

EN

Prevalence and diagnosis of ixodicide resistance in cattle ticks in municipalities of Chiapas and Tabasco, Mexico

ES

Prevalencia y diagnóstico de resistencia a ixodicidas en garrapatas de ganado bovino en municipios de Chiapas y Tabasco, México

Abigail de la Cruz Díaz¹; Roberto González Garduño^{1*}; María Vila Pena²;

Roberto Omar Castañeda Arriola³; Ema Maldonado Simán⁴

¹Unidad Regional Universitaria Sursureste. Universidad Autónoma Chapingo, km 7.5 carretera Teapa-Vicente Guerrero. Teapa, Tabasco, México.

²Facultade de Medicina Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela. Carvalho Calero s/n. C. P. 27002, Lugo, España.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Campo experimental Pichucalco, Chiapas.

⁴Universidad Autónoma Chapingo. Postgrado de Zootecnia, km 38.5 carretera México- Texcoco, Chapingo, Texcoco, Estado de México.

*Corresponding author:

rgonzalezg@chapingo.mx

ORCID ID: 0000-0003-0333-7787

Received: February 21, 2023 /

Accepted: September 13, 2023

DOI:

10.5154/r.rchsagt.2023.03.09

Abstract

In warm climates, the main health problems in cattle are diseases caused by external parasites. The objective of the study was to determine the prevalence of cattle ticks in the humid tropics of Mexico and to perform *in vitro* resistance diagnosis to the main acaricides in *Amblyomma* ticks. The study was carried out in municipalities of the state of Tabasco and in the northern region of Chiapas. Ticks were collected for identification, including teleosts, from which larvae were obtained for the *in vitro* test. Once the larvae reached 21 days after egg hatching, commercial ixodicides were evaluated using the larval immersion technique, which consisted of exposing them for five minutes to different chemical products (Cypermethrin, Amitraz, Dichlorvos+Cypermethrin, Coumaphos) with different concentrations at maximum doses of 500 ppm and distilled water as a control. The tick species identified were: 57 % *Rhipicephalus microplus* and 43 % *Amblyomma cajennense*. Cattle showed a high tick prevalence (> 64 %). There was no risk factor associated with tick prevalence and they are considered endemic species in the region. Amitraz at a dose of 300 ppm showed a mortality of 50 %. Coumaphos had a LD₅₀ of 23 ppm, while with Dichlorvos+Cypermethrin it was 39 ppm. In the case of Cypermethrin, the LD₅₀ was 45 ppm. It is concluded that there is a high prevalence of the tick genera *R. microplus* and *A. cajennense* in cattle in municipalities of Chiapas and Tabasco, Mexico. The lethal dose obtained in the resistance test shows the effectiveness of Amitraz.

Keywords: Probit, *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, ticks, external parasites.

Resumen

En los climas cálidos los principales problemas sanitarios en la ganadería bovina son las enfermedades ocasionadas por parásitos externos. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de garrapatas de bovinos en el trópico húmedo de México y realizar el

diagnóstico de resistencia *in vitro* a los principales acaricidas en garrapatas Amblyomma. El estudio se llevó a cabo en municipios del estado de Tabasco y en la región norte de Chiapas. Se colectaron garrapatas para su identificación, entre ellas teleóginas, de las cuales se obtuvieron larvas para la prueba *in vitro*. Una vez que las larvas alcanzaron 21 días después de la eclosión del huevo, se realizó la evaluación de ixodicidas comerciales mediante la técnica de inmersión larval, que consistió en exponerlas por cinco minutos a los distintos productos químicos (Cipermetrina, Amitraz, Diclorvos+Cipermetrina, Coumaphos) con diferentes concentraciones a dosis máximas de 500 ppm y agua destilada como control. Las especies de garrapatas identificadas fueron: 57 % *Rhipicephalus microplus* y 43 % *Amblyomma cajennense*. El ganado mostró una alta prevalencia de garrapatas (>64 %). No hubo factor de riesgo asociado con la prevalencia de garrapatas y se consideran especies endémicas de la región. El Amitraz a dosis de 300 ppm mostró una mortalidad de 50 %. El Coumaphos tuvo una DL_{50} de 23 ppm, mientras que con el Diclorvos+Cipermetrina fue de 39 ppm. En el caso de la Cipermetrina la DL_{50} fue de 45 ppm. Se concluye que existe alta prevalencia de los géneros de garrapatas *R. microplus* y *A. cajennense* en bovinos de los municipios de Chiapas y Tabasco, México. La dosis letal obtenida en la prueba de resistencia muestra la baja efectividad del Amitraz.

Palabras clave: Probit, Amblyomma, Rhipicephalus, garrapatas, parásitos externos.

Introduction

In tropical and subtropical countries, external parasites (ticks, fleas and flies) are one of the main problems affecting productivity in cattle because of their direct effects on animal health and the diseases they transmit (Pérez de León et al., 2020; Rodríguez-Vivas, 2015).

Ticks in Mexico are represented by two families: the Argasidae (soft ticks) and the Ixodidae (hard ticks). The Argasidae include five genera: Argas, Antricola, Ornithodoros, Otobius and Nothoaspis, while the Ixodidae consider five genera: Ixodes, Amblyomma, Dermacentor, Haemaphysalis and Rhipicephalus (Pérez et al., 2014). Because of its economic and sanitary importance, the tick *Rhipicephalus microplus* is the ectoparasite that causes the greater problems in grazing livestock in tropical countries (Rodríguez-Vivas et al., 2014). There are other tick species with high prevalence such as *Otobius megnini* (family Argasidae) which has become very important in quarantine stations, where it is commonly found almost everywhere in the country when inspecting cattle (Rodríguez-Vivas et al., 2021). 14 species have been identified in cattle of economic interest in the world, the most important and frequently observed being *R. microplus* (Adjou Moumouni et al., 2018).

The direct effects of ticks are related to damage to the hides due to the action of the bite, blood loss and the effect of their toxins, which negatively affects weight gain and milk production of infested animals. On the other hand, external parasites transmit diseases and thus cause economic losses by reducing livestock

Introducción

En los países tropicales y subtropicales, los parásitos externos (garrapatas, pulgas y moscas) son uno de los principales problemas que afectan la productividad en el ganado bovino por sus efectos directos en la salud del animal y por las enfermedades que estos transmiten (Pérez de León et al., 2020; Rodríguez Vivas, 2015).

Las garrapatas en México están representadas por dos familias: La Argasidae (garrapatas blandas) y las Ixodidae (garrapatas duras). Los argásidos incluyen cinco géneros: Argas, Antricola, Ornithodoros, Otobius y Nothoaspis, mientras que las Ixodidae consideran cinco géneros: Ixodes, Amblyomma, Dermacentor, Haemaphysalis y Rhipicephalus (Pérez et al., 2014). Por su importancia económica y sanitaria, la garrapata *Rhipicephalus microplus* es el ectoparásito que causa los mayores problemas en la ganadería en pastoreo en países tropicales (Rodríguez-Vivas et al., 2014). Existen otras especies de garrapatas con alta prevalencia como *Otobius megnini* (familia Argasidae), la cual ha cobrado gran importancia en las estaciones cuarentenarias, donde al inspeccionar al ganado bovino se desprende y es común encontrarla en casi todo el país (Rodríguez-Vivas et al., 2021). Se han identificado 14 especies de garrapatas en ganado de interés económico en el mundo, resultando como la más importante y frecuentemente observada *R. microplus* (Adjou Moumouni et al., 2018).

Los efectos directos de las garrapatas están relacionados con el daño a las pieles por acción de la picadura, con la pérdida de sangre y el efecto de sus toxinas, lo

productivity and endangering the lives of the animals. The indirect effect is given by the transmission of infectious agents such as *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* (Fereig et al., 2017; Rodríguez-Vivas et al., 2006).

In Mexico, ticks are an economic problem especially in regions with warm climates, such as the southeast of our country (Rodríguez-Vivas et al., 2017). Due to the high prevalence of external parasites affecting bovine livestock and specifically the high incidence of ticks, it is necessary to determine the effectiveness of the main chemical used in the control of these parasites to reduce risks in livestock production.

Tick control is commonly carried out by means of acaricides products, applied by immersion, spraying, dorsal application or parenteral injection, but due to the frequent use of the product, resistance has developed in ticks (Agwunobi et al., 2021). The intensive use of chemicals as a control method with failures in the mode of application, concentration or wrong doses used, have been the reasons for the development of resistance in *R. microplus* (David Guerrero et al., 2012). The poor management of chemical products has been reflected in the high cost of treatments, which has led to the presence of parasite resistance to most of the chemicals used, increased of tick populations with resistance and ineffectiveness of control programs (Jongejan & Uilenberg, 2004).

Due to the risk of increasing rick resistance, a diagnosis is required to determine the efficacy of chemical products in the control of ticks in order to develop an acaricide program with the least use of products. Therefore, the objective of this study was to determine the prevalence of bovine ticks in the humid tropics of Mexico and to diagnose *in vitro* resistance to the main acaricides in Amblyomma ticks.

Methodology

Study area and sampling conditions

The experiment was conducted from August to December 2018. Eight cattle grazing production units were visited. The sampling areas considered municipality of Teapa in the state of Tabasco; and the municipalities of Salto de Agua and Pichucalco, state of Chiapas (Figure 1). The climate of the region is warm and humid with rainfall throughout the year. The average annual temperature is 27.8 °C and annual precipitation is 3 862.6 mm, with a summer rainfall regime and the presence of summer heat wave (AF (m) W i) and an average altitude of 80 masl (CONAGUA, 2021).

cual incide negativamente sobre la ganancia de peso y producción de leche de animales infestados. Por otra parte, los parásitos externos transmiten enfermedades y con ello causan pérdidas económicas al reducir la productividad del ganado y poner en riesgo la vida de los animales. El efecto indirecto, está dado por la transmisión de agentes infecciosos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* (Fereig et al., 2017; Rodríguez Vivas et al., 2006).

En México, las garrapatas son un problema económico especialmente en las regiones con climas cálidos, como es el sureste de nuestro país (Rodríguez-Vivas et al., 2017). Debido a la alta prevalencia de parásitos externos que afectan a la ganadería bovina y en concreto a la alta incidencia de garrapatas, es necesario determinar la efectividad de los principales productos químicos utilizados en el control de dichos parásitos para reducir los riesgos en la producción ganadera.

El control de las garrapatas se realiza comúnmente mediante productos acaricidas, aplicados mediante sistemas de inmersión, aspersión, aplicación dorsal o por inyección parenteral, pero debido al uso frecuente de los productos se ha desarrollado resistencia en las garrapatas (Agwunobi et al., 2021). El uso intensivo de productos químicos como método de control con fallas en el modo de aplicación, concentración o dosis erróneas utilizadas, han sido las razones para el desarrollo de resistencia en *R. microplus* (David Guerrero et al., 2012). El mal manejo de los productos químicos se ha reflejado en el alto costo de los tratamientos, lo que ha conducido a la presencia de resistencia de los parásitos a la mayoría de los químicos utilizados, aumento de poblaciones de garrapatas con resistencia e ineeficacia de los programas de control (Jongejan y Uilenberg, 2004).

Debido a lo riesgoso de seguir incrementando la resistencia en garrapatas, se requiere realizar un diagnóstico que permita conocer la eficacia de los productos químicos en el control de garrapatas para desarrollar un programa de desparasitación con el menor uso de productos. Por lo anterior, el objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de garrapatas de bovinos en el trópico húmedo de México y realizar el diagnóstico de resistencia *in vitro* a los principales acaricidas en garrapatas Amblyomma.

Metodología

Área de estudio y condiciones de muestreo

El experimento se llevó a cabo de agosto a diciembre del 2018. Se visitaron ocho unidades de producción

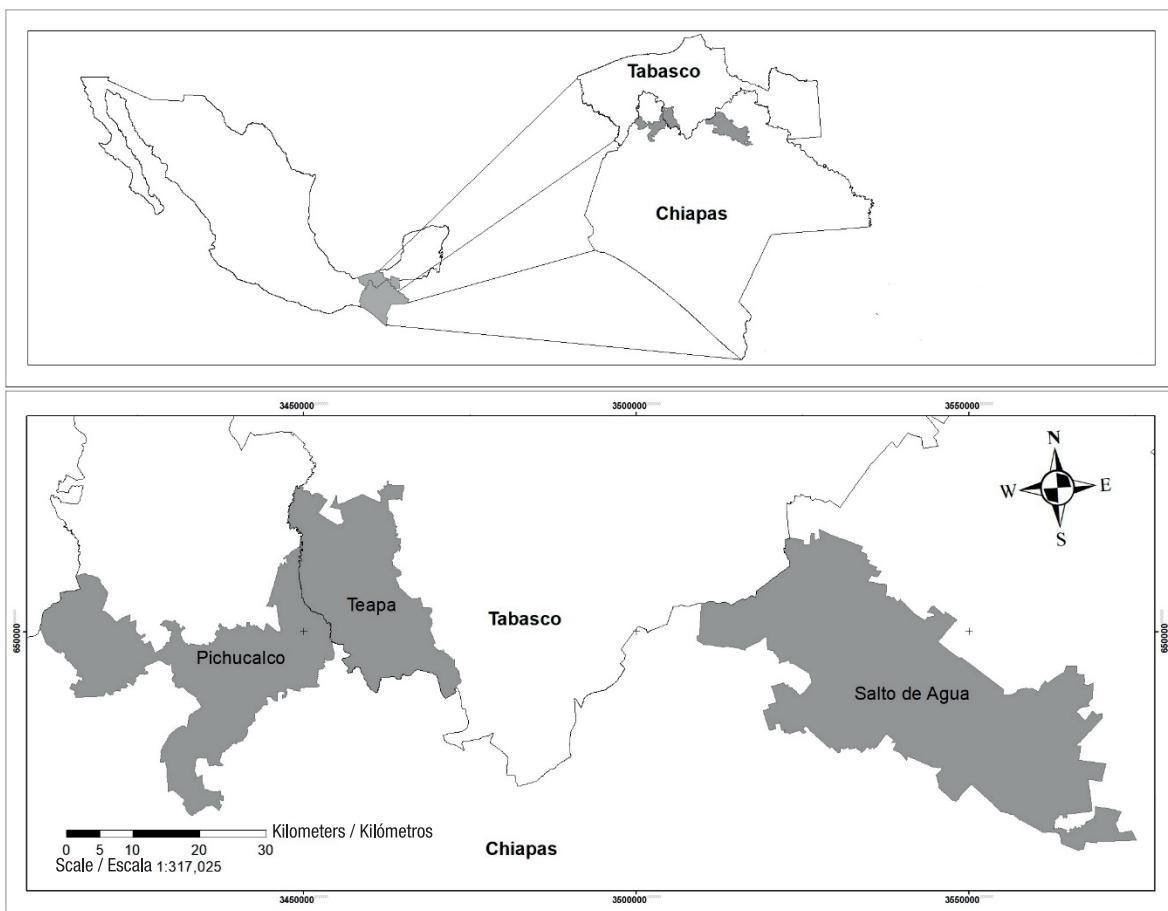


Figure 1. Map of the study area to determine the prevalence of ticks in northern Chiapas and Tabasco, Mexico.

Figura 1. Mapa de la zona de estudio para determinar la prevalencia de garrapatas en el norte de Chiapas y Tabasco, México

Determination of the prevalence and diagnosis of resistance to ixodicides

Cattle included in the study were not treated for ticks for at least 30 days prior to sampling. The cattle were grazing in pastures containing native and introduced forages. The breed of the animals consisted of zebu and their crosses with European (Martínez-Tinajero et al., 2006). Adult ticks (teleosts) were collected from different anatomical regions of naturally infested cattle. The adult ticks were carefully collected, in such a way that the head was not detached from the rest of the body. The samples were then transferred to the animal health laboratory for processing.

To determine the tick prevalence, the evaluation was carried out by determining the presence or absence of ticks. The number of animals in each of the production units under study is shown in Table 1.

The study variables were coded to fit the response to a binomial model with two possible outcomes presence (1) and absence of ticks (0). The physiography of the

de bovinos en pastoreo. Las áreas de muestreo consideraron al municipio de Teapa del estado de Tabasco; y los municipios de Salto de agua y Pichucalco, estado de Chiapas (Figura 1). El clima de la región es cálido húmedo con lluvias todo el año. La temperatura promedio anual es de 27.8 °C y una precipitación de 3862.6 mm anuales, con régimen de lluvias en verano y presencia de canícula (Af (m) w i) y una altitud promedio de 80 msnm (CONAGUA, 2021).

Determinación de la prevalencia y diagnóstico de resistencia a ixodicidas

Los bovinos que se incluyeron en el estudio no tuvieron tratamiento contra garrapatas al menos durante los 30 días previos al muestreo. El ganado se encontraba en pastoreo, en potreros que contenían forrajes nativos e introducidos. La raza de los animales estaba conformada por ganado cebú y sus cruzas con europeos (Martínez-Tinajero et al., 2006). Se colectaron garrapatas adultas (teleóginas) de diferentes regiones anatómicas de bovinos infestados de manera natural. Las garrapatas adultas se colectaron cuidadosamente,

Table 1. Number of cattle and location of the production units sampled for ticks prevalence.**Cuadro 1. Número de bovinos y localización de las unidades de producción muestreadas para detectar la prevalencia de garrapatas.**

Production units / Unidades de producción	Date / Fecha	Municipality / Municipio	State / Estado	Female / Hembras	Male / Machos
UP1	09/14/2018	Teapa	Tabasco	26	6
UP2	10/08/2018	Teapa	Tabasco	18	0
UP3	10/15/2018	Pichucalco	Chiapas	29	0
UP4	10/16/2018	Pichucalco	Chiapas	17	0
UP5	10/24/2018	Pichucalco	Chiapas	15	1
UP6	11/08/2018	Teapa	Tabasco	18	2
UP7	11/13/2018	Teapa	Tabasco	14	0
UP8	11/26/2018	Teapa	Tabasco	25	0
UP9	12/17/2018	Salto de Agua	Chiapas	23	0

terrain was: flood zones with clay soils and highlands that were wills with slopes less than 35 ° (Zavala Cruz et al., 2016). In sex, females and males were recorded.

Identification of tick species

For tick species identification, 290 adult ticks and some nymphs were collected and preserved in 70 % ethyl alcohol; the samples were grouped by ranch and subsequently identified morphologically with the aid of stereoscopic microscope. Ticks were identified according to the taxonomic keys cited by Rodríguez Vivas (2015).

Ixodicide resistance assessment

About 50 teleogyns were collected and placed in plastic jars with perforated screws caps to keep them alive. The samples were then taken to the URUSSE Animal Health laboratory, where they were placed in plastic Petri dishes with perforated lids. The ticks were kept at room temperature (about 27 ± 2 °C) until oviposition. After oviposition (60 days later), the eggs were placed in test tubes sealed with absorbent cotton to maintain larvae after egg hatching. Subsequently, the larvae were waited until they reached 21 days of age to evaluate the treatments.

The test used to diagnose resistance to ixodicides was performed using the modified larval immersion technique described by Rodríguez Vivas (2015). This technique consisted of exposing tick larvae for 5 minutes to different concentrations of a chemical. The filling of packages started with the negative controls (distilled water), following with the lowest concentration to finish with the highest concentration. To place

de tal manera que no se les desprendiera la cabeza del resto del cuerpo. Posteriormente las muestras fueron trasladadas al laboratorio de sanidad animal para su procesamiento.

Para conocer la prevalencia de garrapatas, la evaluación se realizó determinando la presencia o ausencia de garrapatas. El número de animales en cada una de las unidades de producción bajo estudio se muestra en el Cuadro 1.

Las variables de estudio se codificaron para ajustar la respuesta a un modelo binomial con dos posibles resultados presencia (1) y ausencia de garrapatas (0). La fisiografía del terreno fue: zonas inundables con suelos arcillosos y lomeríos que eran colinas con pendientes menores a 35 ° (Zavala Cruz et al., 2016). En el sexo, se registraron hembras y machos.

Identificación de la especie de garrapata

Para la identificación de la especie de garrapatas se colectaron 290 garrapatas adultas y algunas ninfas que fueron preservadas en alcohol etílico al 70 %; las muestras fueron agrupadas por cada rancho y posteriormente se identificaron morfológicamente con ayuda de un microscopio estereoscópico. La identificación de las garrapatas se realizó de acuerdo con las claves taxonómicas citadas por Rodríguez Vivas (2015).

Evaluación de la resistencia a los ixodicidas

Se colectaron cerca de 50 teleóginas y se colocaron en frascos de plástico con tapas de rosca perforadas para mantenerlas vivas. Posteriormente las muestras se llevaron al laboratorio de Sanidad Animal de la

the larvae inside the package, a brush and a dissecting needle were used and approximately 100 larvae were taken, laced on filter paper sealed at the ends with metal clips and immersed in each dilution. After five minutes of immersion, the larvae in the packages were placed in a clean tray and placed in an incubation oven at 27 °C, with a relative humidity of 80 %, where they remained for 24 hours.

Experimental design and statistical analysis

The treatments used in the resistance test were as indicated in Table 2.

To determine the tick prevalence (Number of tick-positive animals/total number of animals observed) the SAS proc means was used and for the analysis of risk factors the proc logistic was used, which was carried out after the organization of a database in Excel.

To calculate larval mortality, the following formula was used:

$$\% \text{ of larval mortality} = (\text{dead larvae} / \text{total larvae}) \times 100$$

With the data obtained, PROBIT analysis was performed to obtain the lethal concentration 50 (LC_{50}) and lethal concentration 99 (LC_{99}). The SAS program (SAS, 2017) was used based on the following model: $Pr(\text{Response}) = Z + (1-Z) F(x'\beta) = Z + (1-Z) \Phi(b_0 + b_1 x \log_{10}(\text{Doses}))$. Where β is a vector of estimated parameters. F is a cumulative (Normal) distribution function. X is a vector of explanatory variables. Pr is the probability of a response. Z is the natural response rate (proportion of individuals responding to zero dose).

URUSSE, en donde se colocaron en cajas de Petri de plástico con tapas perforadas. Las garrapatas se mantuvieron a temperatura ambiente (cerca de 27 ± 2 °C) hasta la oviposición. Concluida la oviposición (60 días después), los huevos se colocaron en tubos de ensayo sellados con algodón, para mantener las larvas después de la eclosión. Posteriormente, se esperó que las larvas alcanzaran los 21 días de edad para realizar la evaluación de los tratamientos.

La prueba utilizada para diagnosticar la resistencia a los ixodídos se realizó mediante la técnica de inmersión larval modificada descrita por Rodríguez Vivas (2015). Esta técnica consistió en la exposición por 5 minutos de las larvas de garrapatas a distintas concentraciones de un químico. El llenado de paquetes se inició con los controles negativos (agua destilada), siguiendo con la concentración más baja para terminar con la más alta. Para colocar las larvas dentro del paquete se utilizó un pincel y una aguja de disección y se tomaron aproximadamente 100 larvas, colocándolas en papel filtro sellado en los extremos con broches de metal y sumergiéndolas en cada dilución. Después de cinco minutos de inmersión, las larvas en los paquetes se colocaron en una charola limpia y se introdujeron en una estufa de incubación a 27 °C, con una humedad relativa de 80 %, donde permanecieron por 24 horas.

Diseño experimental y análisis estadístico

Los tratamientos utilizados en la prueba de resistencia fueron los indicados en el Cuadro 2.

Para conocer la prevalencia de garrapatas (Número de animales positivos a garrapatas/total de animales

Table 2. Ixodicides used in the resistance test in *Amblyomma*.
Cuadro 2. Ixodídos utilizados en la prueba de resistencia en *Amblyomma*.

Commercial product / Producto comercial	Active ingredient / Ingrediente activo	Concentration / Concentración	Doses used / Dosis usadas
Ticoff ®	Emulsifying Cypermethrin / Cipermetrina emulsificante	20 %	0-500 ppm
Bovitraz	Emulsifying Amitraz / Amitraz emulsificante	12.5 %	0-450 ppm
Resifum	Dichlorvos+Cypermethrin / Diclorvos+Cipermetrina	20 % + 4.5 %	0-200 ppm + 0-50 ppm
Asuntol	Coumaphos	20 %	0-350 ppm
Control	Distilled water / Agua destilada	0	0

Results

Identification of ticks found

The tick species identified were: 57 % *R. microplus* and 43 % *A. cajennense*. High variability was observed between production units in the prevalence of the two tick species found. Of the eight production units studied, the presence of ticks was observed in seven, while in one production unit no ticks were found. In six production units *R. microplus* was observed with prevalences of 15 to 90 %, while in only five production units *A. cajennense* was found, with prevalences of 10 to 90 %.

Tick prevalence

The prevalence of tick in the animals under study was very high; it was possible to determine, according to the physiography of the production units, that 78.7 % of the animals were infested with ticks in the highland areas, compared to 64 % of the animals that presented ticks in the lowland areas. In males there was 82.6 % prevalence, a value slightly higher than that observed in females (75 %). In three production units all animals were infested with ticks and only in one production was the presence of ticks not recorded. Despite the numerical differences in prevalence among the different factors studied, there was no statistical difference

observados) se utilizó el proc means del SAS y para el análisis de los factores de riesgo se utilizó el proc logistic, el cual se realizó posterior a la organización de una base de datos en Excel.

Para calcular la mortalidad larvaria se empleó la fórmula

$$\% \text{ de mortalidad larvaria} = (\text{larvas muertas} / \text{larvas totales}) \times 100$$

Con los datos obtenidos se realizó el análisis PROBIT para obtener la concentración letal 50 (CL_{50}) y la concentración letal 99 (CL_{99}). Se utilizó el programa SAS (SAS, 2017) con base en el siguiente modelo: $Pr(\text{Respuesta}) = Z + (1-Z) F(x'\beta) = Z + (1-Z) \Phi(b_0 + b_1 \log_{10}(\text{Dosis}))$. Dónde: β es un vector de parámetros estimados. F es una función de distribución acumulativa (Normal). X es un vector de variables explicativas. Pr es la probabilidad de una respuesta. Z es la tasa de respuesta natural (proporción de individuos que responden a la dosis cero).

Resultados

Identificación de garrapatas encontradas

Las especies de garrapatas identificadas fueron: 57 % *R. microplus* y 43 % *A. cajennense*. Se observó alta variabilidad entre las unidades de producción

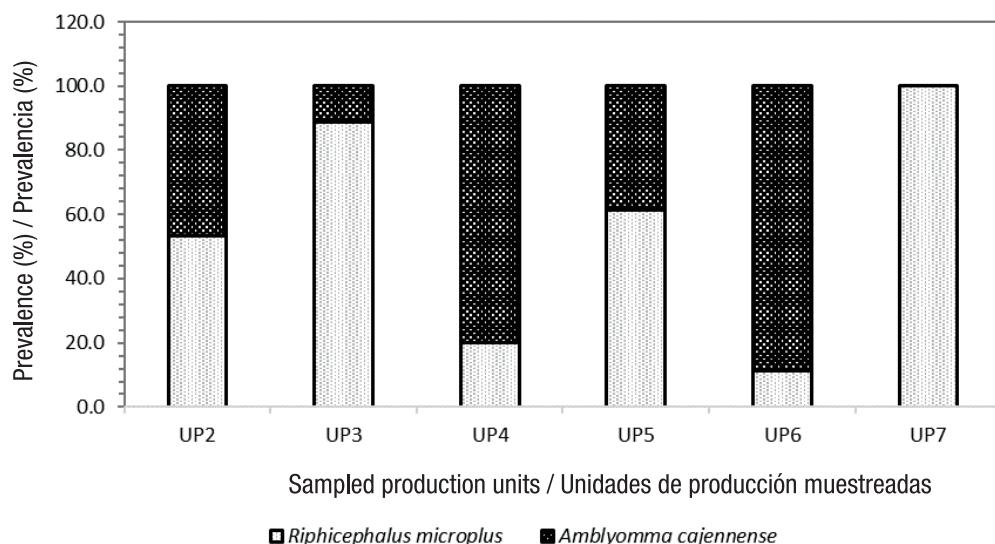


Figure 2. Prevalence of *Rhipicephalus microplus* and *Amblyomma cajennense* ticks in tick-positive production units.

Figura 2. Prevalencia de garrapatas *Rhipicephalus microplus* y *Amblyomma cajennense* en las unidades de producción positivas a garrapatas.

($P > 0.05$), so the presence of ticks did not depend on the study variables and tick infestation was very high regardless of the study factors analyzed in this work (Table 3).

Table 4 shows the regression coefficients for each variable, the corresponding standard error, the probability value for the hypothesis planned and the relative risk. With the results observed, it was determined that the response variable does not depend on the location of the production units, nor on the breeds used, showing that having the animals in a high or low area does not present a greater or lesser presence of ticks; likewise, with the types of breeds used and the production units in which they are located. An odds ratio of 2.12 for the zebu breed means that there is a 2.12 higher relative risk of having a lower presence of ticks. However, the probability was 0.06, so there is no difference in the

en la prevalencia de las dos especies de garrapatas encontradas. De las ocho unidades de producción estudiadas, en siete se observó la presencia de garrapatas, mientras que en una unidad de producción no se encontraron garrapatas. En seis unidades de producción se observó *R. microplus* con prevalencias de 15 hasta 90 %, mientras que solamente en cinco unidades de producción se encontró *A. cajennense*, con prevalencias 10 a 90 %.

Prevalencia de garrapatas

La prevalencia de garrapatas en los animales bajo estudio fue muy alta; se pudo determinar de acuerdo con la fisiografía de las unidades de producción, que en la zona de lomeríos 78.7 % de animales estaban infestados con garrapatas, en comparación con un 64 % de los animales que presentaron garrapatas en las zonas

Table 3. Tick prevalence in cattle according to physiographic zone, animal gender, production unit and breed in a warm humid climate.

Cuadro 3. Prevalencia de garrapatas en bovinos de acuerdo a la zona fisiográfica, el género del animal, la unidad de producción y la raza en un clima cálido húmedo.

Class / Clase	Value / Valor	Ticks / Garrapatas		
		Presence (%) / Presencia (%)	Absence (%) / Ausencia (%)	Total
Physiographic zone / Zona fisiográfica	Lowlands / Bajos	64(64.0)	36(36.0)	100
	Highlands / Lomeríos	271(78.7)	73(21.2)	344
Gender / Género	Males / Machos	19(82.61)	4(17.4)	23
	Females / Hembras	316(75.0)	105(24.9)	421
Ranch / Rancho	UP1	40(55.5)	32(44.4)	72
	UP2	64(92.7)	5(7.2)	69
	UP3	123(77.3)	36(22.6)	159
	UP4	27(100.0)	0(0.0)	27
	UP5	27(100.0)	0(0.0)	27
	UP6	14(73.7)	5(26.3)	19
	UP7	40(100)	0(0.0)	40
	UP8	0(0.0)	31(100.0)	31
Breed / Raza	Zebu / Cebuina	46(86.7)	7(13.2)	53
	Mixed / Cruza	66(57.3)	49(42.6)	115
	European / Europeas	131(82.3)	28(17.6)	159
	Synthetics / Sintéticas	89(78.7)	24(25.0)	113

Table 4. Study variables affecting the prevalence of ticks.**Cuadro 4. Variables de estudio que inciden en la prevalencia de garrapatas.**

Parameter / Parámetro	DF	Estimator / Estimador	Standard Error / Error Estándar	Chi-square Wald / Chi-cuadrado de Wald	Pr	Odds Ratio	LC 95 %
Intercept / Intercepto	1	13.42	107	0.01	0.90		
Physiographic zone / Zona fisiográfica	1	-37.98	205.5	0.03	0.85	<0.001	<0.001->999.9
Gender / Género	1	0.26	0.51	0.27	0.60	1.30	0.4-3.6
Production units / Unidades de producción							
R1	1	-24.54	150.2	0.02	0.87	<0.001	<0.001->999.9
R2	1	26.53	175.4	0.02	0.87	>999.9	<0.001->999.9
R3	1	-12.44	107	0.01	0.90	<0.001	<0.001->999.9
R4	1	-0.18	168.6	0	0.99	0.82	<0.001->999.9
R5	1	-0.08	169.7	0	0.99	0.91	<0.001->999.9
R6	1	-12.73	107	0.01	0.90	<0.001	<0.001->999.9
R7	0	0					
Breed / Raza							
Zebu / Cebuina	1	0.75	0.40	3.49	0.06	2.12	0.9-4.6
Mixed / Cruza	1	11.32	105.4	0.01	0.91	>999.9	<0.001->999.9
European / Europeas	1	0.24	0.29	0.68	0.40	1.27	0.7- 2.2
Not defined / No definida	1	0.13	0.91	0.02	0.88	1.14	0.1-6.8

presence of ticks in relation to the other breeds. The same is true for the production units. It also does not matter if it is a highland or flood zone, and sex did not show differences in the probability of tick infestation.

Resistance to ixodicides

All the products used showed a highly significant regression slope ($P < 0.01$) so they had a dose-dependent behavior. Amitraz showed a mortality of 50 % with a dose of 300 mg L^{-1} (ppm), the 99 % lethal concentration was 440 ppm. With Coumaphos to have 50 % mortality of larvae, a concentration of 23 ppm was needed and the 99 % lethal concentration was 330 ppm. With Dichlorvos+Cypermethrin, a concentration of 39 ppm and the LC₉₉ was 190 ppm. In the case of Cypermethrin, the LD₅₀ was 45 ppm and caused 99 % with 480 ppm (Table 5).

The slope for all the products used was significant, indicating that, as the concentration increased, there was an increase in larval mortality. Coumaphos and

bajas. En los machos se presentó un 82.6 % prevalencia, valor ligeramente superior al observado en las hembras (75 %). En tres unidades de producción todos los animales estuvieron infestados de garrapatas y solo en una unidad de producción no se registró la presencia de garrapatas. A pesar de las diferencias numéricas en la prevalencia entre los diferentes factores estudiados, no hubo diferencia estadística ($P > 0.05$), por lo que la presencia de garrapatas no dependió de las variables de estudio y la infestación con garrapatas muy alta independientemente de los factores de estudio analizados en este trabajo (Cuadro 3).

El Cuadro 4 muestra los coeficientes de regresión para cada variable, el error estándar correspondiente, valor de probabilidad para la hipótesis planteada y el riesgo relativo. Con los resultados observados se determinó que la variable respuesta no depende de la ubicación de las unidades de producción, ni de las razas empleadas, evidenciando que al tener los animales en zona alta o baja no presentan mayor o menor presencia de garrapatas; de igual manera con los tipos de razas utilizadas y unidades de producción en los

Table 5. Probit equations, regression coefficients and the lethal dose (ppm) at 50 and 99 of Coumaphos, Amitraz, Cypermethrin and Dichlorvos+Cypermethrin against tick larvae.**Cuadro 5. Ecuaciones Probit, coeficientes de regresión y la dosis letal (ppm) al 50 y 99 de Coumaphos, Amitraz, Cipermetrina, e Diclorvos+Cipermetrina contra larvas de garrapatas.**

Product / Producto	Probit equation / Ecuación Probit	β_0	β_1	LD_{50} / DL_{50} mg·L ⁻¹	LD_{99} / DL_{99} mg·L ⁻¹
Coumaphos	Pr=3.3+2.02(Log10 (concentration)) / Pr=3.3+2.02(Log10 (concentración))	**	**	23	330
Amitraz	Pr=7.2+13.9(Log10 (concentration)) / Pr=7.2+13.9(Log10 (concentración))	**	**	300	440
Cypermethrin / Cipermetrina	Pr=3.03+2.3(Log10 (concentration)) / Pr=3.03+2.3(Log10 (concentración))	**	**	45	480
Dichlorvos + Cypermethrin / Diclorvos + Cipermetrina	Pr=4.7+3.3(Log10 (concentration)) / Pr=4.7+3.3(Log10 (concentración))	**	**	39	190

β_0 : Ordinate to the origin; β_1 : Regression slope; LD_{50} : Median lethal dose; LD_{99} : Lethal dose 99; **: Highly significant.

β_0 : Ordenada al origen; β_1 : Pendiente de regresión; DL_{50} : Dosis letal media; DL_{99} : Dosis letal 99; **: Altamente significativo.

Dichlorvos+Cypermethrin showed the highest effectiveness against tick larvae, while the curve shifted to the right corresponded to Amitraz, so the doses required for tick control were higher, as shown in Figure 3.

Discussion

For the study area that includes Chiapas and Tabasco, the prevalent species were *R. microplus* and *A. cajennense*, which are very abundant according to the previous studies in the country and in the region (Rodríguez Vivas et al., 2019).

In vitro resistance studies on ticks generally include mortality tests on larval packs and toxicity on teleosts by immersion (González-Coloma et al., 2013). In this study, the four main chemicals (Coumaphos, Amitraz, Cypermethrin and Dichlorvos+Cypermethrin), which are frequently used in tropical areas of Mexico for the control of the main tick species of cattle such as: *R. microplus* and *Amblyomma* spp (Alonso-Díaz et al., 2006; Domínguez García et al., 2016).

The issue of tick resistance is serious in many countries, especially in tropical and subtropical areas (Dzemo et al., 2022). In Tamaulipas, Mexico, it was found that ticks show resistance to most of the chemicals used. In the case of organophosphates, the effectiveness was always below 31 %, as we all permethrins, which presented resistance in 78 % of the cases, and in some units the resistance reached 100% of the individuals (Armendáriz González, 2003). Similarly in this study,

que se encuentran. Un odds ratio de 2.12 de la raza cebuina significa que existe 2.12 más de riesgo relativo de presentar una menor presencia de garrapatas. Sin embargo, la probabilidad fue 0.06, por lo que no hay diferencias en la presencia de garrapatas en relación con las otras razas. De la misma manera ocurre con las unidades de producción. Tampoco importa si es lomerío o es zona inundable, así también el sexo no mostró diferencias en la probabilidad de infestación de garrapatas.

Resistencia a los ixodíidas

Todos los productos utilizados mostraron una pendiente de regresión altamente significativa ($P < 0.01$) por lo que tuvieron un comportamiento dosis dependiente. El Amitraz mostró una mortalidad del 50 % con una dosis de 300 mg·L⁻¹ (ppm), la concentración letal 99 % fue 440 ppm. Con el Coumaphos para tener una mortalidad de 50 % de las larvas, se necesitó una concentración de 23 ppm y la concentración letal al 99 % de 330 ppm. Con el Diclorvos+Cipermetrina se encontró que para reducir la mortalidad de larvas al 50 % se necesitó una concentración de 39 ppm, y la CL_{99} fue de 190 ppm. En el caso de la Cipermetrina la DL_{50} fue de 45 ppm y provocó una mortalidad de 99 % con 480 ppm (Cuadro 5)

La pendiente para todos los productos utilizados fue significativa, lo que indica que, conforme se incrementó la concentración, ocurrió un aumento en la mortalidad de larvas. El Coumaphos y el Diclorvos+Cipermetrina mostraron la mayor efectividad contra

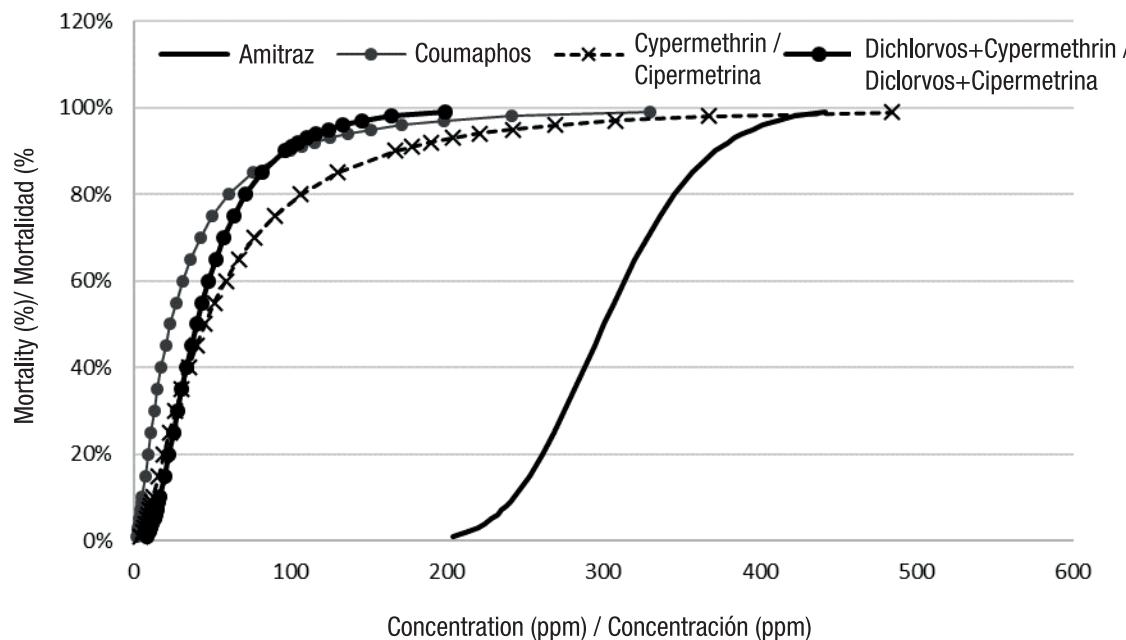


Figure 3. Comparative results in the mortality of tick larvae in the *in vitro* test using Amitraz, Cypermethrin, Dichlorvos+Cypermethrin and Coumaphos.

Figura 3. Resultados comparativos en la mortalidad de larvas de garrapatas en la prueba *in vitro* utilizando Amitraz, Cipermetrina, Diclorvos+Cipermetrina y Coumaphos.

the *in vitro* mortality test carried out with the larval immersion technique indicate that all the products used had a dose-dependent response. However, the doses used were very high for permethrin and Amitraz, which suggests resistance to these products. The results obtained highlight the importance of the proper use of ixodicides and, therefore, the need for a control system to avoid the spread of resistance.

Coumaphos is a product widely used in tick control in many parts of the world (Ravindran et al., 2018). Regarding resistance to ixodicides, initially resistance to Coumaphos and later to Amitraz was presented (Treviño, 2013). In Venezuela, the low efficacy of Coumaphos was also demonstrated by not finding differences in mortality of adult ticks using concentrations of 125 to 2 000 ppm and the increase in Coumaphos concentration was not directly proportional to efficacy, therefore, they concluded that adult *R. microplus* resulted resistant to Coumaphos; however, 100 % mortality was observed in larvae with 500 ppm. Similarly in this study, Coumaphos was found to be effective in causing 99 % larval mortality (LD_{50}) at $0.33 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ (330 ppm). However, the LD_{50} found in the present study (23 ppm) is high compared to that indicated for this product on some tick strains of *R. microplus* (3 to 19 ppm) (Kumar et al., 2015).

larvas de garrapata, mientras que la curva desplazada a la derecha correspondió al Amitraz, por lo que las dosis que se requiere para el control de las garrapatas fue mayor, tal como se muestra en la Figura 3.

Discusión

Para la zona de estudio que incluye a Chiapas y Tabasco, las especies prevalentes fueron *R. microplus* y *A. cajennense*, las cuales son muy abundantes de acuerdo con los estudios previos en el país y en la región (Rodríguez Vivas et al., 2019).

Los estudios de resistencia *in vitro* en garrapatas incluyen generalmente ensayos de mortalidad sobre paquetes larvarios y toxicidad sobre teleóginas por inmersión (González-Coloma et al., 2013). En este estudio se evaluaron los cuatro principales productos químicos (Coumaphos, Amitraz, Cipermetrina e Diclorvos+Cipermetrina), que se utilizan de manera frecuente en las zonas tropicales de México para el control de las principales especies de garrapatas del ganado como son: *R. microplus* y *Amblyomma* spp (Alonso-Díaz et al., 2006; Domínguez García et al., 2016).

El tema de resistencia en garrapatas es grave en muchos países, especialmente los de zonas tropicales

In research carried out in the state of Tabasco, it was observed that Amitraz achieved 25 % of mortality in larvae when using a reference concentration of 0.0002 % in a larval immersion test (Soberanes Céspedes et al., 2002). In the same sense, the results obtained indicate that the LD₅₀ (0.3 mg·mL⁻¹ or 300 ppm) corresponds to a high dose in comparison with the values recommended by the manufacturer (200-250 ppm), so that resistance to this product is presumed. The LD₉₉ of this product was also very high (0.44 mg·mL⁻¹ or 440 ppm) and exceeds the reference confidence limits indicated in the first resistance study carried out in Mexico with Amitraz (Soberanes Céspedes et al., 2002). In Colombia, Amitraz (208 ppm) has a maximum effectiveness reached of only 50 % with the immersion test of adult *R. microplus* ticks (Villar et al., 2016).

Resistance to pyrethroids has developed to a great extent in the world (Van Wik et al., 2016), in Colombia using two pyrethroids (Deltamethrin and Cypermethrin combined with piperonyl-butoxide), they obtained low efficacy of this acaricides. Deltamethrin was only 31.35 % effect at 50 ppm, which was twice the rate recommended by the commercial company. Cypermethrin (150 ppm) combined with piperonyl-butoxide (150 ppm) reached a maximum efficacy between 16-25 % (Villar et al., 2016). In the present study the lethal dose 50 was 0.045 mg·mL⁻¹ (45 ppm) and the LD₉₉ was 0.48 mg·mL⁻¹ (480 ppm), so the dose obtained to cause mortality of 99 % of the population also exceeded the one indicated as recommended which is 0.02 % or 200 ppm (Soberanes Céspedes et al., 2002). In Yucatan, Mexico, a highly resistance strains was identified using Cypermethrin. When the level of resistance was determined with the LC₅₀, 32.3 % resistant and 67.7 % susceptible were found; however, with LC₉₉, 74.3 % resistant and 25.8 % susceptible were found (Cabrera-Jiménez et al., 2008). Similarly, stable results were obtained for this product with 48 % susceptible and 52 resistant to this product.

Conclusions

Cattle showed high prevalence of ticks (64 %) *Rhipicephalus microplus* and *Amblyomma cajennense* in the municipalities of Teapa, Tabasco, and Pichucalco, Chiapas. All the factors studied (physiography of the place, the management of the animals in the production unit and the breeds presented) presented similar risk in the presence of ticks.

According to the mean lethal doses 50 and 99, only Coumaphos had greater efficacy against tick larvae, while Amitraz, Dichlorvos+Cypermethrin and Cypermethrin showed low efficacy in causing larval mortality,

y subtropicales (Dzemo et al., 2022). En Tamaulipas, México, se encontró que las garrapatas presentan resistencia a la mayoría de los productos químicos utilizados. En el caso de los organofosforados la efectividad estuvo siempre por debajo de 31 % al igual que las permetrinas que presentaron resistencia en el 78 % de los casos y en algunas unidades la resistencia alcanzó el 100 % de los individuos (Armendáriz González, 2003). De manera similar en este estudio, las pruebas de mortalidad *in vitro* realizadas con la técnica de inmersión larval, indican que todos los productos utilizados tuvieron una respuesta dosis dependiente. Sin embargo, las dosis utilizadas fueron muy altas en las permetrinas y Amitraz, por lo que se presupone resistencia a estos productos. Los resultados obtenidos resaltan la importancia del uso adecuado de los ixodícidos y, por tanto, la necesidad de un sistema de control para evitar la propagación de la resistencia.

El Coumaphos es un producto ampliamente utilizado en el control de garrapatas en muchas partes del mundo (Ravindran et al., 2018). En cuanto a la resistencia a ixodícidos, inicialmente se presentó resistencia al Coumaphos y posteriormente al Amitraz (Treviño, 2013). En Venezuela también se demostró la baja eficacia del Coumaphos al no encontrarse diferencias de mortalidad de garrapatas adultas utilizando concentraciones de 125 a 2000 ppm y el incremento de la concentración de Coumaphos no fue directamente proporcional a la eficacia, por lo que, concluyeron que los adultos de *R. microplus* resultaron resistentes al Coumaphos; sin embargo, se observó un 100 % de mortalidad en larvas con 500 ppm. De manera similar en este estudio se encontró que el Coumaphos tuvo efectividad al provocar una mortalidad larvaria del 99 % (DL₉₉) a 0.33 mg·mL⁻¹ (330 ppm). Sin embargo, la DL₅₀ encontrada en el presente estudio (23 ppm) es alta en comparación a la indicada para este producto en algunas cepas de garrapatas de *R. microplus* (3 a 19 ppm) (Kumar et al., 2015).

En investigaciones realizadas en el estado de Tabasco, se observó que con Amitraz se consiguió un 25 % de mortalidad en larvas al utilizar una concentración de referencia de 0.0002 % en una prueba de inmersión larval (Soberanes Céspedes et al., 2002). En este mismo sentido, los resultados obtenidos indican que la DL₅₀ (0.3 mg·mL⁻¹ o 300 ppm) corresponde a una dosis alta en comparación con los valores recomendados por el fabricante (200-250 ppm) por lo que se presume resistencia a ese producto. La DL₉₉ de este producto también fue muy alta (0.44 mg·mL⁻¹ o 440 ppm) y sobrepasa los límites de confianza de referencia indicados en el primer estudio de resistencia realizado en México con Amitraz (Soberanes Céspedes et al., 2002). En

which leads to the conclusion that they present resistance to these products.

End of English version

References / Referencias

- Adjou Moumouni, P. F., Aplogan, G. L., Katahira, H., Gao, Y., Guo, H., Efstratiou, A., Jirapattharasate, C., Wang, G., Liu, M., Ringo, A. E., Umemiya-Shirafuji, R., Suzuki, H., y Xuan, X. (2018). Prevalence, risk factors, and genetic diversity of veterinary important tick-borne pathogens in cattle from *Rhipicephalus microplus*-invaded and non-invaded areas of Benin. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(3), 450–464. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.12.015>
- Agwunobi, D. O., Yu, Z., y Liu, J. (2021). A retrospective review on ixodid tick resistance against synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and mitigation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 173(January), 104776. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104776>
- Alonso-Díaz, M., Rodríguez-Vivas, R. I., Fragozo-Sánchez, H., y Rosario-Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas Ixodicide resistance of the the *Boophilus microplus* tick to ixodicides. *Arch. Med.Vet.*, 38(2), 105–113.
- Armendáriz González, I. (2003). Informe de un caso de resistencia múltiple a ixodicidas en *Boophilus microplus* Canestrini (Acari : Ixodidae) en Tamaulipas , México Report of a case of multiple resistance to ixodicides on *Boophilus microplus* Canestrini (Acari : Ixodidae) in. *Medicina*, 34(4), 397–401.
- Cabrera-Jiménez, D., Rodríguez-Vivas, R. I., y Rosado-Aguilar, J. A. (2008). Evaluación de la resistencia a la Cipermetrina en cepas de campo de *Boophilus microplus* obtenidas de ranchos bovinos del estado de Yucatán, México. *Tecnica Pecuaria En Mexico*, 46(4), 439–448.
- CONAGUA. (2021). Servicio Meteorológico Nacional. Normales climatológicas. <Http://Smn.Cna.Gob.Mx/Climatologia/Normales/Estacion/Tab/NORMAL27068.TXT>.
- David Guerrero, F., Lovis, L., y Ricardo Martins, J. (2012). Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* Mecanismos de resistência aos acaricidas em *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 2961(1), 1–6. www.cbpv.com.br/rbvet
- Domínguez García, D. I., Torres Agatón, F., y Rosario-Cruz, R. (2016). Evaluación económica del control de garrapatas *Rhipicephalus microplus* en México. *CIBA Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 5(9), 43. <https://doi.org/10.23913/ciba.v5i9.49>
- Dzemo, W. D., Thekisoe, O. & Vudriko, P. (2022). Development of acaricide resistance in tick populations of livestock: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon*, 8(1), e08718. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08718>
- Fereig, R. M., Mohamed, S. G. A., Mahmoud, H. Y. A. H., AbouLaila, M. R., Guswanto, A., Nguyen, T. T., Ahmed Mohamed, A. E.,
- Colombia el Amitraz (208 ppm), tuvo una efectividad máxima alcanzada de tan solo el 50 % con la prueba de inmersión de garrapatas adultas de *R. microplus* (Villar et al., 2016).
- La resistencia a piretroides se ha desarrollado en gran medida en el mundo (Van Wyk et al., 2016), en Colombia utilizando dos piretroides (Deltametrina y Cipermetrina combinada con piperonil-butóxido), obtuvieron baja eficacia de estos acaricidas. La Deltametrina tan solo tuvo un 31-35 % de efectividad con 50 ppm, que fue el doble de la recomendada por la compañía comercial. La Cipermetrina (150 ppm) combinada con el piperonil-butóxido (150 ppm) alcanzó una eficacia máxima entre 16-25 % (Villar et al., 2016). En el presente estudio la dosis letal 50 fue de $0.045 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (45 ppm) y la DL_{99} fue de $0.48 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (480 ppm), por lo que la dosis obtenida para provocar la mortalidad del 99 % de la población superan también al indicado como recomendable que es de 0.02 % o 200 ppm (Soberanes Céspedes et al., 2002). En Yucatán, México, usando la Cipermetrina se identificó una cepa altamente resistente. Cuando el nivel de resistencia fue determinado con la CL_{50} se encontró el 32.3 % resistentes y el 67.7 % susceptibles; sin embargo, con la CL_{99} se encontraron 74.2 % resistentes y 25.8 % susceptibles (Cabrera-Jiménez et al., 2008). De igual manera se obtuvieron resultados estables para este producto con 48 % de susceptibilidad y 52 % resistentes a este producto.

Conclusiones

El ganado bovino mostró alta prevalencia de garrapatas (64 %) *Rhipicephalus microplus* y *Amblyomma cajennense* en los municipios de Teapa, Tabasco y Pichucalco Chiapas. Todos los factores estudiados (fisiografía del lugar, el manejo que se le da a los animales en la unidad de producción y las razas presentes) presentaron similar riesgo en la presencia de garrapatas.

De acuerdo con las dosis letales medias 50 y 99 solo el Coumaphos tuvo mayor eficacia contra las larvas de garrapata, mientras que el Amitraz, Diclorvos+Cipermetrina y Cipermetrina mostraron baja eficacia en provocar la mortalidad larvaria por lo que se concluye que presentan resistencia a estos productos.

Fin de la versión en español

- Inoue, N., Igarashi, I., y Nishikawa, Y. (2017). Seroprevalence of Babesia bovis, B. bigemina, Trypanosoma evansi, and Anaplasma marginale antibodies in cattle in southern Egypt. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 8(1), 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.10.008>
- González-Coloma, A., Olmeda, S., Burillo, J., Sanz, J., Sainz, P., Laura Umpiérrez, M., y Rossini, C. (2013). Desarrollo de métodos de bioensayo con garrapatas aplicados a la detección de potenciales bioplaguicidas botánicos. In E. de la U. de Magallanes (Ed.), *Productos Naturales contra parásitos externos del ganado bovino y ovino* (pp. 58–71). <https://core.ac.uk/download/pdf/71401671.pdf>
- Jongejan, F., y Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129(SUPPL.), 3–14. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>
- Kumar, S., Sharma, A. K., Nagar, G., y Ghosh, S. (2015). Determination and establishment of discriminating concentrations of malathion, coumaphos, fenvalerate and fipronil for monitoring acaricide resistance in ticks infesting animals. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 6(3), 383–387. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.03.003>
- Martínez-Tinajero, J. J., Aguirre-Medina, J. F., Martínez-Priego, G., y Torres-Hernández, G. (2006). Comportamiento productivo y reproductivo de tres genotipos bovinos en la región del Soconusco, Chiapas, México. *Zootecnia Tropical*, 24(2), 109–120.
- Pérez de León, A. A., Mitchell, R. D., y Watson, D. W. (2020). Ectoparasites of Cattle. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 36(1), 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.004>
- Pérez, T. M., Guzmán-Cornejo, C., Montiel-Parra, G., Paredes-León, R., y Rivas, G. (2014). Biodiversity of acari in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.), 399–407. <https://doi.org/10.7550/rmb.36160>
- Ravindran, R., Jyothimol, G., Amithamol, K. K., Sunil, A. R., Chandrasekhar, L., Lenka, D. R., Amritha, A., Sreelekha, K., Sathish, N., Udayan, D., Krishna, T. P. A., Divya, T. M., Juliet, S., Kumar, K. G. A., Nair, S. N., y Ghosh, S. (2018). In vitro efficacy of amitraz, coumaphos, deltamethrin and lindane against engorged female *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *annulatus* and *Haemaphysalis bispinosa* ticks. *Experimental and Applied Acarology*, 75(2), 241–253. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0262-y>
- Rodríguez-Vivas, Roger Iván, Grisi, L., Pérez De León, A. A., Silva Villela, H., Torres-Acosta, J. F., Fragoso Sánchez, H., Romero Salas, D., Rosario Cruz, R., Saldierna, F., y García Carrasco, D. (2017). Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 8(1), 61–74. <https://doi.org/10.22319/rmc.v8i1.4305>
- Rodríguez-Vivas, Roger Iván, Ojeda-Chi, M. M., Ojeda-Robertos, N. F., Daniele, M., y Dadé, M. (2021). *Otobius megnini*: La garrapata espinosa del oído. *Bioagrociencias*, 14(2), 59–68. https://doi.org/10.1007/978-3-540-48996-2_2262
- Rodríguez-Vivas, Roger Iván, Pérez-Cogollo, L. C., Rosado-Aguilar, J. A., Ojeda-Chi, M. M., Trinidad-Martinez, I., Miller, R. J., Li, A. Y., de León, A. P., Guerrero, F., y Klafke, G. (2014). *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* resistentes a los acaricidas e ivermectina nas fazendas de gado do México. *Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria*, 23(2), 113–122. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014044>
- Rodríguez Vivas, R. I. (2015). *Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria* (laboratorio de parasitología Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, campus de ciencias biológicas y agropecuarias, universidad autónoma de Yucatán (ed.); 1st ed.).
- Rodríguez Vivas, R. I., Rosado Aguilar, A., Basto Estrella, G., García Vázquez, Z. S., Rosario Cruz, R., y Fragoso Sánchez, H. (2006). *Manual técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino* (C. N. de I. D. en P. Veterinaria (ed.); 1st ed.).
- Rodríguez Vivas, Roger Iván, Ojeda Chi, M. M., Bolio González, M. E., y Rosado Aguilar, J. A. (2019). Las garrapatas como vectores de enfermedades zoonóticas en México. *Rev. Bioagrociencias*, 12(1), 19–26.
- SAS. (2017). *SAS/STAT User's Guide* (S. Inst. (ed.); Release 6.).
- Soberanes Céspedes, N., Santamaría Vargas, M., Fragoso Sánchez, H., y García Vazquez, Z. (2002). First case reported of Amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus* in Mexico. *Técnica Pecuaria En México*, 40(1), 81–92. <http://www.tecnicapecuaria.org.mx/trabajos/200703055953.pdf>
- Treviño, M. R. (2013). *Evaluación de resistencia a ixodíidas y efectividad de la vacuna BM86 en el grado de infestación por garrapata Boophilus sp. en las razas de ganado bovino Charolais, Simmental, Brangus negro y Comercial*. <http://eprints.uanl.mx/3731/1/1080256714.pdf>
- Van Wyk, R. D. J., Baron, S., y Maritz-Olivier, C. (2016). An integrative approach to understanding pyrethroid resistance in *Rhipicephalus microplus* and *R. decoloratus* ticks. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 7(4), 586–594. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.01.007>
- Villar, D., Gutiérrez, J., Piedrahita, D., Rodríguez-Durán, A., Cortés-Vecino, J. A., Góngora-Orjuela, A., Martínez, N., y Chaparro-Gutiérrez, J. J. (2016). Resistencia *in vitro* a acaricidas tópicos de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* provenientes de cuatro Departamentos de Colombia. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 11(2), 58–70. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.11.3.6>
- Zavala Cruz, J., Jiménez Ramírez, R., Palma López, D., Bautista, F., y Gavi Reyes, F. (2016). Paisajes geomorfologicos: Base para el levantamiento de suelos en Tabasco, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(8), 161–171. <http://www.scielo.org.mx/pdf/era/v3n8/2007-901X-era-3-08-00161.pdf>