 100 %, el 69,7% fueron hembras alimentadas, 24,7 % machos, 5,4 % ninfas y 0,2%, las regiones anatómicas donde se localizaron la mayor cantidad de garrapatas fueron, ingle, ubre, axilas y cuello (López *et al.*, 2015), por otra parte en estudios moleculares de garrapatas colectadas de ganado bovino se identificó *R. microplus* por morfología con la utilización de claves dicotómicas y por la técnica de PCR utilizando el gen *msp5* en ADN de garrapatas se identificó *A. marginale*, el cual amplificó alrededor de 500 pb, lo cual confirma la presencia de la bacteria en la garrapatas *R. microplus* en el municipio de Culiacán (Barraza *et al.*, 2018).

### **III. HIPÓTESIS**

La garrapata presente en el ganado bovino *R. microplus*, se distribuye en las regiones de la sierra, valle y costa de los municipios de Sinaloa.

#### **IV. OBJETIVO GENERAL**

Identificar morfológica y genéticamente las garrapatas *R. microplus* y su georreferenciación en los municipios de Sinaloa.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar morfológicamente las garrapatas de bovinos.
2. Caracterizar genéticamente las garrapatas
3. Analizar *in silico* secuencias de las garrapatas
4. Determinar la georreferenciación de las garrapatas en regiones de sierra, valle y costa de municipios de Sinaloa.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Descripción del área de estudio.

El Estado de Sinaloa se ubica geográficamente en el noroeste del país mexicano, desde los 22° 31` hasta los 26° 56` de latitud norte y desde 105° 24` y 109 ° 27` de longitud oeste, limita al norte con los estados de Sonora y Chihuahua, al sur con Nayarit, al este con Durango y al oeste con el Océano Pacífico. Con una superficie de 58,095 km<sup>2</sup> (Cifuentes y Gaxiola, 2003).

La colecta de garrapatas se realizó directamente en bovinos pertenecientes a las UPP (Unidades de Producción Pecuarias) en los municipios de Ahome, Choix, Guasave, Badiraguato, Culiacán, Cosalá y Elota de Sinaloa (figura 5).

Se recolectaron datos para la georreferenciación de las UPP, que participaron en el muestreo de las garrapatas, se utilizó el programa Google Earth®. Los bovinos se muestrearon mediante técnica de muestreo no probabilístico descrita por (Thrusfield, 2005).

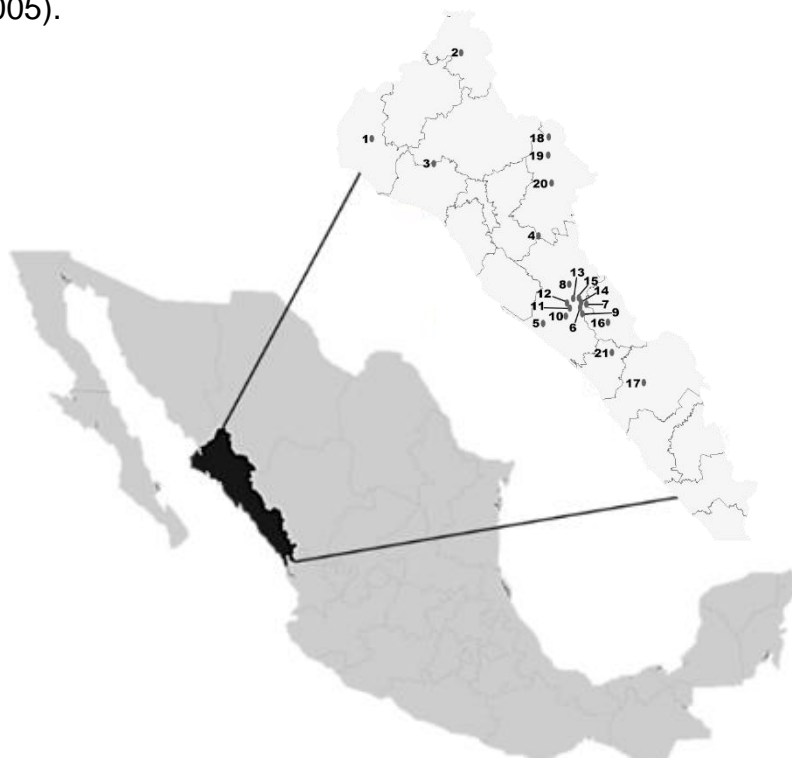


Figura 5. Mapa de México donde se muestra el Estado de Sinaloa y los municipios de colecta de garrapatas de bovinos.

## 5.2. Criterios de inclusión.

Se tomaron garrapatas presentes en bovinos.

## 5.3. Recolecta.

Las garrapatas alimentadas se retiraron de los bovinos con el índice y el pulgar, tomándola lo más cerca posible del capítulo, volteándola hacia arriba y tirando suavemente de ella en contra del pelo hasta desprenderla, evitando que el hipostoma quede adherido a la piel del hospedero, ya que es un órgano de fijación y representa un carácter taxonómico importante, las muestras fueron rotuladas con la identificación del lugar de colecta, así mismo se colocaron en contenedores con refrigerantes para su transporte (Gallardo y Morales, 1999).

## 5.4. Identificación morfológica de las garrapatas.

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. En Culiacán, Sinaloa, México.

Las garrapatas se identificaron con base en las claves morfológicas y la clave pictórica del manual de identificación taxonómica de garrapatas (figura 6) (CENAPA, 2004), observándose en microscopio estereoscópico.

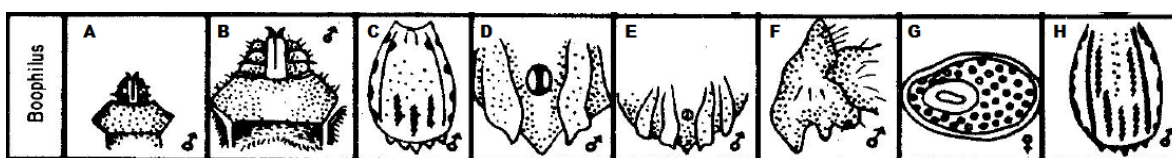


Figura 6. Claves de las estructuras anatómicas de las garrapatas *R. microplus*: A. Palpos, B. Base del gnatosoma, C. Ojos, D. Surco anal, E. Festones, F. 1ra coxa, G. Forma de placa estigmatal, H. Escudo.

## 5.5. Clave para hembras de *Rhipicephalus microplus*.

Dorsalmente presenta las mismas características del género, dentición hipostomal 4/4. Ventralmente la coxa I es triangular, tan larga como ancha, con los espolones interno y externo redondeados y más anchos que largos, separados por una escotadura poco profunda. Coxa II y III con el espolón externo redondeado más

ancho que largo. Coxa IV con o sin un muy pequeño espolón externo. *R. microplus* (CENAPA, 2014).

#### **5.6. Clave para machos de *Rhipicephalus microplus*.**

Dorsalmente presenta las mismas características que el macho de *R. annulatus*, a excepción de que en este caso se presenta un proceso caudal en el extremo posterior del cuerpo, dentición hipostomal 4/4. Ventralmente, la coxa I presenta dos espolones en forma triangular, el interno más ancho y largo que el externo, entre ambos se forma una escotadura profunda, las coxas II y III presentan dos espolones de bordes redondeados, presentando una escotadura poco profunda. Las placas adanales presentan en su borde posterior una escotadura, originando hacia el extremo interno una pequeña espina, las placas accesorias presentan su borde posterior ligeramente agudo; también es visible la espina. *R. microplus* dorsalmente presenta todas las características del género pero sin proceso caudal dentición hipostomal 4/4, ventralmente, la coxa I, con sus dos espolones (siendo el externo más pequeño y agudo que el interno) dan lugar a una escotadura poco profunda; las coxas II, III y IV son de forma rectangular u ovalada y no presentan ni espolones ni escotaduras, las placas adanales y accesorias no presentan escotadura (CENAPA, 2014).

#### **5.7. Extracción de ADN de *Rhipicephalus microplus*.**

Del muestreo realizado en los bovinos de las diferentes regiones geográficas (sierra, valle y costa), se obtuvieron al azar cinco garrapatas de las poblaciones.

La extracción del ADN genómico de las garrapatas se obtuvo mediante el método de trituración con nitrógeno líquido y la técnica fenol-cloroformo. Cada garrapata adulta se colocó en un mortero de porcelana estéril, se congeló con nitrógeno líquido, se maceró y se le agregó amortiguador de lisis (NaCl 0.1 M, Tris-HCl 0.21 M, pH 8 EDTA 0.05 M, SDS 0.5%). Posteriormente, se colocó en un tubo Eppendorff, se incubó con proteinasa K a 37°C por una h (Motaghiplishah *et al.*, 2016). Después se centrifugó 2 min a 12000 RPM. El sobrenadante se recolectó y se agregó fenol (1:1), se centrifugó por 2 min a 12000 RPM, y se obtuvo el sobrenadante y se añadió cloroformo (1:1), se centrifugó por 2 min a 12000 RPM, se obtuvo el sobrenadante, se añadió 1 mL de etanol absoluto, se incubó por 20

min a -80°C. Se centrifugó por 20 min a 12000 RPM y se descartó el sobrenadante. A la pastilla obtenida se le agregó agua inyectable estéril (Sambrook *et al.*, 1989). La integridad del ADN se verificó a partir de 5 µL de la muestra, se homogenizó con 2 µL de azul de bromo fenol, se colocó en gel de agarosa al 2% teñido con Gelred® (Biotium inc. Hayward, CA 94545 USA) y fue sometido a una diferencia de potencial por medio de una cámara de electroforesis a 80 volts, 250 mA durante 30 min observado con una lámpara de luz ultravioleta (Huan *et al.*, 2010). Cada ADN obtenido, fue almacenado a -20°C hasta su utilización.

#### **5.8. Amplificación del gen 16S ARNr de *Rhipicephalus microplus* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).**

Se preparó una mezcla de reacción de 25 µL (amortiguador 10X, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, H<sub>2</sub>O libre de nucleasas, Taq Polimerasa, oligonucleótidos y ADN). La reacción se llevó a cabo en un termociclador (T100TM BioRAD). Los oligonucleótidos utilizados para la amplificación del fragmento del gen 16S ARNr de aproximadamente 460 pb fueron 16S-1: 5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC AAG T-3' y 16S-2: 5'-GCT CAA TGA TTT TTT AAA TTG CTG TG-3' (Moraes *et al.*, 2011; Mangold *et al.*, 1998). Las condiciones incluyeron un primer paso de desnaturalización a 94°C por 4 min, seguido por 35 ciclos a 92°C por 30 s, 50°C durante 30 s para alineamiento y 72°C por 45 s para extensión y un paso final de extensión a 72°C por 8 min (Motaghipisheh *et al.*, 2016).

#### **5.9. Secuenciación.**

Las muestras positivas resultantes de la amplificación por PCR del gen 16S ARNr, fueron secuenciadas mediante el sistema 3730XL Applied Biosystems®, en la empresa Macrogen inc., Seoul, Korea.

#### **5.10. Análisis *In Silico*.**

Se realizó con las secuencias genéticas obtenidas, de cada muestra secuenciada. La corrección de errores de lectura se analizó con el software editor de secuencias Chromas Pro (2.6.6). El análisis de alineamientos múltiples de las secuencias se realizó con los softwares MultAlin (Corpet, 1988) y Clustal Omega. Las secuencias se compararon con las secuencias disponibles en la base de datos del Centro Nacional para la Información de

Biotecnología (NCBI) de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos (NIH), mediante el programa BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), (Dantas-Torres *et al.*, 2013). Para el alineamiento de secuencias múltiples y árbol filogenético se utilizó el programa Clustal Omega donde se generaron alineaciones entre las secuencias reportadas en GenBank.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron un total de 2260 garrapatas de bovinos, las cuales se observaron morfológicamente las estructuras anatómicas para la identificación de garrapatas del género y especie, se observaron; base del gnatosoma en forma hexagonal ensanchado lateralmente, pedipalpos cortos en forma de aisladores de luz, escudo corto de color café rojizo, orificio genital y orificio anal en hembras y primer par de coxas tiene forma triangular apenas perceptible, con escotadura siempre presente. En los machos se observa un escudo completo dorsal, orificio genital y orificio anal, placas adanales desarrolladas, en la parte caudal se presenta en el borde posterior del idiosoma de los machos una espícula característica de esta especie de garrapata como se muestra en la figura 7. Coincidiendo con las características morfológicas descritas en el manual para la identificación de *R. microplus* (CENAPA, 2004).

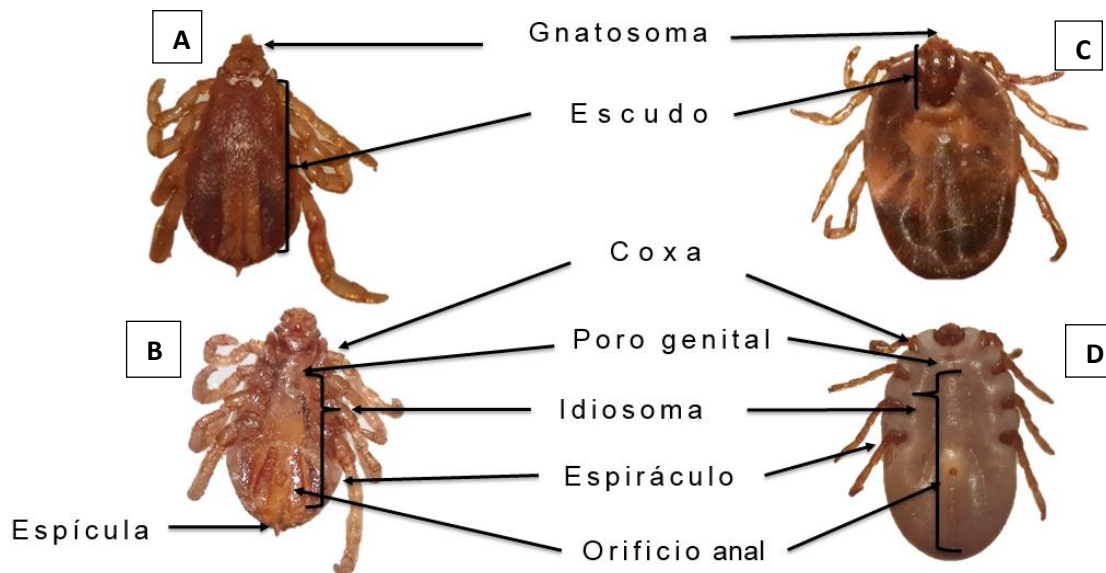


Figura 7. Garrapatas adultas de *R. microplus*. Garrapata Macho en la vista dorsal (A) y ventral (B). Garrapata hembra vista dorsal (C) y ventral (D).

En Culiacán, Sinaloa observaron la dinámica poblacional de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en ganado bovino (Gaxiola *et al.*, 2008). Además en este Estado, reportaron la presencia de *R. microplus* en 14 municipios con 435 muestras con base a los datos históricos de SAGARPA, y se identificaron por taxonomía (Alcala-Canto *et al.*, 2018). En Filipinas se identificó garrapatas *R. microplus* en fase de larvas por caracterización taxonómica y genética (Ybañes *et al.*, 2013). En Etiopia 540 garrapatas de ganado bovino se reportaron como *R. (Boophilus)* por microscopio estereoscópico y claves dicotómicas (Kemal *et al.*, 2016), en Costa Marfil, realizaron un muestreo nacional donde identificaron garrapatas presentes en el ganado bovino por regiones, recolectaron 24,031 garrapatas se identificaron con claves dicotómicas y el 62,27% de las garrapatas resultaron *Rhipicephalus (Boophilus)*, (Boka *et al.*, 2017). Así mismo Martínez-Arzate *et al.* (2019) recolectaron de 11 regiones de México garrapatas de ganado bovino, para la identificación de los especímenes se basó en la morfología externa utilizando claves dicotómicas, es similar los resultados del presente trabajo, dentro de la regiones geográficas del muestreo contempla al garrapatas del Estado de Sinaloa e identifica como *R. microplus* en ganado bovino coincidiendo con nuestro resultado. La morfología de estos estudios concuerda con este trabajo en la que la garrapata *R. microplus* parasita al ganado bovino de Sinaloa.

El ADN que se obtuvo a partir de las garrapatas, se visualizó en gel de agarosa al 1% donde se muestra su integridad (fig. 8). El ADN genómico de las garrapatas es de aproximadamente 650 millones de pb (Temeyer *et al.*, 2012).

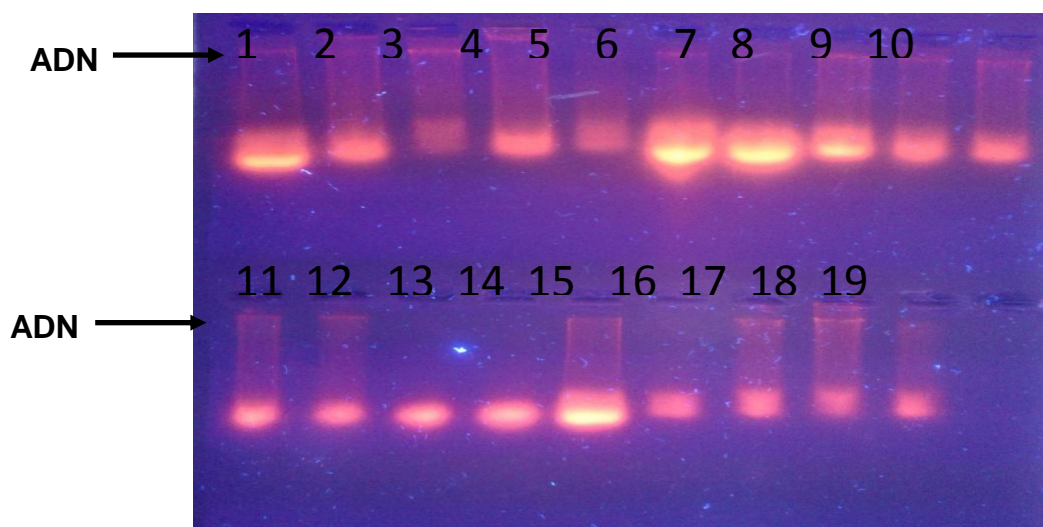
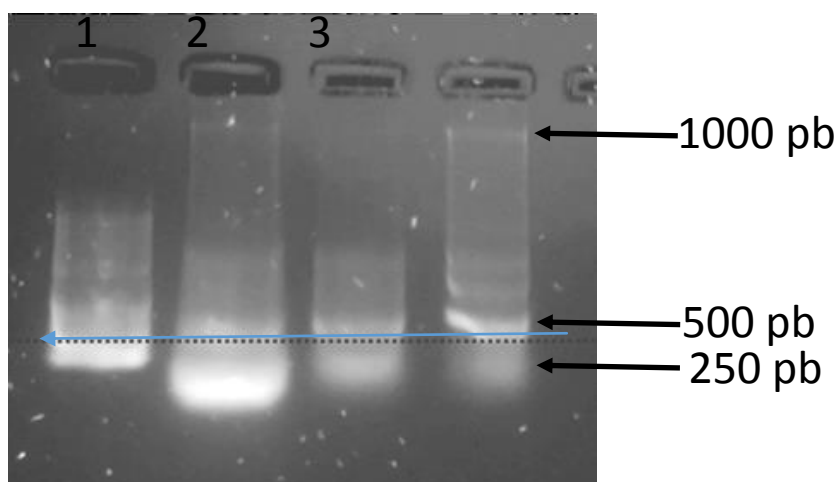


Figura 8. Electroforesis donde se visualiza el ADN genómico en gel de agarosa al 1 % teñido con GelRed® (Biotium), del carril 1 al 19 se muestra el ADN de garrapatas *R. microplus* de ganado bovino de Sinaloa, México.

A partir de 14 muestras de ADN de garrapatas se tomaron, 5 de la sierra, 5 del valle y 4 de la costa, se amplificó una secuencia de alrededor 460 pb (figura 9), de manera similar estos resultados concuerdan con la investigación en Camerún donde realizaron identificación genética de garrapatas de utilizando *16S ARNr* y *coxI* mitocondriales a 409 pb y 600 pb respectivamente, caracterizando así *Rhipicephalus* spp (Silatsa *et al.*, 2019). Así mismo en la península de Malasia identificaron a *R. microplus* a partir del gen *16S ARNr* de 96 muestras colectadas en upp de bovinos, amplificando a 399 pb (Low *et al.*, 2015). Sosa-Gutiérrez *et al.* (2016) Reportó la presencia de garrapatas y patógenos en 67 Estados de México, en la que se encuentra el Estado de Sinaloa con 32 sitios de muestreo, colectaron garrapatas *R. microplus* de diferentes hospedadores; humano, perro y bovinos, las cuales se identificaron por claves morfológica y genéticamente con el gen 12S

ARNr, lo cual difiere con el presente trabajo en la identificación genética, ya que se analizó con el gen *16S ARNr* y las garrapatas fueron solamente colectadas en ganado bovino.

Los marcadores 16S y COX1 de las regiones mitocondriales para los análisis genéticos en garrapatas *R. sanguineus*, *R. microplus* y *Dermacentor nitens*, de la región Caribe de Colombia, estos genes presentan características diferentes que permitieron obtener una visión complementaria de las relaciones genéticas entre taxones de garrapatas y dentro de ellos. Los dos genes permitieron identificar las tres especies con mucha confiabilidad y con niveles de divergencia genética interespecífica relativamente similares (19 a 22%), aunque solo el gen *cox1* permitió detectar la variabilidad genética intraespecífica y el gen mitocondrial de la subunidad 16S del ARN ribosómico (16S) es uno de los más usados para los análisis filogenéticos interespecíficos dada su alta divergencia genética y baja saturación de transiciones. Por esta razones, se recomienda tener en cuenta las características propias de cada gen para futuros estudios genéticos (Paternina *et*



*al.*, 2016).

Figura 9. Productos del PCR con el gen *16S ARNr* de *R. microplus* aislados de ganado bovino de Sinaloa, México, en gel de agarosa al 2% teñido con GelRed® (Biotium). Carriles:(1, 2 y 3) amplificación, M (marcador de 100 pb) se muestra el fragmento de alrededor de 460 pb.

Se realizó el alineamiento múltiple (Clustal Omega 1.2.4) de las 14 secuencias amplificadas por PCR, identificando una identidad del 100 % entre ellas. Por lo que se considera que la misma especie de las garrapatas está presente en las 3 regiones geográficas (sierra, valle y costa), siendo conservadas entre ellas.

En el análisis comparativo entre las secuencias obtenidas en este estudio, con las secuencias reportadas en Genbank (BLAST), se encontró una similitud del 100% de identidad con *R. microplus*, con al menos 9 secuencias del gen 16S ARNr (EU918184.1, EU918181.1, EU918178.1, EU918177.1, EU918187.1, AY974232.1, MH513311.1, AB819268.1, EU918176.1). Sin embargo, otras secuencias del gen 16S ARNr de *R. microplus* reportadas para otros países en GenBank, comparadas con las secuencias de este estudio, registraron similitudes entre 99.7 hasta 95.5 % (KT428016.1, KM246883.1, KT906174.1, EU918191.1, EU918185.1, EU918190.1, KC503260.1, KP143546.1, MF351568.1, AY974238.1, MG651932.1). Las secuencias de *R. microplus* analizadas en el presente estudio, no comparten identidad del 100% con secuencias de otras especies de *Rhipicephalus* reportadas en las bases de datos, comparte el 96,7% de identidad con *R. australis* (KC503255.1), 94.1 % con *R. annulatus* (Z97877.1), 90.7 % con *R. decoloratus* (KP210068.1), 87.6 % con *R. bursa* (AJ002956.1), 86.9 % con *R. eversi* (MF425975.1), 86.3 con *R. appendiculatus* (L34301.1), 84.3 % con *R. duttoni* (MF425976.1), 84 % con *R. turanicus* (L34303.1), 83.4 % con *R. muhamae* (KY111469.1) 83.1 % con *R. rossicus* (KY111472.1), 83 % con *R. sanguineus* (L34302.1), como se observa en la figura 10.

R.appL34301.1	ctggggcggcgaagaaaataaaaa-acttttcattattaaaaatgatccattattaatga	287
R.turL34303.1	ctggggcggcctaaaaaatattt-taaactttttaaaaataaaatgatccattattaatga	291
R.sanL34302.1	ctggggcggcctaaaaaatattt-taaactttttaaaaataaaatgatccattattaatga	291
R.rosKY111472.1	ctggggaggcggaaaaatattaaaaacttttagaaaaataaaatgatccattactagtga	246
R.muHY111469.1	ctggggcggcgaagaaaatatacaaaaacttttcagataaaaaatgatccattagtaatga	247
R.deK210068.1	ctggggcgggttaaaaaatattaaaaactttttaattttgaaaatgacccattattaatga	257
B.annZ97877.1	atggggcgggttaaaaaatattaaaaacttttttaa-tttgaaaatgatccattattaatga	244
R.ausKC503255.1	CTGGGGCGGTTAAAAATATTAAAACTTTTAA-TTTAAAAATGACCCATTATTAATGA	290
R.micMEX	CTGGGGCGGTTAAAAATATTAAAACTTTTAA-TTTAAAAATGACCCATTATTAATGA	285
R.microKT906174.1	ctggggcgggttaaaaaatattaaaaacttttttaa-tttaaaaaatgacccattattaatga	288
R.dutMF425976.1	ctggggcggcctaagaaatattaaaaacttttttaa--attaaaaatgatccattattgatga	293
R.burAJ002956.1	ctggggcggcctaagaaatattaaaaacttttttaa--tttaaaagcagccattattaatga	284
R.eveMF425975.1	ctggggcggcctgagaaatattaaaaacttttttaa--attaataggacccattattaatga	290
	***** ** * * * * *	
R.appL34301.1	ttaaatgaaaaaatactctagggataaacagcgttatattttttagatagatcatattgaca	347
R.turL34303.1	tta-tatgttaataactctagggataaacagcgttatattttttagatagaccatattgaca	350
R.sanL34302.1	tta-tatgttaataactctagggataaacagcgttatattttttagatagatcatattgaca	350
R.rosKY111472.1	tta-tatgttaataactctagggataaacagcgttatattttttagatagaccatattgaca	305
R.muHY111469.1	tta-catgttaataactctagggataaacagcgttatattttttagatagatcatattgaca	306
R.deK210068.1	aaatatgataaaaatactctagggataaacagcgttatattttttagatagatcatattgaca	317
B.annZ97877.1	aaatatgataaaaatactctagggataaacagcgttatattttttagatagatcatattgaca	304
R.ausKC503255.1	AAATATGATTAAATACTCTAGGGATAACAGCGTTATATTTTGGATAGATCATATTGACA	350
R.micMEX	AAATATGATTAAATACTCTAGGGATAACAGCGTTATATTTTGGATAGATCATATTGACA	345
R.microKT906174.1	aaatatgattaaatactctagggataaacagcgttaaa-----	324
R.dutMF425976.1	ttatatgaaaaatactctaggga-----	316
R.burAJ002956.1	ttatatgaaaaaatactctagggataaacagcgttatattttttagatagaccatattgaca	344
R.eveMF425975.1	ttatatgaaaaaatactctagggataaacagcgttaaaaaat-----	331
	* ** *	
R.appL34301.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgcagatattaa-aaaa	406
R.turL34303.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgcagatattaa-aaaa	409
R.sanL34302.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgcagatattaa-aaaa	409
R.rosKY111472.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgaagatattaa-aaaa	364
R.muHY111469.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgcagatattaa-aaaa	365
R.deK210068.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgaagatattaa-aata	376
B.annZ97877.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgaagatattaa-aata	363
R.ausKC503255.1	AAAAAGTTTGCACCTCGATGTTGGATTAGGATACTTTTTAAATGAAGATATTAA-AATA	409
R.micMEX	AAAAAGTTTGCACCTCGATGTTGGATTAGGATACTTTTTAAATGAAGATATTAA-AATA	404
R.microKT906174.1	-----	324
R.dutMF425976.1	-----	316
R.burAJ002956.1	aaaaagtttgcgacctcgatgttggattaggataacttttttaatgaagcgttaaaaaata	404
R.eveMF425975.1	-----	331
R.appL34301.1	agaagtttgttcaacttttaaatcctacttgatctgagttcagaccgg	455
R.turL34303.1	agaagtttgttcaacttttaaatcctacttgatctgagttcagaccgg	458
R.sanL34302.1	agaagtttgttcaacttttaaatcctacttgatctgagttcagaccgg	458
R.rosKY111472.1	agaagtttgttcaac-----	379
R.muHY111469.1	agaagtttgttcaac-----	380
R.deK210068.1	agaagtttgttcaacttttaaatcctacatgatctggnnttagaccga	425
B.annZ97877.1	agaagtttgttcaactt-----	380
R.ausKC503255.1	AGAAGTTTGTCAACTTTTAAATTCCTACATGATCTGAGTTTAGACCGA	458
R.micMEX	AGAAGTTTGTCAACTTTTAAATTCCTACTTGATCTGAGTTTACAGACCGG	453
R.microKT906174.1	-----	324
R.dutMF425976.1	-----	316
R.burAJ002956.1	aggagtttgttcaacttttaaatcctacttgatctgagttcagaccg-	452
R.eveMF425975.1	-----	331

Figura 10. Multialineamiento (Clustal O, 1.2.4) de secuencias de nucleótidos del gen 16S ARNr de *R. microplis* aislados de ganado bovino de Sinaloa, México (*R. micMex*), *R. appendiculatus* (L34301.1), *R. turanicus* (L34303.1), *R. sanguineus* (L34302.1), *R. rossicus* (KY111472.1), *R. muhamae* (KY111469.1), *R. duttoni* (MF425976.1), *R. eversi* (MF425975.1), *R. bursa* (AJ002956.1), *R. decoloratus* (KP210068.1), *B. annulatus* (Z97877.1), *R. australis* (KC503255.1), *R. microplis* (KT906174.1).

R.appL34301.1	-----ctgctcaatgattttttaaattgctgtggtattt--tgactatacaaaggta	50
R.turL34303.1	-----ctgctcaatgattttttaaattgctgtggtatttggactataacaaaggta	52
R.sanL34302.1	-----ctgctcaatgattttttaaattgctgtggtatttggacctattcaaaggtaa	52
R.rosKY111472.1	-----atgttactatacaaaggta	20
R.muhKY111469.1	-----atgttactatacaaaggta	20
R.decKP210068.1	-----gtntntn--ngnntnncaagggt	19
B.annZ97877.1	-----caaaggta	8
R.ausKC503255.1	----GCTCAATGAAAAATTTTTTAAATTGCTGTAGTATTTTGA--CTATACAAAGGTA	53
R.micMEX	-----GcTCAATgattTTTTAAATTGCTGTAGTATTTTGA--CTATACAAAGGTA	48
R.microKT906174.1	-----tctgctcaatgattttttaaattgctgtggtattttga--ctatacaaaggta	51
R.dutMF425976.1	ctttatttctgctcaatgattttttaaattgctgtggtattttga--ctatacaaaggta	58
R.burAJ002956.1	-----ctgctcaatgattttttaaattggtgtggtattttga--ctatacaaaggta	50
R.eveMF425975.1	--ttttacctgctcaatgattttttaaattgctgtggtattttga--ctatacaaaggta	56
R.appL34301.1	ttgaaataagatttttaaattgaatgctaagagaatggaatttcagggaacaaactttattt	110
R.turL34303.1	ttgaaatgaagttttaattgaatgctaagagaatggactctcagagaaaaacttttttt	112
R.sanL34302.1	ttgaaataagatttttaattgaatgctaagagaatggaatacagggaacaaacttttttt	112
R.rosKY111472.1	ttgaaataagatttttaattg--aatgctaagagaatggaatttacacgaaaaacttttttt	79
R.muhKY111469.1	ttgaaataagatttttaattg--aatgctaagagaatggaatttcagaaaaagcctttctt	79
R.decKP210068.1	attgantaaggttttaattg--aatgctaaaagaatggaatatcaaagaataactttctta	78
B.annZ97877.1	ttgaaataagatttttaattg--aatgctaagagaatggaatatcaaagaataactttctta	67
R.ausKC503255.1	TTGAAATAAGGTTTAAATTG--AATGCTAAGAGAATGGAATATCAAAAAATTAACCTTCTTA	112
R.micMEX	TTGAAATAAGATTTTAAATTG--AATGCTAAGAGAATGGAATATCAAAAAACAACTTCTTA	107
R.microKT906174.1	ttgaaataagatttttaattg--aatgctaagagaatggaatatcaaaaaacactttctta	110
R.dutMF425976.1	ttgaaataagatttttaattg--aatgctaagagaatggaatctcagaaaaatggccttttta	117
R.burAJ002956.1	ttgaaataagatttttaattg--aatgctaagagaatggaatttcagaaaaatagccttttta	109
R.eveMF425975.1	ttgaaataaggttttaattg--aatgctaagagaatggaatttcagaaaaaagccttttta	115
	* *	
R.appL34301.1	aaactaataattaaagtttttttaatttgtgcagaacaattatataaattaaggacaag	170
R.turL34303.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgcagaacaattattataatattaaggacaag	172
R.sanL34302.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgcagaacaattattataatattaaggacaag	172
R.rosKY111472.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgcagaacaattattataatattaaggacaag	139
R.muhKY111469.1	aaattaaaaattgaaattttttcttaatttgtgcagagacaattattataatattaaggacaag	139
R.decKP210068.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgtaaaaaacaattataaaattaaagacaag	138
B.annZ97877.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgtaaaaaacaattataaaaaattaaagacaag	127
R.ausKC503255.1	AAATTAAAAATTGAAATTTTTTAATTTGTGCAAAAAACAATTATGAAATTTAAAGACAAG	172
R.micMEX	AAATTAAAAATTGAAATTTTTTAATTTGTGTAAAAAACAATTATAAAAATTAAGACAAG	167
R.microKT906174.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgtaaaaaacaattataaaaaattaaagacaag	170
R.dutMF425976.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgcagaacaattattttaattaaggacaag	177
R.burAJ002956.1	attttaaaaattgaaatttttttaatttgtgcagaacaattattttaattaaggacaag	169
R.eveMF425975.1	aaattaaaaattgaaatttttttaatttgtgcagaacaattattttaattaaggacaag	175
	* *	
R.appL34301.1	aagaccctatgaatttataaaacttattttttttatataatata--actaataagtttttag	228
R.turL34303.1	aagaccctatgaatttattaaatttcattcaatatgaattactattgaagaatttttgg	232
R.sanL34302.1	aagaccctatgaatttattaaattttatttaatatgtaattactattagaaaaattttgg	232
R.rosKY111472.1	aagaccctatgaaaagtaatatatttaattattgt-----cataaaaaatttttag	186
R.muhKY111469.1	aagaccctatgaattttaatgggagattactat-----taataataatttttgg	187
R.decKP210068.1	aagaccctaagaatttttaaaatttaaaataacacat-ttttgttttaattaaatttttaa	197
B.annZ97877.1	aagaccctaagaatttttaaaatttaaaattgatacat-ttttgttttaattaaatttta	185
R.ausKC503255.1	AAGACCCTAAGAATTTTTTAAATTTTAAATAATACATT-TTTTGTTTTAATTAATTTTAA	231
R.micMEX	AAGACCCTAAGAATTTTTTAAATTTTAAATAATACATT-TTTTGTTTTAATTAATTTTAA	226
R.microKT906174.1	aagaccctaagaatttttaaaatttaaaataataacatt-ttttgttttaattaaatttttaa	229
R.dutMF425976.1	aagaccctaagaattttataaaatttaaat--aatataa--taatatattacttaatttttag	235
R.burAJ002956.1	aagaccctaagaatttttgaattttaa--a--atata--ttatgtatttaattaaatttttag	226
R.eveMF425975.1	aagaccctaagaattttatgaattttaa--a--atata--ttctatatttaattaaatttttag	232
	***** *	

Figura 10 (continuación). Multialineamiento (Clustal O, 1.2.4) de secuencias de nucleótidos del gen 16S ARNr de *R. microplus* aislados de ganado bovino de Sinaloa, México (*R. micMex*), *R. appendiculatus* (L34301.1), *R. turanicus* (L34303.1), *R. sanguineus* (L34302.1), *R. rossicus* (KY111472.1), *R. muhamae* (KY111469.1), *R. duttoni* (MF425976.1), *R. eversi* (MF425975.1), *R. bursa* (AJ002956.1), *R. decoloratus* (KP210068.1), *B. annulatus* (Z97877.1), *R. australis* (KC503255.1), *R. microplus* (KT906174.1).

En el análisis filogenético de las secuencias 16S ARNr de la garrapata *R. microplus* de bovinos de Sinaloa, se observa un agrupamiento con las secuencias reportadas para *R. microplus* mayormente con países Latinoamericanos: Colombia (COL), Bolivia (BOL), Perú (PER), Argentina (ARG), Guyana Francesa (GFR), Uruguay (URU) y del continente Asiático como Cambodia (CAM), Thailandia (THAI), Japón (JAP), Taiwán (TAWN) y Malasia (MAL). Otras secuencias 16S de ARNr de la garrapata *R. microplus* difieren del grupo anterior y se agruparon en otras regiones como Nueva Caledonia (NCAL), Australia (AUS), Indonesia (INDO), India (IND) incluyendo a *R. australis* de Australia, que recientemente fue considerada una nueva especie, anteriormente *R. microplus* (Low *et al.*, 2015). Otras especies de garrapatas *R. annulatus* reportadas para Rumania (ROM), Egipto (EGY), Estados Unidos (EEUU), Israel (ISR) e India (INDI), así como *R. microplus* y *R. decoloratus* de la India, presentan un estrecho agrupamiento entre ellas. Además, se identifican otras especies del género *Rhipicephalus* que presentan un ancestro común que agrupa estrechamente a *R. duttoni* y *R. eversi* de Angola (ANG), a *R. bursa* de España (ESP) y China (CHI), *R. sanguineus* de Croacia (CRO) y EEUU, *R. turanicus* de EEUU y Afganistán (AFG), *R. rossicus* de Rumania (ROM), *R. muhsamae* de Egipto (EGY) y *R. appendiculatus* de EEUU y Zimbabue (ZIM), las cuales difieren filogenéticamente del grupo de *R. microplus* (Figura 11).

Sosa-Gutiérrez *et al.* (2016) Reportó la presencia de garrapatas y patógenos en 67 Estados de México, en la que se encuentra el Estado de Sinaloa con 32 sitios de muestreo, colectaron garrapatas *R. microplus* de diferentes hospedadores; humano, perro y bovinos, las cuales se identificaron por claves morfológica y genéticamente con el gen 12S ARNr, lo cual difiere con el presente trabajo en la identificación genética, ya que se analizó con el gen 16S ARNr y las garrapatas fueron solamente colectadas en ganado bovino.

Los marcadores 16S y COX1 de las regiones mitocondriales para los análisis genéticos en garrapatas *R. sanguineus*, *R. microplus* y *Dermacentor nitens*, de la región Caribe de Colombia, estos genes presentan características diferentes que permitieron obtener una visión complementaria de las relaciones genéticas entre

taxones de garrapatas y dentro de ellos. Los dos genes permitieron identificar las tres especies con mucha confiabilidad y con niveles de divergencia genética interespecífica relativamente similares (19 a 22%), aunque solo el gen *cox1* permitió detectar la variabilidad genética intraespecífica y el gen mitocondrial de la subunidad 16S del ARN ribosómico (16S) es uno de los más usados para los análisis filogenéticos interespecíficos dada su alta divergencia genética y baja saturación de transiciones. Por estas razones, se recomienda tener en cuenta las características propias de cada gen para futuros estudios genéticos (Paternina *et al.*, 2016).

El alto grado de similitud genética entre las garrapatas de América del Norte, los valores promedio de identidad entre la cepa de Puerto Rico, con las poblaciones del norte y sur de México, las poblaciones de *R. microplus*, las comparaciones de la misma especie, con una identidad promedio de  $0.985 \pm 0.013$ , el movimiento de ganado y sus garrapatas entre las regiones de América del Norte puede haber dado lugar a un flujo suficiente de genes para evitar la divergencia genética sustancial entre poblaciones geográficamente distantes (Sattler *et al.*, 1986).

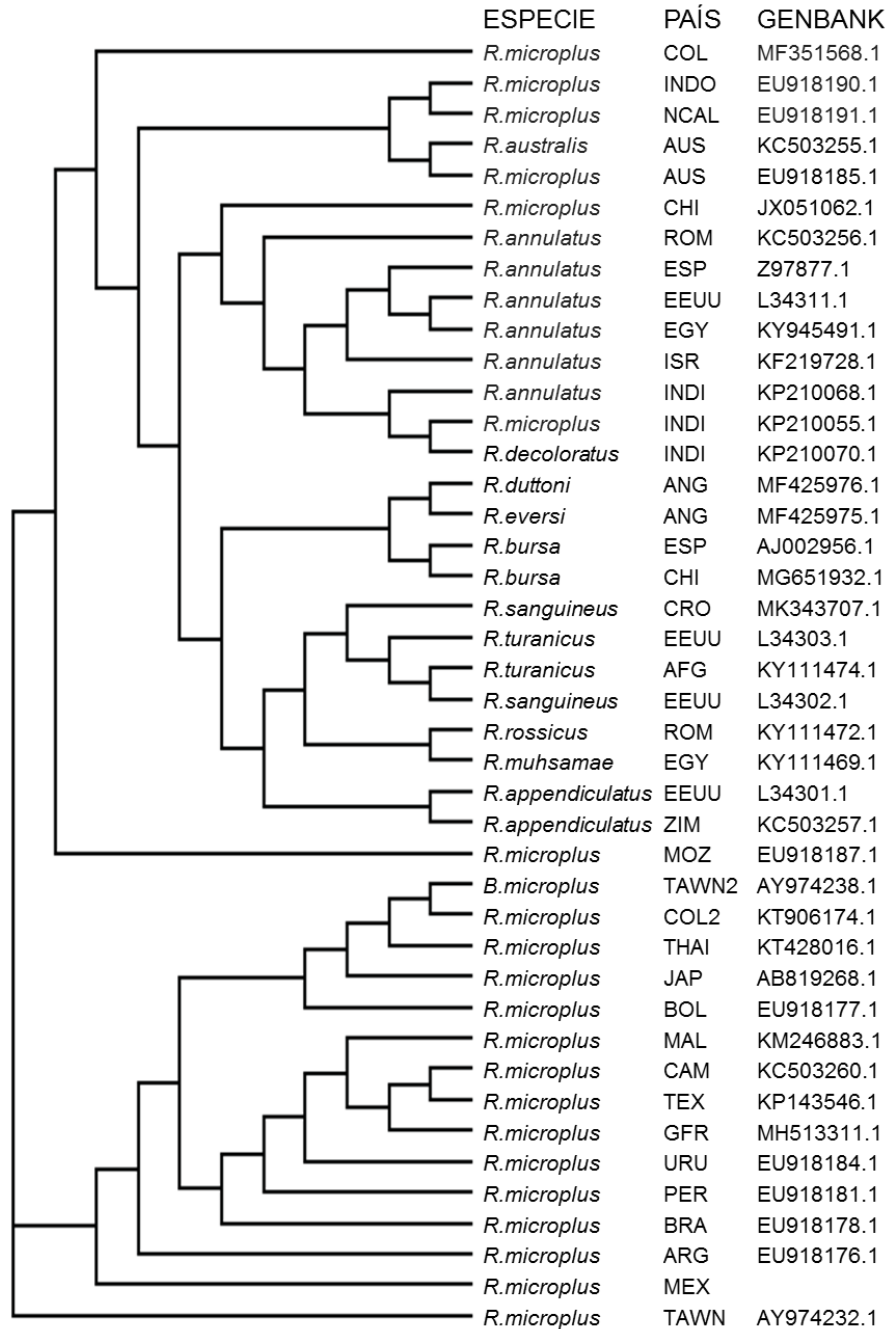


Figura 11. Árbol filogenético (Clustal O, 1.2.4) basado en las secuencias de nucleótidos del gen 16S ARNr de *R. microplus* aislados de ganado bovino de Sinaloa, México (*R. microplus* Mex), y 42 secuencias de diferentes especies de *Rhipicephalus* (número de acceso: GenBank) reportadas en distintas regiones del mundo (PAÍS).

Las UPP donde se realizó la colecta de las garrapatas de acuerdo a su localización geográfica, en la sierra (Choix, Badiraguato, Cosalá), valle (Ahome, Guasave y Culiacán) y costa (Culiacán y Elota) de Sinaloa, México como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Georreferenciación de las áreas geográficas de colecta de garrapatas *R. microplus* en el estado de Sinaloa.

Municipio	Hembra	Macho	Ninfa	Latitud	Longitud	msnm
Ahome <sup>v</sup>	9			25°56'54.78"N	109° 2'48.47"O	18
Choix <sup>s</sup>	96	<b>22</b>		26°41'40.06"N	108°10'47.58"O	704
Guasave <sup>v</sup>	8			25°43'59 " N	108° 26'39"W	37
Culiacán <sup>v</sup> :						
Jesús María <sup>s</sup>	293	11		25°06'05 " N	107° 26'57"W	185
El Dorado <sup>c</sup>	160	9	3	24°20'54 " N	107° 24'43"W	7
El Salado <sup>v</sup>	120	6		24°30'05 " N	107° 02'43"W	104
Los Naranjos <sup>v</sup>	60	3		24°30'40 " N	107° 02'05"W	66
Las Flechas <sup>v</sup>	57	24		24°41'02 " N	107° 9'07"W	202
Quilá <sup>v</sup>	36	13		24°25'34.44'' N	107°03'06.62''O	54
Oso <sup>v</sup>	23	20		24°24'30.95'' N	107°11'43.2'' O	54
La Atravesada <sup>v</sup>	256	110		24°29'39.38'' N	107°09'11.87''O	94
El Cardón <sup>v</sup>	282	75		24°32'08.17'' N	107°10'55.4'' O	87
San Pedro <sup>v</sup>	178	102		24°33'03.37'' N	107°08'17.30''O	114
El zapote <sup>v</sup>	152	50	10	24°30'59.91''N	107°03'06.62''O	171
Los Burgos <sup>v</sup>	33	15	14	24°34'17.04'' N	107°04'25.40''O	146
Cosalá <sup>s</sup>						
Los aguajitos <sup>s</sup>	52			24°21'02 " N	106°48'17"W	308
San Ignacio <sup>s</sup>	30	4	2	23°49'31.70"N	106°28'24.35"O	271
Badiraguato <sup>s</sup>						
San Javier <sup>s</sup>	18	3		25°57'00 " N	107° 20'22"W	959
San José del llano <sup>s</sup>	375	8		25°47'22 " N	107° 20'43"W	644
La noria <sup>s</sup>	29	3		25°33'09 " N	107° 19'17"W	682
La Cruz de Elota <sup>v</sup>	26	1		24°05'32 " N	106°46'04"W	145
<b>Total</b>	<b>2293</b>	<b>479</b>	<b>29</b>			

Los super índices corresponden a la regiones geograficas; s= sierra, v= valle c= costa.

Se consideraron temperaturas máximas y mínimas regiones localizadas en sierra (Badiraguato, Cosalá), valle (Guasave y Culiacán), costa (Culiacán, Elota) Sinaloa, México como se muestra la figura 12. Con temperaturas promedio máximas 39.1°C y mínimas de 9°C. Es aceptado generalmente que la temperatura y la humedad relativa tienen un efecto significativo en el ciclo de vida de las garrapatas *R. microplus*. La muda de larvas y ninfas también se ve afectada por la influencia de la temperatura y humedad relativa, mayor de 21°C a las larvas les lleva menos tiempo mudar que a las ninfas (Chilton *et al.*, 2000). En áreas del trópico donde las lluvias y humedad son altas *R. microplus* se reproduce continuamente durante todo el año, en áreas subtropicales las garrapatas tienen un ciclo estacional muy marcado. La vegetación es también un factor importante de distribución e influye en el ciclo biológico en éstas zonas (Estrada-Peña, 2001). La producción de huevos es constante en el rango de temperatura de 16 a 33°C, de forma empírica, el clima, principalmente la temperatura, afecta la supervivencia de las garrapatas (Ogden *et al.*, 2008). La infestación por *R. microplus* en trópico húmedo de mayo a septiembre es de mayor infestación (Gaxiola *et al.*, 2010; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2007). Estrada-peña *et al.*, 2006 estudiaron como los factores climáticos influyen en la distribución geográfica de *R. microplus* en México y concluyeron que está presente en regiones con condiciones cálidas y humedad, estando ausentes en las regiones montañosas y centrales a temperaturas de 19.97° C y 4.22° C. Las garrapatas *R. microplus* que se distribuyen en Latinoamérica se desarrollan a temperaturas de 12.5° C y 18° C con un promedio de 24° C y 30° C. Por otra parte Bustillos *et al.*, (2015) describen que la temperatura es uno de los principales factores debido a un incremento en el número de garrapatas cuando las condiciones climáticas son temperatura promedio 28° C. El comportamiento de las temperaturas máximas y mínimas en Culiacán, Guasave y Elota muestra una variación mínima, mantiene un patrón similar en los cinco años analizados como se muestra en figura 12.

En este estudio se recolectaron garrapatas *R. microplus* de altitudes 7 a 959 msnm. En Colombia López *et al.*, (1985,1989) registraron la distribución de garrapatas *R. microplus* en altitudes entre 2 y 2,600 msnm, así mismo (Cortés *et al.*, 2010) reportaron la presencia de *R. microplus* en altitudes de 2000 y 3000 msnm. Alcala-Canto *et al.* (2018) en un estudio geoespacial de 5,751 localidades en México con la presencia de *R. microplus* Estados con diferentes latitudes y altitudes, se encuentra la región noreste de México, donde una de las actividades más importantes es la producción y exportación de ganado a Estados Unidos de América. En las últimas décadas, la distribución de garrapatas de *I. ricinus* se ha expandido 400 km hacia el norte y arriba en la elevación en Noruega, y se han registrado aumentos similares en la elevación y latitud en otros lugares de Europa (Temeyer *et al.*, 2012).

Con respecto a la precipitación pluvial esta tiene un aumento significativo en Culiacán en septiembre a octubre del 2018 esto debido a la tormenta tropical 19-E, que causo inundaciones en la ciudad de Culiacán. Alcala-Canto *et al.* (2018) describe como regiones más adecuadas para el desarrollo de *R. microplus* los Estados; Veracruz, Tabasco, Tamaulipas, Campeche, Yucatán y Quintana Roo, en este estudio Sinaloa no se considera adecuada, para el desarrollo de esta garrapata, sin embargo la presencia de *R. microplus* está reportada por Gaxiola *et al.* (1999) y del 2002 al 2008 se describió su dinámica estacional encontrándose las fases de larva, ninfa y adultos durante todo el año (Gaxiola *et al.*, 2008).

El Clima principalmente en regiones tropicales, subtropicales y ambientes templados y áridos, puede proporcionar un hábitat adecuado para esta especie de garrapata.

Rar *et al.* (2017) en Rusia de la región norte de las montañas de Altai (República de Altai) y de la llanura siberiana occidental a 100 msnm, recolectaron e identificaron garrapatas genéticamente con el gen nuclear y separador transcritos internos (ITS2) y el Citocromo C Oxidasa subunidad I (CO1), *Ixodes-Felpers-R* específico para *I. persulcatus* e *Ixodes-Felpav-R*, específico a *I. pavlovskyi* los productos del PCR amplificaron en un rango de 632 a 636 pb, estos resultados son similares con respecto las regiones geográficas. El panorama de los análisis

genéticos de las garrapatas pueden proveer información relevante para el estudio y la vigilancia de las enfermedades transmitidas por garrapatas en nuestro país (Paternina *et al.*, 2016).

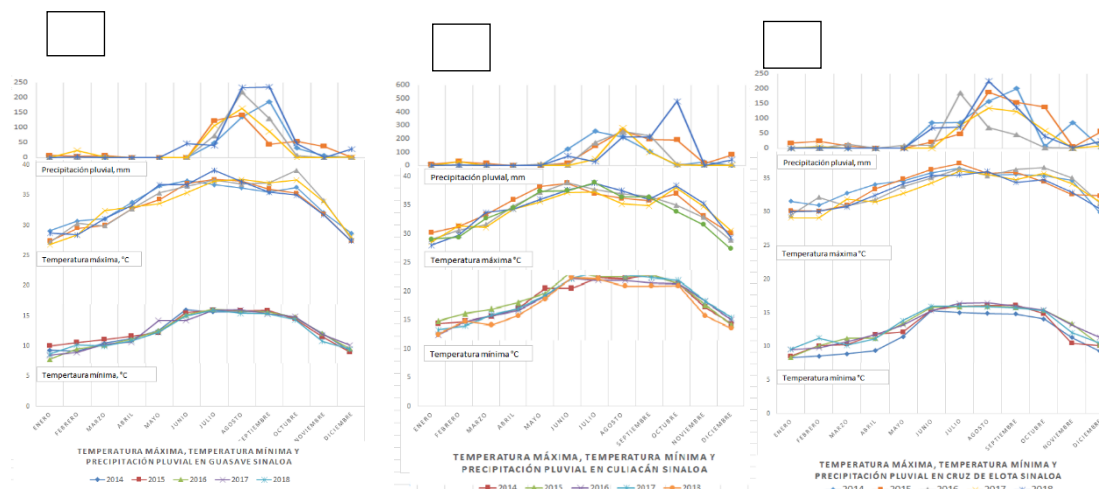


Figura 12. Temperaturas máximas y mínimas, precipitación pluvial del 2014 al 2018 en a) Guasave, b) Culiacán, c) Elota

## VII. CONCLUSIÓN

Esta investigación contribuye a una identificación morfológica, genética y georreferenciación de la garrapata *R. microplus* en regiones de la sierra, valle y costa del Estado de Sinaloa México, por lo cual debe considerarse como adecuado para el desarrollo de la garrapata del ganado bovino.

## VIII. LITERATURA CITADA

- Aardema, M. L. and F. D. von Loewenich. 2015. Varying influences of selection and demography in host-adapted populations of the tick-transmitted bacterium, *Anaplasma phagocytophilum*. *BMC Evol Biol* 15, 58. 1471-2148 (Electronic)1471-2148 (Linking); doi:10.1186/s12862-015-0335-z; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25888490>
- Abdullah, H. H. A. El-Molla, F. A. Salib, N. A. Allam, A. A. Ghazy and S. Abdel-Shafy. 2016. Morphological and molecular identification of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* and the camel tick *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae) vectors of Rickettsioses in Egypt. *Vet World* 9, (10): 1087-1101. 0972-8988 (Print) 0972-8988 (Linking); 10.14202/vetworld.2016.1087-1101; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27847418>
- Agosta, S. J. and Klemens, J. A.. 2008. Ecological fitting by phenotypically flexible genotypes: implications for species associations, community assembly and evolution. *Ecol Lett* 11, (11): 1123-34. 1461-0248 (Electronic)1461-023X (Linking); 10.1111/j.1461-0248.2008.01237.x; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18778274>
- Aguilar-Tipacamu, G. and Rodriguez-Vivas, R. I. 2003. Effect of moxidectin against natural infestation of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Vet Parasitol* 111, (2-3): 211-6. 0304-4017 (Print)0304-4017 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12531295>
- Andersen, L. K. and Davis, M. D. 2017. Climate change and the epidemiology of selected tick-borne and mosquito-borne diseases: update from the International Society of Dermatology Climate Change Task Force. *Int J Dermatol* 56, (3): 252-259. 1365-4632 (Electronic) 0011-9059 (Linking); 10.1111/ijd.13438; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27696381>
- Andreotti, R., Perez De Leon, A. A., Dowd, S. E., Guerrero, F. D., Bendele, K. G. and Scoles, G. A. 2011. Assessment of bacterial diversity in the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* through tag-encoded pyrosequencing. *BMC Microbiol.* 11(1):6.
- Antunes, S., Ferrolho, J., Domingues, N., Santos, A. S., Santos-Silva, M. M., and Domingos, A. (2016). *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in questing ticks from Portugal. *Experimental and Applied Acarology*, 70(1), 79-88.
- Alkishe, A. A. Peterson, A. T. and A. M. Samy. 2017. Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick *Ixodes ricinus*.

- PLoS One 12, (12): e0189092. 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking); 10.1371/journal.pone.0189092;  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29206879>  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5716528/pdf/pone.0189092.pdf>
- Almazan, C., Lagunes, R., Villar, M., Canales, M., Rosario-Cruz, R., Jongejan, F. and de la Fuente, J. 2010. Identification and characterization of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* candidate protective antigens for the control of cattle tick infestations. *Parasitol Res* 106, (2): 471-9. 1432-1955 (Electronic) 0932-0113 (Linking); 10.1007/s00436-009-1689-1; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19943063>
- Álvarez-Hernández, G., Candia-Plata, M. D. C., Martínez, E. B., de la Mora, J. D., Guzmán, A. S., and Soto, L. F. L. (2015). Fiebre manchada por *Rickettsia rickettsii* en las Américas: un problema creciente de salud pública. *Revista Salud UIS*, 47(3).
- Barraza, T. C. L., Enríquez, V.I. Castro del C. N. Solís, C.J.D. Barajas, C.R. Y. Villalba, R.Y.E. Gaxiola, C.S.M. 2017. HOMOLOGY AMONG *Rhipicephalus microplus* TICK POPULATIONS. XVIII ISAH Congress 2017 March 19 – 23, 2017, Mazatlán, Sinaloa, Mexico.
- Barraza, T.C.L., Gaxiola, CSM, Quintero MMT, Castro del CN, Solis CJD, Borbolla IJE, Badilla MCN, Enríquez VI. IDENTIFICACIÓN DE *Anaplasma marginale* EN *Rhipicephalus microplus* EN CULIACÁN, SINALOA. Reunion Técnica Pecuaria 2018. Barker, S. C., & Walker, A. R. (2014). Ticks of Australia. The species that infest domestic animals and humans. *Zootaxa*(3816), 1-144. doi: 10.11646/zootaxa.3816.1.1
- Barrero, R. A., Keeble-Gagnere G., Zhang, B., Moolhuijzen, P., Ikeo K., Tateno, Y. Gojobori, T., Guerrero, F. D., Lew-Tabor, A. and Bellgard, M.. 2011. Evolutionary conserved microRNAs are ubiquitously expressed compared to tick-specific miRNAs in the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *BMC Genomics* 12, 328. 1471-2164 (Electronic) 1471-2164 (Linking); 10.1186/1471-2164-12-328; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21699734>  
<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2164-12-328.pdf>
- Bastos, R. G., Ueti, M. W., Knowles, D. P. and Scoles, G. A. 2010. The *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Bm86 gene plays a critical role in the fitness of ticks fed on cattle during acute *Babesia bovis* infection. *Parasit Vectors* 3, 111. 1756-3305 (Electronic) 1756-3305 (Linking); 10.1186/1756-3305-3-111; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21092112>
- Beati, L. S. Nava, E. J. Burkman, D. M. Barros-Battesti, M. B. Labruna, A. A. Guglielmone, A. G. Cáceres, C. M. Guzmán-Cornejo, R. León, L. A. Durden

- and J. L. H. Faccini. 2013. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: Phylogeography and evidence for allopatric speciation. *BMC Evolutionary Biology* 13, (1): 14712148 (ISSN); 10.1186/1471-2148-13-26710.1073/pnas.0811421106; Hoorn, C., The birth of the mighty Amazon (2006) *Sci Am*, 294 (5), pp. 52-59;
- Beati L. and Keirans, J. E. 2001. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J Parasitol* 87, (1): 32-48. 0022-3395 (Print) 0022-3395 (Linking); 10.1645/0022-3395(2001)087[0032:AOTSRA]2.0.CO;2; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11227901>
- Billings, A.N., Yu, X.-J., Teel, P.D., Walker, D.H., Detection of a Spotted Fever Group *Rickettsia* in *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in South Texas (1998) *Journal of Medical Entomology*, 35 (4), pp. 474-478;
- Boka, O. M., Achi, L., Adakal, H., Azokou, A., Yao, P., Yapi, Y. G., Kone, M., Dagnogo, K. and Kaboret, Y. Y. 2017. Review of cattle ticks (Acari, Ixodida) in Ivory Coast and geographic distribution of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, an emerging tick in West Africa. *Exp Appl Acarol*. 71(4):355-369.
- Bouزيد, M., Colon-Gonzalez, F. J., Lung, T., Lake I. R. and Hunter, P. R. 2014. Climate change and the emergence of vector-borne diseases in Europe: case study of dengue fever. *BMC Public Health* 14, 781. 1471-2458 (Electronic)1471-2458 (Linking); 10.1186/1471-2458-14-781; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25149418>
- Bowman, A., Nuttall, P. 2009. Ticks: Biology, Disease and Control. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-1>
- Bull, C. M., Andrews, R. H. and Adams, M. 1984. Patterns of genetic variation in a group of parasites, the Australian reptile ticks. *Heredity* 53: 509- 525.
- Burger, T. D., Shao, R. and Barker, S. C. 2014. Phylogenetic analysis of mitochondrial genome sequences indicates that the cattle tick, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, contains a cryptic species. *Mol Phylogenet Evol* 76, 241-53. 1095-9513 (Electronic)1055-7903 (Linking); 10.1016/j.ympev.2014.03.017; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24685498>
- Busch, J. D., Stone, N. E., Nottingham, R., Araya-Anchetta, A., Lewis, J., Hochhalter, C., Giles, J. R., Gruendike, J., Freeman, J., Buckmeier, G., Bodine, D., Duhaime, R., Miller, R. J., Davey, R. B., Olafson, P. U., Scoles, G. A. and Wagner, D. M. 2014. Widespread movement of invasive cattle fever ticks (*Rhipicephalus microplus*) in southern Texas leads to shared local infestations on cattle and deer. *Parasit Vectors*. 7(188).

- Bustillos, R., Carrillo, J., Jacho, G., Enríquez, S., and Rodríguez, R. (2015). Comportamiento Poblacional de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos en dos áreas geograficas del Ecuador. *Revista Tecnológica-ESPOL*, 28(4).
- Cantu, C. A., Ortega, S. J., Garcia-Vazquez, Z., Mosqueda, J., Henke, S. E. and George, J. E. 2009. Epizootiology of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in free-ranging white-tailed deer in northeastern Mexico. *J Parasitol*. 95(3):536-42.
- Centro Nacional de Servicio Constatación de Salud Animal (CENAPA) 2004. Manual de identificación de garrapatas.
- Chae, J. B. J. G. Kang, H. C. Kim, S. T. Chong, I. Y. Lee, N. S. Shin and J. S. Chae. 2017. Identification of Tick Species Collected from Wild Boars and Habitats of Wild Boars and Domestic Pigs in the Republic of Korea. *Korean J Parasitol* 55, (2): 185-191. 1738-0006 (Electronic) 0023-4001 (Linking); 10.3347/kjp.2017.55.2.185; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28506041> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5450961/pdf/kjp-55-2-185.pdf>
- Chaligiannis, I. V. Musella, L. Rinaldi, G. Cringoli, J. de la Fuente, A. Papa and S. Sotiraki. 2016. Species diversity and spatial distribution of ixodid ticks on small ruminants in Greece. *Parasitol Res* 115, (12): 4673-4680. 1432-1955 (Electronic) 0932-0113 (Linking); 10.1007/s00436-016-5259-z; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27655133>
- Chilton, N. B., Andrews, R. H., and Bull, C. M. (2000). Influence of temperature and relative humidity on the moulting success of *Amblyomma limbatum* and *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs. *International journal for parasitology*, 30(9), 973-979.
- Cifuentes, L. J. L., Gaxiola, L. J. 2003. Atlas de los ecosistemas de Sinaloa. ISBN 968-5439-04-4. EL Colegio de Sinaloa. Cutulle, C., Jonsson, N. N., & Seddon, J. (2009). Population structure of Australian isolates of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Vet Parasitol*, 161(3-4), 283-291. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.01.005
- Cortés, V. J. A., Betancourt, E. J. A., Argüelles, C. J., Pulido, H. L. A. 2010. Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia). *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu*. 11(1), 73-84.
- Cutulle, C., Jonsson, N. N. and Seddon, J. 2009. Population structure of Australian isolates of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Vet Parasitol* 161, (3-4): 283-91. 0304-4017 (Print) 0304-4017 (Linking);

10.1016/j.vetpar.2009.01.005;  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19201542>

- Cutulle, C., Jonsson N. N., and Seddon, J. M. 2010. Multiple paternity in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* confirmed by microsatellite analysis. *Exp Appl Acarol* 50, (1): 51-8. 1572-9702 (Electronic)0168-8162 (Linking); 10.1007/s10493-009-9298-3;  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19693678>
- Dantas-Torres, F. 2015. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 4(3):452-61.
- Davis, J.I., Nixon, K.C., Populations, genetic variation, and species delimitation of phylogenetic species (1992) *Syst Biol*, 41 (4), pp. 421-435;
- De Clercq, E. M., Vanwambeke, S. O., Sungirai, M., Adehan, S., Lokossou, R. and M. Madder. 2012. Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. *Exp Appl Acarol* 58, (4): 441-52. 1572-9702 (Electronic)0168-8162 (Linking); 10.1007/s10493-012-9587-0;  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22689006>
- De la Fuente, J., Garcia-Garcia, J. C., Gonzalez, D. M., Izquierdo, G., & Ochagavia, M. E. (2000). Molecular analysis of *Boophilus* spp. (Acari: Ixodidae) tick strains. *Vet Parasitol*, 92(3), 209-222.
- De La Fuente, J., Estrada-Pena, A., Venzal, J. M., Kocan, K. M. and Sonenshine, D. E. 2008. Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front Biosci.* 13(6938-46).
- De Souza, G.B., Blanco, A. and Gardenal, C.N. (2001) Genetic relationships among *Aedes* dengue hyperendemic urban setting in Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 71:506–513.
- Domínguez-García, D. I., Rosario-Cruz, R., Almazán-García, C., Oaxaca, J. A. S., & De la Fuente, J. (2010). *Boophilus microplus*: aspectos biológicos y moleculares de la resistencia a los acaricidas y su impacto en la salud animal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(2), 181-192.
- Dumler, J. S., Barbet, A. F., Bekker, C. P., Dasch, G. A., Palmer, G. H., Ray, S. C., Rikihisa, Y. and Rurangirwa, F. R. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 51(Pt 6):2145-65.

- Estrada-Peña, A. 1999. Geostatistics and remote sensing using NOAA-AVHRR satellite imagery as predictive tools in tick distribution and habitat suitability estimations for *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in South America. National Oceanographic and Atmosphere Administration-Advanced Very High Resolution Radiometer. *Vet Parasitol* 81, (1): 73-82. 0304-4017 (Print)0304-4017 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9950331>
- Estrada-Peña, A., M. Corson, J. M. Venzal, A. J. Mangold and A. Guglielmone. 2006. Changes in climate and habitat suitability for the cattle tick *Boophilus microplus* in its southern Neotropical distribution range. *J Vector Ecol* 31, (1): 158-67. 1081-1710 (Print)1081-1710 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16859105>
- Estrada-Peña, A., Venzal, J. M., Nava, S., Mangold, A., Guglielmone, A. A. Labruna M. B. and de la Fuente, J. 2012. Reinstatement of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. *J Med Entomol* 49, (4): 794-802. 0022-2585 (Print)0022-2585 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22897039>
- Estrada-Peña, A. Estrada-Sanchez, A., Estrada-Sanchez D. and de la Fuente, J. 2013. Assessing the effects of variables and background selection on the capture of the tick climate niche. *Int J Health Geogr* 12, 43. 1476-072X (Electronic)1476-072X (Linking); 10.1186/1476-072X-12-43; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24069960>
- F. CORPET, 1988, *Nucl. Acids Res.*, 16 (22), 10881-10890, "Multiple sequence alignment with hierarchical clustering"
- Failloux, A.B., Darius, H. and Pasteur, N. (1995) Genetic differentiation of *Aedes aegypti*, the vector of Dengue virus in French Polynesia. *J Am Mosq Control Assoc* 11:457–462.
- Fernandez-Salas, A., Rodriguez-Vivas, R. I. and M. Alonso-Diaz, A. 2012. First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Vet Parasitol* 183, (3-4): 338-42. 1873-2550 (Electronic)0304-4017 (Linking); 10.1016/j.vetpar.2011.07.028; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21824728>
- Fragoso, H., Rad, P. H., Ortiz, M., Rodriguez, M., Redondo, M., Herrera, L. and De La Fuente, J. 1998. Protection against *Boophilus annulatus* infestations in cattle vaccinated with the *B. microplus* Bm86-containing vaccine Gavac. off. Vaccine. 16(20):1990-2.
- Fuente, J., Garcia-Garcia, J. C, Gonzalez, D. M, Izquierdo, G., and. Ochagavia M. E. 2000. Molecular analysis of *Boophilus* spp. (Acari: Ixodidae) tick strains. *Vet Parasitol* 92, (3): 209-22. 0304-4017 (Print)0304-4017 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10962158>

- Gallardo JS, Morales J. 1999. *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae): preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo. En: Bioagro. 11(3):77-87.
- Gaxiola, C.S.M, Quintero, M.M.T., Rodríguez, M.J. Borbolla, J.E., Castro del C.N., Rubio, R.M.C. 1999. Infestación natural de bovinos con *Boophilus microplus* en el Municipio de Culiacán, Sinaloa, México. Memorias de IV Seminario Internacional de Parasitología Animal; octubre 4-8; Puerto Vallarta, (Jalisco) México. Asociación Mexicana de Parasitólogos Veterinarios, AC, 1999:76-79.
- Gaxiola, C.S.M, Rodríguez, M.J, Borbolla, I. J.E. Quintero, M.M.T., Castro del C.N. 2002. Natural infestation and treatment of bovine with *Boophilus microplus* in Culiacán, Sinaloa, Mexico. Proceedings of the 10th International Congress of Parasitology- ICOPA X: Symposia, Workshops and Contributed Papers. Vancouver(B.C), Canadá. August 4-9, Monduzzi Editore-International Proceedings Division.
- Gaxiola, C.S.M. Zamora, Z.M.C, Borbolla, I.J.E, Castro del CN, Rubio, R.M.C. 2002. Análisis retrospectivo (1995-2001) de la Prevalencia de hemoparásitos en bovinos del Estado de Sinaloa. Memorias XV Congreso Nacional de Parasitología; septiembre 11-14;Guanajuato (Guanajuato), México. Sociedad Mexicana de Parasitología, AC, (CONAPAR):283-286.
- Gaxiola, C.S.M, Borbolla, I.J.E, Castro, Del C.N, López VM, Rubio, RMC 2003. *Boophilus microplus* en el venado cola blanca (*Odocoileus virginianos*) en culiacán, Sinaloa, México. Memorias XXVII Congreso Nacional de Buiatría;2003,
- Gaxiola-Camacho S. M., García-Vázquez Z., Portillo L. J. J., Vázquez-Pelaéz C., Quintero-Martínez, M. T., Rosario-Cruz R., Cruz, V. C., Dinámica estacional de la garrapata *Boophilus microplus* en bovinos del estado de Sinaloa. 2008. 6 Tesis de Doctorado. UNAM (México).
- Gaxiola-Camacho S. M., García-Vázquez Z., Portillo L. J. J., Vázquez-Pelaéz C., Quintero-Martínez, M. T., Rosario-Cruz R., Cruz, V. C., Borbolla I. J. E., Etapa parasítica de *Boophilus microplus* en bovinos del estado de Sinaloa, México y su relación con factores climáticos.2010. 6 seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne. 2 Seminario Internacional de Avances en Producción Animal. 11 y 12 de marzo 2010.
- Galvao, M.A.M., Mafra, C.L., Moron, C., Anaya, E., Walker, D.H., Rickettsiosis of the genus *Rickettsia* in South America (2003) Annals of the New York

- Academy of Sciences, 990, pp. 57-61; Guedes, E., Leite, R.C., Prata, M.C.A., Pacheco, R.C., Walker, D.H., Labruna, M.B., Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais (2005) *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100 (8), pp. 841-845. ,  
<http://memorias.ioc.fiocruz.br/5440.pdf>;
- García-García, J. C., Gonzalez, I. L, González, D. M., Valdés, M. Méndez, L., Lamberti, J. B. D'Agostino, Citroni, D., Fragoso, H.M., Ortiz, M., Rodríguez and De La Fuente, J.1999. Sequence variations in the *Boophilus microplus* Bm86 locus and implications for immunoprotection in cattle vaccinated with this antigen. *Experimental and Applied Acarology* 23, (11): 883-895. 01688162 (ISSN); 10.1023/A:1006270615158
- Giles, J. R., Peterson, A. T., Busch, J. D., Olafson, P. U., Scoles, G. A., Davey, R. B., Pound, J. M., Kammlah, D. M., Lohmeyer, K. H. and Wagner, D. M. 2014. Invasive potential of cattle fever ticks in the southern United States. *Parasit Vectors*. 7(189).
- Githeko, A. K. , Lindsay, S. W. Confalonieri, U. E. and J. A. Patz. 2000. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull World Health Organ* 78, (9): 1136-47. 0042-9686 (Print)0042-9686 (Linking);  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11019462>
- Goolsby, J. A., Guerrero, F. D., Gaskin, J., Bendele, K. G., Azhahianambi, P., Amalin, D. and Saini, R. K. (2016). Molecular Comparison of Cattle Fever Ticks from Native and Introduced Ranges, with Insights into Optimal Search Areas for Classical Biological Control Agents. *Southwestern Entomologist*, 41(3), 595-605.
- Gray, J.S., 2006. Identity of the causal agents of human babesiosis in Europe. *Int. J. Med. Microbiol.* 296, 131–136.
- Gubler, D. J., Reiter, P.,Ebi, K. L., Yap, W., Nasci, R. and J. A. Patz. 2001. Climate variability and change in the United States: potential impacts on vector- and rodent-borne diseases. *Environ Health Perspect* 109 Suppl 2, 223-33. 0091-6765 (Print)0091-6765 (Linking);  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11359689>
- Harrus, S., Perlman-Avrahami A., K. Y. Mumcuoglu, D. Morick, O. Eyal and G. Baneth. 2011. Molecular detection of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma platys*, *Candidatus Midichloria mitochondrii* and *Babesia canis vogeli* in ticks from Israel. *Clin Microbiol Infect* 17, (3): 459-63. 1469-0691 (Electronic)1198-743X (Linking); 10.1111/j.1469-0691.2010.03316.x;  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20636417>  
<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1469-0691.2010.03316.x/asset/j.1469-0691.2010.03316.x.pdf?v=1&t=hqo7qwyb&s=556ceb931151a570112fae768d8123b59c8b74e1>

- Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell Hoorn C, Wesselingh F; Costa, L.P., The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: A study of molecular phylogeography with small mammals (2003) *Journal of Biogeography*, 30 (1), pp. 71-86. , DOI 10.1046/j.1365-2699.2003.00792.x;
- Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell Hoorn C, Wesselingh FP; Albert, J.S., Lovejoy, N.R., Crampton, W.G.R., Miocene tectonism and the separation of cis- and trans-Andean river basins: Evidence from Neotropical fishes (2006) *Journal of South American Earth Sciences*, 21 (1-2), pp. 14-27. , DOI 10.1016/j.jsames.2005.07.010, PII S0895981105001392;
- Hoboken, N.J.: Wiley-Blackwell, H. C., Wesselingh, F.; Smith, B.T., Klicka, J., The profound influence of the Late Pliocene Panamanian uplift on the exchange, diversification, and distribution of New World birds (2010) *Ecography*, 33, pp. 333-342;
- Hoorn, C., Wesselingh, F.P., Hovikoski, J., Guerrero, J., The development of the Amazonian mega-wetland (Miocene; Brazil, Colombia, Peru, Bolivia) (2010) *Amazonia, Landscape and Species Evolution: A Look into the Past*, pp. 123-142. ,
- Hovikoski, J., Wesselingh, F.P., Räsänen, M., Gingras, M., Vonhof, H.B., Marine influence in Amazonia: Evidence from geological record (2010) *Amazonia, Landscape and Species Evolution: A Look into the Past*, pp. 143-161.
- Huang, Q., Baum, L., and Fu, W. L. (2010). Simple and practical staining of DNA with GelRed in agarose gel electrophoresis. *Clin Lab*, 56(3-4), 149-152.
- Inokuma, H., Makino, T., Kabeya, H., Nogami, S., Fujita, H., Asano, M., Inoue, S. and Maruyama, S. 2007. Serological survey of Ehrlichia and Anaplasma infection of feral raccoons (*Procyon lotor*) in Kanagawa Prefecture, Japan. *Vet Parasitol.* 145(1-2):186-9.
- Jeyaparakash, A. and Hoy, M. A. 2009. First divergence time estimate of spiders, scorpions, mites and ticks (subphylum: Chelicerata) inferred from mitochondrial phylogeny. *Exp Appl Acarol* 47, (1): 1-18. 1572-9702 (Electronic) 0168-8162 (Linking); 10.1007/s10493-008-9203-5; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18931924><http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10493-008-9203-5>
- Kemal, N. Tamerat and T. Tuluka. 2016. Infestation and Identification of Ixodid Tick in Cattle: The Case of Arbegona District, Southern Ethiopia. *J Vet Med* 2016, 9618291. 2356-7708 (Print) 2314-6966 (Linking); 10.1155/2016/9618291; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28105466>
- Kirupananthan, R., Kamaral, L. C. J., Galhena, G. H., Perera, K. L. N., and Magamage, M. P. S. (2016). Address the public health and food security concerns of babesiosis through molecular detection of *Babesia bovis* in

- suspected carrier cattle of selected localities in Sri Lanka. *Procedia food science*, 6, 213-219.
- Klompen, J. S., W. C. T. Black, J. E. Keirans and J. H. Oliver, Jr. 1996. Evolution of ticks. *Annu Rev Entomol* 41, 141-61. 0066-4170 (Print)0066-4170 (Linking); 10.1146/annurev.en.41.010196.001041; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8546444>
- Kolonin, G. V. 1995. Review of the Ixodid tick fauna (Acari: Ixodidae) of Vietnam. *J Med Entomol* 32, (3): 276-82. 0022-2585 (Print)0022-2585 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7616517>
- Krakowetz, C. N., Lindsay, L. R. and Chilton, N. B. 2011. Genetic diversity in *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) from six established populations in Canada. *Ticks and Tick-borne Diseases*
- Krakowetz, C. N., Lindsay, L. R., & Chilton, N. B. (2011b). Genetic diversity in *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) from six established populations in Canada. *Ticks and Tick-borne Diseases*.
- Labruna, M. B., Naranjo, V. Mangold, A. J., Thompson, C., Estrada-Peña, A., Guglielmone, A. A., Jongejan, F. and de la Fuente, J. 2009. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus. *BMC Evol Biol* 9, 46. 1471-2148 (Electronic)1471-2148 (Linking); 10.1186/1471-2148-9-46; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19243585>
- Labruna, M.B., Whitworth, T., Bouyer, D.H., McBride, J., Camargo, L.M.A., Camargo, E.P., Popov, V., Walker, D.H., Rickettsia bellii and Rickettsia amblyommii in Amblyomma ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil (2004) *Journal of Medical Entomology*, 41 (6), pp. 1073-1081;
- Labruna, M. B., Naranjo, V., Mangold, A. J., Thompson, C., Estrada-Peña, A., Guglielmone, A. A., de la Fuente, J. (2009). Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus. *BMC Evol Biol*, 9, 46. doi: 10.1186/1471-2148-9-46
- Lambertz, C., Chongkasikit, N., Jittapalapong, S. and Gauly, M. 2012. Immune Response of *Bos indicus* Cattle against the Anti-Tick Antigen Bm91 Derived from Local *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus Ticks and Its Effect on Tick Reproduction under Natural Infestation. *J Parasitol Res* 2012, 907607. 2090-0031 (Electronic) 2090-0023 (Linking); 10.1155/2012/907607;

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23213489><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3507137/pdf/JPR2012-907607.pdf>

- Lee, S. H., Nam, K. W., Jeong, J. Y., Yoo, S. J., Koh, Y. S, Lee, S., Heo, S. T., Seong, S. Y. and Lee, K. H. 2013. The effects of climate change and globalization on mosquito vectors: evidence from Jeju Island, South Korea on the potential for Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) influxes and survival from Vietnam rather than Japan. *PLoS One* 8, (7): e68512. 1932-6203 (Electronic)1932-6203 (Linking); 10.1371/journal.pone.0068512; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23894312>
- Li, A. Y., Davey, L. R. and George, J. E. 2005. Carbaryl resistance in Mexican strains of the southern cattle tick (*Acari: Ixodidae*). *J Econ Entomol* 98, (2): 552-6. 0022-0493 (Print)0022-0493 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15889748>
- Lohmeyer, K. H., Pound, J. M., May, M. A., Kammlah, D. M. and Davey, R. B. 2011. Distribution of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (*Acari: Ixodidae*) infestations detected in the United States along the Texas/Mexico border. *J Med Entomol.* 48(4):770-4.
- López, S.M., Quintero T. J. C., Solis, C. D, Castro, del C. N., Enríquez, V. I., Barraza, T. C. L., Gaxiola. C. S. M., Borbolla I. J. E., Cota G. S.2010. Identificación morfológica de garrapatas presentes en ganado bovino en el sur del estado de Sinaloa. *Ciencias veterinarias*.
- Low, V. L., Tay, S. T., Kho, K. L., Koh, F. X .T., Tan, K. Lim Y. A. L., Ong, B. L. C. Panchadcharam, Y. Norma-Rashid and M. Sofian-Azirun. 2015. Molecular characterisation of the tick *Rhipicephalus microplus* in Malaysia: New insights into the cryptic diversity and distinct genetic assemblages throughout the world. *Parasites and Vectors* 8, (1): 17563305 (ISSN); 10.1186/s13071-015-0956-5; <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84933521558&partnerID=40&md5=01e99891c5fd043a311b6ed5547c2cc0>
- Machado, F. A , Pivoto, F. L., Ferreira, M. S., Gregorio, V. de Vogel, F. S. and L. A. Sangioni. 2014. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the western-central region of Rio Grande do Sul, Brazil: multiresistant tick. *Rev Bras Parasitol Vet* 23, (3): 337-42. 1984-2961 (Electronic)0103-846X (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25271453>
- Mans, B. J., A. I. Louw and A. W. Neitz. 2002. Evolution of hematophagy in ticks: common origins for blood coagulation and platelet aggregation inhibitors from soft ticks of the genus *Ornithodoros*. *Mol Biol Evol* 19, (10): 1695-705. 0737-4038 (Print)0737-4038 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12270896>

- Mans, B. J. and A. W. Neitz. 2004. Adaptation of ticks to a blood-feeding environment: evolution from a functional perspective. *Insect Biochem Mol Biol* 34, (1): 1-17. 0965-1748 (Print)0965-1748 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14723893> [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4383208/pdf/12862\\_2015\\_Article\\_335.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4383208/pdf/12862_2015_Article_335.pdf)
- Martinez-Arzate, S. G., Sanchez-Bermudez, J. C., Sotelo-Gomez, S., Diaz-Albiter, H. M., Hegazy-Hassan, W., Tenorio-Borroto, E., Barbabosa-Pliego, A. and Vazquez-Chagoyan, J. C. 2019. Genetic diversity of Bm86 sequences in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks from Mexico: analysis of haplotype distribution patterns. *BMC Genet.* 20(1):56.
- Martins, F.M., Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval-Moritz model of Pleistocene refugia: What do phylogeographical studies tell us? (2011) *Biol J Linnean Soc*, 104, pp. 499-509;
- McCoy, K. D., Léger, E. and Dietrich, M. 2013. Host specialization in ticks and transmission of tick-borne diseases: a review. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 3, 57. 22352988 (ISSN); <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84899040776&partnerID=40&md5=8242cf6a6e456a7fd24debba717a1e58> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3790072/pdf/fcimb-03-00057.pdf>
- McCooke, J. K., Guerrero, F. D., Barrero, R. A., Black, M., Hunter, A., Bell, C., Schilkey, F., Miller, R. J and M. I. Bellgard. 2015. The mitochondrial genome of a Texas outbreak strain of the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, derived from whole genome sequencing Pacific Biosciences and Illumina reads. *Gene* 1879-0038 (Electronic)0378-1119 (Linking); 10.1016/j.gene.2015.06.060; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26117172>
- Mercado-Curiel, R. F., M. L. Avila-Ramirez, G. H. Palmer and K. A. Brayton. 2014. Identification of *Rhipicephalus microplus* genes that modulate the infection rate of the rickettsia *Anaplasma marginale*. *PLoS One* 9, (3): e91062. 1932-6203 (Electronic)1932-6203 (Linking); 10.1371/journal.pone.0091062; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24608654>
- Mihalca, A. D., Dumitrache, M. O., Sandor, A. D., Magdas, C., Oltean, M., Gyorke, A., Matei, I. A., Ionica, A., D'amico, G., Cozma, V. and Gherman, C. M. 2012. Tick parasites of rodents in Romania: host preferences, community structure and geographical distribution. *Parasit Vectors.* 5(266).
- Minjauw, B. and McLeod, A. (2003) Tick-borne diseases and poverty. The Impact of Ticks and Tick-Borne Diseases on the Livelihood of Small Scale and Marginal Livestock Owners in India and Eastern and Southern Africa. Research Report, DFID Animal Health Programmed. Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh, U.K. p59-60.

- Moo-Llanes, D., Ibarra-Cerdena, C. N., Rebollar-Tellez, E. A., Ibanez-Bernal, S., Gonzalez, C. and Ramsey, J. M. 2013. Current and future niche of North and Central American sand flies (Diptera: psychodidae) in climate change scenarios. PLoS Negl Trop Dis. 7(9):e2421.
- Moolhuijzen, P. M., Lew-Tabor, A. E., Morgan, J. A., Valle, M. R., Peterson, D. G., Dowd, S. E., Guerrero, F. D., Bellgard, M. I. and Appels, R. 2011. The complexity of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* genome characterised through detailed analysis of two BAC clones. BMC Res Notes. 4(254).
- Mora, A., Baby, P., Roddaz, M., Parra, M., Brusset, S., Hermoza, W., Espurt, N., Tectonic history of the Andes and sub-Andean zones: Implications for the development of the Amazon basin (2010) Amazonia, Landscape and Species Evolution: A Look into the Past, pp. 38-60. ,
- Moraes-Filho J., Marcili A., Nieri-Bastos F A., Richtzenhain L J., and Labruna M.B. 2011. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. Acta Trop. 117, 51–55.doi: 10.1016/j.actatropica.2010.09.006.
- Moreno, C. X., Moy, F., Daniels, T. J., Godfrey, H. P. and F. C. Cabello. 2006. Molecular analysis of microbial communities identified in different developmental stages of *Ixodes scapularis* ticks from Westchester and Dutchess Counties, New York. Environ Microbiol 8, (5): 761-72. 1462-2912 (Print)1462-2912 (Linking); 10.1111/j.1462-2920.2005.00955.x; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16623735>
- Motaghipisheh, S. et al. (2016). Ehrlichiosis in Household Dogs and Parasitized Ticks in Kerman-Iran: Preliminary Zoonotic Risk Assessment. Journal Arthropod-Borne Diseases 10: 245-251.
- Murrell, A., Campbell, N. J. and Barker, S. C. 2000. Phylogenetic analyses of the *rhipicephaline* ticks indicate that the genus *Rhipicephalus* is paraphyletic. Mol Phylogenet Evol. 16(1):1-7.
- Murrell, A., Campbell, N. J. and Barker, S. C. 2001. A total-evidence phylogeny of ticks provides insights into the evolution of life cycles and biogeography. Mol Phylogenet Evol. 21(2):244-58.
- Murrell, A. and Barker, S. C. 2003. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). Syst Parasitol. 56(3):169-72.
- Nogueira, C., Ribeiro, S., Costa, G.C., Colli, G.R., Vicariance and endemism in a Neotropical savanna hotspot: Distribution patterns of Cerrado squamate reptiles (2011) J Biogeogr, 38, pp. 1907-1922;
- Nava, S., Beati, L., Labruna, M.B., Caceres, A.G., Mangold, A.J., Guglielmone, A.A., Reassessment of the taxonomic status of *amblyomma cajennense*

- (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. Sp., *Amblyomma interandinum* n. Sp. And *Amblyomma patinoi* n. Sp., And resurrection of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 And *Amblyomma sculptum* berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae) (2013) Ticks and Tick-Borne Dis, , in press;
- Ogden, N. H., St-Onge, L., Barker, I. K., Brazeau, S., Bigras-Poulin, M. D. F. Charron, C. M. Francis, A. Heagy, L. R. Lindsay, A. Maarouf, P. Michel, F. Milord, C. J. O'Callaghan, L. Trudel and R. A. Thompson. 2008. Risk maps for range expansion of the Lyme disease vector, *Ixodes scapularis*, in Canada now and with climate change. *Int J Health Geogr* 7, 24. 1476-072X (Electronic)1476-072X (Linking); 10.1186/1476-072X-7-24; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18498647>
- Ordoñez Manríquez M.J., Gaxiola Camacho S. M., Borbolla Ibarra J. E., Quintero I.M., Solís C. D., Barraza, T.C. L., Castro del C. N., Enríquez V. I., Cota G. S.2012.Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a coumafos y deltametrina en el municipio de Culiacán, Sinaloa. VII Seminario Internacional de Parasitología Animal, IX Congreso Nacional Parasitología veterinaria. 10 al 12 octubre Querétaro, Querétaro.
- Paduan, K.S., Araujo-Junior, J.P. and Ribolla, P.E.M. (2006) Genetic variability in geographical populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Brazil elucidated by molecular markers. *Genet Mol Biol* 29:391–395.
- Pegram, R. G. 2001. Getting a handle on tick control: a modern approach may be needed. *Vet J* 161, (3): 227-8. 1090-0233 (Print)1090-0233 (Linking); 10.1053/tvjl.2001.0577; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11352480>
- Perez-Cogollo, L. C., Rodriguez-Vivas, R. I., Ramirez-Cruz, G. T. and Miller, R. J. 2010. First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Vet Parasitol* 168, (1-2): 165-9. 1873-2550 (Electronic)0304-4017 (Linking); 10.1016/j.vetpar.2009.10.021; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19951828>[http://ac.els-cdn.com/S0304401709006700/1-s2.0-S0304401709006700-main.pdf?\\_tid=857d33a4-aa0b-11e6-b23b-00000aab0f6c&acdnat=1479087894\\_990d2d1bd03aba0d2a59b9e2657983df](http://ac.els-cdn.com/S0304401709006700/1-s2.0-S0304401709006700-main.pdf?_tid=857d33a4-aa0b-11e6-b23b-00000aab0f6c&acdnat=1479087894_990d2d1bd03aba0d2a59b9e2657983df)
- Paternina, L. E., Verbel-Vergara, D., & Bejarano, E. E. (2016). Comparison of 16S and COX1 genes mitochondrial regions and their usefulness for genetic analysis of ticks (Acari: Ixodidae). *Biomedica*, 36(2), 295-302. doi: 10.7705/biomedica.v36i2.3116
- Qiu, W. G., Dykhuizen, D. E., Acosta, M. S. and Luft, B. J. 2002. Geographic uniformity of the lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*) and its

- shared history with tick vector (*Ixodes scapularis*) in the Northeastern United States. *Genetics*. 160(3):833-849.
- Ramos Castellanos, P. 2009. Cambio climático, un desafío a nuestro alcance? : XIII Jornadas Ambientales. Aquilafuente (151): 376 p. 9788478002733;
- Randolph, S. E. 2009. Tick-borne disease systems emerge from the shadows: the beauty lies in molecular detail, the message in epidemiology. *Parasitology*. 136(12):1403-13.
- Rodríguez-Vivas R.I., Laerte, G., Pérez, de L.A.A., Silva, V.H., Torres-Acosta, J.F. de J., Hugo, F.S., Romero, S.D., Rosario, C.R., Saldiernah, F., García, C.D. *Rev Mex Cienc Pecu* 2017; 8(1):61-74
- Rosado-Aguilar, J. A., Rodríguez-Vivas, R. I., García-Vázquez, Z., Fragoso-Sánchez, H., Ortiz-Najera A. and Rosario-Cruz. R. 2008. Development of amitraz resistance in field populations of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) undergoing typical amitraz exposure in the Mexican tropics. *Vet Parasitol* 152, (3-4): 349-53. 0304-4017 (Print)0304-4017 (Linking); 10.1016/j.vetpar.2007.12.026; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18242859>
- Rosario-Cruz, R. D., Guerrero F., R. J. Miller, R. I. Rodríguez-Vivas, M. Tijerina, D. I. Domínguez-García, R. Hernández-Ortiz, A. J. Cornel, R. D. McAbee and M. A. Alonso-Díaz. 2009. Molecular survey of pyrethroid resistance mechanisms in Mexican field populations of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Parasitol Res* 105, (4): 1145-53. 1432-1955 (Electronic)0932-0113 (Linking); 10.1007/s00436-009-1539-1; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19565267>
- SAGARPA-SENASICA. Situación zoonosanitaria la campaña para el control de la garrapata *Boophilus* spp en México. 2014.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. 1989. In vitro Amplification of DNA by the Polymerase Chain Reaction in: *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. NY, USA, chapter 14.
- Santos, V. T., Ribeiro, L., Fraga, A., de Barros, C. M., Campos, E., Moraes, J., Fontenele, M. R., Araújo, H. M., Feitosa, N. M., Logullo, C. and da Fonseca, R. N.. 2013. The embryogenesis of the tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: the establishment of a new chelicerate model system. *Genesis* 51, (12): 803-18. 1526-968X (Electronic) 1526-954X (Linking); 10.1002/dvg.22717; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24166799>
- Sattler, P. W., Hilburn, L. R., Davey, R. B., George, J. E. and J. B. Rojas Avalos. 1986. Genetic similarity and variability between natural populations and

- laboratory colonies of North American *Boophilus* (Acari: Ixodidae). *J Parasitol* 72, (1): 95-100. 0022-3395 (Print)0022-3395 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3712179>
- Scasta, J. D. , Talley, J. L., Engle, D. M. and Debinski, D. M.. 2017. Climate Extremes, Vegetation Change, and Decoupling of Interactive Fire-Grazing Processes Exacerbate Fly Parasitism of Cattle. *Environ Entomol* 46, (2): 191-200. 1938-2936 (Electronic)0046-225X (Linking); 10.1093/ee/nvw171; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28334188>
- Schnittger, L., Rodriguez, A. E., Florin-Christensen, M., and Morrison, D. A. (2012). *Babesia*: a world emerging. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(8), 1788-1809.
- Semenza, J. C., and Suk, J. E. 2017. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiol Lett* 1574-6968 (Electronic)0378-1097 (Linking); 10.1093/femsle/fnx244; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29149298>
- Silatsa B. A., Kuiate J. R., Njiokou F., Simo G., Feussom J. K., Tunrayo A., Amzati G. S., Bett B., Bishop R., Githaka N., Opiyo S. O., Djikeng A. and Pelle R. 2019. A countrywide molecular survey leads to a seminal identification of the invasive cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in Cameroon, a decade after it was reported in Cote d'Ivoire. *Ticks Tick Borne Dis.* 1877-9603 (Electronic)1877-959X (Linking). 10.1016/j.ttbdis.2019.02.002.
- Soberanes-Céspedes, N., Rosario-Cruz, R., Santamaría, V.M. and García-Vazquez, Z. (2005) General esterase activity variation in the cattle tick *Boophilus microplus* and its relationship with organophosphate resistance. *Tec Pecu Mex* 43:239–246.
- Sossai, S., Peconick, A. P P., Sales-Junior, A., Marcelino, F. C., Vargas, M. I., E. S. Neves and J. H. Patarroyo. 2005. Polymorphism of the *bm86* gene in South American strains of the cattle tick *Boophilus microplus*. *Exp Appl Acarol* 37, (3-4): 199-214. 0168-8162 (Print)0168-8162 (Linking); 10.1007/s10493-005-3262-7; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16323051> <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10493-005-3262-7>
- Sparagano, O. and Jongejan, F. 1999. Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens. *Parassitologia.* 41 Suppl 1(101-5).
- Sutherst, R. W. and Bourne, A. S. 2006. The effect of desiccation and low temperature on the viability of eggs and emerging larvae of the tick, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini) (Ixodidae). *Int J Parasitol* 36, (2): 193-200. 0020-7519 (Print)0020-7519 (Linking); 10.1016/j.ijpara.2005.09.007; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16300766>

- Tapia-Perez, G., Garcia-Vazquez, Z., Montaldo, H. and George, J. 2003. Inheritance of resistance to flumethrin in the Mexican Aldama strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol* 31, (1-2): 135-49. 0168-8162 (Print)0168-8162 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14756408>
- Temeyer, K. B., Olafson, P. U. and Pruett, J. H. 2012. Sequence polymorphism in acetylcholinesterase transcripts and genotyping survey of BmAChE1 in laboratory and Mexican strains of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *J Med Entomol.* 49(3):555-62.
- Thursfield, M. 2007. *Veterinary Epidemiology*. Wiley-Blackwell ISBN: 978-1-4051-5627-1;
- Tomassone, L., Nuñez, P., Ceballos, L., Gürtler, R., Kitron, U., Farber, M., Detection of *Candidatus rickettsia* sp. *Strain argentina* and *rickettsia bellii* in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) from northern Argentina (2011) *Exp Appl Acarol*, 52, pp. 93-100; <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84889854787&partnerID=40&md5=6c51386552b4f8cf4e3ba2d4e5d64c83>
- Townroe, S. and Callaghan, A. 2014. British container breeding mosquitoes: the impact of urbanisation and climate change on community composition and phenology. *PLoS One* 9, (4): e95325. 1932-6203 (Electronic)1932-6203 (Linking); 10.1371/journal.pone.0095325; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24759617> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3997353/pdf/pone.0095325.pdf>
- Ullmann, A. J., Lima, C. M., Guerrero, F. D., Piesman, J. and Black, W. C. T. 2005. Genome size and organization in the blacklegged tick, *Ixodes scapularis* and the Southern cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Mol Biol* 14, (2): 217-222. 0962-1075 (Print)0962-1075 (Linking); 10.1111/j.1365-2583.2005.00551.x; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15796755>
- Uilenberg, G., Thiaucourt, F. and Jongejans, F. 2004. On molecular taxonomy: what is in a name? *Exp Appl Acarol* 32, (4): 301-12. 0168-8162 (Print)0168-8162 (Linking); <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15176735>
- USDA. [https://www.aphis.usda.gov/import\\_export/downloads/presentations/Boophilus-tick.pdf](https://www.aphis.usda.gov/import_export/downloads/presentations/Boophilus-tick.pdf) accessed in January 2018.
- Velayutham, V., Shanmugavel, S., A. Munusamy and J. Sundaram. 2012. Detection of genetic variability in various isolates of cattle tick, *Boophilus microplus* from Tamil Nadu, India using PCR-RAPD analysis. *Exp Appl Acarol* 56, (4): 375-83. 1572-9702 (Electronic)0168-8162 (Linking); 10.1007/s10493-012-9524-2; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22349940>

- Werneck, F.P., Nogueira, C., Colli, G.R., Costa, G.C., Climatic stability in the Brazilian Cerrado: Implications for the biogeographical connections of South American savannas, species richness and conservation in a biodiversity hotspot (2012) *J Biogeogr*, 39, pp. 1695-1706;
- Wedderburn PA, Jagger TD, McCartan B, Hunter AG. Distribution of *Boophilus* species ticks in Swaziland. *Tropical animal health and production*. 1991;23(3):167-71.
- Ybanez, A. P.,. Perez, Z. O.,. Gabotero, S. R.,. Yandug, R. T. Kotaro, M.and Inokuma, H. 2012. First molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in ticks from dogs in Cebu, Philippines. *Ticks Tick Borne Dis* 3, (5-6): 288-93. 1877-9603 (Electronic)1877-959X (Linking); 10.1016/j.ttbdis.2012.10.032;  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23168049>