



Universidad Nacional del Litoral

Facultad de Ciencias Veterinarias

*Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IdICaL, INTA-
CONICET), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA E.E.A.
Rafaela, Rafaela, Argentina*

*Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral
Esperanza, Argentina*

*Tesis presentada para optar por el grado académico de
Doctora en Ciencias Veterinarias*

**Ecología y control de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus*
(*Boophilus*) *microplus* (Acari, Ixodida: Ixodidae) en la región Litoral
de Argentina.**

Autor: M. V. Jorgelina Torrents

Director: Santiago Nava
Codirector: Enrique Formentini

Año: 2025

«Un pueblo culto nunca puede ser esclavizado»

—Manuel Belgrano

Agradecimientos:

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la educación pública de Argentina. Desde el jardín de infantes, la escuela primaria, secundaria, hasta la universidad y el doctorado, todo mi recorrido formativo resultó posible gracias a instituciones públicas, sostenidas por el esfuerzo colectivo de una sociedad que cree en el valor del conocimiento como bien común. Agradezco a las y los docentes, trabajadores de la educación que, con su compromiso cotidiano, hicieron posible mi formación. Este trabajo es también fruto de su dedicación y de un sistema educativo que brinda oportunidades sin distinciones. La educación pública constituye un pilar fundamental para la inclusión, el pensamiento crítico y la construcción de un futuro más justo, y su sostenimiento resulta esencial para el desarrollo social y científico del país.

En segundo lugar, deseo expresar mi profundo agradecimiento a mi director, el Dr. Santiago Nava, por su guía, generosidad y acompañamiento a lo largo de este proceso. Su confianza, paciencia y compromiso fueron fundamentales para mi formación y para la realización de esta tesis. Su ejemplo, tanto en el plano personal como en el científico, constituye para mí una referencia de integridad, rigor y vocación. Expreso mi sincera admiración y lealtad hacia su labor y hacia los valores que encarna en el ejercicio de la investigación.

Deseo también agradecer al Dr. Enrique Formentini, codirector de esta tesis, por haber facilitado el acceso al Laboratorio de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, espacio en el cual se desarrollaron parte de los experimentos aquí presentados. Su disposición para colaborar en aspectos técnicos y metodológicos ha contribuido al avance de este trabajo. Gracias por los momentos compartidos y las charlas, de las cuales percibí valiosos aprendizajes.

Asimismo, deseo expresar mi profundo agradecimiento a la Dra. Viviana Orcellet, quien ha representado para mí una verdadera madre académica. *Vivi*, a lo largo de estos años, siempre estuvo dispuesta a brindarme su tiempo, sus consejos y su respaldo en momentos decisivos, interviniendo con generosidad para abrirme caminos y oportunidades. Su confianza y orientación han tenido un impacto invaluable tanto en mi desarrollo profesional como personal.

A los Drs. Anelise Webster y Christian Cutullé, quienes me enseñaron las bases de las técnicas de laboratorio que se aplicaron en toda esta tesis, compartiendo con generosidad su tiempo, conocimiento y experiencia. Además, a la Dra. Mirta Castelli, quien, ya retirada, me abrió las puertas de su hogar para transmitirme conocimientos y saberes que perfeccionaron mi labor en el laboratorio.

Al Dr. Luis Ignacio Álvarez y a Adriano Pinter Dos Santos por su rol como integrantes del comité de tesis. Sus evaluaciones, comentarios y aportes han sido de gran ayuda para la mejora y consolidación de este trabajo. Les agradezco el tiempo y la dedicación que han brindado a mi formación y al desarrollo de esta investigación.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral (UNL), al Doctorado en Ciencias Veterinarias (UNL) y al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Rafaela, por brindar el marco académico, técnico y logístico necesario para el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Victoria Rossner (EEA INTA Colonia Benítez, Chaco), a Claudio Martínez de la Agencia de Extensión Rural Garabato (INTA Reconquista), al Mg. José Toffaletti (EEA INTA El Colorado, Formosa), a la Fundación Correntina para la Sanidad Animal (Fu.Co.Sa) y a la Fundación contra la Fiebre Aftosa de Entre Ríos (Fu.Co.Fa), por su colaboración en las tareas de campo, envío de muestras y el apoyo brindado.

Agradezco también el apoyo financiero de INTA, de la Asociación Cooperadora del INTA Rafaela, y de los proyectos PICT-2015-550 y PICT-2016-774, sin los cuales este trabajo no habría sido posible.

A mi familia, por su apoyo incondicional y por acompañarme en cada etapa de este camino. En especial, a mi mamá, por su fortaleza, comprensión y por haberme sostenido siempre, incluso en los momentos más difíciles y, a mi padre quien estaría orgulloso de este logro. A mi hermana María Luisa y mi pareja Francisco, mis compinches y apoyo emocional.

A mis amigos y a todas las personas que me acompañaron a lo largo de estos años, en la cercanía o en la distancia; a quienes compartieron momentos, aprendizajes y afectos, y también a quienes, aunque hoy no estén presentes, fueron parte importante de este camino. En especial, a Paula, Eve y Dani, Rafael, Siomara, Mario y Agustinas, de quienes atesoró el tiempo que me han dedicado, su escucha y sus sabias palabras.

A mis compañeros de trabajo, cuyo compromiso y dedicación hacen posible el funcionamiento armónico de cada tarea. Su labor conjunta, precisa y coordinada constituye un verdadero engranaje que permite que todo fluya con eficacia y equilibrio.

A la Cátedra de Zoología y a todos los docentes que la integran, por el acompañamiento, la colaboración y el ambiente de trabajo que hacen posible el crecimiento profesional y personal de quienes formamos parte. En especial, a los pasantes (otra familia), cuya energía y entusiasmo son una fuente constante de alegría e inspiración.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	1
Abstract	2
Introducción general	4
Ubicación taxonómica y características morfofisiológicas.	4
Ciclo vital de <i>Rhipicephalus microplus</i>	7
Fase parasitaria.....	7
Fase no parasitaria.....	8
Distribución geográfica de <i>Rhipicephalus microplus</i>	10
Importancia sanitaria y económica de <i>Rhipicephalus microplus</i>	11
Marco legal	12
Hipótesis.....	13
Objetivos.....	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos	15
Capítulo 1: Dinámica poblacional de <i>Rhipicephalus microplus</i> y control estratégico 17	
1.1 Introducción	17
1.2 Materiales y Métodos	19
1.2.1a Estudio de la fase no parasítica: determinación de la escala temporal necesaria para aplicar un descanso de pasturas.	19
1.2.2a Resultados	21
1.2.3a Discusión.....	32
1.2.1b Estudio de fase parasítica y ensayos de control estratégico	34
1.2.2b Resultados	38
1.2.3b Discusión.....	43
Capítulo 2: Aplicación de pruebas <i>in vitro</i> para el diagnóstico de la resistencia de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> a los acaricidas químicos sintéticos en la región Litoral de Argentina	46

2.1 Introducción	46
2.2 Materiales y Métodos	48
2.2.a Pruebas con larvas:.....	48
2.2.b Prueba de inmersión de adultos (PIA)	55
2.3 Resultados.....	58
2.3.a Pruebas con larvas:.....	58
2.3.b Pruebas con adultos:.....	73
2.4. Discusión.....	77
Discusión general	84
Conclusiones generales	87
Bibliografía.....	89
Anexo I	103
Determinación de gradiente de concentraciones necesario para la obtención de la dosis letal 50%.....	103
Anexo II	106
Publicaciones derivadas de la presente tesis doctoral	106
Publicaciones complementarias realizadas durante el desarrollo de la tesis.....	106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Morfología externa de Rhipicephalus spp.</i>	7
Figura 2: <i>Ciclo biológico de Rhipicephalus (Boophilus) microplus.</i>	9
Figura 3: <i>Áreas de aptitud ecológica, tomada de Guglielmone, 1992.</i>	10
Figura 4: <i>Zonificación del país en relación con el plan de lucha contra la garrapata común del bovino Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Imagen extraída del artículo 1° del decreto reglamentario 7.623/54 de la ley 12.566.</i>	13
Figura 5: <i>Patrón de la abundancia estacional de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Argentina en el área de mayor aptitud ecológica.</i>	18
Figura 6: <i>Estudio de la fase no parasítica.</i>	20
Figura 7: <i>Duración en días de la fase no parasítica del ciclo biológico de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en diferentes localidades de la región Litoral de Argentina.</i>	23
Figura 8: <i>Esquemas de control estratégico aplicados en Colonia Benítez-Chaco (CB), Garabato-Santa Fe (G) y Tabay-Corrientes (TY).</i>	37
Figura 9: <i>Media del número de hembras de Rhipicephalus (Boophilus) microplus (4,5-8,0 mm de largo) en bovinos de agosto de 2018 a mayo de 2019 en Colonia Benítez, provincia de Chaco (CB), Garabato, provincia de Santa Fe (G) y Tabay, provincia de Corrientes (TY).</i>	42
Figura 10: <i>Esquema simplificado de los pasos de la prueba de inmersión de larvas (PIL).</i> .	50
Figura 11: <i>Muestras de garrapatas.</i>	56
Figura 12: <i>Distribución geográfica de las poblaciones de garrapatas caracterizadas mediante prueba de inmersión de larvas (PIL) para ivermectina.</i>	58
Figura 13: <i>Distribución geográfica de las poblaciones de garrapatas caracterizadas mediante prueba de inmersión de larvas (PIL) y prueba de paquete de larvas (PPL) para fipronil.</i>	67
Figura 14: <i>Inhibición de la eclosión de larvas en aoves de garrapatas sometidas a PIA con fluazurón técnico 50 ppm.</i>	75

Figura 15: *Distribución geográfica de poblaciones de Rhipicephalus microplus evaluadas mediante prueba de inmersión de adultos (PIA) frente a distintos principios activos.* 76

Figura 16: *Oviposiciones de garrapatas observadas 15 días luego de la prueba de inmersión de adultos con fluazurón técnico (50 ppm)* 80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: *Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Colonia Benítez, provincia de Chaco, Argentina*..... 24

Tabla 2: *Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Reconquista, provincia de Santa Fe, Argentina*.....25

Tabla 3: *Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en La Paz, provincia de Entre Ríos, Argentina*..... 27

Tabla 4: *Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Tabay, provincia de Corrientes, Argentina.*28

Tabla 5: *Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Curuzú Cuatiá, provincia de Corrientes, Argentina*..... 29

Tabla 6: *Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Valores medios por localidad*.....31

Tabla 7: *Niveles de infestación con Rhipicephalus (Boophilus) microplus de bovinos de Colonia Benítez, provincia de Chaco, Argentina*..... 38

Tabla 8: *Niveles de infestación con Rhipicephalus (Boophilus) microplus en bovinos de Garabato, provincia de Santa Fe, Argentina*.....40

Tabla 9: *Niveles de infestación con Rhipicephalus (Boophilus) microplus en bovinos de Tabay, provincia de Corrientes, Argentina*..... 40

Tabla 10: *Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para ivermectina en poblaciones de la provincia de Santa Fe*..... 59

Tabla 11: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para ivermectina en poblaciones de la provincia de Entre Ríos.....	59
Tabla 12: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para ivermectina en poblaciones de la provincia de Corrientes.	61
Tabla 13: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para ivermectina en poblaciones de la provincia de Chaco.....	61
Tabla 14: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para ivermectina en poblaciones de la provincia de Formosa. ...	62
Tabla 15: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Santa Fe.	63
Tabla 16: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Entre Ríos.....	64
Tabla 17: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Corrientes.....	65
Tabla 18: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Chaco.	66
Tabla 19: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Formosa.....	66
Tabla 20: Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) con amitraz para <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	68
Tabla 21: Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Santa Fe.....	68
Tabla 22: Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Entre Ríos.....	69
Tabla 23: Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Corrientes.....	70

Tabla 24: Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Chaco.....	70
Tabla 25: Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para fipronil en poblaciones de la provincia de Formosa.....	71
Tabla 26: Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) con amitraz para <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	71
Tabla 27: Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> para cipermetrina en poblaciones de la provincia de Chaco.....	72
Tabla 28: Porcentaje de inhibición de la eclosión (IE) de larvas tratadas con fluazurón técnico.....	73
Tabla 29: Gradientes de concentraciones estandarizados para prueba de inmersión de larvas (PIL) para ivermectina.....	103
Tabla 29: Gradientes de concentraciones estandarizados para prueba de inmersión de larvas (PIL) y prueba de paquete de larvas (PPL) para fipronil.....	105

Abreviaturas y Símbolos

1Q–3Q: Primer y tercer cuartil

Col.: Colonia

CSR: Cepa susceptible de referencia

c.s.p.: Cantidad suficiente para.

DE: Desvío estándar

DGD: Días necesarios para alcanzar 275 °C días sobre el umbral de 15,5 °C

DL50: Dosis letal 50

DS: Déficit de saturación

EA: Estación del año

EP: Porcentaje de eficacia

FE: Fecha de exposición

FUCOFA: Fundación de Lucha Contra la Fiebre Aftosa

FUCOSA: Fundación Correntina para la Sanidad Animal

GC: Grupo control

GDA: Grados-día acumulados (>15,5 °C durante PI)

GT: Grupo tratado

GT1, GT2: Grupo tratado 1 y 2

HR: Humedad relativa (%)

I: Invierno

IC95%: Intervalo de confianza del 95%

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Isl.: Isla

M. I. Loza: Mariano Indalecio Loza

M. Villafañe: Mayor Villafañe

M: Mediana / Muertas (según contexto de tablas)

MC: Mortalidad en control >10%

NA: No aplicable

O: Otoño

P < 0,01: Significancia estadística en prueba de Kruskal–Wallis

P: Pendiente (en regresión Probit)

Pr: Prevalencia (expresada en %) / Primavera (según contexto de tablas)

PHER: Proporción de huevos eclosionados en racimos

PHO: Proporción de hembras que ovipusieron

PI: Período de incubación

PIA: Prueba de inmersión de adultos

PIL: Prueba de inmersión de larvas

Pje.: Paraje

PLL: Longevidad larval

PPL: Prueba de paquete de larvas

PPO: Período pre-ovipositaro

Pte.: presidente

R: Resistente

RR50: Relación de resistencia

S: Susceptible

SA: Sin ajuste

SLS: Sin larvas suficientes

T: Temperatura promedio (°C)

TPNP: Total del período no parasítico

V: Verano

Resumen

Rhipicephalus (Boophilus) microplus (garrapata común del bovino) representa una de las principales limitantes para la ganadería en el norte de Argentina por sus efectos directos sobre la producción y su rol como vector de hemoparásitos. Como consecuencia del control químico intensivo con acaricidas, se ha derivado en la aparición y diseminación de cepas resistentes, comprometiendo la eficacia de los tratamientos. Esta tesis tuvo por objeto caracterizar la dinámica poblacional de *R. microplus* en la región Litoral de Argentina, evaluar la eficacia de esquemas de control estratégico y estandarizar pruebas *in vitro* para el diagnóstico de resistencia.

El estudio incluyó las fases parasítica y no parasítica, determinando que la especie presenta cuatro a cinco generaciones anuales. Se demostró que la aplicación de tres o cuatro tratamientos estratégicos reduce de manera significativa los picos de infestación en otoño. Paralelamente, los bioensayos demostraron una alta frecuencia de resistencia a los acaricidas disponibles comercialmente (a excepción de fluralaner), confirmando que la resistencia está ampliamente diseminada en la región.

Se estandarizaron técnicas de diagnóstico *in vitro* basadas en metodologías reproducibles y validadas estadísticamente, lo que constituye un aporte regional para la vigilancia de la resistencia. Los hallazgos subrayan la necesidad de implementar programas integrados de control que combinen el monitoreo sistemático de resistencia, el uso racional de acaricidas y medidas no químicas, como el manejo de pasturas y la incorporación de biotipos bovinos más resistentes. En conclusión, este trabajo aporta conocimientos aplicables para diseñar estrategias sostenibles que mitiguen los efectos económicos y sanitarios de *R. microplus* en la ganadería argentina.

Abstract

Rhipicephalus (Boophilus) microplus (common cattle tick) represents one of the main limitations for livestock farming in northern Argentina due to its direct effects on production and its role as a vector of hemoparasites. Intensive chemical control with acaricides has led to the emergence and spread of resistant strains, compromising the effectiveness of treatments. The purpose of this thesis was to characterize the population dynamics of *R. microplus* in the Litoral region of Argentina, evaluate the efficacy of strategic control schemes and standardize *in vitro* tests for the diagnosis of resistance.

The study included both parasitic and non-parasitic phases, determining that the species has four to five generations per year. It was shown that the application of three or four strategic treatments significantly reduces peak infestations in the fall. At the same time, bioassays demonstrated a high frequency of resistance to commercially available acaricides (with the only exception of fluralaner), confirming that resistance is widespread in the region.

In vitro diagnostic techniques based on reproducible and statistically validated methodologies were standardized, representing a regional contribution to resistance surveillance. The findings underscore the need to implement integrated control programs that combine systematic resistance monitoring, rational use of acaricides, and non-chemical measures, such as pasture management and the incorporation of more resistant bovine biotypes. In conclusion, this work provides practical knowledge for designing sustainable strategies to mitigate the economic and health effects of *R. microplus* on Argentine livestock.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Introducción general

Ubicación taxonómica y características morfofisiológicas

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, nombrada vulgarmente como la garrapata común del bovino, se encuentra taxonómicamente ubicada dentro del Phylum Arthropoda, Subphylum Chelicerata, Clase Arachnida, Subclase Acari, Superorden Parasitiformes, Orden Ixodida, Superfamilia Ixodoidea, Familia Ixodidae, Género *Rhipicephalus* (Nava et al., 2017, Guglielmo et al., 2021).

El Phylum Arthropoda (Gr. *arthron*, unión, articulación, + *pous, podos*, pie), comprende más de las tres cuartas partes de especies conocidas sobre el planeta, incluyendo arañas, escorpiones, garrapatas, ácaros, crustáceos, milpiés, ciempiés e insectos. Los integrantes de este Phylum poseen diversas adaptaciones (acuáticas, aéreas y terrestres) y formas de alimentación. Esta gran abundancia y diversidad se debe a su amplia distribución, variedades de hábitats, hábitos y capacidad de adaptación genética.

Los esquemas estructurales y fisiológicos de los artrópodos están dados en primer lugar por la presencia de un exoesqueleto quitinoso. Esta estructura, también puede denominarse cutícula y su principal función es proporcionar protección mecánica. Aunque es de aspecto rígido tiene cierta flexibilidad. A su vez, este recubrimiento externo se encuentra íntimamente relacionado con los músculos de los artrópodos permitiendo la inserción de estos y participando en la locomoción. El exoesqueleto, a pesar de tener cierta flexibilidad, no es distensible, por lo que el artrópodo debe cambiar esta cubierta externa mediante un proceso denominado muda o ecdisis. Este fenómeno puede darse varias veces antes que el individuo adquiera la adultez (Brusca y Brusca, 2005).

Los quelicerados (Subphylum Chelicerata) poseen su cuerpo dividido en dos tagmas (segmentos que cumplen funciones especializadas), el cefalotórax o prosoma y el abdomen u opistosoma. El primero, está formado por un par de quelíceros, un par de pedipalpos (articulados) y cuatro pares de patas marchadoras. Los quelicerados no poseen antenas ni mandíbulas y la mayoría están adaptados a la succión de líquidos somáticos para su alimentación. Dentro de este grupo encontramos a los arácnidos (Clase Arachnida). Incluyendo arañas, escorpiones, garrapatas y ácaros (Nava et al., 2017).

La Subclase Acari está compuesta por garrapatas y ácaros que son los arácnidos de mayor importancia a nivel sanitario y económico. A diferencia de los quelicerados en general, los integrantes de esta Subclase tienen sus tagmas totalmente fusionados. El cuerpo se encuentra dividido en capítulo o gnatosoma (contiene las piezas bucales) e idiosoma (con las patas insertas ventralmente); el gnatosoma, posee las mismas estructuras que las nombradas para el Subphylum; los quelíceros se encuentran en posición dorsal y

están encargados de desgarrar, triturar o morder. A cada lado se encuentran los pedipalpos cuya función puede ser variable dependiendo de la alimentación. Ventralmente se encuentra el hipostoma (Figura 1).

Las garrapatas a su vez pertenecen al Superorden Parasitiformes, comprendiendo especímenes de mayor tamaño, hasta 2–3 cm de longitud (cuando están totalmente pletóricos), adaptados a la hematofagia. Los quelíceros de éstos son como cuchillas lisas adaptadas para cortar la piel. El hipostoma se encuentra provisto de dientes en forma de ganchos con dirección caudal que permiten una fijación fuerte a la piel del huésped (Nuñez et al., 1982) (Figura 1).

Las garrapatas se clasifican actualmente en tres familias que contienen a las especies existentes (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae) (Sonenshine y Roe, 2014), y hay dos familias exclusivas de especies fósiles (Deinocrotonidae, Khimairidae) (Chitimia-Dobler et al., 2022; Peñalver et al. 2017).

En el mundo se conocen un poco más de mil especies de garrapatas distribuidas en tres familias: Ixodidae (denominadas garrapatas duras por la presencia de una placa esclerotizada en la superficie dorsal denominada escudo y un aparato bucal que es visible dorsalmente; aproximadamente 790 especies), Argasidae (conocidas como garrapatas blandas por la ausencia del escudo esclerotizado dorsal y un aparato bucal que no es visible dorsalmente; aproximadamente 220 especies), y Nuttalliellidae (familia monotípica ancestral representada por una única especie africana) (Guglielmone et al. 2021, 2023; Mans et al. 2019; Muñoz-Leal 2023; Robbins et al. 2025). También hay descritas algunas especies de los géneros *Compluriscutula*, *Cornupalpatum*, *Khimaira* y *Deinocroton* solo conocidas por especímenes fósiles.

Los géneros presentes en Argentina son *Amblyomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor* (Ixodidae), *Argas*, *Otobius* y *Ornithodoros*.

El ciclo biológico de las especies de Argasidae comprende huevo, larva, dos o más estadios ninfales y adultos (machos y hembras). Los preimagos deben alimentarse antes de mudar al estadio siguiente, pero en algunas especies las larvas no alimentadas mudan a ninfas y, en otras, ninfas del primer estadio sin alimentar mudan al segundo estadio ninfal. Los adultos se alimentan en forma repetida, aunque en algunos casos, como por ejemplo el género *Otobius* las hembras son autogénicas, y solo tiene una fase parasítica las larvas y ninfas. Los adultos y ninfas se alimentan rápidamente (menos de una hora) pero las larvas permanecen fijadas a su hospedador por varios días. Muchas especies de este grupo son nidícolas y suelen ser longevas.

Dentro de la familia Ixodidae, existen dos grupos definidos por características morfológicas y biológicas: Prostriata, conformado por el género *Ixodes* exclusivamente, y Metastriata, que incluye al resto de los géneros. El primer grupo se caracteriza por un surco

anal que circunvala al ano anteriormente, 7 placas ventrales en los machos, adultos que copulan sobre o fuera del hospedador y machos capaces de producir espermátidas sin alimentarse. En *Metastrata*, el surco anal es posterior al ano, los machos no poseen 7 placas ventrales, la larva tiene una glándula cerosa ausente en aquellas de *Prostrata*, y con excepción de unas pocas especies, los adultos copulan sobre el hospedador y los machos producen espermátidas tras alimentarse.

El ciclo de vida de las especies de *Ixodidae* comprende huevo, larva, ninfa y adultos (machos y hembras). Larvas y ninfas se alimentan por varios días, posteriormente se desprenden de su hospedador y mudan al estadio siguiente. Con excepción de varias especies del género *Ixodes*, de al menos una del género *Amblyomma* y de unas pocas que presentan partenogénesis, los adultos copulan exclusivamente sobre el hospedador. Tras completar su alimentación las hembras se desprenden de su hospedador, oviponen de cientos a miles de huevos (según la especie) y luego mueren. La mayor parte de las especies de *Ixodidae* tienen ciclos biológicos de tres hospedadores (larvas, ninfas y adultos se alimentan sobre diferentes individuos que pueden o no pertenecer a diferentes especies), no obstante, en algunas especies del género *Hyalomma* y de la subfamilia *Rhipicephalinae* la fase parasítica del ciclo se desarrolla completamente sobre uno o dos hospedadores.

El ciclo de un solo hospedador corresponde a las especies de *Ixodidae* que permanecen en forma continua sobre el mismo hospedador individual desde el inicio hasta el fin del ciclo parasitario. De este modo inician el ciclo como larvas que se alimentan y mudan a ninfas que, a su vez luego de ingurgitarse mudan a adultos, cuyas hembras se alimentan y copulan con los machos. Una vez ingurgitadas y fecundadas, las hembras se desprenden del hospedador para oviponer en el suelo. Las garrapatas con este tipo de ciclos parasitarios son relativamente infrecuentes, pero varias de estas son de enorme importancia económica y dos de estas especies están presentes en la Argentina: la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) y una garrapata específica del caballo, *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897).

El ciclo de dos hospedadores se caracteriza por larvas y ninfas que se alimentan sobre el mismo hospedador individual y adultos que parasitan a un segundo hospedador.

El género *Rhipicephalus* está compuesto por 88 especies en todo el mundo, de las cuales solo tres se encuentran en la región del Neotrópico (Guglielmone et al., 2021, 2023). Las garrapatas pertenecientes a este género se caracterizan por tener presencia de ojos y escudo sin ornamento (franjas o líneas de diferente color), de color amarronado. Los palpos son cortos y redondeados en las puntas, ligeramente más cortos que el hipostoma y los quelíceros. Ventralmente la presencia de placas o platos adanales es una característica de este género (Nava et al., 2017; Guglielmone et al., 2014) (Figura 1).

Rhipicephalus microplus fue originalmente descrita como *Haemaphysalis micropla* (sic) (Canestrini 1888) y luego asignada al género *Boophilus* (Canestrini 1890) luego clasificada como *Boophilus microplus* por Murrell y Barker (2003) la reubicaron en el género *Rhipicephalus*, asignado a *Boophilus* como un subgénero dentro de *Rhipicephalus* (Nava et al., 2017).

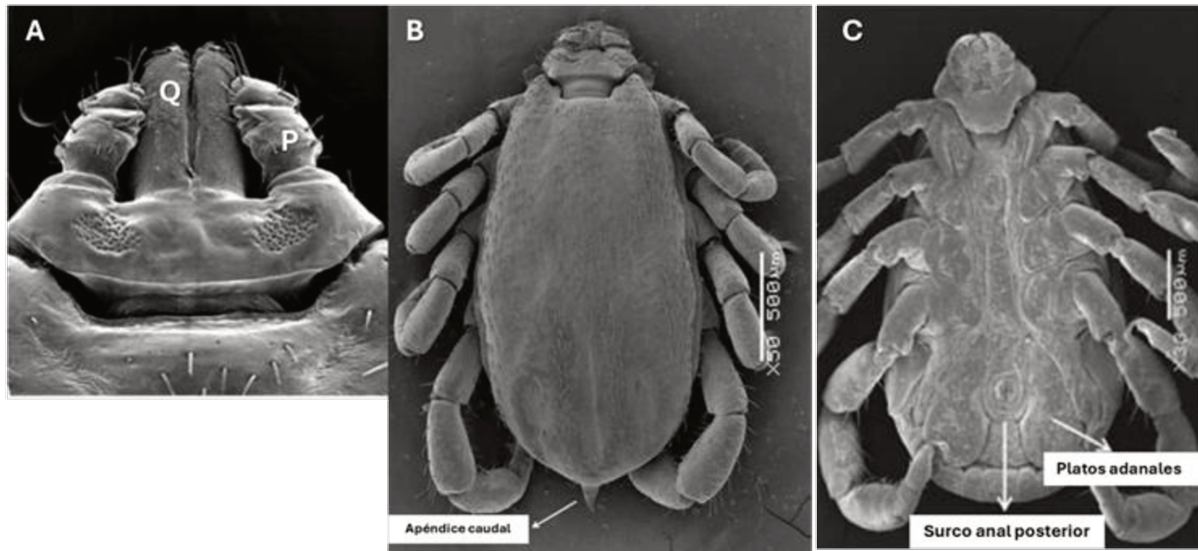


Figura 1: Morfología externa de *Rhipicephalus* spp.

A: Gnatosoma vista dorsal con pedipalpos (**P**) Cortos y redondeados en los extremos y quelíceros (**Q**) Ligeramente más largos que los pedipalpos. **B:** Macho vista dorsal con apéndice caudal en posterior. **C:** Vista ventral, surco anal posterior al ano y platos o placas adanales. Imágenes tomadas y adaptadas de Nava et al. 2017.

Ciclo vital de *Rhipicephalus microplus*:

Rhipicephalus microplus se caracteriza por tener un ciclo de vida de un hospedador. Si bien está asociada al bovino, se ha encontrado parasitando anfibios, mamíferos (bóvidos, cérvidos, suinos, équidos, humanos, roedores, lagomorfos, cánidos y félidos) y aves (Guglielmone et al., 2021), pero estos hospedadores se consideran ocasionales y son de importancia secundaria para su desarrollo.

El ciclo de vida de esta especie tiene dos fases: una parasitaria y una de vida libre (Nuñez et al., 1982).

Fase parasitaria:

Esta etapa tiene una duración modal de 21–23 días (Legg, 1930; Sapre, 1940; Nuñez et al., 1972). Los períodos que transcurren desde que se fija una larva a un bovino

hasta que muda a ninfa es de 3,5 a 9,5 días, desde que se comienza a alimentar una ninfa hasta que muda a un macho o hembra varía de 9,5 a 28,5 días, mientras que el desprendimiento de las teleoginas se da entre los 20 y 41 días posteriores a la subida de las larvas, con una moda, tal como se mencionó anteriormente, de 21–23 días.

Rhipicephalus microplus pasa por tres estadios en esta fase:

1. Larva: de color amarronado, pequeñas (0,5 mm) y hexápodas (3 pares de patas). Tres a cuatro días posteriores a alcanzar su huésped, la larva muda su exoesqueleto transformándose en metalarva, que será de aspecto blanquecino debido a que posee la cutícula larval que se está desprendiendo.
2. Ninfa: Cuando la metalarva se desprende de su cutícula (nueve días de haber subido al huésped) emerge la ninfa. Ésta es de color marrón claro, hasta 0,9 mm de longitud, son octópodas (4 pares de patas). La inmovilización precede al cambio de cutícula para transformarse en metaninfa (13 días de haber subido al bovino), realizando la segunda muda.
3. Adulto: desde que la metaninfa se desprende de su cutícula, aquí se logra diferenciar entre machos y hembras.

3.1. Machos: son más pequeños que las hembras y se distinguen por su coloración más oscura debido a que la totalidad de su dorso está cubierto por el escudo. Los machos de *R. microplus* pueden vivir el doble de tiempo que las hembras (40 días aproximadamente) y pueden pasar de un bovino a otro durante su vida.

Las hembras pasan por los estadios de:

3.2. Neogina: es la hembra que recién emerge de la muda de la metaninfa (día 14–15), tienen un aspecto delgado y las patas más largas en proporción al cuerpo.

3.3. Partenogina: crecen rápidamente duplicando su peso en 3–4 días, esperando ser fecundadas por el macho, cuando la fecundación no se produce, estas hembras permanecen en este estado hasta que mueren. Por el contrario, el ciclo continúa.

3.4. Teleogina: es la hembra que ha culminado su desarrollo, se encuentra ingurgitada y fecundada. Esta etapa finaliza a los 19–24 días de haber subido como larva cuando esta hembra pletórica cae al piso para dar inicio a la oviposición.

Fase no parasitaria:

También denominada fase de vida libre. Abarca desde que la teleogina se desprende del bovino hasta que las larvas nacidas alcanzan un huésped. Esta parte del ciclo se encuentra dividida a su vez en seis períodos los cuales pueden tener duración variable en función de factores como temperatura, humedad, largo de la pastura, situaciones extremas, etc. (Estrada-Peña, 2008).

Período de preoviposición o protoquia: La hembra totalmente ingurgitada se desprende del huésped y cae al suelo, en busca de un sitio para la oviposición.

Período de oviposición u ootoquia: es el tiempo transcurrido desde que la hembra comienza la postura de huevos hasta que la misma finaliza.

Período de postoviposición o metatoquia: desde la postura del último huevo hasta que la hembra muere. Período de incubación: desde que termina la oviposición, hasta el nacimiento de la primera larva.

Período de eclosión: es el período en el que nace el total de los huevos fértiles del aove, está influenciada además por la tasa de fertilidad de las hembras. Extremos de temperatura y humedad afectan la eclosión.

Larva de vida libre: Las larvas son pequeñas (0,5 mm), color marrón claro, ligeramente ovales, y con tres pares de patas, el escudo ya se encuentra presente cubriendo $\frac{2}{3}$ de la superficie dorsal. El aove una vez que ha finalizada la eclosión se comporta como una unidad, las larvas se desplazan a la parte superior de la pastura evitando la luz solar directa, permaneciendo allí en una postura característica, levantando su par de miembros anteriores a la espera de poder subir a un hospedador. Pasado un tiempo estas larvas mueren en las pasturas, ya sea por el agotamiento de las reservas, el frío o la desecación (FAO, 2004).

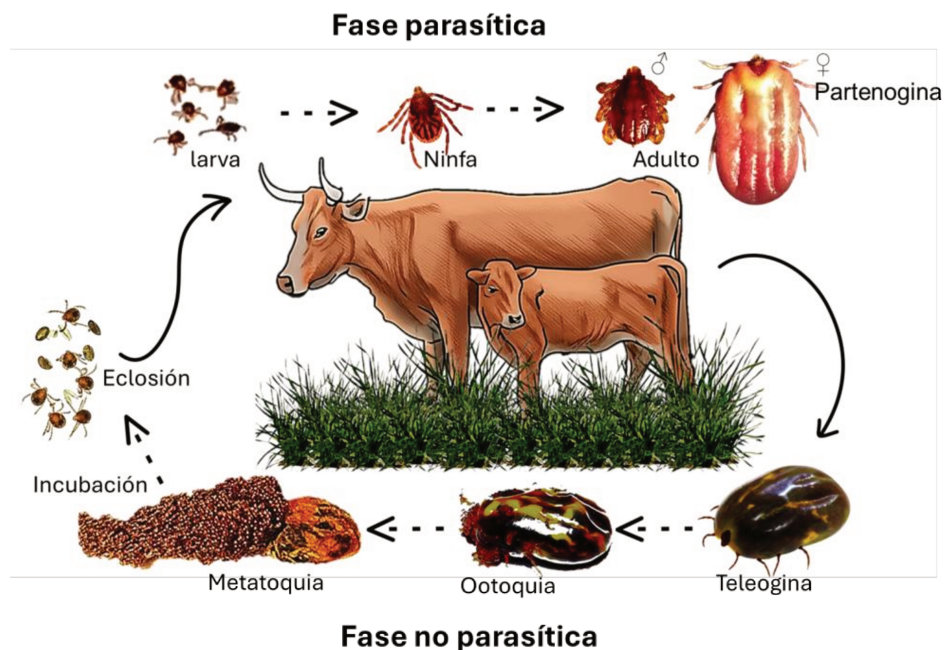


Figura 2: Ciclo biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Distribución geográfica de *Rhipicephalus microplus*

La garrapata común del bovino *R. microplus* es uno de los ectoparásitos con mayor relevancia en el mundo para la producción bovina en áreas tropicales y subtropicales. *Rhipicephalus microplus*, originaria del sudeste asiático, fue introducida en América durante el proceso de colonización, donde proliferó con el desarrollo de la ganadería vacuna.

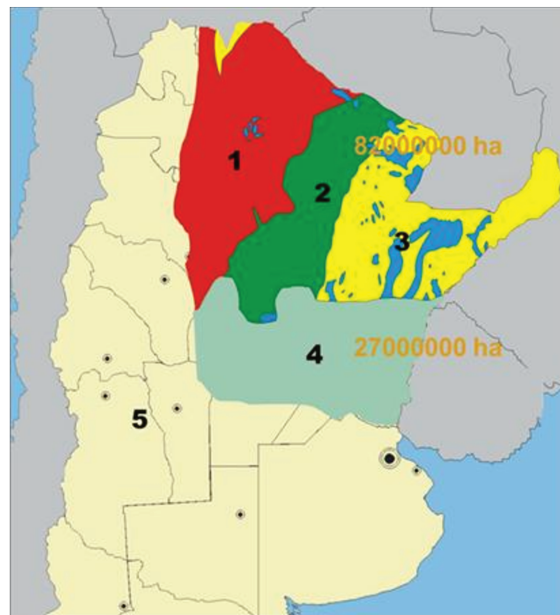


Figura 3: Áreas de aptitud ecológica, tomada de Guglielmone, 1992.

Área intermedia (1): Déficit hídrico anual <200 mm; 3–4 meses del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$.

Área intermedia (2): Déficit hídrico anual <200–500 mm; 3–4 meses del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$.

Área favorable (3): Déficit hídrico anual <200 mm; 1 mes del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$.

Área erradicada (4) por la campaña de lucha contra la garrapata.

Área naturalmente libre (5)

En este continente, Argentina y Uruguay representan el límite sur de la distribución, y México y el sur de Estados Unidos el límite norte. Chile y Canadá son los dos únicos países americanos que se han mantenido libres de este parásito, ayudados por sus características ecológicas y barreras geográficas (Nava et al., 2017; Guglielmone et al., 2021). La distribución de poblaciones permanentemente establecidas de *R. microplus* en Argentina abarca zonas ubicadas al norte del paralelo 31° S de 12 provincias: Catamarca, Chaco, Córdoba (norte), Corrientes, Entre Ríos (norte), Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santa Fe (norte), Santiago del Estero y Tucumán, y comprende una superficie de aproximadamente 64 millones de hectáreas.

La aptitud ecológica del área donde se distribuye *R. microplus* no es uniforme. La abundancia de garrapatas sobre los bovinos está controlada por factores abióticos (temperatura, déficit hídrico, tipo de suelo) y bióticos (carga animal, razas bovinas, cobertura vegetal) que juegan un rol preponderante en los niveles de infestación de los vacunos. El déficit hídrico es de importancia para el desarrollo de los huevos y la longevidad de las larvas, siendo favorecidos por déficits hídricos anuales inferiores a 200 mm. En este contexto, el término déficit hídrico se refiere a períodos en los cuales la precipitación resulta insuficiente para compensar la demanda evaporativa, generando condiciones de baja disponibilidad de humedad ambiental y del suelo. Los suelos inundados la mayor parte del año o con escasa cobertura vegetal conspiran contra el desarrollo de huevos y la longevidad de las larvas, y lo inverso ocurre en terrenos no anegables con abundante cobertura vegetal. Los factores bióticos y abióticos mencionados anteriormente han permitido clasificar áreas favorables, intermedias y desfavorables para el desarrollo de la garrapata común del bovino (Guglielmone, 1992).

Importancia sanitaria y económica de *Rhipicephalus microplus*:

Rhipicephalus microplus es el ectoparásito más relevante para la producción pecuaria en áreas tropicales y subtropicales del mundo, incluyendo la Argentina, donde el problema de la infestación con esta garrapata afecta a una población de aproximadamente 16 millones de bovinos en su área de distribución. *Rhipicephalus microplus* produce efectos físicos directos en los bovinos como disminución en la ganancia de peso y de la producción de leche, daño en los cueros que deprecia el valor de estos o lo torna no apto para la comercialización, predisposición al desarrollo de miasis provocadas por larvas de *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), y en casos severos, mortalidad de los animales parasitados. A lo anterior se suman los costos relacionados a su control (productos garrapaticidas, mano de obra, asistencia veterinaria, mantenimiento de infraestructura de bañaderos) (Späth et al., 1994; Reck et al., 2014b). Las infestaciones masivas causan anemia e inmunosupresión en los animales parasitados. Asimismo, las mermas asociadas a la transmisión de enfermedades pueden ser aún mayores, ya que esta garrapata es el vector de los agentes causales de la babesiosis bovina (*Babesia bovis* y *Babesia bigemina*) y también tiene un rol importante en la transmisión de *Anaplasma marginale*, agente causal de la anaplasmosis bovina (Späth et al., 1994; Guglielmone, 1995).

Späth et al. (1994) demostraron la severidad de las pérdidas ocasionadas a la ganadería argentina por *R. microplus*, tanto por el efecto físico de la infestación, las enfermedades transmitidas por esta garrapata a los vacunos, el control de ambos problemas, y también las pérdidas indirectas difíciles de mensurar (aquellas que se

corresponden con los beneficios que no se obtiene por la causa de un problema sanitario), como por ejemplo, la restricción regional al desarrollo de una industria láctea que impone la presencia de este parásito. En el análisis llevado a cabo por Späth et al. (1994) se estimó que las pérdidas fueron cercanas a los 200 millones de dólares anuales.

El principal método de control de *R. microplus* radica en la implementación de acaricidas químicos sintéticos. Esto ha favorecido la aparición de poblaciones resistentes a la mayoría de los principios químicos disponibles en el mercado, con excepción del fluralaner (Martins y Furlong, 2001; Castro-Janer et al., 2010a, b, 2011; Fernández-Salas et al., 2012; Guerrero et al., 2012; Lovis et al., 2013; Reck et al., 2014a; Klafke et al., 2017; Chaparro-Gutierrez et al., 2020; Pérez-Otáñez et al., 2023; Torrents et al., 2025). Sumado al efecto de acumulación de xenobióticos en productos alimenticios derivados de la producción bovina y el ambiente (George et al., 2008; Nari Henrioud, 2011; Guerrero et al., 2012; Reck et al., 2014a; Klafke et al., 2017).

Marco legal

En Argentina, el control de *R. (B.) microplus* está reglamentado por el SENASA y este es el organismo rector que a través de la Ley N°12566 de “Lucha Contra la Garrapata” indica los procedimientos que productores y veterinarios deben seguir en las distintas áreas del país.

La resolución 382-E/2017 del SENASA establece la normativa del “Plan Nacional de Control y/o Erradicación de la Garrapata del bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en la República Argentina”, reemplazando al “Plan Nacional de Lucha contra la Garrapata en la República Argentina” correspondiente a la resolución del 22 de enero de 1999 de la ex Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, y que estuvo en vigencia hasta el año 2016. Sin embargo, en la actualidad esta normativa está en revisión.

El artículo 10 de la resolución 382-E/2017 del SENASA (<http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-382-2017-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>) establecía el marco legal para la zonificación del territorio nacional en tres zonas (Figura 4). **Zona de erradicación** (el área donde los establecimientos infestados deben adoptar obligatoriamente una estrategia de limpieza y eliminación progresiva del parásito, bajo controles sanitarios fiscalizados por el SENASA). **Zona de control** (el área donde no existe obligatoriedad de erradicación), y **zona indemne** (es el territorio del país libre de la presencia del parásito).

En la “zona de control” no existe obligatoriedad de erradicación, pero se promueve la adopción de medidas tendientes a garantizar un nivel mínimo de infestación. El empleo de medidas de control sustentables y eficaces contra *R. (B.) microplus* en esta zona es

relevante para evitar la introducción de garrapatas a la “zona indemne” a través del movimiento de hacienda con fines comerciales. En este sentido, en el artículo 17 de la resolución 382-E/2017 del SENASA se indica que “...en la zona de control, la planificación de los tratamientos, el uso y la rotación de los principios activos y el manejo de los productos veterinarios garrapaticidas, se harán siguiendo esquemas de tratamientos estratégicos, buscando mantener baja carga de garrapatas en el establecimiento compatibles con niveles adecuados de producción”.

Finalmente, es importante mencionar que el artículo 6 de la resolución 382-E/2017 establece que “...los gobiernos provinciales tendrán a su cargo la elaboración de los planes regionales o locales superadores de control y/o erradicación de la garrapata del bovino *R. (B) microplus* en sus territorios, teniendo en consideración las particularidades socio-productivas de su región; los cuales deben ser consensuados y convalidados por el SENASA”.

Como se mencionó anteriormente, todas estas normativas actualmente se hallan en estado de revisión y modificación.

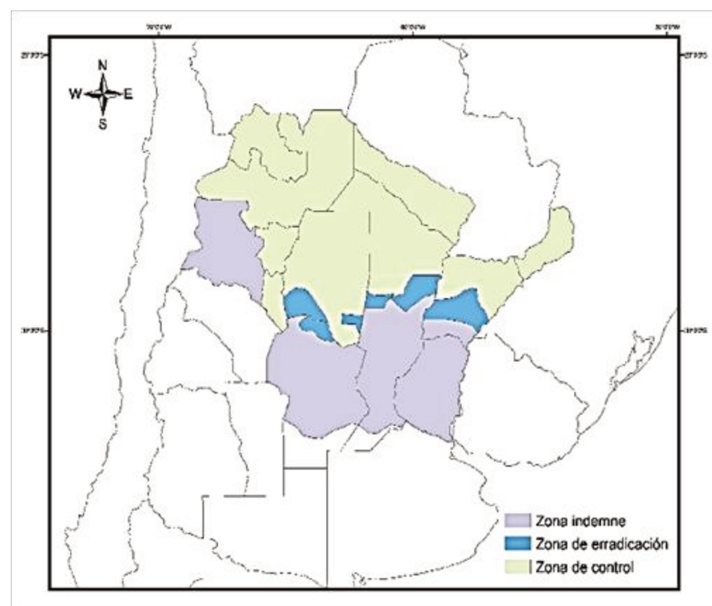


Figura 4: Zonificación del país en relación con el plan de lucha contra la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Imagen extraída del artículo 1° del decreto reglamentario 7.623/54 de la ley 12.566.

Hipótesis

El análisis de la dinámica poblacional de *R. microplus* en el área de estudio permitirá desarrollar métodos de control integrado de esta garrapata que minimicen la utilización de acaricidas químicos. La caracterización de las fluctuaciones en la abundancia poblacional de

R. microplus a lo largo del año permitirá determinar los períodos más aptos para aplicar tratamientos con acaricidas que reduzcan significativamente la abundancia de *R. microplus* sobre los bovinos y también detectar cuáles son los períodos mínimos de descanso de las pasturas suficientes para provocar una mortalidad natural completa o significativa de las garrapatas (larvas) presentes en las pasturas por inanición y/o deshidratación. Se espera que los resultados de este proyecto permitan un control eficaz de *R. microplus* y ayuden a mitigar los problemas derivados del uso intensivo de acaricidas químicos en áreas ganaderas de la región Litoral de la Argentina en las provincias de Santa Fe, Chaco, Corrientes y Entre Ríos.

Objetivos

Objetivo general:

El objetivo general de este proyecto es generar conocimientos sobre aspectos de la ecología de la garrapata común del bovino *R. microplus* y utilizarlos para diseñar y evaluar métodos de control que integren el uso estratégico de acaricidas y el manejo diferencial de pasturas, aplicables a la región Litoral de Argentina. También se busca desarrollar y aplicar test *in vitro* para el diagnóstico de resistencia de *R. microplus* algunos de los principales grupos químicos disponibles en el mercado como garrapaticidas a fin de obtener información sobre la extensión de este fenómeno en el área de estudio.

Objetivos específicos:

Objetivo 1: Describir la dinámica poblacional de *R. microplus* a través del estudio de las fases parasíticas y no parasíticas de su ciclo biológico a lo largo de un gradiente latitudinal en la región Litoral de Argentina en las provincias de Santa Fe, Chaco, Corrientes y Entre Ríos.

Objetivo 2: En base a la información obtenida con el objetivo 1, diseñar, adaptar y poner a prueba métodos de control de *R. microplus* empleando tratamientos estratégicos con acaricidas químicos aplicables a zonas de la región Litoral de Argentina en las provincias de Santa Fe, Chaco, Corrientes y Entre Ríos.

Objetivo 3: En base a la información obtenida con el objetivo 1, establecer la escala temporal necesaria para aplicar el descanso de pasturas como un método alternativo para el control de *R. microplus* en zonas de la región Litoral de Argentina en las provincias de Santa Fe, Chaco, Corrientes y Entre Ríos.

Objetivo 4: Adaptar, estandarizar y aplicar test *in vitro* para el diagnóstico de la resistencia de *R. microplus* para algunos de los principales grupos químicos aprobados y disponibles en el mercado como garrapaticidas.

CAPÍTULO 1

Dinámica poblacional de *Rhipicephalus microplus* y control estratégico.

Capítulo 1: Dinámica poblacional de *Rhipicephalus microplus* y control estratégico

1.1 Introducción

Rhipicephalus microplus es la especie de garrapata con mayor impacto sanitario y económico en el mundo para la producción ganadera (Graf et al., 2004; Jongejan y Uilenberg, 2004). En las áreas de Argentina donde está presente, esta garrapata ocasiona fuertes limitaciones al desarrollo de la ganadería de carne y leche (Guglielmone y Nava, 2013).

El principal y casi exclusivo método de control contra *R. microplus* es el empleo de garrapaticidas químicos, pero el uso intensivo de estos compuestos ha derivado en la aparición de cepas de garrapatas resistentes a las drogas disponibles comercialmente (Guglielmone et al., 2006; Castro-Janer et al., 2010 a, b, 2011; Guerrero et al., 2012; Lovis et al., 2013; Reck et al., 2014a; Klafke et al., 2017), en contaminación ambiental y restricciones para el consumo de la carne y leche que imponen los períodos de carencia de determinados principios activos (George et al., 2008; Nari Henrioud, 2011; Guerrero et al., 2012; Reck et al., 2014a; Klafke et al., 2017).

Uno de los métodos que permite mitigar estos efectos es el uso de herramientas como el control estratégico (Barnett, 1961), el cual está basado en la reducción del uso de acaricidas a lo largo del año concentrando los tratamientos en el momento de mayor vulnerabilidad y menor abundancia de *R. microplus*. El objetivo de estos tratamientos es generar un impacto en el desarrollo del ciclo, afectando así la estación de mayor abundancia del parásito (Norris, 1957; Barnett, 1961).

De acuerdo con la zona geográfica, se pueden producir de tres a cinco generaciones de garrapatas por año. La primera generación de garrapatas, que se desarrolla a partir del final del invierno o comienzo de la primavera, habitualmente alcanza niveles de infestación de poca magnitud en los bovinos, pero es de gran importancia epidemiológica, ya que origina las generaciones más abundantes de verano y otoño (Figura 5).

El control estratégico es un esquema que, mediante una serie de tratamientos garrapaticidas concentrados sobre esta primera generación, logra un impacto significativo sobre las generaciones posteriores, alcanzando una alta eficacia global con un bajo número de tratamientos.

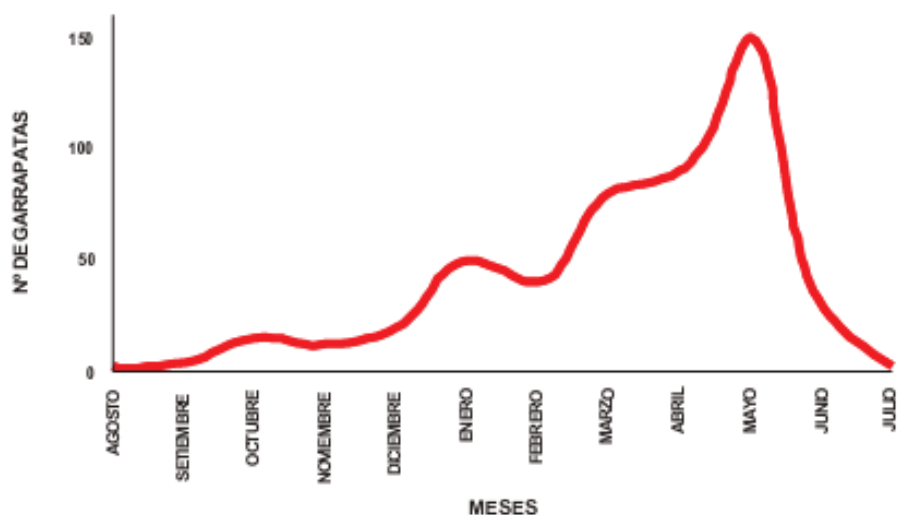


Figura 5: Patrón de la abundancia estacional de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Argentina en el área de mayor aptitud ecológica. Tomado de Nava et al. (2024).

Otras alternativas que podrían minimizar el uso de acaricidas sintéticos son el manejo de pasturas y el uso de razas de bovinos resistentes a las garrapatas; sin embargo, esto requiere de establecimientos específicos con condiciones de manejo aptas para este tipo de estrategias (Wharton, 1972; Johnston et al., 1981; Sutherst y Utech, 1981; Norton et al., 1983; Guglielmone et al., 1990).

Tanto el control estratégico como el manejo de pasturas requieren del conocimiento de la ecología de *R. microplus* (Morel et al., 2017; Nava et al., 2020). En zonas subtropicales, la época de menor abundancia de *R. microplus* es a fines del invierno y principios de primavera, siendo el verano tardío y otoño las estaciones de mayor abundancia (Nava et al., 2022). Los factores ambientales tienen una importante influencia en la dinámica estacional del ciclo no parasitario de *R. microplus*. Un adecuado nivel de lluvias, la abundancia de cobertura vegetal (que provea sombra para evitar la desecación de huevos y larvas) y las temperaturas por encima de los 15,5 °C (que favorecen la eclosión de huevos), son componentes benéficos para el desarrollo de esta garrapata (Nuñez et al., 1982; Estrada Peña et al., 2022). El número de generaciones anuales puede variar de tres en áreas menos favorables o intermedias de Argentina, a cinco en áreas más favorables (Ivancovich., 1975; Ivancovich., 1982, 1984; Guglielmone, 1992).

La dinámica estacional del nivel de infestación en bovinos está caracterizada por un incremento en la abundancia de garrapatas desde mediados de la primavera al otoño, donde alcanza el pico máximo, para luego decrecer hacia el invierno e inicio de la primavera (Guglielmone et al., 1981, 1990; Nava et al., 2015; Canevari et al., 2017). Sin embargo, ocasionalmente se han observado excepciones a este patrón donde los picos máximos de

abundancia de garrapatas en bovinos acaecieron en primavera o verano (Guglielmone et al., 1990; Morel et al., 2017).

Tanto el estudio de la fase parasítica como no parasítica juegan un importante rol en la determinación de estrategias de manejo racional para abordar la problemática de la resistencia y la contaminación del ambiente y alimentos por el uso de acaricidas químicos sintéticos.

Por lo tanto, el objetivo planteado en esta sección del trabajo fue describir la dinámica poblacional de *R. microplus* en la región Litoral de Argentina, tanto en su fase parasítica como no parasítica, y evaluar el impacto que los esquemas de control estratégico basados en la aplicación de tres o cuatro tratamientos anuales tuvieron sobre los niveles de infestación de los bovinos con esta garrapata en el área de estudio.

1.2 Materiales y Métodos

1.2.1a Estudio de la fase no parasítica: determinación de la escala temporal necesaria para aplicar un descanso de pasturas.

El estudio ecológico se realizó a partir de datos obtenidos en cinco puntos geográficos ubicados en un área que incluye a las provincias de Santa Fe, Chaco, Corrientes, Entre Ríos, y que se halla comprendida en la ecorregión del Chaco Húmedo según la descripción de Burkart et al. (1999). Para ello, se seleccionaron cinco establecimientos de diferentes localidades pertenecientes a los departamentos de Cruzú Cuatía y Concepción (provincia de Corrientes), La Paz (provincia de Entre Ríos), Primero de mayo (provincia de Chaco), General Obligado (provincia de Santa Fe).

Durante los primeros dos años, en los establecimientos mencionados anteriormente, se estudió la fase no parasitaria del ciclo de *R. microplus* para la obtención de los siguientes parámetros biológicos: Proporción de las hembras que ovipusieron (PHO); Período de preoviposición (PPO: días transcurridos desde que la teleogina se expone en el ambiente hasta que pone el primer huevo); Proporción de los aoves que eclosionaron (PHE); Período de incubación de los huevos (PI: Días transcurridos desde que la teleogina pone el primer huevo hasta que eclosiona la primera larva); Período de longevidad larval (PLL: Días transcurridos desde que nace la primera larva hasta la muerte del 100% de las mismas).

Sumando estos períodos se obtuvo la duración de la fase no parasitaria (TPNP), es decir los días transcurridos desde que se desprende la teleogina hasta que muere la última larva.

Cada mes se obtuvieron teleoginas de *R. microplus*, las cuales durante dos años fueron expuestas a la humedad relativa y a la temperatura a nivel del suelo en grupos de 20, colocadas individualmente en sobres de malla de acero inoxidable de 3 × 4 cm como los descritos por Nava et al. (2013) (Figura 6 A).

Los sobres se expusieron a la humedad relativa y a la temperatura a nivel del suelo se colocaron dentro de jaulas (1 × 1 m) construidas con una malla metálica que no impidió el crecimiento natural de la pastura, para evitar de este modo la mortalidad por depredación de aves o pequeños mamíferos (Figura 6 B).

Los datos de humedad relativa y temperatura correspondientes al nivel del suelo (datos microclimáticos) donde se expusieron las garrapatas se registraron diariamente mediante dispositivos con sensores externos de temperatura y humedad (Data Logger, Hobo ® Modelo U23-002 Pro v2), y a partir de estos datos se calculó el déficit de saturación con la fórmula de Randolph y Storey (1999). Las exposiciones se controlaron semanalmente.



Figura 6: *Estudio de la fase no parasítica.*

A: Jaula metálica empleada para la exposición de garrapatas. B: Sobres de acero inoxidable donde se colocaban las teleoginas para la exposición.

La eclosión de los huevos en un área y época del año dadas, y por ende la presencia de larvas en las pasturas, depende de la temperatura. Es decir, los huevos necesitan acumular una determinada cantidad de grados-días (GDA) para que se dé la eclosión

(Sutherst et al., 1999; Nava et al. 2022). En el caso particular de *R. microplus*, este valor es de aproximadamente 270–275 GD sobre una temperatura base de 15,5°C en un período no mayor a 100–110 días. Por esta razón se calcularon para cada serie de exposición los grados-día acumulados sobre el umbral de 15,5 °C durante el PI y los días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C.

1.2.2a Resultados

Los valores obtenidos para los distintos parámetros biológicos registrados en las localidades de Colonia Benítez - Chaco, Reconquista - Santa Fe, La Paz - Entre Ríos, Tabay - Corrientes y Curuzú Cuatiá - Corrientes se presentan en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5 respectivamente; y en la Figura 7, junto con los valores de grados-día acumulados sobre el umbral de 15,5°C (GDA > 15,5 °C) durante el período de incubación y los días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C (DGD).

La PHO fue similar en las cinco localidades. Los valores se encontraron entre 0,75 y 1, con la excepción de aquellos de La Paz (Tabla 3) en las series 3 (0,66), 5 (0,71), 12 (0,66), 15 (0,66) y 16 (0,62) y Curuzú Cuatiá (Tabla 5), en las series 4 (0,73), 9 (0,6) y 10 (0,25).

Los valores de PHER variaron de acuerdo con la localidad y año. Para Colonia Benítez se registró eclosión desde mediados del invierno hasta el verano, pero no en los aoves de las garrapatas expuestas a mediados y fines del otoño (series 8, 9, 18 y 19; Tabla 1) y en una serie expuesta a fines del invierno (serie 1; Tabla 1). Los aoves de las exposiciones de Reconquista fueron viables en todo el año, con la excepción de aquellos pertenecientes a las garrapatas expuestas a fines de otoño y principio de invierno del año 2018 (series 18 y 19, Tabla 2). En La Paz, no se registró eclosión en los aoves de la exposición de finales de otoño del primer año (Serie 1, Tabla 3), y en el año 2021 solo se observó eclosión en las exposiciones de verano (Serie 6 y 7, Tabla 3) y de principios de otoño en 2022 (Serie 18, Tabla 3). Los aoves de la garrapatas expuestas en Tabay eclosionaron todo el año (Tabla 4), y en Curuzú Cuatiá no se observó eclosión en los aoves de las exposiciones de otoño (series 8, 9 y 10, Tabla 5).

El patrón de valores de PI fue similar en todas las localidades (Figura 7). Los PI más prolongados se observaron en los aoves de aquellas garrapatas que fueron expuestas a mediados y fines invierno, y los más cortos correspondieron a aquellos de garrapatas expuestas a mediados y fines de la primavera y en el verano (Tablas 1–5).

En todas las localidades, los PLL más prolongados fueron observados en las larvas originadas de las hembras expuestas a mediados y fines del verano, y a principios del otoño (Tablas 1–5), mientras que los más cortos fueron observados en las exposiciones de

garrapatas realizadas en invierno (Colonia Benítez y Reconquista) y primavera (La Paz, Tabay, Curuzú Cuatiá) (Tablas 1–5).

El patrón de la dinámica del TPNP fue similar en Colonia Benítez, Reconquista y Tabay, pero diferente al observado en La Paz y Curuzú Cuatiá. Marzo y agosto se registraron como los meses en los que frecuentemente se encontraron exposiciones con mayores TPNP para las cinco localidades. Las exposiciones del mes de abril fueron aquellas en las que se registraron valores medios más altos de TPNP para Colonia Benítez, Reconquista y Tabay (186, 172,8 y 193,66 respectivamente), y las de septiembre para La Paz y Curuzú Cuatiá (159,33 y 154,75 respectivamente) (Tablas 1–5).

Las exposiciones de primavera y verano fueron las que presentaron menores valores de TPNP (Tablas 1–5). En Colonia Benítez, Reconquista y Tabay los rangos de estos valores fueron de 73,4–101,6; 77–115,7 y 58–119,33 (Tablas 1, 2 y 4). En La Paz, el menor valor se presentó durante la exposición realizada a fines de la primavera (113,16) (Tabla 3), y en CC a fines de la primavera (114,5) y comienzos de esta estación (97) (Tabla 5).

Los valores mínimos de grados-días acumulados por encima de un umbral de 15,5 °C ($GDA > 15,5 \text{ °C}$) necesarios para que se produzca la eclosión de los aoves fueron 249, 275, 274, 292 y 253 para Colonia Benítez, Reconquista, La Paz, Tabay y Curuzú Cuatiá respectivamente (Tablas 1–5).

El número máximo de días necesarios para alcanzar 275 grados-día sobre un umbral de 15,5 °C (DGD), en los cuales se observó eclosión de larvas fue de 75, 98, 85, 112, 71 para Colonia Benítez, Reconquista, La Paz, Tabay y Curuzú Cuatiá respectivamente (Tabla 1–5) mientras que los valores mínimos de DGD fueron de 22, 18, 32, 23, 27 para Colonia Benítez, Reconquista, La Paz, Tabay y Curuzú Cuatiá respectivamente (Tabla 1–5). Los valores mínimos y máximos de DGD en los cuales no se registró eclosión fueron de 95–98 para Colonia Benítez, 124–130 para Reconquista, 23–171 para La Paz, y 116 a 143 para Curuzú Cuatiá (Tablas 1, 3 y 5). La localidad de Tabay a pesar de tener un valor de 112 DGD (Serie 9), presentó eclosión (Tabla 4).

A modo de resumen, se presenta los valores medios para cada uno de los parámetros antes mencionados junto a los valores mínimo y máximo en la Tabla 6.

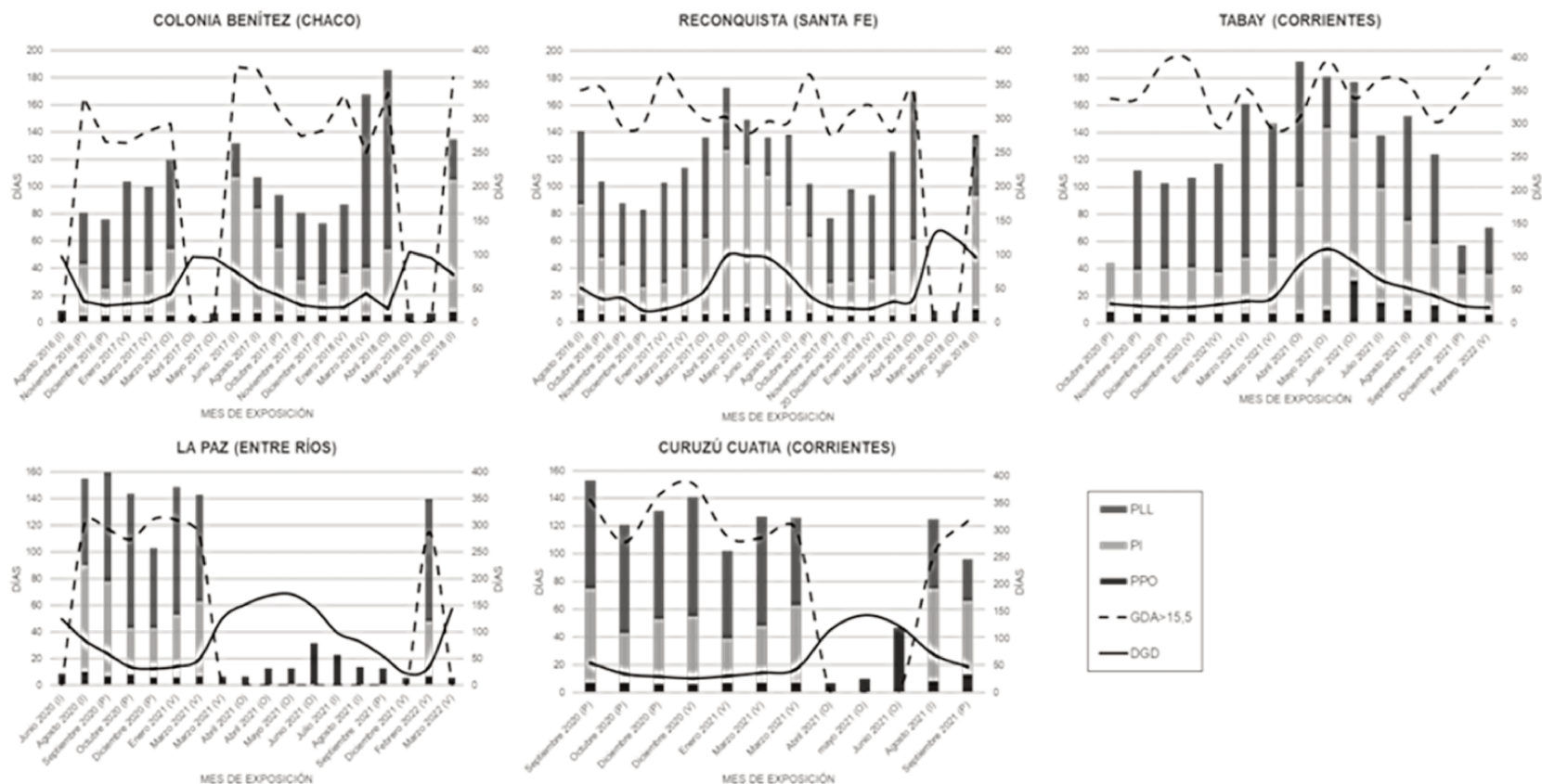


Figura 7: Duración en días de la fase no parasítica del ciclo biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en diferentes localidades de la región Litoral de Argentina.

Período de preoviposición (PPO), período de incubación de los huevos (PI) y periodo de longevidad larval (PLL) medidos en días en la escala de Y de la izquierda. La cantidad de grados-días acumulados ($GDA > 15,5^\circ$) durante el periodo de incubación y los días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de $15,5^\circ\text{C}$ (DGD). Coinciden con la escala en días de Y de la derecha. Cada mes corresponde a la fecha en la que las teleoginas se exponen en el ambiente (estación del año: primavera = P, verano = V, otoño = O, invierno= I)

Tabla 1:

Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Colonia Benítez, provincia de Chaco, Argentina.

Serie n°	FE(EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 1	25 agosto 2016 (I)	0,8	9	-	-	-	-	-	98	-	-	-
Serie 2	3 noviembre 2016 (P)	0,95	5	0,9	38,1 (34–46)	38,8 (25–47)	82 (64–93)	332	32	23,25	89,67	2,46
Serie 3	2 diciembre 2016 (P)	0,95	5	0,85	20	51,5 (35–77)	76,5 (60–102)	266	25	25,54	88,52	2,79
Serie 4	24 enero 2017 (V)	0,95	5	0,9	25,1 (23–30)	72,4 (29–86)	101,6 (57–120)	264	28	23,11	85,24	3,06
Serie 5	2 marzo 2017 (V)	0,85	5	0,95	33,5 (26–37)	61,7 (28–76)	100,2 (70–118)	282	30	24,74	85,38	2,34
Serie 6	23 marzo 2017 (O)	1	5	0,9	49	66,5 (55–84)	122,5 (109–138)	293	42	20,78	84,53	2,50
Serie 7	19 abril 2017 (O)	0,85	5	0	-	-	-	-	97	-	-	-
Serie 8	30 mayo 2017 (O)	0,9	7	0	-	-	-	-	95	-	-	-
Serie 9	29 junio 2017 (I)	1	7	0,15	100 (78–120)	25,6 (15–40)	135,5 (128–170)	376	75	19,60	81,78	3,14
Serie 10	9 agosto 2017 (I)	1	7	0,4	77	23 (15–35)	109 (101–121)	372	52	21,85	85,41	2,85
Serie 11	3 octubre 2017 (P)	1	6	0,6	49	39 (29–62)	95,6 (85–118)	311	40	23,67	80,94	4,39
Serie 12	23 noviembre 2017 (P)	1	5	1	26,5 (24–29)	49,9 (21–56)	81,5 (50–90)	274	26	26,82	75,08	6,71
Serie 13	20 diciembre 2017 (P)	1	5	1	23	45,4 (40–68)	73,4 (68–96)	282	22	25,87	68,80	7,72
Serie 14	24 enero 2018 (V)	0,95	5	0,7	31,3 (30–36)	50,8 (35–61)	91 (72–108)	336	23	22,50	82,43	3,47
Serie 15	7 marzo 2018 (V)	0,9	5	1	35	128,6 (54–152)	168,6 (94–192)	249	43	19,62	70,38	4,70
Serie 16	5 abril 2018 (O)	1	6	1	48	131,7 (110–141)	186 (164–195)	-	-	14,45	75,88	3,04

Continuación Tabla 1.

Serie n°	FE(EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 17	8 mayo 2018 (O)	0,95	7	0	-	-	-	-	104	-	-	-
Serie 18	30 mayo 2018 (O)	0,95	7	0	-	-	-	-	95	-	-	-
Serie 19	5 Julio 2018 (I)	1	8	0,85	97,2 (91–109)	30	141 (135–153)	361	71	19,58	86,96	2,32

Los parámetros incluidos son: Fecha de exposición (FE) (estación del año (EA)), proporción de hembras que ovipusieron (PHO), período pre-ovipositorio (PPO), proporción de huevos eclosionados en racimos (PHER), período de incubación (PI), longevidad larval (PLL), total del período no parasítico (TPNP). Los valores de PPO, PI, PLL y TPNP están expresados en días (media seguida de máximo y mínimo entre paréntesis). GDA: grados-día acumulados >15,5°C durante el PI. DGD: días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño. T: Temperatura promedio en °C; HR: humedad relativa en %; DS: déficit de saturación

Tabla2:

Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Reconquista, provincia de Santa Fe, Argentina.

Serie n°	FE (EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 1	25 agosto 2016 (I)	0,8	10	0,7	77 (69–79)	53,7 (39–66)	145,2 (128–155)	342	51	22,35	82,70	3,38
Serie 2	20 octubre 2016 (P)	1	6	1	42,2 (31–56)	56,2 (48–71)	115,7 (110–133)	345	35	24,92	82,47	4,21
Serie 3	3 noviembre 2016 (P)	1	5	0,9	37 (30–39)	45,6 (20–71)	88,6 (62–113)	288	36	26,75	95,88	1,07
Serie 4	2 diciembre 2016 (P)	0,95	6	1	20	57,1 (28–82)	83,1 (54–108)	292	18	25,69	92,20	2,56
Serie 5	24 enero 2017 (V)	0,95	5	0,95	24,5 (21–29)	74,2 (31–89)	103,5 (65–120)	368	20	24,75	95,15	1,19
Serie 6	2 marzo 2017 (V)	1	5	1	35 (30–37)	73,7 (41–83)	113,7 (81–123)	327	29	21,58	95,40	0,91

Continuación Tabla 2.

Serie n°	FE(EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 7	23 marzo 2017 (O)	1	6	0,9	56 (50–60)	74,3 (48–113)	136,3 (104–179)	298	49	23,34	90,63	2,05
Serie 8	19 abril 2017 (O)	1	6	0,9	121 (114–124)	45,8 (33–69)	172,8 (160–196)	302	98	18,06	93,36	1,01
Serie 9	30 mayo 2017 (O)	1	11	0,8	105 (99–110)	39,5 (35–66)	156 (151–182)	278	98	18,73	93,68	0,96
Serie 10	29 junio 2017 (I)	0,9	10	1	98 (90–101)	28,3 (21–52)	137,3 (130–161)	296	95	20,98	90,53	1,71
Serie 11	9 agosto 2017 (I)	1	9	0,8	77	52,4 (37–77)	138,4 (123–163)	295	72	24,10	86,54	3,00
Serie 12	3 octubre 2017 (P)	0,8	7	1	56,1 (49–59)	39 (19–75)	102,1 (82–138)	365	40	25,20	87,90	2,80
Serie 13	23 noviembre 2017 (P)	1	5	0,70	24	47,8 (21–56)	77 (50–85)	276	24	25,19	88,36	2,76
Serie 14	20 diciembre 2017 (P)	0,95	5	0,9	25,1 (21–29)	68,5 (58–73)	98,5 (88–103)	309	21	25,50	88,91	2,69
Serie 15	24 enero 2018 (V)	1	5	0,9	26,6 (21–30)	62,3 (45–85)	92 (75–115)	319	21	22,94	82,02	3,73
Serie 16	7 marzo 2018 (V)	0,85	5	0,9	32,6 (32–39)	87,9 (77–124)	125 (114–161)	281	31	19,93	85,29	2,73
Serie 17	5 abril 2018 (O)	1	6	1	55,2 (49–59)	109,8 (100–114)	169,8 (161–175)	338	35	13,78	93,36	0,76
Serie 18	8 mayo 2018 (O)	0,8	9	0	-	-	-	-	130	-	-	-
Serie 19	30 mayo 2018 (O)	0,8	9	0	-	-	-	-	124	-	-	-
Serie 20	5 Julio 2018 (I)	0,9	10	0,85	83 (79–87)	45 (39–52)	142 (135–149)	275	96	18,65	92,40	0,99

Los parámetros incluidos son: Fecha de exposición (FE) (estación del año (EA)), proporción de hembras que ovipusieron (PHO), período pre-ovipositorio (PPO), proporción de huevos eclosionados en racimos (PHER), período de incubación (PI), longevidad larval (PLL), total del período no parasítico (TPNP). Los valores de PPO, PI, PLL y TPNP están expresados en días (media seguida de máximo y mínimo entre paréntesis). GDA: grados-día acumulados >15,5°C durante el PI. DGD: días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño. T: Temperatura promedio en °C; HR: humedad relativa en %; DS: déficit de saturación

Tabla 3:

Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en La Paz, provincia de Entre Ríos, Argentina.

Serie n°	FE(EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 1	17 junio 2020 (I)	0,9	9	-	-	-	-	-	125	-	-	-
Serie 2	12 agosto 2020 (I)	1	10	0,1	80	65	155	305	85	17,90	73,90	3,92
Serie 3	24 septiembre 2020 (P)	0,66	7	1	71	82,33 (77-98)	159,33 (151-175)	293	60	20,50	75,10	4,40
Serie 4	28 octubre 2020 (P)	0,8	8	1	35	101,25 (83-116)	144,25 (126-159)	274	35	22,10	79,00	4,10
Serie 5	10 diciembre 2020 (P)	0,93	6	0,71	37	59,55 (44-78)	113,56 (98-132)	312	32	25,40	74,90	6,01
Serie 6	28 enero 2021 (V)	0,75	6	1	47 (44-62)	96,33 (83-121)	145,33 (132-170)	310	36	22,50	72,60	5,48
Serie 7	3 marzo 2021 (V)	1	7	0,9	51,88 (48-55)	80,22 (64-107)	137,56 (119-169)	281	50	21,20	77,60	4,13
Serie 8	18 marzo 2021 (V)	1	7	-	-	-	-	-	126	-	-	-
Serie 9	7 abril 2021 (O)	1	7	-	-	-	-	-	152	-	-	-
Serie 10	27 abril 2021 (O)	0,88	13	-	-	-	-	-	168	-	-	-
Serie 11	4 mayo 2021 (O)	0,9	13	-	-	-	-	-	171	-	-	-
Serie 12	9 junio 2021 (O)	0,66	32,25 (21-36)	-	-	-	-	-	146	-	-	-
Serie 13	27 Julio 2021 (I)	1	23	-	-	-	-	-	99	-	-	-
Serie 14	19 agosto 2021 (I)	1	14	-	-	-	-	-	82	-	-	-
Serie 15	27 septiembre 2021 (P)	0,66	13	-	-	-	-	-	55	-	-	-
Serie 16	22 diciembre 2021 (V)	0,62	6	-	-	-	-	-	23	-	-	-
Serie 17	2 febrero 2022 (V)	0,85	7	0,85	41	92	149	287	36	23,5	80,4	4,17
Serie 18	11 marzo 2022 (V)	1	6	-	-	-	-	-	144	-	-	-

Los parámetros incluidos son: Fecha de exposición (FE) (estación del año (EA)), proporción de hembras que ovipusieron (PHO), período pre-ovipositorio (PPO), proporción de huevos eclosionados en racimos (PHER), período de incubación (PI), longevidad larval (PLL), total del período no parasítico (TPNP). Los valores de PPO, PI, PLL y TPNP están expresados en días (media seguida de máximo y mínimo entre paréntesis)

Continuación Tabla 3.

GDA: grados-día acumulados >15,5°C durante el PI. DGD: días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño. T: Temperatura promedio en °C; HR: humedad relativa en %; DS: déficit de saturación

Tabla 4:

Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Tabay, provincia de Corrientes, Argentina.

Serie n°	FE (EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 1	28 octubre 2020 (P)	1	8	1	36	74 (53–98)	119,33 (117–142)	338	29	26,10	80,90	4,78
Serie 2	20 noviembre 2020 (P)	1	7	1	32	73 (55–75)	103 (94–104)	338	26	26,90	81,80	4,78
Serie 3	11 diciembre 2020 (P)	1	6	1	34	62,58 (43–75)	102,58 (83–115)	394	24	27,00	85,00	3,97
Serie 4	29 diciembre 2020 (V)	1	6	1	35	65,84 (58–76)	100,53 (80–113)	392	24	27,20	92,20	2,09
Serie 5	28 enero 2021(V)	1	7	1	29,4 (28–35)	79,5 (48–108)	114,5 (83–143)	294	28	25,10	82,60	4,09
Serie 6	4 marzo 2021 (V)	1	7	1	41	113,2 (97–137)	152,4 (92–187)	353	33	21,50	87,40	2,44
Serie 7	19 marzo 2021 (V)	1	7	0,9	41	99,3 (45–147)	146 (83–195)	292	38	17,70	76,50	3,49
Serie 8	6 abril 2021 (O)	1	7	0,75	93	92,66 (60–109)	193,66 (161–210)	310	88	15,90	84,30	2,08
Serie 9	6 mayo 2021 (O)	1	10	0,5	133	38,2 (16–57)	176,8 (160–172)	395	112	16,70	79,90	2,80
Serie 10	10 junio 2021 (O)	0,88	31,25 (20–35)	0,44	105	41	167	339	93	18,70	76,60	3,70

Continuación Tabla 4.

Serie n°	FE (EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 11	27 Julio 2021 (I)	0,8	15,25 (13–22)	0,8	84	39	137	368	65	22,50	80,00	4,06
Serie 12	19 agosto 2021 (I)	1	10	0,83	65	77,2 (22–91)	153 (97–167)	361	53	22,90	79,50	4,20
Serie 13	27 septiembre 2021 (P)	1	13	0,93	44,78 (44–55)	66,21 (56–67)	125	303	41	23,50	77,80	4,73
Serie 14	3 diciembre 2021 (P)	0,75	6	0,75	30	21	58	337	26	26,80	78,40	5,38
Serie 15	2 febrero 2022 (V)	0,83	6	0,5	30	34,33 (21–51)	80,33 (67–87)	387	23	24,60	81,90	4,12

Los parámetros incluidos son: Fecha de exposición (FE) (estación del año (EA)), proporción de hembras que ovipusieron (PHO), período pre-ovipositaro (PPO), proporción de huevos eclosionados en racimos (PHER), período de incubación (PI), longevidad larval (PLL), total del período no parasítico (TPNP). Los valores de PPO, PI, PLL y TPNP están expresados en días (media seguida de máximo y mínimo entre paréntesis). GDA: grados-día acumulados >15,5°C durante el PI. DGD: días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño. T: Temperatura promedio en °C; HR: humedad relativa en %; DS: déficit de saturación

Tabla 5:

Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en Curuzú Cuatiá, provincia de Corrientes, Argentina.

Serie n°	FE (EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 1	24 septiembre 2020 (P)	0,86	7	0,61	68 (50–71)	78,12 (73–94)	154,75 (151–161)	356	55	20,9	82,1	3,24
Serie 2	28 octubre 2020 (P)	0,93	7	0,92	36	77,64 (73–98)	122 (117–142)	278	35	22,3	85	2,96
Serie 3	10 diciembre 2020 (P)	0,78	6	0,18	47	78 (46–110)	114,5 (97–132)	365	30	24,5	70	6,79

Continuación Tabla 5.

Serie n°	FE (EA)	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA >15,5	DGD	T	HR	DS
Serie 4	29 diciembre 2020 (V)	0,73	6	1	49	85,9 (25–128)	140,9 (80–183)	386	27	25,9	81,4	4,6
Serie 5	28 enero 2021 (V)	0,75	7	1	32,33 (28–41)	63,25 (52–67)	133	288	31	26,1	83,5	4,1
Serie 6	4 marzo 2021 (V)	0,8	7	1	41	79 (70–97)	127 (118–145)	286	37	23,1	76,2	4,94
Serie 7	19 marzo 2021 (V)	1	7	0,6	55,83 (54–65)	63 (22–91)	124,67 (83–153)	301	44	22,3	88,1	2,35
Serie 8	7 abril 2021 (O)	1	7	-	-	-	-	-	116			
Serie 9	6 mayo 2021 (O)	0,6	10	-	-	-	-	-	143			
Serie 10	10 junio 2021 (O)	0,25	47	-	-	-	-	-	123			
Serie 11	19 agosto 2021 (I)	1	8	1	67	50	125	253	71	18,8	74,9	3,99
Serie 12	27 septiembre 2021 (P)	0,76	13	1	53	30	97	317	48	21,9	82,3	3,41

Los parámetros incluidos son: Fecha de exposición (FE) (estación del año (EA)), proporción de hembras que ovipusieron (PHO), período pre-ovipositorio (PPO), proporción de huevos eclosionados en racimos (PHER), período de incubación (PI), longevidad larval (PLL), total del período no parasítico (TPNP). Los valores de PPO, PI, PLL y TPNP están expresados en días (media seguida de máximo y mínimo entre paréntesis). GDA: grados-día acumulados >15,5°C durante el PI. DGD: días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño. T: Temperatura promedio en °C; HR: humedad relativa en %; DS: déficit de saturación

Tabla 6:

Dinámica de la fase no parasítica de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Valores medios por localidad.

LOCALIDAD	PHO	PPO	PHER	PI	PLL	TPNP	GDA>15,5	DGD	T	HR	DS
Colonia Benítez	0,94 (0,8-1)	6 (5-9)	0,6 (0-1)	46,62 (20-100)	58,20 (23-131,7)	111,74 (73,4-186)	307 (249-376)	55,44 (22-104)	22,24 (14,45-26,82)	81,5 (68,8-89,67)	3,67 (2,32-7,72)
Reconquista	0,93 (0,8-1)	7 (5-11)	0,81 (0-1)	55,29 (20-121)	58,95 (28,3-109,8)	122,05 (77-172,8)	310,7 (275-368)	56,15 (18-130)	22,35 (13,78-26,75)	89,82 (82,02-95,88)	2,13 (0,76-4,21)
La Paz	0,86 (0,62-1)	10,8 (6-32,25)	0,79 (0,1-1)	51,84 (35-80)	82,38 (59,55-101,25)	143,43 (113,56-159,33)	294,57 (274-312)	90,27 (23-171)	21,87 (17,9-25,4)	76,21 (72,6-80,4)	4,6 (3,92-0,01)
Tabay	0,95 (0,75-1)	9,76 (6-35,25)	0,82 (0,44-1)	55,54 (29,4-133)	65,13 (21-113,2)	128,6 (58-193,66)	346,73 (292-395)	46,86 (23-112)	22,87 (15,9-27,2)	81,65 (76,5-92,2)	3,78 (2,08-5,38)
Curuzú Cuatiá	0,78 (0,25-1)	11 (6-47)	0,81 (0,18-1)	49,9 (36-68)	67,21 (30-85,9)	126,53 (97-154,75)	314,44 (253-386)	63,33 (27-143)	22,86 (18,8-26,1)	80,38 (70-88,1)	4,04 (2,35-6,79)

Los parámetros incluidos son: los valores ubicados entre paréntesis corresponden al valor medio mínimo – valor medio máximo. Proporción de hembras que ovipusieron (PHO), período pre-ovipositario (PPO), proporción de huevos eclosionados en racimos (PHER), período de incubación (PI), longevidad larval (PLL), total del período no parasítico (TPNP). Los valores de PPO, PI, PLL y TPNP están expresados en días (media seguida de máximo y mínimo entre paréntesis). GDA: grados-día acumulados >15,5°C durante el PI. DGD: días necesarios para alcanzar 275 grados-día por encima del umbral de 15,5°C. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño. T: Temperatura promedio en °C; HR: humedad relativa en %; DS: déficit de saturación

1.2.3a Discusión

El patrón estacional de los parámetros biológicos registrados en el estudio de la fase no parasítica demuestra que, en la región Litoral de Argentina, la oviposición es un evento que ocurre a lo largo de todo el año independientemente de la estación (Figura 7). Sin embargo, en líneas generales no se observó eclosión durante los meses de otoño en todas las localidades a excepción de Tabay durante los dos años de exposiciones (Tabla 4) y Reconquista en el primer año de exposición (Tabla 2: series 7–9).

La relación determinística entre la temperatura y la viabilidad de los huevos es ampliamente conocida para diferentes especies del subgénero *Boophilus*, incluyendo *R. microplus* (Sutherst et al., 1988; Davey, 1988; Davey y Cooksey, 1989; Short et al., 1989; Guglielmone, 1992; Sutherst et al., 1999; Sutherst y Bourne, 2006; Canevari et al., 2017; Nava et al., 2020, 2022). Los huevos requieren una acumulación de grados-día para completar su desarrollo. Es necesario un número mínimo de grados-día por encima de un umbral para prevenir el estrés térmico en los huevos (Sutherst et al., 1999).

En este estudio, se observó que los huevos necesitan al menos 253 grados-día acumulados por encima del umbral térmico de 15,5 °C para eclosionar; un valor que debe alcanzarse en un período que no exceda los 90–100 días.

No obstante, las condiciones invernales frías representan una limitación significativa para la viabilidad de muchos parásitos y vectores artrópodos, pero inviernos más cálidos pueden aumentar las probabilidades de sobrevivir a este período (Wittmann y Baylis, 2000; Baylis y Risley, 2013).

Las temperaturas más altas aceleran la tasa de desarrollo de los parásitos que pasan parte de su ciclo de vida fuera del hospedador, como las garrapatas, mejorando así su potencial para colonizar áreas que anteriormente eran inadecuadas debido a las tendencias climáticas.

La extensión del PLL se explicó por la temperatura y el período de incubación de los huevos. A mayor temperatura, menor es el período de longevidad. Esta relación entre la temperatura y la longevidad larval ya ha sido descrita para *R. microplus* por otros autores (Ivancovich, 1975; Cardozo et al., 1984; Brizuela et al., 1996; Davey et al., 1994; Canevari et al., 2017; Nava et al., 2020). En este estudio también se encontró una relación negativa entre el PI y el PLL. Bajo condiciones similares de temperatura (o factores microclimáticos), un período más largo de incubación podría afectar negativamente la longevidad larval. La supervivencia de las larvas que emergen a finales del invierno o principios de la primavera se ve negativamente afectada debido al largo período de estrés al que están sometidos los huevos durante el invierno.

Sutherst y Bourne (2006) demostraron que en relación con los efectos de los factores microclimáticos, los huevos y las larvas no alimentadas pueden considerarse una sola entidad, transfiriéndose el estrés de los huevos a las larvas. Por su parte, Davey y Cooksey (1989) y Sutherst y Bourne (2006) demostraron experimentalmente una fuerte relación negativa entre el tiempo de exposición de los huevos y la longevidad de las larvas originadas de esos huevos, tanto para *R. microplus* como para *R. australis* (nombrada *R. (B.) microplus*), respectivamente.

En concordancia con los resultados descritos en este trabajo, Gonzales et al. (1985) y De Souza et al. (1988) en estudios de campo realizados en el sur de Brasil, hallaron que, durante la fase no parasitaria de *R. microplus*, la longevidad de las larvas derivadas de huevos con largos períodos de incubación era menor que la longevidad de las larvas derivadas de huevos con períodos de incubación cortos.

La extensión del PI como del PLL afectó directamente la duración del TPNP. Este aspecto resulta importante cuando se decide implementar la rotación y descanso de pasturas como herramienta dentro del plan de control de *R. microplus*. Tanto los valores de PI como de PLL disminuyeron a medida que aumentó la temperatura. Ambos parámetros son fundamentales para la determinación del TPNP. Este período varía de acuerdo con la duración de la fase no parasitaria al momento de comenzar el descanso de un potrero.

De este modo, y de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, si el descanso comienza a mediados o fines de la primavera o a principios del verano, el período mínimo requerido para un control casi absoluto es de aproximadamente cuatro meses. Sin embargo, si el descanso comienza a fines del verano o durante el otoño, el tiempo mínimo necesario para asegurar un control casi absoluto alcanza los seis meses.

Bajo estas condiciones, si se incorporan a estas pasturas bovinos libres de garrapatas, se podría mantener una condición de infestación mínima o nula por períodos prolongados de tiempo (Wharton, 1972; Johnston et al., 1981; Sutherst y Utech, 1981; Norton et al., 1983; Mastropaolo et al., 2017).

La rotación de pasturas como estrategia para el control de la garrapata común del bovino permite minimizar el uso de acaricidas químicos y los consecuentes riesgos de aparición de resistencia a estos. Sin embargo, la subutilización de las pasturas que conlleva el empleo de este método como única estrategia de control limita su factibilidad, porque acarrea un costo económico y una mayor complejidad en el manejo de los rodeos, los cuales constituyen una importante restricción al empleo eficaz y sustentable de esta herramienta.

En algunos establecimientos ganaderos se realizan clausuras de potreros con el objetivo de diferir forraje en pie o para el control de renovales. Los intervalos temporales de estas clausuras suelen ser menores a los tiempos mínimos mencionados anteriormente

para suprimir la población de larvas. Debido a que una importante proporción de las larvas presentes en un potrero mueren en lapsos de tiempo más cortos que tres meses, es posible integrar de manera complementaria la descontaminación parcial ejercida mediante un descanso de pasturas de aproximadamente tres meses con un número mínimo de tratamientos químicos, tal como lo demostró Rossner et al. (2022).

1.2.1b Estudio de fase parasítica y ensayos de control estratégico

El estudio de la dinámica estacional de *R. microplus* en su fase parasítica se llevó a cabo en establecimientos ganaderos ubicados en Tabay, Corrientes; Garabato, Santa Fe y Colonia Benítez, Chaco siguiendo la infestación en grupos de 10 bovinos sin tratamientos acaricidas, a su vez, estos animales fueron los que formaron los grupos control (GC) de los ensayos de control estratégico.

En los mismos establecimientos y de manera simultánea al estudio de la fase parasítica, se aplicaron y evaluaron los esquemas de tratamientos estratégicos utilizando grupos de 10 bovinos naturalmente infestados con garrapatas que se mantuvieron en potreros independientes del grupo control, con características similares en cuanto a dimensión y disponibilidad forrajera. Los animales que fueron sometidos a tratamientos con acaricidas conformaron el grupo tratado (GT).

Los bovinos se introdujeron en los pares de potreros de cada sitio (control/tratado), que estuvieron separados entre sí por al menos 5 m, tres meses antes del inicio del estudio.

Los animales de los GC y GT utilizados en los ensayos de Colonia Benítez, Garabato y Tabay fueron de la raza Braford (18–24 meses de edad), Brangus (18–24 meses de edad), y Braford (12 meses de edad), respectivamente. Los recuentos de garrapatas se realizaron durante la última semana de cada mes en los años 2018 y 2019. Debido a que los animales de los GC estuvieron sin tratamiento acaricida y con fines de evitar el efecto deletéreo del parasitismo, se realizaron tratamientos paliativos en aquellos animales que superaron el umbral de 150 garrapatas. Se utilizó fipronil por ser una droga de rápido volteo y escaso poder residual (un día de poder residual absoluto), a fines de no afectar los recuentos mensuales.

Se aplicaron diferentes esquemas de tratamientos en Colonia Benítez, Garabato y Tabay (Figura 8):

En Colonia Benítez el grupo tratado (GT) recibió el día 0 (22 de agosto de 2018) una formulación comercial de ivermectina 3,15 % (IVOMEC GOLD®; Merial Argentina SA, Buenos Aires, Argentina) a una dosis de 1 ml/50 kg de peso vivo (0,63 mg/Kg peso vivo) de forma subcutánea. Un segundo tratamiento aplicado el 3 de octubre de 2018 con fluazurón 2,5 % pour-on (ACATAK®; Novartis Argentina SA, Buenos Aires, Argentina) a 1

ml/10 kg de peso vivo (2,5 mg/Kg peso vivo), 41 días del primer tratamiento, y un tercer tratamiento el 20 de noviembre de 2018 con fipronil 1 % pour-on (ECTOLINE®; Merial Argentina SA) administrado a 1 ml/10 kg de peso vivo (1 mg/Kg peso vivo), 100 días después del primer tratamiento.

En Garabato, los animales del grupo tratado recibieron una formulación comercial subcutánea de ivermectina 3,15 % (IVOMEC GOLD®) a dosis de 1 ml/50 kg de peso vivo (0,63 mg/Kg peso vivo) en el día 0 (24 de agosto de 2018), luego con un pour-on de fluazurón 2,5 % (ACATAK®) administrada a una dosis de 1 ml/10 kg de peso vivo (2,5 mg/Kg peso vivo) el día 35 (28 de septiembre de 2018) y finalmente 1 ml/10 kg de peso vivo (1 mg/Kg peso vivo) de un pour-on de flumetrina 1 % (BAYTICOL®; Bayer SA, Buenos Aires, Argentina) el día 84 posterior al primer tratamiento (16 de noviembre de 2018).

En Tabay, los grupos tratados (GT1 y GT2) recibieron el primer tratamiento (día 0, 15 de agosto de 2018) con una formulación comercial de ivermectina 3,15 % (IVOMEC GOLD®) a una dosis de 1 ml/50 kg de peso vivo (0,63 mg/Kg peso vivo) de forma subcutánea. Un segundo tratamiento con Fluazurón 2,5 % pour-on (día 36; 20 de septiembre de 2018) a dosis de 1 ml/10 kg de peso vivo (2,5 mg/Kg peso vivo) y un tercer tratamiento con fipronil 1 % pour-on (ECTOLINE®; Merial Argentina SA) administrado a 1 ml/10 kg de peso vivo (1 mg/Kg peso vivo) el 6 de noviembre de 2018 (83 días después del primer tratamiento). Un cuarto tratamiento adicional fue aplicado solo al GT2 el 27 noviembre 2018 (día 104 post-primer tratamiento), mediante un baño de inmersión preparado con producto comercial en base a cipermetrina 20 % y clorpirifós 50 % (ASPERSIN®; Biogénesis Bagó SA, Buenos Aires, Argentina) según las recomendaciones del fabricante.

Tanto en Colonia Benítez como en Garabato, el grupo tratado correspondió a GT y el grupo control a GC, mientras que en Tabay el grupo control correspondió a GC, el grupo tratado que recibió tres tratamientos correspondió a GT1 y el grupo tratado con cuatro tratamientos a GT2.

Cada tratamiento se realizó con productos garrapaticidas aprobados por SENASA para zona de control. Los intervalos entre tratamientos se establecieron según el período de poder residual absoluto para cada acaricida adicionando 10–12 días (Garrapatas del bovino | Argentina.gob.ar).

La selección de los acaricidas y de los esquemas de tratamiento utilizados en los ensayos de control estratégico se basó en dos criterios principales: la alternancia de grupos químicos, con el fin de reducir la presión de selección sobre las poblaciones de *Rhipicephalus microplus*, y la aplicabilidad operativa de cada producto en los establecimientos involucrados. En este sentido, la elección de los principios activos estuvo condicionada por las posibilidades reales de aplicación en cada sistema productivo, tales

como la disponibilidad de bañaderos para tratamientos por inmersión o la utilización de formulaciones aptas para aplicación tópica o inyectable. La alternancia de moléculas y los periodos entre tratamientos fueron implementados siguiendo las recomendaciones detalladas en Nava et al. (2015).

Los tratamientos se iniciaron en agosto (invierno medio-tardío) para generar un efecto significativo en la primera y menos abundante generación anual de garrapatas, para prevenir el mayor pico de abundancia que se produce en verano-otoño. Un esquema simplificado de la secuencia de tratamientos puede observarse en la Figura 8.

Los niveles de infestación con *R. microplus* se cuantificaron mediante la técnica universal de estimación del número de garrapatas hembra (partenoginas de 4–8 mm de longitud) presentes sobre uno de los lados de los bovinos según el procedimiento descrito por Nava et al. (2015).

Los datos de los conteos de garrapatas se utilizaron para calcular la prevalencia (número de bovinos infectados/número de bovinos examinados), media (número de garrapatas/número de bovinos examinados) y la mediana con el primer y tercer cuartil (1Q–3Q) tal como se define en Bush et al. (1997).

La significancia de las diferencias en las distribuciones del número de garrapatas entre los meses de un mismo año, fueron testeadas con las prueba no paramétricas de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis seguida por la prueba de Dunn para comparaciones múltiples por pares (Zar, 1999). Las diferencias fueron consideradas significativas cuando $P < 0,01$. El porcentaje de eficacia corregido (EP) fue calculado con la fórmula de Abbot modificada usando la media del número de garrapatas (Henderson & Tilton, 1955):

$$EP\% = \left(1 - \frac{n \text{ grupo control pre} - \text{tratamiento} \times n \text{ grupo tratado post} - \text{tratamiento}}{n \text{ grupo control post} - \text{tratamiento} \times n \text{ grupo tratado pre} - \text{tratamiento}} \right) \times 100$$

Donde n es la media del número de garrapatas. El porcentaje de eficacia fue calculado utilizando la media aritmética dado que las estimaciones realizadas con media geométrica arrojan resultados sesgados (McKenna, 1998; Dobson et al., 2009).

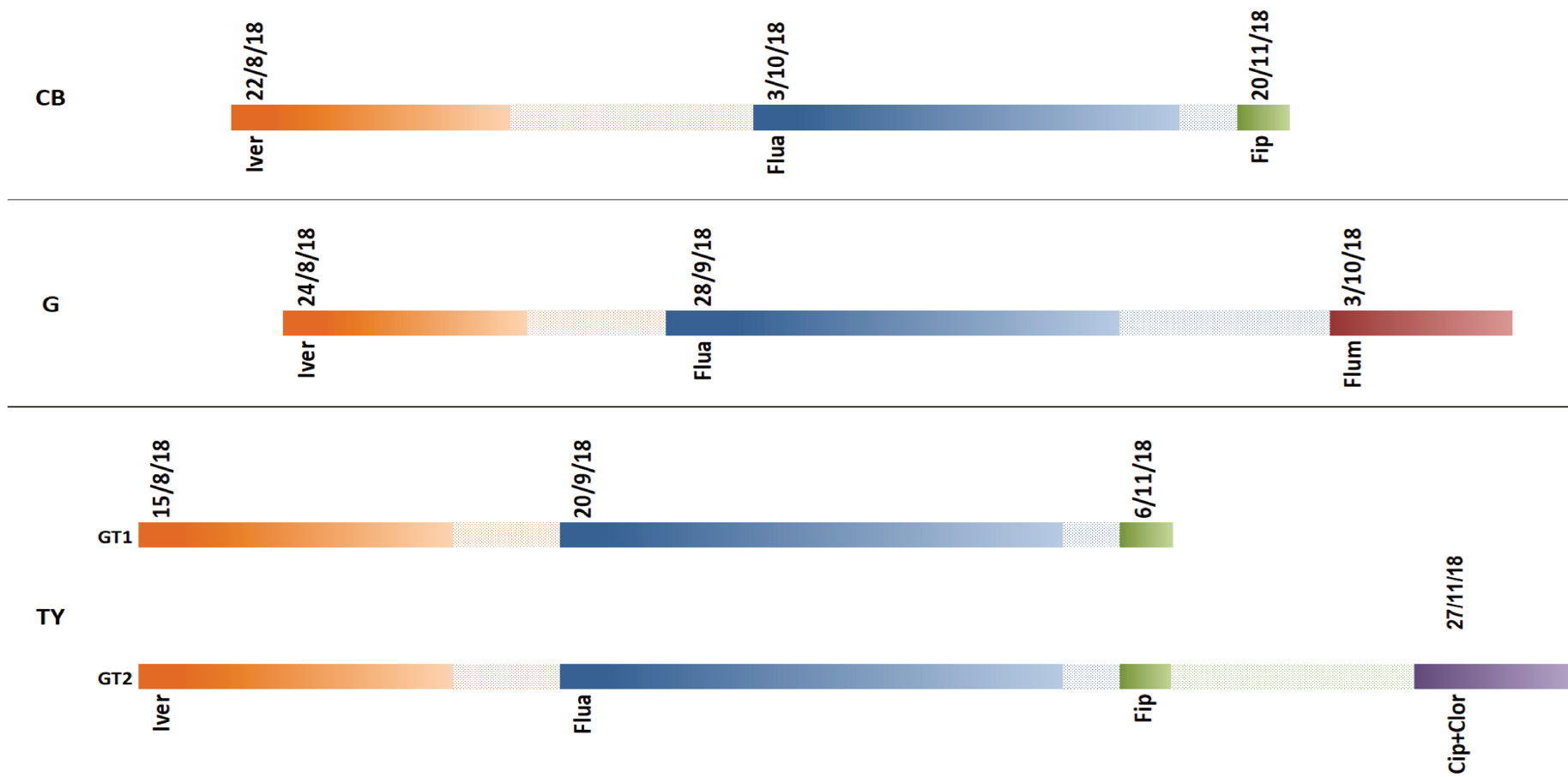


Figura 8: Esquemas de control estratégico aplicados en Colonia Benítez-Chaco (CB), Garabato-Santa Fe (G) y Tabay-Corrientes (TY).
 Iver: ivermectina 3,15%, Flua: Fluzurón 2,5%, Fip: Fipronil 1%, Flum: Flumetrina 1%, Cip+Clor: mezcla de cipermetrina 20% y clorpirifós 50%.

1.2.2b Resultados

Los resultados de la dinámica de la fase parasítica en Colonia Benítez, Garabato y Tabay desde agosto de 2018 hasta mayo de 2019 se presentan en las Tablas 7, 8 y 9 respectivamente. Para este estudio se utilizaron los animales del grupo control (GC de las Tablas 7, 8 y 9) de los ensayos de control estratégico. Los niveles de infestación muestran una tendencia creciente desde fines del invierno al otoño, con los picos de mayor abundancia entre marzo y mayo.

Los resultados de los ensayos de control estratégico realizados en Colonia Benítez, Garabato y Tabay durante el mismo período (agosto de 2018 hasta mayo de 2019) también se presentan en las Tablas 7, 8 y 9 respectivamente.

Las diferencias halladas en el nivel de infestación de los bovinos luego del inicio de los tratamientos entre los grupos tratados y control fueron significativas ($p < 0,01$) en los tres sitios de estudio (Tablas 7–9). Los valores de eficacia (EP) tuvieron variaciones a lo largo del año en las tres localidades.

En Colonia Benítez la EP se mantuvo por encima del 85 % en la mayoría de los meses del año a excepción de los meses de octubre (73,8 %) y mayo (83,1 %) (Tabla 7).

Tabla 7:

*Niveles de infestación con *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* de bovinos de Colonia Benítez, provincia de Chaco, Argentina.*

	GT				GC				EP (G1 vs. G2)
	Pr (%)	Media	M	1Q–3Q	Pr (%)	Media	M	1Q–3Q	
Agosto	70	11,8 a	15	0–18	70	10,8 a	12	0–18	NA
Septiembre	0	0 a	0	0–0	90	4,0 b	4	2–6	100
Octubre	90	10,6 a	8	4–10	100	36,4 b	34	18–54	73,8
Noviembre	40	1,2 a	0	0–2	100	21,2 b	22	14–26	94,9
Diciembre	20	0,4 a	0	0–0	100	23,0 b	15	6–40	98,4
Enero	40	1,2 a	0	0–2	100	34,8 b	32	18–48	96,9
Febrero	0	0,0 a	0	0–0	100	23,0 b	24	12–32	100
Marzo	100	13,8 a	13	10–18	100	84,6 b	77	40–108	85,4
Abril	80	7 a	6	2–12	100	124b	117	84–132	94,9
Mayo	100	15,6 a	12	8–20	100	81,8 b	55	50–100	83,1

Grupo tratado (GT), grupo control (GC), prevalencia (Pr, expresada en porcentaje), media, mediana (M), primer y tercer cuartil (1Q–3Q).

Prueba de Mann-Whitney. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados ($p < 0,01$).

EP: porcentaje de eficacia; NA: no aplicable.

En Garabato , los valores de EP se encontraron por encima del 90%, excepto en los meses de noviembre (73,5%), diciembre (80,1%) y abril (68%) (Tabla 8)

En Tabay lo valores de EP tuvieron variaciones entre el grupo con tres tratamientos GT1 y el grupo con 4 tratamientos (GT2).

El GT1 mantuvo eficacias por encima del 94% salvo en los meses de otoño (marzo, abril y mayo), donde los valores de EP fueron 76,4 %, 76,9 % y 71 %, respectivamente (Tabla 9). El GT2 de Tabay tuvo eficacias superiores al 85% en todos los meses sin incluir mayo, donde la eficacia fue del 82,1 % (Tabla 9).

Tabla 8:

Niveles de infestación con Rhipicephalus (Boophilus) microplus en bovinos de Garabato, provincia de Santa fe, Argentina.

	GT				GC				EP (G1 vs. G2)
	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q	
Agosto	20	0,7 a	0	0-0	20,0	0,9 a	0	0-0	NA
Septiembre	0	12:00 a	0	0-0	20,0	0,7 b	0	0-0	100
Noviembre	70	3,3 a	2	1-4	100	16,7 b	14	9-22	73,5
Diciembre	10	0,5 a	0	0-0	70,0	2,7 b	4	0-4	80,1
Enero	30	1,1 a	0	0-2	100	31,1 b	28	15-33	95,3
Febrero	10	0,2 a	0	0-0	100	5,1 b	2	2-8	94,7
Marzo	40	2,7 a	0	0-2	100	97,6 b	76	54-152	96,4
Abril	30	2,4 a	0	0-2	100	10,0 b	10	5-15	68,0
Mayo	90	5,8 a	6	2-10	100	86,2 b	82	63-108	91,2

Grupo tratado (GT), grupo control (GC), prevalencia (Pr, expresada en porcentaje), media, mediana (M), primer y tercer cuartil (1Q-3Q). Prueba de Mann-Whitney. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados ($p < 0,01$). EP: porcentaje de eficacia; NA: no aplicable.

Tabla 9:

Niveles de infestación con Rhipicephalus (Boophilus) microplus en bovinos de Tabay, provincia de Corrientes, Argentina.

	GT1					GT2					GC			
	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q	EP (GT1 vs GC)	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q	EP (GT2 vs GC)	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q
Agosto	70	2,6 a	2	0-4	NA	70	2,6 a	2	0-4	NA	60	2,4 a	2	0-4
Septiembre	20	0,4 a	0	0-0	NA	10	0,4 a	0	0-0	NA	20	0,4 b	0	0-0
Octubre	0	0 a	0	0-0	100	10	0,4 a	0	0-0	99,2	100	50,8 b	44	36-60
Noviembre	10	2,0 a	0	0-0	99,2	20	1 a	0	0-0	95,9	100	22,6 b	20	14-30
Diciembre	0	0 a	0	0-0	100	0	0 a	0	0-0	100	100	24,6 b	24	8-40
Enero	40	1,9 a	0	0-4	96,1	30	0,8 a	0	0-2	98,3	100	44,6 b	42	18-46

Continuación Tabla 9.

	GT1					GT2					GC			
	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q	EP (GT1 vs GC)	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q	EP (GT2 vs GC)	Pr (%)	Media	M	1Q-3Q
Febrero	70	3,8 a	3	0-8	94,8	60	1,2 b	2	0-2	98,4	100	67,4 c	68	56-84
Marzo	100	41,6 a	35	9-66	76,4	100	22,3 b	21	7-31	87,3	100	162,3 c	125	81-219
Abril	90	9,0 a	7	4-12	76,9	30	0,8 b	0	0-2	97,9	100	36 c	33	16-46
Mayo	100	37,2 a	38	16-42	71	90	22,4 b	15	8-32	82,1	100	113,6 c	85	56-182

Grupo tratado (GT), grupo control (GC), prevalencia (Pr, expresada en porcentaje), media, mediana (M), primer y tercer cuartil (1Q-3Q).

Prueba de Kruskal-Wallis. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados ($p < 0,01$).

EP: porcentaje de eficacia; NA: no aplicable.

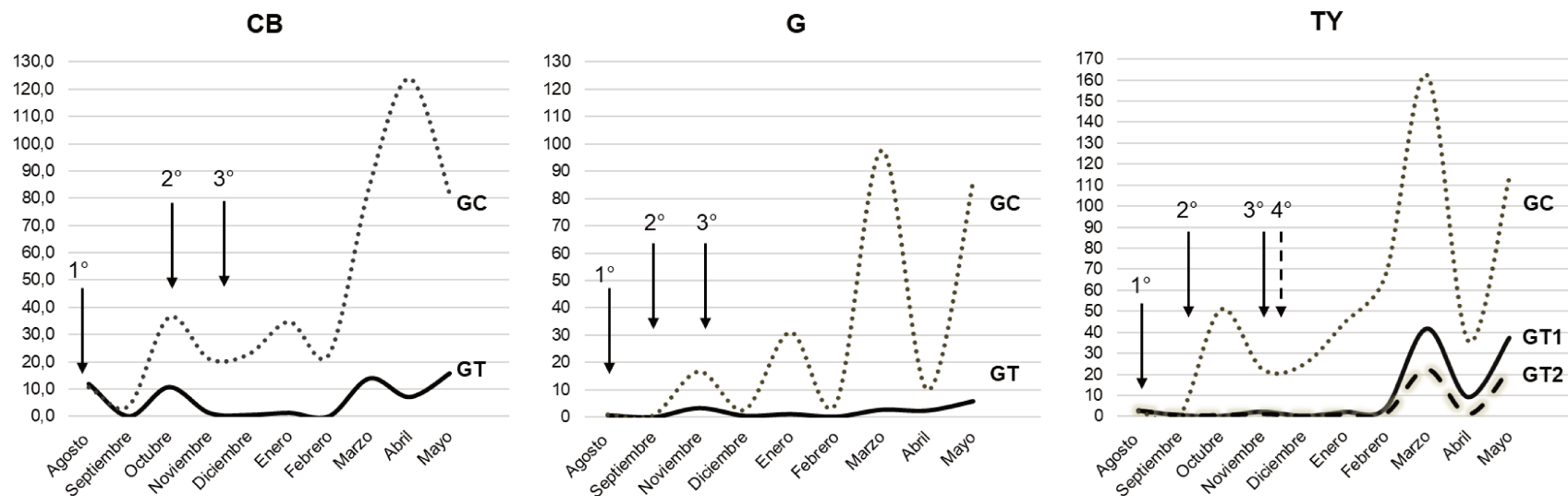


Figura 9: Media del número de hembras de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (4,5-8,0 mm de largo) en bovinos de agosto de 2018 a mayo de 2019 en Colonia Benítez, provincia de Chaco (CB), Garabato, provincia de Santa Fe (G) y Tabay, provincia de Corrientes (TY).

Las flechas indican los tratamientos (Ver productos y fechas en sección materiales y métodos). En CB y G: grupo control (GC), sin tratamiento: línea de puntos. Grupo tratado (GT): línea sólida. En TY: grupo control (GC), sin tratamiento: línea de puntos. Grupo tratado 1 (GT1): tres tratamientos línea sólida. Grupo tratado 2 (GT2): cuatro tratamientos, línea de guiones.

1.2.3b Discusión

La dinámica estacional del nivel de infestación en bovinos con *R. microplus* observada en este estudio se caracteriza por un incremento en la abundancia de garrapatas desde mediados de la primavera hasta fines del verano y otoño, donde se alcanza el pico máximo de abundancia de garrapatas, para luego decrecer hacia el invierno e inicio de la primavera (Ver Figura 9). Este patrón coincide con el descrito en estudios previos para otras regiones de Argentina (Guglielmone et al., 1981; Nava et al., 2015; Canevari et al., 2017; Nava et al., 2024).

Sin embargo, es importante considerar que este patrón puede verse alterado por factores que inciden sobre la abundancia y longevidad larval en las pasturas, como cambios drásticos en la temperatura o en la cobertura vegetal, eventos de sequía o inundación, modificaciones en la carga animal de los potreros o del estado inmunológico de los bovinos, y por supuesto, por el efecto de los tratamientos químicos. En este sentido, se han observado picos máximos de abundancia de garrapatas en bovinos en primavera o verano (Guglielmone et al., 1990; Morel et al. 2017).

Los ensayos de control estratégico realizados en este estudio redujeron significativamente los niveles de abundancia de *R. microplus* en las tres localidades, además de prevenir el pico de mayor abundancia que se produce en el otoño (Figura 9). En todos los casos pudo verse un efecto positivo del uso de esquemas de control estratégico con el empleo de tres tratamientos anuales, tal como fue observado por Nava et al. (2014, 2015, 2019) y Morel et al. (2017) en otras regiones de la Argentina.

En discrepancia con los resultados obtenidos por Nava et al. (2019), quienes no hallaron diferencias entre los esquemas de tres y cuatro tratamientos, este estudio demuestra que existe un efecto adicional sobre el control de la abundancia de garrapatas con la utilización de cuatro tratamientos aplicados en Tabay. El fenómeno observado por Nava et al. (2019) podría atribuirse a que en ese ensayo se utilizaron bovinos criollos, que han sido clasificados como un biotipo altamente resistente a la infestación por garrapatas (Ortega Masagué et al., 2022).

Este trabajo brinda evidencia empírica que sustenta que para razas sintéticas *Bos taurus* × *Bos indicus* (ej. Brangus y Braford), y en presencia de poblaciones de garrapatas con susceptibilidad a las drogas empleadas, la aplicación de esquemas de control estratégicos es eficaz. Sin embargo, la performance de estos esquemas de tratamientos podría verse afectada negativamente si se aplicaran a bovinos de razas más susceptibles a la infestación con garrapatas (ej. Hereford o Aberdeen Angus) tal como fue mostrado por Morel et al. (2025).

Los resultados del presente trabajo demuestran además que la aplicación de tratamientos desde fines de invierno–principios de primavera, cuando la abundancia de garrapatas sobre los animales es baja, utilizando tres tratamientos anuales, reducen significativamente los picos de carga parasitaria. En Colonia Benítez, Garabato y GT1 de Tabay con tres tratamientos, la eficacia se mantuvo por encima del 80% salvo en aquellos meses donde se observó un nivel de eficacia de 73,8 % para Colonia Benítez (octubre), 68 % para Garabato (abril) y GT1 de Tabay con 71 % (mayo) (Tablas 7–9).

Una posible explicación acerca de la eficacia disminuida en estos tres grupos en determinados meses podría ser el aumento natural del desafío con garrapatas relacionado a la esperable fluctuación en el tiempo de los niveles de abundancia de larvas infestantes en los potreros.

La adición de un cuarto tratamiento en Tabay (GT2) demostró incrementar la eficacia sobre el control de la abundancia de garrapatas en los bovinos. El análisis integrado de la fase no parasitaria, la dinámica parasitaria en bovinos y el estatus de resistencia a los acaricidas en la región Litoral de Argentina permite comprender con mayor profundidad la compleja fusión entre factores biológicos, ecológicos y de manejo que determinan la persistencia y el impacto de esta garrapata en los sistemas ganaderos. La eficacia observada, demuestra que este esquema constituye una herramienta viable para mantener bajos niveles de parasitismo siempre y cuando los tratamientos resulten eficaces.

En Argentina las pérdidas económicas generadas por *R. microplus* ascienden a cerca de 200 millones de dólares anuales (Späth et al., 1994), y una parte de estas pérdidas está relacionadas con la disminución de la ganancia de peso. Estudios realizados por Rossner et al. (2022) sobre el impacto del control estratégico en bovinos de zonas altamente favorables para *R. microplus* demostraron que la aplicación de estos esquemas de control estratégico también impacta positivamente en la ganancia de peso de bovinos en desarrollo.

El empleo de los resultados observados genera un aporte significativo para las áreas de mayor aptitud ecológica para *R. microplus* de Argentina. El estudio de la fase parasítica nos permite conocer parte de la dinámica poblacional de esta garrapata demostrando que la aplicación de tratamientos para realizar un esquema de control estratégico debería realizarse a fines de invierno (agosto) para lograr impactar en las generaciones futuras y poder reducir los efectos deletéreos del parasitismo ocasionados en los momentos de mayor abundancia de garrapatas sobre el hospedador.

CAPÍTULO 2

Aplicación de pruebas *in vitro* para el diagnóstico de resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a los acaricidas químicos sintéticos en la región Litoral de Argentina

Capítulo 2: Aplicación de pruebas *in vitro* para el diagnóstico de la resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a los acaricidas químicos sintéticos en la región Litoral de Argentina

2.1 Introducción

La resistencia a las drogas antiparasitarias es una de las principales limitantes para el control químico, cuyo manejo se torna difícil de gestionar una vez que se ha instalado en un predio ganadero. Específicamente, para *R. microplus*, y con la sola excepción del fluralaner, ya se han detectado en diferentes países de Latinoamérica casos de resistencia a todos los compuestos químicos garrapaticidas disponibles comercialmente (Martins y Furlong, 2001; Castro-Janer et al., 2010a, b, 2011; Fernández-Salas et al., 2012; Guerrero et al., 2012; Lovis et al., 2013; Reck et al., 2014a; Klafke et al., 2017; Chaparro-Gutierrez et al., 2020; Pérez-Otáñez et al., 2023).

En Argentina, esta situación es similar, registrándose poblaciones de *R. microplus* resistentes a las drogas arsenicales, organofosforados, piretroides, amitraz, fipronil, ivermectina y fluazurón, e incluso casos de multiresistencia (Grillo-Torrado y Pérez-Arrieta, 1977; Mangold et al., 2000, 2004; Guglielmone et al., 2006; Cutullé et al., 2013; Lovis et al., 2013; Nava et al., 2018; Torrents et al. 2020a, b, 2021, 2022, 2023, 2025; datos de esta tesis).

Tabashnik et al. (2014) definen la resistencia como una modificación de las frecuencias génicas y de su expresión fenotípica en una población que deja descendencia, en respuesta a la presión de selección de un grupo químico, que finalmente deviene en la práctica en una reducción de la susceptibilidad al compuesto usado como antiparasitario.

Un parásito resistente cobra importancia demográfica cuando sobrevive a un tratamiento químico correctamente aplicado, logra reproducirse y deja descendencia. La falla de un tratamiento químico se vuelve patente cuando la progenie de un linaje resistente pasa a tener mayor abundancia relativa dentro de una población dada.

Operativamente, a los fines del diagnóstico, una población resistente se define con referencia a otra población susceptible de la que se conoce su respuesta a un tratamiento con la droga a testear (Sibley y Price, 2012). Existe una diferencia en la susceptibilidad de una cepa a un grupo químico dado con relación a otra cepa más susceptible.

Esquemáticamente, se pueden distinguir cuatro grandes factores que determinan la evolución de la resistencia en una población de garrapatas (incrementando o disminuyendo la misma) al actuar como agentes de cambio genético en la frecuencia de alelos en una población natural: I) la frecuencia de mutaciones asociadas a resistencia y el modo de herencia, II) la deriva génica, III) los procesos de selección y IV) el flujo de genes (Roush y Tabashnik, 1990).

La tasa de cambio de la frecuencia de un alelo en una población cerrada sujeta a la presión de selección que ejerce una droga es función de la frecuencia inicial del alelo asociado a la resistencia, del modo de herencia (dominante/recesivo) y del “fitness” relativo del genotipo resistente (Roush y McKenzie, 1987).

Sin embargo, la población de garrapatas de un establecimiento ganadero muchas veces no es cerrada, sino que se ve modificada por fenómenos de migración que determinan el grado de flujo génico entre poblaciones.

Los dos principales factores asociados al manejo en un establecimiento ganadero que inciden sobre la evolución de la resistencia son los esquemas de tratamientos acaricidas (que actúan como agentes de selección) y el ingreso de cepas de garrapatas resistentes o susceptibles a través del movimiento de hacienda entre predios (determinantes del flujo génico).

La presión de selección ejercida por el uso sostenido en el tiempo de un compuesto químico en particular se debe principalmente a la frecuencia en la cual son aplicados los tratamientos en un establecimiento ganadero a lo largo del año.

En este contexto, el diagnóstico de resistencia se torna esencial a la hora de diseñar un esquema de control basado en la aplicación de tratamientos con diferentes grupos químicos. El muestreo para realizar las pruebas diagnósticas debe incluir el mayor número posible de garrapatas, y abarcar muestras de los distintos potreros y de distintas épocas del año, para capturar la variabilidad espacial y temporal que pueda surgir en los patrones resistencia (Morel et al., 2025).

El diagnóstico de la resistencia a los acaricidas puede realizarse *in vivo* o *in vitro*. La prueba *in vivo* o “de campo” consiste en la comparación del número promedio de garrapatas entre dos grupos testigos (mínimo 10–15 bovinos por grupo), uno tratado con la formulación acaricida a testear (preferentemente con dos formulaciones comerciales diferentes para controlar un resultado distorsionado por una falla de fabricación) y otro sin tratamiento que actúa como grupo control.

Una vez realizada la aplicación del acaricida, se efectúan conteos de partenoginas (hembras parcialmente ingurgitadas de 4,5 a 8,0 mm de longitud) durante el período de poder residual absoluto de la droga evaluada considerando su modo de acción.

Si el número promedio de garrapatas y la viabilidad de las teleoginas que se colectan, no difieren significativamente entre los grupos de bovinos tratados y control durante el período evaluado o la eficacia es menor a la esperada, se puede concluir que la población de garrapatas expuesta al tratamiento es resistente.

La principal ventaja de esta técnica radica en que los resultados son definitivos para la población que se está testeando y que se puede aplicar cualquier producto aprobado como garrapaticida (Wharton et al., 1970). Sin embargo, limitaciones logísticas y económicas hacen que este método no siempre sea una opción factible. Es por esto, por lo que el desarrollo de pruebas *in vitro* resulta en una herramienta menos costosa, con capacidad de discriminar poblaciones resistentes, versátil (dado que múltiples drogas pueden testearse en un mismo momento) y orientativa de la realidad del campo.

Las pruebas *in vitro* consisten en la realización de ensayos controlados en los que las garrapatas son desafiadas con diferentes concentraciones de acaricidas de referencia para luego evaluar la mortalidad de larvas y teleoginas o la capacidad de estas últimas para oviponer huevos viables.

El estatus de susceptibilidad de la muestra incógnita se establece a través de la comparación con el desempeño de una cepa susceptible de referencia, por lo tanto, la elección de esta cepa determina la sensibilidad de las pruebas.

El objetivo del trabajo expuesto en este capítulo consistió en adaptar, estandarizar y aplicar test *in vitro* para el diagnóstico de la resistencia de *R. microplus* para algunos de los principales grupos químicos aprobados y disponibles en el mercado como garrapaticidas.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.a Pruebas con larvas:

Toma, remisión y mantenimiento de muestras:

Las muestras de garrapatas (teleoginas) fueron remitidas por personal de INTA, FUCOFA, FUCOSA y terceros (productores ganaderos y veterinarios). Las garrapatas fueron colectadas de bovinos naturalmente infestados sin tratamientos previos por al menos cuatro semanas. Las teleoginas se incubaron en placas de Petri a 25 °C y 83–86% de humedad relativa, con un fotoperíodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad (Figura 10: 1). Los aoves fueron recogidos luego de un período de 15 días del comienzo de la oviposición, homogeneizados y colocados en tubos acrílicos (Figura 10: 1). Los huevos se incubaron hasta la eclosión en las mismas condiciones que las teleoginas.

Descripción de las pruebas *in vitro*:

Prueba de inmersión de larvas (PIL) para ivermectina, fipronil y amitraz

Ivermectina: esta técnica se desarrolló en base a los métodos descritos por Klafke et al. (2012). Todas las muestras de garrapatas (larvas de 14–21 días de edad) fueron procesadas con ivermectina técnica al 95 % de pureza (22,23-dihydroaivermectin B1, batch number MKCK0618, Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA).

Para la obtención de la solución madre o stock, la ivermectina técnica fue diluida en acetona al 1 % teniendo en cuenta el grado de pureza de la droga, para trabajar al 100 % de pureza mínima aplicando la siguiente fórmula:

$$C_{100\%} = \frac{CU \times 100\%}{P\%}$$

Donde C100 % es la cantidad de droga necesaria para alcanzar el 100 % de pureza, CU es la cantidad de droga a utilizar para elaborar la solución madre y P% es el porcentaje de pureza que tiene la droga técnica a emplear.

Esta solución madre fue producida cada vez que se necesitaron procesar una o varias muestras, dado que su viabilidad no es mayor a dos semanas (Klafke et al., 2012). Luego se realizó una solución de trabajo al 0,1 % en diluyente a partir de la cual se hicieron las diferentes diluciones que componen el gradiente de dosis: (concentraciones en ppm): 4; 5,8; 8,2; 11; 16,8; 34,3; 43,9 y 51,4.

Para obtener estas concentraciones fue necesario realizar pruebas que permitieron determinar la obtención de una dosis letal 50 (ver Anexo 1). El grupo de garrapatas utilizado como control fue expuesto al diluyente sin principio activo (1 % acetona, 0,02 % Triton-X en agua destilada). La inmersión de las larvas consistió en exponer aproximadamente 100 individuos durante 10 minutos en agitación a 1 ml de cada una de las diluciones, contenidas en tubos Eppendorf de 1,5 ml (Figura 10. 2).

Una vez transcurrido el tiempo de inmersión, las larvas fueron extraídas de los tubos y depositadas en sobres de papel de filtro Whatman grado 1 u homólogos de 7,5 cm × 8,5 cm para evaluar la mortalidad (Figura 10. 3).

Para introducir y extraer las larvas fue utilizado un pincel de cerda natural. Todas las diluciones se hicieron por duplicado incluyendo las de grupo control. Los sobres de papel fueron incubados durante 24 h a 25 °C y 83–86 % de humedad relativa (Figura 10. 4).

Posteriormente se procedió al conteo de larvas vivas y muertas. Un esquema resumido de la metodología puede observarse en la Figura 10.



Figura 10: Esquema simplificado de los pasos de la prueba de inmersión de larvas (PIL). **1:** los aoves son colectados, homogeneizados y dispuestos en tubos de acrílico para su incubación. **2:** las larvas de 15 días de edad se siembran con pincel dentro de los tubos que contienen las soluciones de inmersión. **3:** luego de la inmersión las larvas son recuperadas y se colocan dentro de los sobres de papel. **4:** incubación de sobres con garrapatas por 24 h hasta el conteo de larvas vivas y muertas.

Fipronil: La PIL para fipronil fue estandarizada utilizando como modelo el trabajo de Castro-Janer et al. (2009). El diluyente fue preparado de la misma forma que para la inmersión de larvas con ivermectina (0,02 % TRITON-X y 1 % acetona en agua destilada).

La solución stock 1% fue realizada con fipronil técnico con un 97 % de pureza (Jiangsu Tuoqiu Agrochemicals Co. Ltd., China, batch number 18061201) en acetona. Al igual que en la PIL para ivermectina, también se tuvo en cuenta grado de pureza de la droga. A partir de esta solución se realizaron dos diluciones stock de 0,1 % y 0,01 % en acetona.

La solución de trabajo 0,001 % se desprende de la menor concentración stock (0,01 %) diluida en el diluyente, de manera que la acetona no interfiera en la vitalidad de las larvas. El gradiente de concentraciones (ppm) aplicado fue: 0,1; 0,3; 0,6; 1; 1,5; 2; 2,5 y 3. Aproximadamente 100 larvas fueron inmersas en 1 ml de cada una de las diluciones en tubos eppendorf de 1,5 ml. Todos los restantes procedimientos fueron idénticos a los de la PIL para ivermectina.

Amitraz: Esta prueba fue diseñada y aplicada en base a los métodos descritos por Shaw. (1966) y Sabatini et al. (2001).

El diluyente fue el mismo que el empleado en las PIL de ivermectina y fipronil. La solución stock 1 % fue preparada con amitraz de grado técnico de 98% de pureza (N,N-Bis (2,4-xilyliminomethyyl) methylamine, batch numberBCBV9101, Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA) y acetona, teniendo en cuenta la pureza del principio.

Como las diluciones de trabajo mostraron que este producto no es soluble en el diluyente, se procedió al empleo de producto comercial, el cual se encuentra diseñado para su uso en bañaderos de inmersión.

La solución stock 1 % empleando producto comercial fue preparada con amitraz al 12,5 % (marca Taktik®, n° de lote: 005/19) y acetona. La solución de trabajo 0,1 % se preparó a partir de la solución stock 1% y diluyente (0,02 % TRITON-X y 1 % acetona en agua destilada).

Las concentraciones (ppm) empleadas en el gradiente de inmersión fueron: 0,5; 2,5; 12,5; 25; 50; 100; 150; 200 y 250. El grupo control fue enfrentado a diluyente sin amitraz. Aproximadamente 100 larvas fueron sembradas con el uso de un pincel dentro de cada uno de los tubos eppendorf de 1,5 ml. Estos contuvieron 1 ml de solución y se mantuvieron durante 10 minutos en agitación. Las larvas de cada concentración fueron colocadas dentro de sobres de papel Whatman grado 1 de 8,5 cm × 7,5 cm cerrados con sobres metálicos a los lados.

Este protocolo fue aplicado en 4 muestras, tres de ellas correspondían a aislamientos de campo y una de ella a una cepa mantenida en laboratorio (Cepa Jujuy) susceptible a todos los acaricidas. Todos los demás procedimientos fueron idénticos a los descritos para la PIL de ivermectina y fipronil.

Prueba de paquete de larvas (PPL) para fipronil, amitraz, cipermetrina.

La PPL de para fipronil se aplicó en base a la metodología descrita por Castro-Janer et al. (2009, 2010a). Se utilizó fipronil de grado técnico con pureza del 97% (Jiangsu Tuoqiu Agrochemicals, China; batch number 18061201). El diluyente empleado fue realizado con aceite de oliva (AO) y tricloroetileno (TCE) en una relación 1 AO:2 TCE. El fipronil fue diluido en acetona para lograr la solución stock 1% teniendo en cuenta la pureza del mismo modo que en PIL. A partir de esta solución se realizaron las diluciones seriales de las siguientes concentraciones en ppm: 300; 150; 62,54; 37,5; 18,75; 11,4; 9,37; 4,69; 2,34 y 1,17.

Soportes de papel Whatman grado 1 de 63,75 cm² de superficie (8.5 × 7.5 cm) fueron impregnados con 700 µl de cada una de las diluciones. El mismo tipo de papel y volumen de impregnación fue utilizado para el grupo control, haciendo uso de diluyente sin fipronil. Después de la impregnación estos papeles fueron secados durante dos horas bajo campana de extracción forzada de aire con el objetivo de evaporar el TCE.

Los papeles fueron doblados por la mitad y cerrados por los lados con broches metálicos para evitar el escape de las larvas, cada concentración se realizó por duplicado. Aproximadamente 100 larvas fueron sembradas en cada uno de los sobres, e incubadas 24 h a 25 °C y 83–86% RH hasta el conteo.

La PPL para amitraz se llevó a cabo en base a la metodología expuesta por Miller et al. (2002) y Castelli et al. (2013). Se utilizó como diluyente 1AO + 2TCE, y el soporte en este caso fue tela de nylon (Type 2320, Cerex Advanced Fabrics, Pensa-cola, FL), empleando las mismas medidas que para la PPL para fipronil (63,75 cm²).

Los tratamientos se aplicaron simultáneamente haciendo uso de un protocolo con empleo de amitraz técnico (Amitraz Metabolite BTS 27271, *N*-(2,4-Dimethylphenyl)-*N'*-methylformamidine, *N*-Methyl-*N'*-2,4-xylylformamidine, Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA) y otro de iguales concentraciones, pero con producto comercial 12,5 % marca Taktik® (MSD, n° de lote: 005/19).

La solución stock 1% de amitraz fue producida en base a droga comercial y acetona o droga técnica y acetona partiendo de la pureza inicial de cada uno como en PIL. A partir de cada stock se creó una solución de 0,01% en diluyente para poder armar las diluciones de impregnación. Las concentraciones en µg/cm² fueron las siguientes: 0,00005; 0,0020; 0,0039; 0,0078; 0,0156 y 0,0313. El grupo control se enfrentó al nylon impregnado solo con diluyente. Se realizaron pruebas de soportes de control (sin droga) con variación del volumen de impregnación (700 y 500 µl) y del aceite del diluyente. Los demás procedimientos fueron idénticos a los descritos para la PPL de fipronil.

La PPL para cipermetrina se implementó como lo descrito por Mangold et al. (2004) con algunas modificaciones. Se impregnaron papeles con cipermetrina técnica de pureza >90 % (α -Cypermethrin, batch number BCBW1786, Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA) y cipermetrina comercial al 20 % (Cipersin ®- Biogénesis Bagó, n° de serie: 040A), utilizando como diluyente 1AO:2TCE y soporte de papel de filtro Whatman grado 1, con el siguiente gradiente de concentraciones en ppm: 125; 250; 500; 1000; 2000; 4000; 8000; 16000 y 30000. La solución stock 3 % se preparó con droga técnica y diluyente.

La superficie del soporte se modificó a 36 cm² (6 cm × 6 cm) manteniendo el tipo de papel. Los papeles fueron impregnados con 395 μ l de cada una de las concentraciones por duplicado y secados durante 2 h hasta la evaporación del TCE bajo campana de extracción de aire. Los papeles impregnados con producto comercial llevaron las mismas concentraciones, superficie, tipo de soporte, volumen de impregnación y tiempo de secado.

Dos poblaciones fueron enfrentadas a PPL con cipermetrina técnica y producto comercial. El procedimiento de siembra, incubación y obtención de la mortalidad fue igual que para los PPL con fipronil. Posterior a los resultados obtenidos con la droga técnica y la comercial, se llevó a cabo una comparación entre las DL50 de garrapatas sometidas previamente a PIA con piretroides.

Luego de la PIA, los aoves del grupo control y tratado fueron homogeneizados e incubados hasta 15 días posteriores a la eclosión. Las larvas originadas de cada grupo fueron enfrentadas a PPL con cipermetrina comercial siguiendo la metodología antes mencionada utilizando la superficie de soporte y volumen recomendados por FAO (2004) (63,75 cm² y 700 μ l respectivamente).

Análisis de los datos:

La mortalidad de larvas expuestas en la PIL y la PPL se evaluó a las 24 h de la exposición. En ambas técnicas, luego de la incubación, los sobres fueron abiertos y se contabilizaron las larvas diferenciando vivas y muertas.

Se consideró viva a toda larva que pudo desplazarse, de manera que aquellas larvas que a pesar de mover sus miembros no podían realizar un desplazamiento fueron contabilizadas como muertas (Miller et al., 2002).

Los conteos fueron volcados a una planilla de Excel donde los datos se seleccionaron y ordenaron para su posterior análisis estadístico. No se tuvieron en cuenta para el análisis estadístico aquellas muestras donde la mortalidad del grupo control superara el 10%. El análisis estadístico fue realizado mediante regresión Probit, realizando una transformación de

los porcentajes de mortalidad a logaritmo en base 10 de la dosis mediante el programa POLO-PLUS (LeOra Software, 2003).

El ajuste se hizo considerando la dispersión de los residuos que se encuentran alrededor de una banda horizontal entre -2 y 2 en función de cero (Robertson y Preisler, 1992). Se calcularon las dosis letales DL50, DL90, DL95, DL99 Y DL99,9 y sus intervalos de confianza para el 95% (IC95). También se obtuvieron los RR (relación de resistencia) para cada dosis mediante la siguiente fórmula:

$$RR_x = \frac{DL_x \text{ Población testeada}}{DL_x \text{ CSR}}$$

Donde x es la dosis letal que se aplica para determinar la relación y CSR es la cepa susceptible de referencia.

El diagnóstico se estableció en función de los criterios utilizados por Castro-Janer et.al. (2011):

Susceptible: Valor de la DL50 de la población testeada no es estadísticamente diferente del valor de la DL50 de la cepa susceptible considerada como referencia.

Resistencia incipiente: Valor de la DL50 de la población testeada es estadísticamente diferente del valor de la DL50 de la cepa susceptible considerada como referencia y el valor de RR50 es <2.

Resistente: El valor de la DL50 de la población testeada es estadísticamente diferente del valor de la DL50 de la cepa susceptible considerada como referencia y el valor de RR50 es ≥ 2 .

La diferencia entre los valores de la DL50 de la población de garrapatas testeada y de una población susceptible fueron considerados significativos cuándo los intervalos de confianza (IC95%) no se superpusieron.

Respecto a los valores de cepas susceptibles de referencia (CSR) se tuvieron en cuenta los utilizados en Torrents et al. (2020a) para PIL para ivermectina, Torrents et al. (2020b) para PPL para fipronil, Torrents et al. (2022) para fluazurón, Torrents et al. (2023) para PIL para fipronil, Castelli et al. (2013) para PPL para amitraz y Mangold et al. (2004) para PPL con cipermetrina.

2.2.b Prueba de inmersión de adultos (PIA)

Toma, remisión y mantenimiento de muestras:

Los procedimientos fueron idénticos a los descritos anteriormente, pero para estas técnicas son necesarias al menos 10 garrapatas por cada grupo químico y 10 para el control, y para ser procesadas las teleoginas deben arribar al laboratorio antes del inicio de la eclosión (máximo 48 h luego de la colecta sobre los bovinos) (FAO, 2004).

Procesamiento de muestras:

Las garrapatas fueron lavadas con agua destilada. Aquellas que estuvieron dañadas por la manipulación y el transporte, que no presentaron signos vitales o que poseían características morfológicas anormales, tamaño y peso insuficiente (individuos parcialmente ingurgitados o con peso menor a 150 mg) o coloración anormal, fueron descartadas (Figura 11).

Una vez clasificadas, las garrapatas se contabilizaron para determinar cantidad de individuos por grupos y cantidad de grupos a formar. Se pesaron las teleoginas, que fueron distribuidas en grupos de manera tal que la diferencia de peso entre los mismos fuera de $\pm 0,1$ g.

La PIA se realizó para amitraz, cipermetrina, mezcla de cipermetrina y clorpirifós, mezcla de cipermetrina y etión, y fluazurón. Los productos químicos diseñados para baños de inmersión (cipermetrina, cipermetrina + clorpirifós, cipermetrina + etión, amitraz) fueron empleados a la concentración de pie de baño recomendada por el fabricante.

La PIA con fluazurón se implementó siguiendo como base el protocolo descrito en Reck et al. (2014a). Para todos los productos se utilizó como diluyente 0,02 % TRITON-X en acetona 1% con agua destilada. El tiempo de inmersión de las teleoginas en las soluciones de las drogas para baño fue de dos minutos, y de un minuto para el fluazurón.

Las concentraciones marcadas fueron 250 ppm de amitraz en base a una formulación comercial al 12,5% marca Tactic® (n° de lote: 005/19), 200 ppm de una formulación comercial de cipermetrina al 20% marca Cipersin® (n° de serie: 040A), 30 ppm de deltametrina a partir de deltametrina al 3% marca Butox® (n° de serie: 001/21), 538,3 ppm de cipermetrina + clorpirifós utilizando un producto comercial de la mezcla con 20% de cipermetrina y 50% de clorpirifós marca Aspersion® (n° de serie: 2551A) y 50 ppm de cipermetrina+ etión con un producto comercial elaborado en base a la mezcla de cipermetrina 10% y etión 40% marca Derribante SM® (n° de serie: AF500).

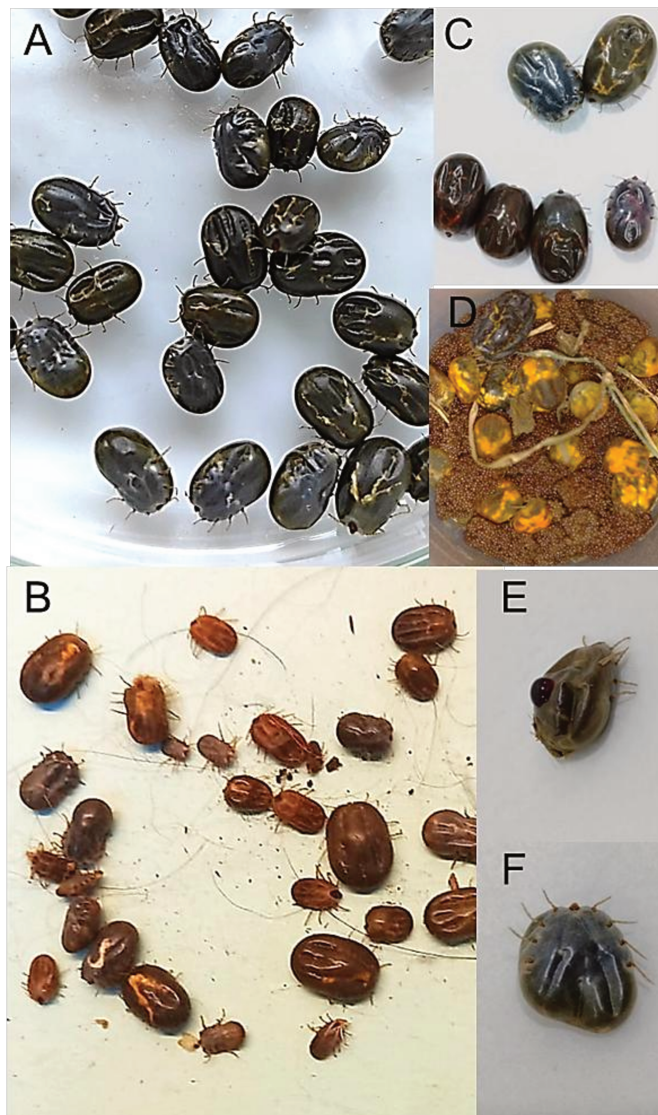


Figura 11: Muestras de garrapatas. A: muestra optima que ha pasado por una selección previa para ser tratada con prueba de inmersión de adultos (PIA). **B:** muestra con estadios no aptos para la PIA, **C:** garrapatas con alteraciones en la coloración, en la parte superior especímenes normales mientras que las de la parte inferior presentan una tonalidad rojiza. **D:** muestra en estado avanzado de oviposición. **E:** garrapata con una lesión en el tegumento. **F:** garrapata con malformación.

Para la PIA de fluazurón se utilizó una solución de inmersión con una concentración de 50 ppm preparada a partir de una solución stock al 1% de fluazurón técnico(batch number BCBT8190; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) en acetona.

Se emplearon como mínimo 10 teleoginas por cada droga y adicionalmente 10 por cada grupo control. Transcurrido el tiempo de inmersión, las garrapatas fueron coladas en un colador metálico y secadas con papel de toalla. Posteriormente las garrapatas fueron

colocadas en placas de Petri utilizando una cinta doble faz para inmovilizarlas. Las teleoginas fueron incubadas durante 15 días a 25 °C y 83–86 % de humedad relativa, con un fotoperíodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

Se registró la mortalidad de las teleoginas y la ocurrencia de oviposición. Se aceptó hasta un 20% mortalidad en grupo control. Los aoves de las teleoginas expuestas a cada droga fueron mezclados y pesados grupalmente para la determinación de la eficacia. La eficacia del tratamiento (%ET) fue calculada luego de la oviposición en función de la inhibición de ésta siguiendo la fórmula expresada por Cutullé et al. (2013):

$$\%ET = \left(\frac{\text{Peso total de aoves de grupo control} - \text{Peso total de aoves de grupo tratado}}{\text{Pesototal de aoves del grupocontrol}} \right) \times 100$$

Además, se consideró la mortalidad de teleoginas (%MT) en cada uno de los grupos químicos con la siguiente fórmula:

$$\%MT = \left(\frac{\text{Cantidad de garrapatas muertas}}{\text{Cantidad de garrapatas totales}} \right) \times 100$$

En fluazurón no se determinó el %ET ni %MT. Los aoves, luego de ser homogeneizados, se colocaron en tubos acrílicos para ser incubados para facilitar la eclosión de las larvas. Tras aproximadamente 45–60 días, se realizó el conteo de larvas y huevos para obtener el porcentaje de inhibición de la eclosión (%IE) mediante la siguiente fórmula:

$$\%IE = \left(\frac{N^{\circ} \text{ Larvas nacidas y viables}}{N^{\circ} \text{ total de huevos}} \right) \times 100$$

*N° total de huevos no eclosionados y eclosionados (larvas)

Para PIA con fluazurón, se trataron aislamientos de campo y una cepa susceptible a fluazurón (Cepa Jujuy) mantenida en laboratorio, el valor de %IE tenido en cuenta como Cepa susceptible de referencia pertenece al trabajo realizado por Torrents et al. (2022).

La ubicación geográfica de los establecimientos muestreados mediante pruebas con larvas (PPL y PIL) y prueba de inmersión de adultos (PIA) fue representada cartográficamente mediante el software QGIS versión 3.44.7-Solothurn, utilizando las coordenadas registradas para la localidad a la que pertenecía cada población evaluada.

2.3 Resultados

2.3.a Pruebas con larvas:

PIL para Ivermectina:

Los resultados obtenidos con la PIL realizada con ivermectina en diferentes poblaciones de *R. microplus* se muestran en las Tablas 10–14, donde se pueden observar los datos de pendiente \pm desvío estándar, DL50, IC95%, RR50 y clasificación (susceptible/resistente) en función del criterio diagnóstico presentado en materiales y métodos.

Se procesaron 113 muestras. Se diagnosticaron poblaciones resistentes en todas las provincias (n Santa Fe: 9, n Entre Ríos: 27, n Corrientes: 4, n Chaco: 7, n Formosa: 6) incipientes resistente (n Santa Fe: 5, n Entre Ríos: 7, n Corrientes: 9, n Chaco: 5, n Formosa: 1) y susceptibles (n Santa Fe: 10, n Entre Ríos: 5, n Corrientes: 13, n Chaco: 3, n Formosa: 2). La distribución geográfica de las poblaciones caracterizadas según su estatus para ivermectina puede observarse en la Figura 12.

Algunas de las muestras no pudieron ser procesadas (n Santa Fe: 8, n Entre Ríos: 14, n Corrientes: 8, n Chaco: 8, n Formosa: 5) (Tabla 9–13), debido a que la cantidad de larvas obtenidas no fue suficiente para la prueba o bien las garrapatas murieron en estadio de teleoginas y no alcanzaron a oviponer. Tres muestras no pudieron ser procesadas por tener una mortalidad $>10\%$ en el grupo control (n Santa Fe: 2 y n Entre Ríos: 1; Tablas 9 y 10).

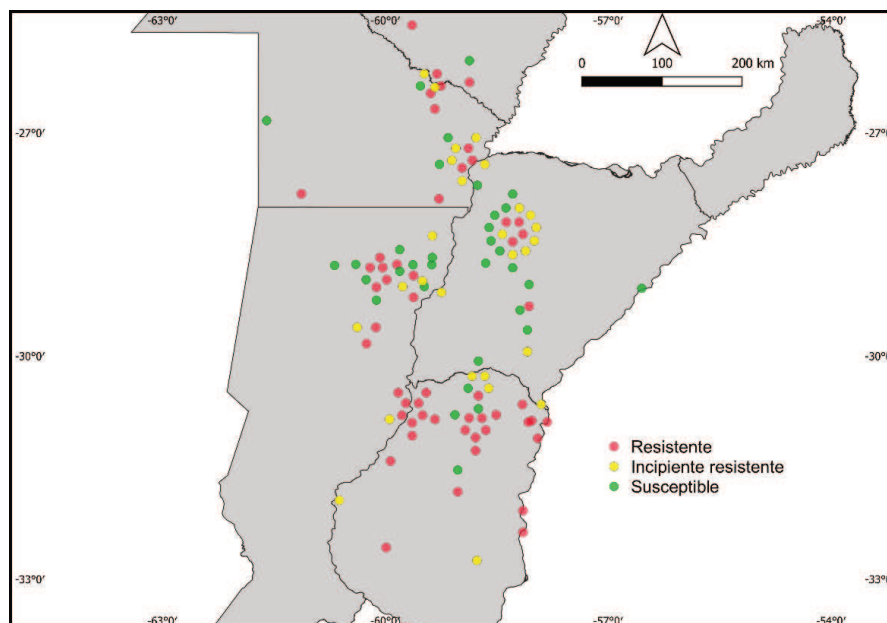


Figura 12: Distribución geográfica de las poblaciones de garrapatas caracterizadas mediante prueba de inmersión de larvas (PIL) para ivermectina.

Tabla 10:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para ivermectina en poblaciones de la provincia de Santa Fe.

Localidad	P ± DE	IC95%				Estado
		DL50	LI	LS	RR50	
Garabato	14,607±4,997	94,9	55,6	107,0	14,1	R
Garabato	8,374±0,691	13,6	10,1	15,5	2,0	R
Intiyaco	4,712 ± 0,269	16,3	14,4	18,3	2,4	R
Garabato	5,862±0,363	15,2	13,8	16,4	2,3	R
Gral. Obligado	4,463±0,187	13,6	11,9	15,7	2,0	R
Reconquista	4,137±0,154	20,8	19,1	22,8	3,1	R
Margarita	3,270±0,133	13,3	9,6	18,7	2,0	R
Garabato	3,939±0,173	17,3	11,6	24,4	2,6	R
Vera	4,441±0,241	22,9	20,6	25,8	3,4	R
Margarita	3,706±0,153	13,4	10,7	17,2	2,0	IR
Las Garzas	5,006 ± 0,370	9,7	7,6	11,7	1,4	IR
Reconquista	5,428±0,264	10,9	9,3	13,3	1,6	IR
Margarita	4,489±0,210	9,7	7,7	12,8	1,4	IR
Villa Ocampo	4,047 ±0,207	10,1	8,5	11,8	1,5	IR
Las Garzas	3,552±0,218	9,7	7,2	12,4	1,4	S
Tartagal	SA	-	-	-	-	S
Km 320	2,372± 0,185	5,0	2,6	6,8	0,7	S
Las Mercedes	3,268±0,679	1,6	0,7	2,2	0,2	S
Vera	5,271±0,353	5,3	5,1	5,6	0,8	S
Fortín Olmos	6,476±0,409	7,2	5,4	8,9	1,1	S
Garabato	3,950 ±0,226	6,0	4,0	7,7	0,9	S
Ing. Charnoudie	2,959±0,163	6,8	4,0	9,4	1,0	S
Las Garzas	2,795±0,161	6,5	5,0	7,9	1,0	S
Guadalupe						
Norte	2,866±0,148	9,0	7,2	10,7	1,3	S
CSR	6,607±0,499	6,724	6,154	7,272	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; IR: incipiente resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; MC: mortalidad >10% en grupo control; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas antes de la oviposición; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 11:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para ivermectina en poblaciones de la provincia de Entre Ríos.

Localidad	P ± DE	IC95%				Estado
		DL50	LI	LS	RR50	
Federación	7,123 ± 0,483	196,6	140,797	233,654	29,2	R
Federal	30,810 ± 2,551	260,8	241,889	268,668	38,7	R
Tacuaras	1,863 ± 0,145	45,5	15,013	75,752	6,7	R

Continuación Tabla 11.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
La Paz	14,357± 2,114	85,6	75,774	94,192	12,7	R
Sta. Juana	57,865 ± 7.53 .10 ⁸	SA	-	-	13,4	R
La Paz	30,129 ± 3.56 .10 ⁶	SA	-	-	17,3	R
Paraná	2,349 ± 1,306	SA	-	-	2,0	R
La Paz	7,611±0,779	SA	-	-	2,7	R
Villaguay	4,692 ±0,377	41,181	35,797	46,333	6,1	R
Colonia Nueva	2,099±0,098	26,563	19,028	42,96	4,0	R
Victoria	2,872 ±0,100	19,85	15,792	24,822	3,0	R
Tacuaras	3,916±0,145	19,888	16,602	24,137	3,0	R
La Paz	4,406±0,191	30,387	23,545	38,794	4,5	R
Federal	2,488±0,118	18,003	13,359	25,786	2,7	R
Feliciano	3,206±0,193	32,356	27,888	38,23	2,5	R
Isl. Rinconadas del Colorado	2,401±2,401	15,616	11,671	19,917	2,3	R
Federal	3,142±0,165	14,249	12,474	16,162	2,1	R
Federación	2,216±0,134	33,918	23,391	63,336	5,0	R
Federal	2,544±0,136	22,651	15,43	38,589	3,4	R
Federal	3,034±0,166	27,743	20,372	36,824	4,1	R
Chajarí	4,257±0,180	13,261	11,683	15,084	2,0	R
La Paz	2,228±0,093	19,521	14,89	26,29	6,7	R
La Paz	4,919±0,477	SA	-	-	6,3	R
Colon	4,249±0,180	13,327	11,707	15,199	2,0	R
Humaitá	2,529± 0,112	16,036	13,508	19,152	2,4	R
Federal	4,126±0,171	14,975	13,054	17,18	2,2	R
Feliciano	2,334 ±0,096	19,42	14,225	27,424	2,9	R
Basualdo	5,956±0,266	11,805	9,877	14,409	1,7	IR
La paz	5,434± 0,228	11,541	10,059	13,615	1,7	IR
Pje. El Gato	2,958 ±0,166	12,241	10,518	14,113	1,8	IR
Feliciano	2,597 ±0,139	12,394	10,031	15,027	1,8	IR
Chajarí	4,355±0,195	10,965	9,171	13,128	1,6	IR
Feliciano	2,855 ±0,141	12,502	9,836	15,96	1,9	IR
Feliciano	3,299± 0,146	11,204	9,332	13,242	1,7	IR
Feliciano	1,389 ±0,194	1,875	0,347	3,603	0,2	S
Feliciano	1,978±0,162	6,74	3,604	9,615	1,0	S
Feliciano	1,981 ±0,141	10,642	6,927	14,215	1,6	S
Villaguay	2,880±0,296	2,521	1,981	2,98	0,4	S
Federal	2,309±0,104	7,455	6,254	8,617	1,1	S
CSR	6,607±0,499	6,724	6,154	7,272	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; IR: incipiente resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; MC: mortalidad >10% en grupo control; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas antes de la oviposición; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 12:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para ivermectina en poblaciones de la provincia de Corrientes.

Localidad	P ± DE	IC95%				Estado
		DL50	LI	LS	RR50	
Tabay	12,856±5,182	-	-	-	25,8	R
Tabay	4,347 ±0,246	22,528	17,770	27,499	3,4	R
Mercedes	4,626±0,195	12,183	8,993	16,856	1,8	R
Tabay	2,902±0,155	14,566	12,273	17,099	2,2	R
Tabay	4,124 ± 0,217	11,073	9,735	12,521	1,6	IR
Goya	2,429±0,124	9,398	7,336	11,626	1,4	IR
Tabay	3,130 ± 0,121	8,957	7,751	10,256	1,3	IR
Tabay	3,401±0,177	10,005	9,321	10,708	1,5	IR
Tabay	3,833±0,217	10,187	8,326	12,096	1,5	IR
Tabay	3,321±0,164	10,904	9,075	12,927	1,6	IR
Curuzú Cuatiá	2,649±0,137	11,809	9,689	14,229	1,8	IR
Tabay	3,529±0,160	10,090	8,775	11,490	1,5	IR
Tabay	2,781±0,129	11,143	9,652	12,762	1,7	IR
Mercedes	3,306±0,279	7,241	5,962	8,279	1,1	S
Tabay	3,364±0,176	9,760	6,975	12,682	1,5	S
Tabay	2,233±0,097	8,288	6,292	10,269	1,2	S
El Sombrero	2,191± 0,100	8,593	6,300	11,040	1,3	S
Mantilla	2,398 ± 0,186	5,692	3,978	7,121	0,8	S
Mercedes	2,156 ±0,130	8,510	6,705	10,178	1,3	S
Tabay	2,854± 0,138	6,795	5,997	7,587	1,0	S
Tabay	3,907±0,202	9,538	7,054	12,103	1,4	S
Tabay	2,452± 0,102	8,660	7,137	10,197	1,3	S
Tabay	4,005±0,453	3,228	2,242	3,911	0,5	S
Tabay	3,225±0,131	8,472	6,945	10,129	1,3	S
Alvear	6,607 ±0,499	SA	-	-	1,2	S
M. I. Loza	2,060±0,110	8,680	5,549	11,927	1,3	S
CSR	6,607±0,499	6,724	6,154	7,272	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza al 95% para la DL50 LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; IR: incipiente resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; MC: mortalidad >10% en grupo control; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas antes de la oviposición; CSR: cepa susceptible de referencia;

Tabla 13:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para ivermectina en poblaciones de la provincia de Chaco.

Localidad	P ± DE	IC95%				Estado
		DL50	LI	LS	RR50	
Santa Sylvina	4,468±0,203	13,886	11,617	16,845	2,1	R

Continuación Tabla 13.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%		RR50	Estado
			LI	LS		
Basail	3,857±0,172	13,078	10,933	15,620	1,9	R
Colonia Benítez	2,810 ±0,138	25,265	21,003	31,232	3,8	R
San Martin	4,359±0,206	15,363	14,107	16,728	2,3	R
Colonia Benítez	1,942 ±0,097	14,410	9,121	20,471	2,1	R
Colonia Benítez	4,690 ±0,254	13,746	12,044	15,863	7,0	R
Colonia Benítez	2,989±0,137	13,217	11,792	14,750	2,0	R
Colonia Benítez	11,744 ±1,443	8,375	7,623	9,099	1,2	IR
San Martin	3,100±0,162	11,242	7,732	14,816	1,7	IR
Col Benítez	4,061±0,209	10,500	9,749	11,272	1,6	IR
Colonia Benítez	3,595 ±0,165	9,981	8,475	11,600	1,5	IR
Colonia Benítez	4,033±0,175	11,428	9,965	13,169	1,7	IR
Colonia Benítez	4,119±0,238	5,881	5,049	6,642	0,9	S
Pampa del Infierno	0,977±0,182	SA	-	-	0,1	S
Colonia Benítez	3,544±0,203	6,379	5,714	7,011	0,9	S
CSR	6,607±0,499	6,724	6,154	7,272	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; IR: incipiente resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas antes de la oviposición; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 14:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para ivermectina en poblaciones de la provincia de Formosa.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%		RR50	Estado
			LI	LS		
El Espinillo	1,878 ±0,108	31,122	18,937	104,641	4,6	R
Palo Santo	1,923± 0,101	23,907	20,507	28,232	3,6	R
El Colorado	6,902 ±0,393	SA	-	-	39,6	R
El Colorado	5,570± 0,279	13,743	11,784	15,582	2,0	R
Pte. Irigoyen	9,024± 0,754	SA	-	-	7,7	R
El Colorado	3,099±0,266	SA	-	-	2,4	R
El Colorado	5,984±0,433	10,696	9,139	12,446	1,6	IR
El Colorado	8,122±0,524	7,096	6,741	7,429	1,1	S
Pte. Irigoyen	4,919 ±0,325	5,434	4,643	6,130	0,8	S
CSR	6,607±0,499	6,724	6,154	7,272	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; IR: incipiente resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; MC: mortalidad >10% en grupo control; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas antes de la oviposición; CSR: cepa susceptible de referencia.

PIL para Fipronil

Se procesaron un total de 102 muestras de localidades de las provincias de Santa Fe, Entre Ríos, Chaco, Corrientes y Formosa (Tablas 15-19). Se diagnosticaron poblaciones resistentes (n Santa Fe: 6, n Entre Ríos: 19, n Corrientes: 26, n Chaco: 3, n Formosa: 2), con resistencia incipiente (n Santa Fe: 2, n Entre Ríos: 1, n Formosa: 1) y susceptibles (n Santa Fe: 10, n Entre Ríos: 14, n Corrientes: 12, n Chaco: 5, n Formosa: 1). Del total de muestras ingresadas al laboratorio para PIL con fipronil (n= 126), 22 no pudieron ser procesadas principalmente porque no tenían la cantidad suficiente de larvas mientras que 2 muestras tuvieron mortalidades superiores al 10% en el grupo control (n Chaco: 1 y n Corrientes: 1).

Tabla 15:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Santa Fe.

Localidad	P ± DE	IC95%				Estado
		DL50	LI	LS	RR50	
Intiyaco	1,999 ± 0,157	1,075	0,558	1,46	3,1	R
Reconquista	5,924 ± 1,051	0,681	0,491	0,805	2,0	R
Garabato	0,830 ± 0,103	1,89	1,022	8,07	5,5	R
Garabato	8,840 ± 1,263	0,793	0,458	0,994	2,3	R
Villa Ocampo	7,541 ± 0,675	1,806	1,599	1,968	5,3	R
Villa Ocampo	2,881 ± 0,188	1,054	0,843	1,258	3,1	R
Las garzas	4,357 ± 0,261	0,641	0,544	0,74	1,9	IR
Tostado	4,343 ± 0,282	0,605	0,457	0,744	1,8	IR
Garabato	2,627 ± 0,345	SA	-	-	0,7	S
Garabato	33,989 ± 2,84 . 10 ⁶	SA	-	-	1,7	S
Reconquista	2,574 ± 0,229	0,097	0,046	0,144	0,3	S
Tacuarendí	3,428 ± 0,393	0,144	0,116	0,171	0,4	S
Villa Ocampo	1,532 ± 0,167	0,105	0,037	0,184	0,3	S
Villa Ocampo	4,954 ± 0,312	0,425	0,4	0,45	1,2	S
Villa Ocampo	3,007 ± 0,217	0,128	0,112	0,144	0,4	S
Villa Ocampo	4,419 ± 0,314	0,175	0,16	0,192	0,5	S
Reconquista	1,264 ± 0,105	0,348	0,205	0,511	1,0	S
Gral. Obligado	7,116 ± 1,034	0,294	0,224	0,337	0,9	S
CSR	3,358 ± 0,382	0,342	0,196	0,45	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas antes de la oviposición; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 16:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Entre Ríos.

Localidad	P ± DE	IC95%				Estado
		DL50	LI	LS	RR50	
Victoria	4,009 ± 0,199	1,119	0,883	1,325	3,3	R
Federal	3,606 ± 0,198	0,67	0,541	0,787	2,0	R
La Paz	3,257 ± 0,808	1,39	1,113	1,612	4,1	R
Feliciano	3,651 ± 0,868	SA	-	-	6,5	R
Feliciano	0,947 ± 0,295	SA	-	-	33,6	R
Feliciano	3,955 ± 0,370	0,803	0,63	0,969	2,4	R
Federal	14,271 ± 1,737	SA	-	-	4,1	R
La Paz	7,794 ± 0,673	SA	-	-	2,4	R
Feliciano	5,520 ± 0,313	0,852	0,629	1,05	2,5	R
Feliciano	1,234 ± 0,141	10,889	5,346	87,915	31,9	R
Rosario del Tala	8,449 ± 1,047	2,319	1,94	2,576	6,8	R
Ramírez	2,682 ± 0,255	1,458	1,174	1,795	4,3	R
Tacuaras	7,870 ± 0,507	1,707	1,567	1,83	5,0	R
Federal	53,445 ± 3,04 .10 ⁶	SA	-	-	3,1	R
Barragán	0,863 ± 0,186	14,567	5,929	1323,16	42,7	R
Loma Limpia	1,856 ± 0,196	2,992	2,223	5,621	8,8	R
Col. Línea N°23	1,183 ± 0,210	6,929	3,654	147,738	20,3	R
Barragán	0,821 ± 0,217	7,073	3,461	49,446	20,7	R
Federal	0,649 ± 0,175	SA	-	-	90,5	R
Federal	5,582 ± 0,387	0,586	0,517	0,65	1,7	IR
Federal	3,76 ± 0,368	0,469	0,349	0,559	1,4	S
Federal	5,115 ± 0,548	0,289	0,157	0,416	0,8	S
Federal	3,746 ± 0,313	0,2	0,096	0,293	0,6	S
Paraná	5,274 ± 0,418	0,468	0,367	0,561	1,4	S
Paraná	4,091 ± 0,444	0,192	0,16	0,221	0,6	S
La Paz	5,343 ± 0,408	0,425	0,35	0,491	1,2	S
La Paz	7,161 ± 0,722	0,472	0,376	0,549	1,4	S
Feliciano	2,326 ± 0,222	0,152	0,049	0,264	0,4	S
Santa Elena	17,016 ± 8,89 .10 ⁵	SA	-	-	0,3	S
Federal	2,835 ± 0,233	0,127	0,097	0,156	0,4	S
La Paz	2,827 ± 0,197	0,253	0,193	0,31	0,7	S
Federal	3,410 ± 0,229	0,311	0,225	0,396	0,9	S
Hasenkamp	2,835 ± 0,233	0,127	0,097	0,156	0,4	S
Las Tunas	2,221 ± 0,177	0,131	0,03	0,239	0,4	S
CSR	3,358 ± 0,382	0,342	0,196	0,45	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; SLS: sin larvas suficientes; M: muerta; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 17:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Corrientes.

Localidad	P ± DE	IC95%				Estado
		DL50	LI	LS	RR50	
Tabay	1,981 ± 0,112	1,019	0,731	1,271	3,2	R
Goya	1,755 ± 0,117	4,222	3,113	7,459	12,4	R
Curuzú Cuatiá	1,817 ± 0,236	7,046	4,798	15,602	20,6	R
M. I. Loza	1,735 ± 0,114	2,238	1,81	2,979	6,6	R
Bonpland	4,965 ± 0,247	0,851	0,496	1,143	2,5	R
Curuzú Cuatiá	1,838 ± 0,137	1,929	1,436	2,669	5,6	R
Curuzú Cuatiá	1,551 ± 0,084	0,752	0,649	0,862	2,2	R
Curuzú Cuatiá	0,632 ± 0,450	SA	-	-	3,753	R
Curuzú Cuatiá	1,554 ± 0,150	0,929	0,572	1,696	2,7	R
Curuzú Cuatiá	0,236 ± 0,123	SA	-	-	4,741	R
Curuzú Cuatiá	1,391 ± 0,296	8,827	5,417	27,244	25,845	R
Mercedes	2,054 ± 0,204	1,235	0,84	1,963	3,6	R
Curuzú Cuatiá	1,772 ± 0,334	4,144	2,791	27,297	12,1	R
Curuzú Cuatiá	0,873 ± 0,128	1,367	0,91	2,56	4,0	R
Curuzú Cuatiá	2,213 ± 0,379	SA	-	-	3,6	R
Tabay	0,816 ± 0,223	67,836	16,156	6982	198,6	R
Tabay	1,221 ± 0,156	3,456	2,769	4,742	10,1	R
Tabay	1,678 ± 0,159	1,309	1,056	1,649	3,8	R
Tabay	1,573 ± 0,182	1,782	1,309	2,701	5,2	R
Curuzú	1,251 ± 0,128	1,94	1,637	2,383	5,7	R
Curuzú	1,831 ± 0,137	1,263	0,595	2,492	3,7	R
Curuzú	1,621 ± 0,127	1,188	0,57	2,67	3,5	R
Murucuyá	1,095 ± 0,131	4,445	3,007	9,179	13,0	R
Curuzú	1,321 ± 0,137	1,609	1,062	2,544	4,7	R
San Cosme	1,008 ± 0,143	1,8	1,446	2,321	5,3	R
Saladas	3,964 ± 0,288	0,217	0,177	0,256	0,6	R
Tabay	2,489 ± 0,121	0,162	0,134	0,191	0,5	S
Tabay	1,109 ± 0,075	0,522	0,366	0,708	1,5	S
Curuzú Cuatiá	4,518 ± 0,242	0,514	0,438	0,59	1,5	S
Curuzú Cuatiá	6,324 ± 0,749	0,464	0,39	0,522	1,4	S
Curuzú Cuatiá	2,223 ± 0,120	0,339	0,079	0,649	1,0	S
Curuzú Cuatiá	1,912 ± 0,105	0,313	0,196	0,43	0,9	S
Curuzú Cuatiá	3,453 ± 0,450	0,374	0,098	0,56	1,1	S
Curuzú Cuatiá	2,420 ± 0,297	0,076	0,049	0,103	0,2	S
Mercedes	4,856 ± 0,449	0,383	0,342	0,421	1,1	S
Saladas	1,933 ± 0,223	0,058	0,017	0,105	0,2	S
Saladas	2,216 ± 0,213	0,095	0,025	0,17	0,3	S
Saladas	2,402 ± 0,182	0,12	0,066	0,175	0,4	S
CSR	3,358 ± 0,382	0,342	0,196	0,45	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; SLS: sin

Continuación Tabla 17.

larvas suficientes; MC: mortalidad en control >10%; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 18:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Chaco.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
Colonia Benítez	0,796 ± 0,105	SA	-	-	2,1	R
San Martín	5,938 ± 0,353	1,38	1,01	1,66	4,0	R
San Martín	1,434 ± 0,107	0,74	0,29	1,24	2,2	R
Santa Sylvina	0,840 ± 0,129	0,16	0,01	0,38	0,5	S
Basail	26,633 ± 7,12 .10 ⁶	SA	-	-	1,4	S
San Martín	29,097 ± 2,5 .10 ⁶	SA	-	-	0,9	S
San Martín	1,578 ± 0,090	0,51	0,27	0,78	1,5	S
San Martín	7,076 ± 0,753	0,31	0,29	0,33	0,9	S
CSR	3,358 ± 0,382	0,34	0,2	0,45	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar. DL50: dosis letal 50; IC95: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; SLS: sin larvas suficientes; MC: mortalidad en grupo control >10%; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 19:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Formosa.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
El Colorado	3,358 ± 0,382	SA	-	-	2,054	R
M. Villafañe	1,290 ± 0,307	8,62	5,07	33,96	25,23	R
Formosa	1,118 ± 0,090	0,63	0,46	0,817	1,833	IR
El Colorado	5,229 ± 0,394	0,39	0,34	0,447	1,153	S
CSR	3,358 ± 0,382	0,34	0,2	0,45	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar. DL50: dosis letal 50; IC95: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; SLS: sin larvas suficientes; CSR: cepa susceptible de referencia.

La distribución geográfica de las poblaciones de garrapatas caracterizadas para fipronil mediante las técnicas de PIL y PPL se encuentra representada en la Figura 13.

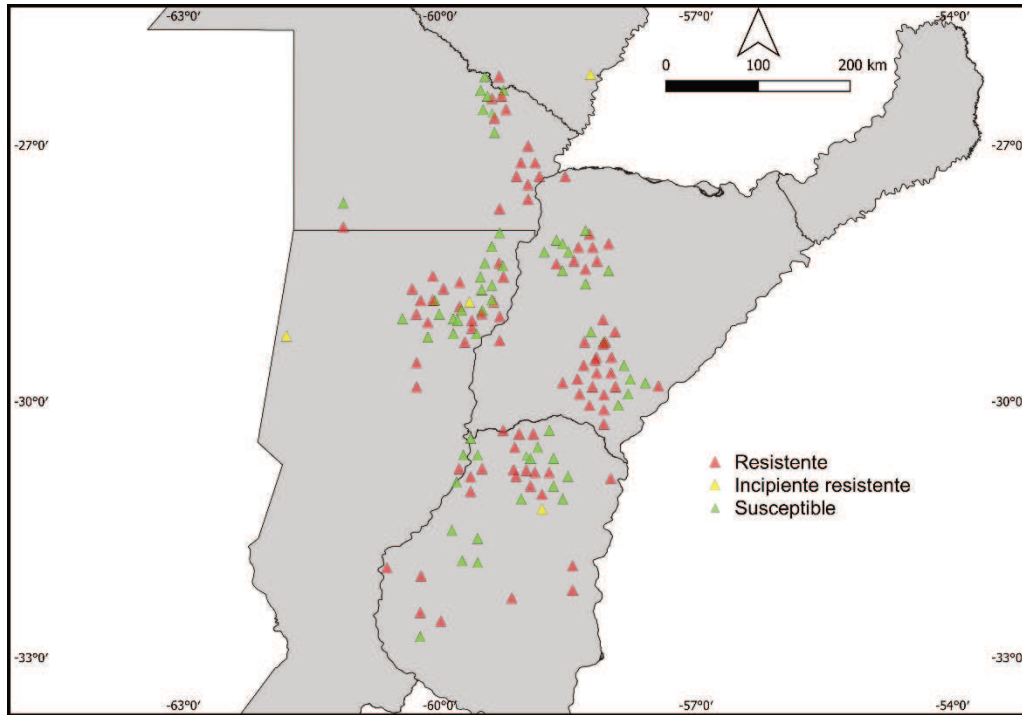


Figura 13: Distribución geográfica de las poblaciones de garrapatas caracterizadas mediante prueba de inmersión de larvas (PIL) y prueba de paquete de larvas (PPL) para fipronil.

PIL para Amitraz:

Un total de cinco muestras fueron procesadas con este protocolo. Los valores de pendiente, desvío estándar, DL50 e IC95% de la DL50, E% y M% se muestran en la Tabla 20. Las cepas se encuentran caracterizadas en función de la localidad y provincia de origen.

Los valores de E% y M% corresponden a la PIA de estas cepas, de las cuales una alícuota de garrapatas sin tratamiento pudo ser aislada para aplicación de la PIL. Las cepas Colonia Benítez-Chaco, Mercedes-Corrientes e Ing. Charnoudie-Santa Fe fueron consideradas resistentes mediante la PIA ya que obtuvieron baja eficacia y mortalidad en las garrapatas. A su vez los valores de DL50 e IC95%DL50 son mayores a los obtenidos para la cepa San Martín-Chaco la cual fue considerada como cepa susceptible dada su susceptibilidad en la PIA.

Respecto a la cepa Jujuy-Jujuy no se pudieron obtener datos de DL50 y sus IC95% debido a que las mortalidades fueron del 100% en todas las dosis aplicadas a lo largo del gradiente de concentraciones además de tener una eficacia y mortalidad del 100% en la PIA. Los valores de RR50 de la cepa Jujuy (27,1) arrojados por el software estadístico, demuestran valores extremos de sensibilidad al comparar estadísticamente con lo cepa San Martín (Tabla 20).

Tabla 20:

Resultados de la prueba de inmersión de larvas (PIL) con amitraz para Rhipicephalus (Boophilus) microplus.

Localidad	Prov.	P ± DE	DL50	IC95%			PIA	
				LI	LS	RR50	%E	%M
Colonia Benítez	CH	0,862 ± 0,033	4,67	2,33	8,85	424,6	68	50
Ing. Charnoudie	SF	2,212 ± 0,522	0,19	0,07	0,283	17,5	77	50
Cepa Jujuy	SF	9,062 ± 2,01 .10 ⁶	SA	-	-	27,1	100	100
San Martín (CS)	CH	0,783 ± 0,131	0,01	0	0,062	-	100	100

Prov.: Provincia; P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza al 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia para la dosis letal 50; PIA: prueba de inmersión de adultos; %E: eficacia; %M: mortalidad; CH: Chaco; CO: Corrientes; SF: Santa Fe; CS: cepa susceptible.

PPL para Fipronil:

Los resultados obtenidos con la prueba de paquetes de larvas para fipronil se presentan en las Tablas 21–25. Se procesaron 49 muestras. Treinta y dos fueron caracterizadas como resistentes (n Santa Fe: 13, n Entre Ríos: 4, n Corrientes: 5, n Chaco: 9, n Formosa: 1) y 17 como susceptibles (n Santa Fe: 7, n Entre Ríos: 4, n Corrientes: 3, n Formosa: 4). No se diagnosticaron muestras con resistencia incipiente. De todas las muestras ingresadas al laboratorio para PPL con fipronil 58 no pudieron ser procesadas, en su mayoría debido a la insuficiente cantidad de muestra (n Santa Fe: 16, n Entre Ríos: 25, n Corrientes: 9, n Chaco: 4, n Formosa: 4).

La representación cartográfica de la distribución geográfica de las poblaciones diagnosticadas mediante PPL para fipronil se observa en la Figura 13, en conjunto con la distribución de poblaciones analizadas mediante PIL para fipronil.

Tabla 21:

Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Santa Fe.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
Intiyaco	2,848 ± 2,848	27,646	20,492	36,209	3,4	R
Km 320	3,509 ± 0,185	26,539	22,205	31,917	3,3	R
Las Garzas	3,134 ± 0,153	18,416	13,737	25,497	2,3	R
Las Garzas	4,200 ± 0,226	19,003	16,878	21,522	2,4	R
3 bocas	4,093 ± 0,260	SA	-	-	3,4	R
Garabato	4,679 ± 0,337	24,278	10,594	34,818	3,0	R
Reconquista	36,16 ± 5,99 .10 ⁶	SA	-	-	4,6	R
Ing. Charnoudie	3,881 ± 0,264	SA	-	-	3,9	R

Continuación Tabla 21.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
Gral. Obligado	1,171 ± 0,116	SA	-	-	18,9	R
Margarita	2,471 ± 0,133	21,234	15,677	30,575	2,6	R
Margarita	1,433 ± 0,374	SA	-	-	9,2	R
Vera	1,764 ± 0,711	SA	-	-	41,4	R
Garabato	2,600 ± 0,103	13,393	10,021	18,464	1,6	S
Las Mercedes	2,722 ± 0,139	3,732	2,537	4,827	0,5	S
Vera	3,860 ± 0,193	6,241	4,642	8,338	0,8	S
Las Garzas	1,673 ± 0,079	5,511	4,089	7,285	0,7	S
Reconquista	5,431 ± 0,337	7,449	6,955	7,927	0,9	S
Guadalupe Norte	1,052 ± 0,141	4,539	3,478	5,802	0,6	S
Garabato	3,982 ± 0,231	8,145	6,999	9,452	0,9	S
CSR	4,102 ± 0,334	8,683	7,120	10,126	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza del 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; IR: incipiente resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas; MC: mortalidad en control >10%; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 22:

Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Entre Ríos.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
Basualdo	1,344 ± 0,105	SA	-	-	2,9	R
La paz	5,972 ± 0,290	SA	-	-	3,2	R
Colonia Nueva	3,229 ± 0,111	SA	-	-	104,1	R
La Paz	0,619 ± 0,125	SA	-	-	112,9	R
Feliciano	2,148 ± 0,120	9,742	7,589	12,190	1,2	S
Feliciano	4,277 ± 0,325	15,834	9,826	21,192	1,9	S
Victoria	3,025 ± 0,207	6,651	4,433	8,480	0,8	S
Federal	6,139 ± 0,422	7,907	5,197	9,708	1,0	S
CSR	4,102 ± 0,334	8,683	7,120	10,126	-	-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza del 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas; MC: mortalidad en control >10%; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 23:

Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Corrientes.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
Tabay	3,115 ± 0,170	29,306	24,268	34,836	3,6	R
Mercedes	1,959 ± 0,097	SA	-	-	2,4	R
Mercedes	0,594 ± 0,15	7386,2	980,41	4,47. 10 ⁶	95299,5	R
Goya	1,562 ± 0,102	55,816	39,713	98,471	6,9	R
M.I. Loza	0,865 ± 0,087	54468	25.61	803967	6273,0	R
Tabay	2,150 ± 0,107	10,271	6,707	14,988	1,3	S
Tabay	3,049 ± 0,162	8,426	4,897	11,581	1,0	S
Tabay	2,988 ± 0,124	7,504	6,583	8,511	0,9	S
CSR	4,102 ± 0,334	8,683	7,120	10,126		-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza del 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; SLS: sin larvas suficientes; M: muertas; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 24:

Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Chaco.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%			Estado
			LI	LS	RR50	
Colonia Benítez	1,278 ± 0,089	87,196	36,341	168,071	10,816	R
Colonia Benítez	1,826 ± 0,072	18,141	12,89	25,209	2,25	R
Colonia Benítez	1,055 ± 0,056	28,387	11,211	53,347	3,521	R
Colonia Benítez	0,632 ± 0,108	2451	357,29	3.07E+06	304,015	R
Colonia Benítez	2,156 ± 0,174	51,087	29,517	318,585	6,337	R
Santa Sylvina	5,242 ± 0,411	36,611	32,44	40,809	4,541	R
Basail	3,822 ± 0,207	24,198	20,448	28,708	3,001	R
Colonia Benítez	1,391 ± 1,405	SA	-	-	9,331	R
San Martín	1,257 ± 0,158	24,5279	141362	696,613	30,112	R
CSR	4,102 ± 0,334	8,683	7,120	10,126		-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza del 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; SLS: sin larvas suficientes; CSR: cepa susceptible de referencia.

Tabla 25:

Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de Rhipicephalus (Boophilus) microplus para fipronil en poblaciones de la provincia de Formosa.

Localidad	P ± DE	DL50	IC95%		RR50	Estado
			LI	LS		
El Colorado	6,375 ± 0,440	SA	-	-	40,519	R
El Colorado	5,436 ± 0,471	SA	-	-	-	S
El Colorado	2,721 ± 0,123	8,24	6,24	10,9	1,023	S
El Colorado	4,102 ± 0,334	8,68	7,12	10,13	1,066	S
CSR	4,102 ± 0,334	8,683	7,120	10,126		-

P: pendiente; DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza del 95% para la DL50; LI: límite inferior; LS: límite superior; RR50: relación de resistencia; R: resistente; S: susceptible; SA: sin ajuste; SLS: sin larvas suficientes; CSR: cepa susceptible de referencia.

PPL para Amitraz:

Se expusieron a este protocolo tres poblaciones (Tabla 26). Los valores de mortalidad en cada una de las concentraciones empleadas incluido el grupo control se muestran en la Tabla 26. Debido a que el diluyente fue el mismo tanto en el protocolo con droga técnica como en el que se empleó producto comercial, se utilizó un solo grupo control por cepa.

Tabla 26:

Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) con amitraz para Rhipicephalus (Boophilus) microplus.

Dosis (µg/cm ²)	El Colorado		Garabato		La Paz	
	%M tec	%M com	%M tec	%M com	%M tec	%M com
Control	19		78		90	
0,00005	28	41	94	99	98	99
0,002	44	41	100	100	99	98
0,0039	74	61	100	100	100	100
0,0078	84	73	100	100	100	100
0,0156	81	83	100	100	100	100
0,0313	97	100	100	100	100	100

%M tec: mortalidad obtenida en PPL para amitraz técnico; %M com: mortalidad obtenida en PPL para amitraz utilizando formulación comercial.

Indistintamente del empleo de droga técnica o comercial, se observó una elevada mortalidad en el grupo control (Tabla 26). Dada esta elevada mortalidad se decidió realizar pruebas con nylon impregnado solo con diluyente reduciendo el volumen de impregnación de 700 µl a 500 µl. Tres muestras fueron expuestas a los soportes impregnados con diferentes cantidades de diluyente (La Paz, Feliciano 1 y Feliciano 2).

Los valores de mortalidad fueron superiores al 50% en los controles impregnados con 700 μ l de diluyente (90% La Paz, 84% Feliciano 1 y 54% Feliciano 2). En los soportes impregnados con 500 μ l de diluyente las mortalidades superaron el 70% (95% La Paz, 70% Feliciano 1 y 91% Feliciano 2).

Posterior a la falla de los controles en función de la variación del volumen, se realizó una nueva prueba de controles utilizando nylon (Type 2320, Cerex Advanced Fabrics, Pensacola, FL) sin impregnar (SI) e impregnado con 700 μ l de diluyente. En esta ocasión se modificó la marca comercial de aceite utilizando la marca que comúnmente se emplea en los protocolos de PPL marca Cocinero extra virgen (Coc) (Molinos SA) y además aceite de oliva marca Mazola virgen extra (Maz) (Aceitera General Deheza SA) y aceite mezcla de oliva y girasol marca cocinero (Mez) (Molinos SA) respectivamente. La proporción de aceite de oliva y TCE fue 1:2.

No se lograron obtener mortalidades inferiores o iguales al 10% con ninguno de los tres aceites (39% Coc, 51% Maz, 47% Mez) y tampoco en el nylon sin impregnar (22% SI). Es por este motivo que se decidió discontinuar los estudios respecto a resistencia de amitraz con esta técnica de paquete de larvas modificada.

PPL para Cipermetrina:

Dos aislamientos de campo fueron enfrentados a gradientes de concentraciones elaborados con cipermetrina técnica y producto comercial a base de cipermetrina. Los valores de DL50, IC95%DL50 y RR50 obtenidos para muestras de dos localidades (Santa Sylvina y Basail) de la provincia de Chaco se muestran en la Tabla 27.

Tabla 27:

*Resultados de la prueba de paquete de larvas (PPL) de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cipermetrina en poblaciones de la provincia de Chaco.*

	Droga	P \pm DE	CL ₅₀	IC95%			Estado
				LI	LS	RR ₅₀	
Santa Sylvina	Técnica	1,793 \pm 0,101	4666	2180,1	10422,0	8,8	R
	Comercial	1,627 \pm 0,078	5172	1550,3	23780,0	9,8	R
	Técnica	2,019 \pm 0,107	761,0	395,4	1318,6	1,4	S
Basail	Comercial	1,921 \pm 0,113	593	242,9	1904,3	1,1	S
CSR	-	-	530	500	560	-	-

P: pendiente, DE: desvío estándar; DL50: dosis letal 50; IC95%: intervalo de confianza del 95% para la DL50; RR50: relación de resistencia; R: resistente, S: susceptible; SA: sin ajuste; SLS: sin larvas suficientes; CSR: cepa susceptible de referencia.

La aplicación del criterio de clasificación demuestra que al comparar la CSR (Mangold et al., 2004) con los valores de las cepas de campo tanto en el protocolo con droga técnica como con producto comercial se puede arribar al mismo diagnóstico. La cepa Santa Sylvina fue clasificada como resistente dado que no existe solapamiento con el IC95% de la DL50 de la CSR con valores de RR50 >2, mientras que la cepa Basail pudo ser clasificada como susceptible en ambos casos (droga técnica y producto comercial).

Debido a la mayor simplicidad de aplicación se seleccionó a la PIA como técnica diagnóstica para piretroides. Los resultados expuestos en la Tabla 27 demuestran que hay similitud en la implementación de droga técnica y comercial al compararlas con los valores de la CSR.

2.3.b Pruebas con adultos:

Los valores de eficacia (%E) y mortalidad (%M) obtenidos para 43 muestras de diferentes provincias procesadas mediante PIA para drogas de baño se muestran en la Tabla 28.

Diez muestras de 35 tratadas con producto comercial a base de amitraz presentaron %E mayor al 90%, aunque en los casos donde la %M no fue total (100%) siempre fue menor al valor de %E. De las 26 muestras tratadas con producto comercial en base a cipermetrina solo dos tuvieron %E=100, mientras que las restantes tuvieron %E entre 0 y 75%.

Los %M obtenidos en cipermetrina fueron en su mayoría menores o iguales al %E, sin embargo, una muestra de Colonia Benítez-Chaco mostró una inversión entre %E y %M (24 y 31 % respectivamente).

Del total de muestras, 39 fueron tratadas con producto comercial mezcla de cipermetrina y clorpirifós, de las cuales 18 obtuvieron %E del 90% o superior. De las muestras que fueron tratadas con producto comercial basado en la mezcla de cipermetrina y etión, seis tuvieron %E entre el 93 y 100%.

Tabla 28:

Resultados de Prueba de inmersión de adultos (PIA) para Rhipicephalus (Boophilus) microplus.

Localidad	Prov.	AZ		C		C + C		C + E		FZ %IE
		%E	%M	%E	%M	%E	%M	%E	%M	
Colonia Benítez 1	CH	100	100	24	31	85	75	-	-	-
Colonia Benítez 2	CH	68	60	3	0	77	70	-	-	-
San Martín 1	CH	95	83	15	0	84	67	-	-	-
San Martín 2	CH	100	100	-	-	90	90	-	-	-
Curuzú Cuatiá 1	CO	66	65	24	15	95	90	-	-	-

Continuación Tabla 28.

Localidad	Prov.	AZ		C		C + C		C + E		FZ %IE
		%E	%M	%E	%M	%E	%M	%E	%M	
Curuzú Cuatiá 2	CO	62	60	-	-	67	60	-	-	-
Curuzú Cuatiá 3	CO	76	60	-	-	95	80	-	-	-
Curuzú Cuatiá 4	CO	56	40	-	-	78	70	68	60	-
Curuzú Cuatiá 5	CO	55	40	-	-	52	40	51	40	-
Curuzú Cuatiá 6	CO	62	60	0	0	52	40	-	-	-
Curuzú Cuatiá 7	CO	50	40	-	-	97	80	-	-	-
Curuzú Cuatiá 8	CO	60	47	-	-	97	87	76	60	-
Curuzú Cuatiá 9	CO	60	50	-	-	91	80	93	70	-
Curuzú Cuatiá 10	CO	31	20	-	-	98	80	98	80	-
Curuzú Cuatiá 11	CO	36	27	-	-	90	60	92	73	-
Curuzú Cuatiá 12	CO	22	20	13	0	16	10	13	10	65
Curuzú Cuatiá 13	CO	51	50	13	10	83	90	55	40	82
Curuzú Cuatiá 14	CO	-	-	-	-	93	80	67	50	-
Curuzú Cuatiá 15	CO	-	-	-	-	-	-	67	50	-
Curuzú Cuatiá 16	CO	-	-	-	-	-	-	83	70	-
Curuzú Cuatiá 17	CO	100	100	33	30	42	40	62	50	50
Goya 1	CO	76	55	2	0	46	9	-	-	-
Goya 2	CO	16	0	15	7	39	20	-	-	52
Mburucuyá 1	CO	-	-	60	40	72	40	-	-	-
Mburucuyá 2	CO	-	-	-	-	97	80	-	-	-
Mercedes	CO	46	0	14	0	23	0	14	0	14
Saladas 1	CO	60	50	12	0	65	30	60	30	27
Saladas 2	CO	36	10	16	10	100	90	100	100	13
Sauce 1	CO	51	50	11	0	76	50	69	70	-
Tabay 1	CO	51	54	42	31	-	-	-	-	-
Tabay 2	CO	58	60	-	-	75	60	67	80	-
Tabay 3	CO	-	-	31	0	56	30	70	80	-
Federación	ER	13	0	-	-	96	90	-	-	-
Federal 1	ER	48	40	37	20	54	0	-	-	-
Federal 2	ER	100	100	100	100	100	100	100	100	-
Federal 3	ER	43	40	-	-	78	70	-	-	-
El Espinillo	FO	98	80	0	10	94	70	-	-	-
M. Villafañe	FO	100	100	85	30	95	20	-	-	-
Ing. Charnoudie	SF	77	50	100	100	100	100	-	-	-
Margarita	SF	-	-	43	40	-	-	-	-	-
San Cristóbal	SF	95	80	68	60	100	100	-	-	-
Vera	SF	100	100	75	67	100	100	-	-	-
Villa Ocampo	SF	95	90	9	0	17	20	40	40	-
Cepa Jujuy	SF	100	100	100	100	100	100	100	100	85
CSR (Torrents et al., 2022)	SF	100	100	100	100	100	100	100	100	89

Prov.: Provincia; Chacho (CH); Corrientes (CO); Entre Ríos (ER); Formosa (FO); Santa Fe (SF); Amitraz (AZ); Cipermetrina (C); Cipermetrina y clorpirifós (C + C); Cipermetrina y etión (C + E); Porcentaje de inhibición de la eclosión para fluazurón (FZ%IE); Eficacia en porcentaje

Continuación Tabla 28.
(%E); mortalidad en porcentaje (%M).

Los valores de inhibición de la eclosión (%IE) obtenidos mediante la prueba de inmersión de adultos (PIA) con fluazurón técnico se presentan en la Tabla 28. Las poblaciones consideradas susceptibles, en relación con la cepa susceptible de referencia (CSR; 89% IE; Figura 14-Tubo 1), correspondieron a la Cepa Jujuy (85% IE) y Curuzú Cuatiá 13 (82% IE). En ambas se observaron signos de subletalidad en las larvas, caracterizados por aletargamiento, ataxia e inmovilidad (Figura 14; Tubo 2: https://youtu.be/TnFB8_NMh-4 y Tubo 3: <https://youtu.be/P0A3WyT1Zdg> respectivamente).

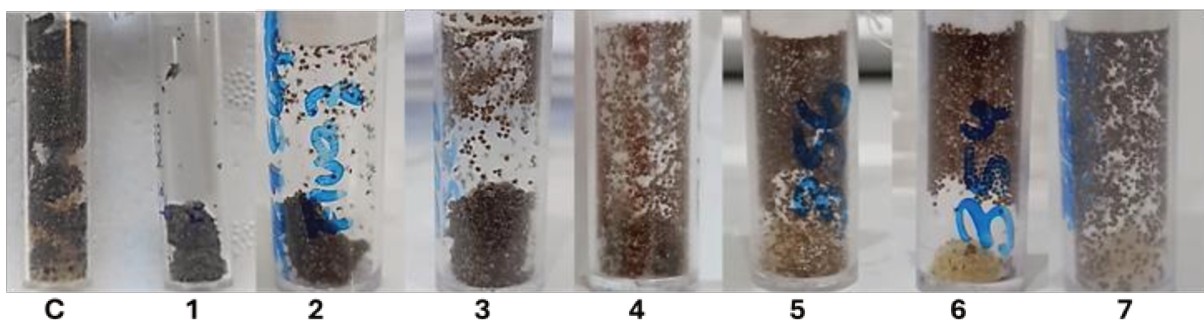


Figura 14: Inhibición de la eclosión de larvas en aoves de garrapatas sometidas a PIA con fluazurón técnico 50 ppm. A la izquierda el grupo control (C), hacia la derecha los tubos (1–7) presentan diferentes grados de afección de manera decreciente.

Las poblaciones clasificadas como resistentes presentaron distintos niveles de inhibición en la eclosión. En la muestra de Curuzú Cuatiá 12 (Figura 14-Tubo 4), el %IE fue del 65%, con larvas que presentaban una mejor capacidad para desplazarse que las de los Tubos 2 y 3 (Figura 14) (<https://youtu.be/gKOLieNpilE>). La muestra de Saladas 1 (Figura 14-Tubo 5) presentó una IE del 27%, con motilidad comparable al control (<https://youtu.be/dlpuxhntbiM>). En la muestra Saladas 2 (Figura 14-Tubo 6), con un 13% de IE y una eclosión superior al 80%, la mayoría de las larvas permaneció inmóvil (<https://youtu.be/8t3cnmDKUxE>). Finalmente, la muestra de Mercedes (Figura 14-Tubo 7; 14% IE) el grupo tratado no mostró diferencias en la motilidad respecto del grupo control (https://youtu.be/Ldv_wfidRgA).

La representación cartográfica de la distribución de los puntos de diagnóstico obtenidos para cada droga y para cada población se observan en la Figura 15.

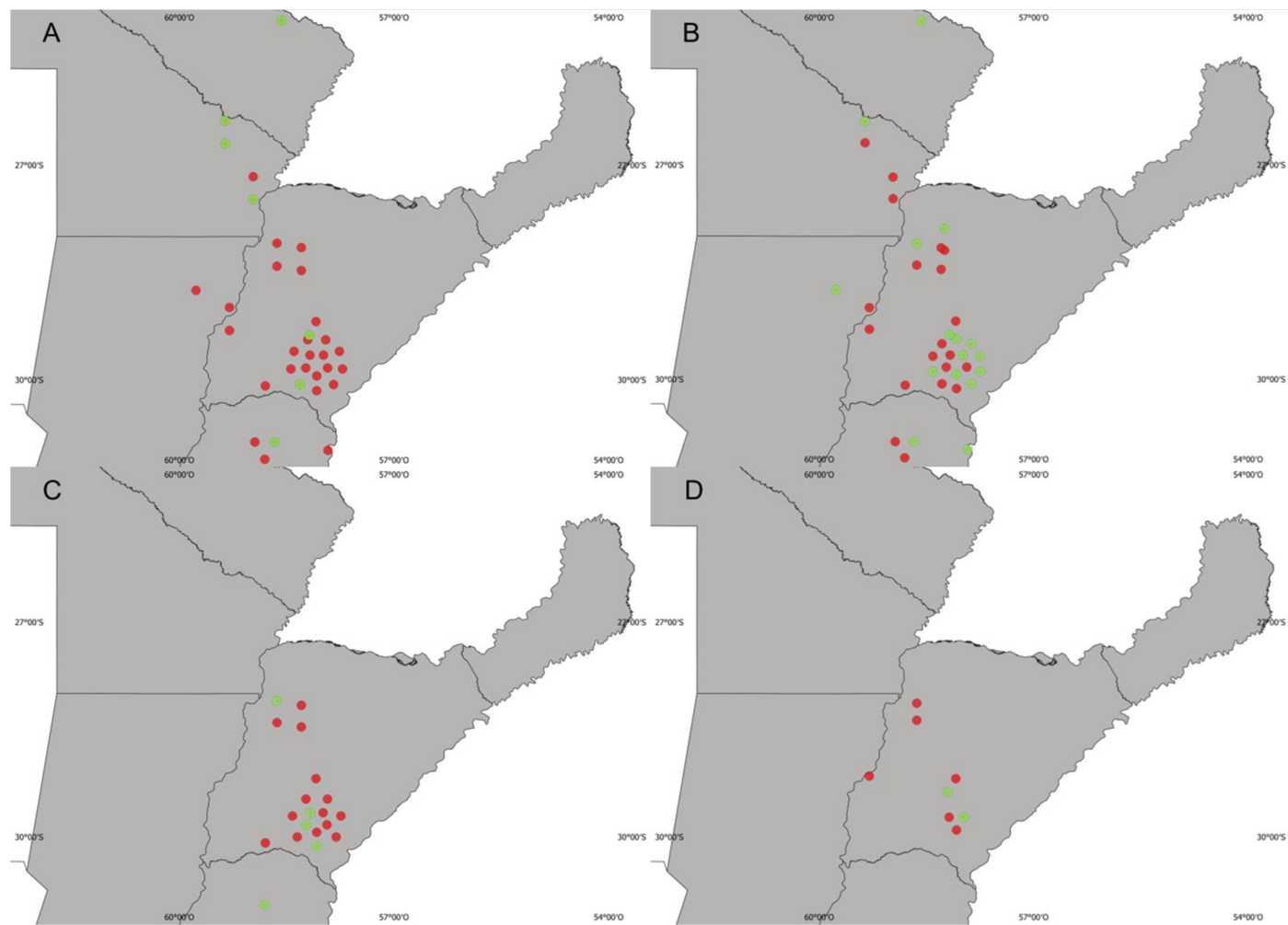


Figura 15: Distribución geográfica de poblaciones de *Rhipicephalus microplus* evaluadas mediante prueba de inmersión de adultos (PIA) frente a distintos principios activos. (A) Amitraz; (B) Cipermetrina + clorpirifós; (C) Cipermetrina + etión; (D) Fluazurón. Los puntos rojos indican poblaciones clasificadas como resistentes y los puntos verdes poblaciones susceptibles.

2.4. Discusión

Uno de los principales obstáculos que presenta el control químico de la garrapata *R. microplus* es la resistencia a los acaricidas. Se ha diagnosticado resistencia en muestras de todas las provincias de la región del Litoral a todos los principios activos con la excepción de fluralaner.

La implementación de técnicas *in vitro* resulta ventajosa debido a su relativa practicidad y bajo costo, lo que facilita su incorporación en planes de control. No obstante, su estandarización requiere un esfuerzo considerable y depende de la infraestructura del laboratorio y del recurso humano disponible. Asimismo, constituyen herramientas orientativas, no determinantes, por lo que se recomienda su aplicación de manera sistemática (Nava et al., 2024).

Otra limitación que encuentran estos bioensayos de laboratorio es el tiempo que demandan para proporcionar un resultado. Por ejemplo, las PIL y PPL necesitan de un mes y medio desde que se toma la muestra hasta que la realización del tratamiento y obtención de los resultados (FAO, 2025). Esta realidad vulnera los esquemas de control que se han puesto en marcha a fines del invierno y que dependen de los resultados de muestras recogidas en esa cohorte para su continuidad. En algunas ocasiones, la falla acaricida se manifiesta antes que los resultados del laboratorio (Morel et al., 2025).

Las PIA otorgan una ventaja en lo temporal, ya que los resultados están disponibles en 2 semanas (FAO, 2025). Sin embargo, la PIA no es una técnica que pueda ser aplicada de la misma manera para todas las drogas disponibles en el mercado. Esto se debe a que la prueba se basa en la observación de parámetros como la mortalidad, la oviposición y la eclosión. Respecto a la eclosión de huevos, en caso de que sea condición *sine qua non* su evaluación (PIA para fluazurón) el tiempo de espera de resultados se prolonga teniendo una duración igual que las PIL y PPL. Otra de las desventajas de la PIA es el espectro de drogas sobre el cual puede diagnosticar, siendo empleada de preferencia con productos comerciales diseñados para baño.

Las lactonas macrocíclicas (LM) tienen algunos problemas de aplicabilidad con PIA, por el tiempo de inmersión necesario para lograr inhibición en la postura de huevos, la solubilidad de las drogas y el mecanismo de acción de estas moléculas que si bien afecta parámetros reproductivos los resultados no son fiables como los medidos en PIL (Sabatini et al., 2001; Klafke et al., 2012).

Respecto a la PIA con fipronil, es factible su implementación haciendo uso de parámetros que arrojen datos en el lapso de 7–15 días, lo recomendable es la implementación simultánea de la prueba en la cepa de campo y una cepa susceptible (Castro-Janer et al., 2009).

Los requerimientos de la PIA sobre el número de individuos (n) y tiempo de llegada al laboratorio (no mayor a 48 h) también imponen su limitación, ya que no siempre se puede extraer una muestra lo suficientemente grande para realizar el testeado de todos los principios activos, así como no es factible replicar una cepa de garrapatas susceptible cada vez que se necesite hacer una prueba.

En este sentido, las pruebas con larvas otorgan ventajas ya que pueden realizarse con un menor número de teleoginas, (al trabajar con la progenie, la cantidad de individuos permite su aplicación), la logística del traslado de la muestra al laboratorio es en cierta medida más flexible (ya que la muestra puede llegar pasadas las 48 h de extraída) y el parámetro evaluado es confiable y objetivo (mortalidad de larvas).

Durante el desarrollo del estudio, alrededor de un 35 % del total de muestras ingresadas en el laboratorio no pudieron ser procesadas debido en su mayoría a un número insuficiente de individuos o a la mortalidad de las garrapatas durante el transporte al laboratorio o en el período previo a la oviposición. Si bien las características de una muestra óptima se encuentran estandarizadas (FAO, 2004; 2025), el momento de recolección y las condiciones de remisión constituyen etapas críticas que pueden afectar la viabilidad del material biológico y, en consecuencia, la posibilidad de realizar los bioensayos.

La resistencia de *R. microplus* a ivermectina y fipronil está ampliamente diseminada en la región Litoral de Argentina (Figura 12 y 13 respectivamente), coincidiendo también con lo descrito por Ferreira et al. (2024) para el sur de Brasil y Saporiti et al. (2021) para el norte de Uruguay. El 47%, 60 % y 65% de las muestras procesadas mediante PIL para ivermectina, PIL y PPL para fipronil, respectivamente, resultaron resistentes. Tanto la ivermectina como el fipronil mantienen su funcionalidad frente a *R. microplus* debido a que aún existen poblaciones de garrapatas susceptibles a ambos fármacos, pero la alta frecuencia de casos de resistencia advierte sobre su aplicabilidad en los planes de control de garrapatas en esta región de Argentina.

La resistencia a la cipermetrina se considera generalizada en Argentina (Guglielmone et al., 2013). El 92% de las muestras procesadas mediante PIA para cipermetrina resultó con valores de eficacia menores al 90%, siendo el valor modal 13%. Análogamente a esta situación, Ferreira et al. (2024) demostró el 100% de resistencia a piretroides en un estudio realizado sobre 176 poblaciones del sur de Brasil y Saporiti et al. (2021) un 98% de resistencia sobre 47 poblaciones analizadas del norte de Uruguay. La resistencia por parte de *R. microplus* a los piretroides en Argentina inicia en la región noreste (Caracostantógolo et al., 1996) extendiéndose aceleradamente al noroeste del país en poco tiempo (Aguirre et al., 2000). Este resultado indica claramente que el uso de este compuesto en formulaciones de monofármacos no es funcional en el contexto actual.

En cambio, la combinación de cipermetrina con organofosforados como el clorpirifós o el etión mostraron una situación diferente (Figura 15.B y C respectivamente). Un 56 % de las muestras procesadas con la mezcla de clorpirifós y cipermetrina mostraron tener una eficacia >90%, aunque en el caso de la mezcla de etión con cipermetrina solo un 25% mostró susceptibilidad. Esta diferencia de susceptibilidad no se debe a que una mezcla posea mayor eficacia que la otra, sino a la cantidad de bioensayos y a las muestras que se procesaron con cada uno de estos principios.

En líneas generales la misma situación se presentó para el amitraz un 56% de muestras susceptibles (Figura 15.A). Las combinaciones de piretroides con organofosforados o el amitraz siguen siendo funcionales, pero los casos de resistencia diagnosticados aquí muestran la importancia de realizar pruebas diagnósticas antes de elegir estos fármacos para utilizar en tratamientos de inmersión o aspersion.

La resistencia a fluazurón es un fenómeno documentado recientemente en Argentina en una población de Goya provincia de Corrientes (Torrents et al., 2022). Fluazurón es una droga que afecta la síntesis de quitina, las teleoginas que se someten a PIA para esta droga no se encuentran afectadas para oviponer (Bull et al., 1996; Graf, 1999; Gaudêncio et al., 2017; Junquera et al., 2019). Es por ello por lo que el uso de parámetros relacionados con la mortalidad y el peso de los aoves no es acertado como indicadores de resistencia a fluazurón.

En este estudio no se tuvo en cuenta el porcentaje de eficacia respecto a la reducción en la postura de huevos ni tampoco la mortalidad de garrapatas. La falta de efecto de fluazurón sobre estos parámetros puede observarse en la Figura 16, donde se muestra la oviposición de 3 muestras de las cuales, además, se obtuvo el %IE. A pesar de ser una de ellas susceptible no se observaron diferencias entre las oviposiciones de las muestras, así como entre los grupos tratados y control de cada una de ellas.

No existe en Argentina una concentración de fluazurón en PIA que inhiba totalmente la postura de huevos, dado su mecanismo de acción y los efectos presentados en la Figura 16, el uso de la eficacia y mortalidad podrían generar una sobreestimación de la situación real de la droga. Un mejor diagnóstico puede realizarse si se evalúa la inhibición de la eclosión en la concentración de 50 ppm (Reck et al., 2014a). Sin embargo, es imposible no caer en la subjetividad ya que en los casos en los que la eclosión de los huevos se ve afectada en un gran porcentaje en la concentración de 50 ppm como en los de la cepa susceptible (89%) y en donde las larvas se ven afectadas totalmente en su motilidad o viceversa como en las muestras donde la inhibición de la eclosión fue baja (Mercedes 14% y Saladas 13% y 27%) el diagnóstico *in vitro* no presenta obstáculos. En otros casos donde la eclosión de larvas y la motilidad no presentan valores extremos la estimación se torna relativa y es necesario complementar los resultados *in vitro* con pruebas de campo.

Reck et al. (2014a) mostraron valores similares para la PIA con fluazurón, obteniendo 99% de inhibición de la eclosión en la cepa susceptible y menos del 50% en la cepa resistente a la concentración de 50 ppm. El mismo autor demostró a su vez que no existen diferencias en las observaciones de las eclosiones de una cepa susceptible aumentando la dosis a 500 ppm, de manera que el efecto es similar, por lo que la dosis de 50 ppm resulta suficiente para inhibir el nacimiento de larvas casi en su totalidad. Hasta el momento no existen estudios que realicen una evaluación regional del estatus de susceptibilidad o resistencia, probablemente debido a que la resistencia a este principio es emergente y a las limitaciones en el diagnóstico.



Figura 16: Oviposiciones de garrapatas observadas 15 días luego de la prueba de inmersión de adultos con fluazurón técnico (50 ppm). 1 y 2: grupo control y tratado respectivamente de una muestra resistente (Saladas 13%IE, Tabla 27); 3 y 4: grupo control y tratado respectivamente de una muestra resistente (Saladas 27%IE, Tabla 27); 5 y 6: grupo control y tratado respectivamente de una muestra susceptible (Curuzú Cuatiá 13: 82 %IE, Tabla 27).

Desde la aparición del primer caso de resistencia a fluazurón en Argentina (Tabla 28-Goya 2) (Torrents et al., 2022), las demás muestras diagnosticadas como resistentes en este trabajo son hallazgos posteriores (Tabla 27, Figura 14) . La emergencia de la resistencia a fluazurón no implica la pérdida de la funcionalidad del principio activo a nivel regional, pero esto representa una alarma para los agentes implicados en la producción de productos comerciales o en la aplicación de estos para evitar la generalización de este fenómeno a escala regional.

Otra variable que podría sumarse al diagnóstico de resistencia de fluazurón es el método de estimación de la eclosión. La estimación visual difiere significativamente del recuento de larvas (Figueiredo et al., 2018). Esto llevado a términos prácticos hace que la técnica no pueda ser implementada sin la necesidad de equipamiento como lupa estereoscópica y numerosas horas de trabajo, por lo que actualmente es realizada con fines de investigación.

La comparación estadística de la frecuencia de resistencia entre provincias no es posible debido al sesgo de muestreo mencionado al principio de esta discusión. Para algunas de las provincias el número de muestras no fue representativo e incluso para algunas muestras el número de individuos no fue suficiente para todas las determinaciones. Es por ello, que la elección de los principios activos no respondió a un diseño comparativo uniforme entre poblaciones, sino a la necesidad de reflejar el uso real y la disponibilidad de acaricidas en los sistemas productivos de origen de las muestras. En este sentido, los productos evaluados corresponden a aquellos de mayor relevancia sanitaria para cada establecimiento lo que permitió analizar escenarios representativos de la problemática de resistencia. Pero independientemente de las diferencias entre provincias, la dispersión de la resistencia de *R. microplus* a uno o más grupos químicos en la región Litoral de Argentina, indica la necesidad de un monitoreo continuo de los niveles de resistencia para optimizar el control químico de las garrapatas del ganado.

Alguna de las variables que afectan la frecuencia del cambio genético en una población natural e imparten cambios en la evolución de su estatus son la frecuencia inicial de mutaciones asociadas a la resistencia, los procesos de selección, el flujo de genes y la deriva genética (Roush y Tabashnik, 1990).

Los dos principales factores que influyen en el desarrollo de resistencia a las garrapatas son los esquemas de tratamiento con acaricidas (seleccionando genes de resistencia) y la introducción de cepas de garrapatas resistentes o susceptibles a través del movimiento de ganado entre granjas (que determinan el flujo de genes).

La presión de selección que ejerce el uso sostenido de un compuesto químico específico a lo largo del tiempo se debe principalmente a la frecuencia con la que se aplican los tratamientos en un establecimiento durante todo el año. Cuanto mayor sea la frecuencia anual de aplicaciones de un fármaco y mayor sea su efecto residual, más fuerte será la presión de selección ejercida sobre la población de garrapatas. Este razonamiento está respaldado por estudios previos (Jonsson et al., 2000; Guglielmone et al., 2007; Ferreira et al., 2024) que demuestran la alta frecuencia de tratamientos anuales (> a 8 tratamientos anuales en algunos establecimientos) como una de las principales causas del desarrollo de resistencia en las poblaciones de garrapatas bovinas.

En la región Litoral de Argentina, la combinación de factores como condiciones ecológicas muy favorables para *R. microplus* y el libre movimiento de ganado entre establecimientos ganaderos sin control obligatorio de garrapatas dentro del área infestada, sumado a la presencia de razas bovinas susceptibles a la infestación por garrapatas, generan invariablemente la necesidad de un alto número de tratamientos químicos anuales.

En este escenario, se considera un enfoque más integrado para el control de *R. microplus*, donde otras herramientas como la incorporación de razas bovinas con mayor resistencia a la infestación por garrapatas y el manejo de pastos como complemento al control químico, debe comenzar a ser considerado seriamente por veterinarios y productores para hacer que el control de garrapatas sea sostenible.

DISCUSIÓN GENERAL

Discusión general

La integración de los datos obtenidos del estudio de las fases parasítica y no parasítica permiten concluir que *R. microplus* tiene en el área de estudio una dinámica poblacional caracterizada por cuatro a cinco generaciones anuales, donde, en ausencia de tratamientos químicos efectivos, la abundancia incrementa la salida del invierno al verano y otoño, donde se alcanzan los mayores picos de infestación.

Esto coincide con lo descrito para regiones subtropicales previamente en la literatura (Norris, 1957; Barnet, 1961; Guglielmo, 1992; Nava et al., 2022, 2024). Esta información es instrumental para el diseño de métodos de control que impliquen el uso estratégico de tratamientos químicos y el manejo de pasturas.

Los esquemas de control estratégico testeados en este trabajo fueron adecuados para mantener bajos niveles de infestación en el verano y otoño, pero no son aplicables para la erradicación de una población de *R. microplus*.

También es importante remarcar que altos niveles de resistencia o biotipos bovinos muy susceptibles a la infestación con garrapatas van a conspirar contra la prestación del control estratégico, como demostraron Morel et al. (2025).

La resistencia a los acaricidas representa uno de los mayores desafíos para el control químico de las garrapatas. La alta frecuencia de resistencia a ivermectina y fipronil presentadas en este trabajo limita severamente la eficacia de los tratamientos químicos convencionales, principalmente en aquellos establecimientos que no cuentan con baño y dependen exclusivamente de las aplicaciones tipo *pour on* o inyectables.

La presión de selección ejercida por un uso excesivo de acaricidas y el movimiento de ganado con carga parasitaria dentro del área de distribución ecológica favorecen la diseminación de cepas resistentes (Mangold et al., 2004, Nava et al., 2024), lo que compromete la sustentabilidad del control químico a largo plazo.

En este estudio se ha demostrado que la resistencia a los acaricidas químicos es un fenómeno ubicuo en la región Litoral de Argentina, con registros para todos los grupos químicos empleados como garrapaticidas (excepto fluralaner). Por lo tanto, el diagnóstico del nivel de resistencia para cada droga antes de decidir un esquema de tratamientos se torna ineludible.

El desarrollo y testeo de las técnicas de diagnóstico *in vitro* que se llevó a cabo en este trabajo va a permitir que se disponga de estas herramientas en Argentina. La utilización de drogas técnicas y comerciales, junto con gradientes de concentraciones definidos, permitió calcular parámetros de sensibilidad diagnóstica para todas las drogas (DL50, IC95 y RR50).

El procesamiento estandarizado de muestras, la validación estadística mediante un análisis de regresión Probit y el empleo de criterios de interpretación internacionalmente aceptados brindarán fiabilidad a los resultados que se obtengan. El diagnóstico de resistencia *in vitro* ofrece una alternativa orientativa y de relativo bajo costo, y sin la necesidad de intervenir en la dinámica de manejo de un establecimiento.

El empleo de acaricidas basados en el diagnóstico previo y sistemático de resistencia, la aplicación de esquemas de control basados en el conocimiento de la ecología del parásito en la región y la incorporación de herramientas biológicas (biotipos bovinos) constituyen las principales herramientas en Argentina para limitar el avance de la resistencia a los acaricidas y los problemas que acarrea su establecimiento y diseminación.

CONCLUSIONES GENERALES

Conclusiones generales

- **Dinámica de la fase parasítica y no parasítica:** este estudio aporta datos relevantes respecto la dinámica poblacional de *R. microplus* en la región Litoral de Argentina. El estudio de la fase no parasítica pone en valor una herramienta de control no químico como la rotación y manejo de pasturas. La dinámica de la garrapata común del bovino demostrada en esta tesis contribuye a evidenciar el momento más propicio para el inicio de esquemas de control estratégico en la región.
- **Esquemas de control estratégico:** los esquemas de control de 3 y 4 tratamientos presentados fueron funcionales, reduciendo el pico máximo de garrapatas esperable en el otoño.
- **Resistencia y eficacia de los acaricidas:** El estudio evidenció que la resistencia a los acaricidas (excepto a fluralaner) es un problema ubicuo en la región del Litoral argentino, sin que ello implique la pérdida de funcionalidad a escala regional.
- **Implicancias para el manejo integrado:** Los resultados subrayan la necesidad de implementar esquemas de control basados en la vigilancia periódica de la resistencia a los acaricidas.
- **Desarrollo:** El trabajo permitió poner a punto técnicas de diagnóstico para los acaricidas disponibles comercialmente aportando patrimonio regional con datos veraces y metodologías reproducibles.
- **Recomendaciones futuras:** Los ensayos de control estratégicos realizados en este trabajo demuestran ser funcionales ante cepas de garrapatas susceptibles a los acaricidas empleados sobre bovinos de raza *Bos indicus* × *Bos taurus*. Se recomienda profundizar el estudio en situaciones que planteen escenarios diferentes como multirresistencia o animales de razas con diferente susceptibilidad de manera aislada o bien simultánea.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

- Aguirre DH, Viñabal AE, Salatín AO, Cafrune MM, Volpogni MM, Mangold AJ, Guglielmone A. 2000. Susceptibility to two pyrethroids in *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) populations of northwest Argentina. *Vet. Parasitol.* 88: 329–334.
- Barnett SF. 1961. The Control of Ticks on Livestock. Agriculture Studies No. 54. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Baylis M y Risley C. 2013. Infectious diseases, climate change effects on. In: Kanki P, Grimes DJ. (Eds.), *Infectious Diseases: Selected Entries from Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*. Springer, New York.
- Brizuela CM, Ortellano CA, Sanchez TI, Osorio O, Walker AR. 1996. Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay: analysis of natural infestations. *Vet. Parasitol.* 63: 95–108.
- Brusca RC y GJ Brusca. 2005. *Invertebrados*. 2da edición. McGraw Hill, Interamericana de España, S. A. p. 1005.
- Bull MS, Swindale S, Overend D, Hess EA. 1996. Suppression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron an acarine growth regulator. *Aust Vet J.* 74:468–470
- Canevari JT, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2017. Population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in a subtropical subhumid region of Argentina for use in the design of control strategies. *Med. Vet. Entomol.* 31: 6–14.
- Caracostantógolo J, Muñoz Cobeñas ME, Eddi C, Ambrústolo RR, Bulman GM, Marangunich L. 1996. Primera determinación en la República Argentina de una población de *Boophilus microplus* (Can.) resistente al piretroides sintético alfa cipermetrina caracterizada mediante pruebas preliminares. *Vet. Arg.* 13: 575–582.
- Cardozo H, Nari A, Franchi M, López A, Donatti N. 1984. Estudio sobre la ecología del *Boophilus microplus* en tres áreas enzoóticas del Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*. 20: 4–10.

- Castelli ME, Mangold AJ, Nava S, Guglielmone AA. 2013. Determinación de la concentración letal 50 para *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* de la formamidina (amitraz) en diferentes poblaciones de la Argentina.
- Castro-Janer E, Rifran L, Piaggio J, Gil A, Miller RJ, Schumaker TTS. 2009. *In vitro* tests to establish LC50 and discriminating concentrations for fipronil against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) and their standardization. *Vet. Parasitol.* 162: 120-128.
- Castro-Janer E, Rifran L, González P, Piaggio J, Gil A, Schumaker TTS. 2010a. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by *in vitro* bioassays. *Vet. Parasitol.* 169: 172–177.
- Castro-Janer E, Martins JR, Mendes MC, Namindome GM, Klafke GM, Schumaker TTS. 2010b. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. *Vet. Parasitol.* 173: 300–306.
- Castro-Janer E, Rifran L, González P, Niell C, Piaggio J, Gil A, Schumaker TTS. 2011. Determination of the susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) to ivermectin and fipronil by larval immersion test (LIT) in Uruguay. *Vet. Parasitol.* 178: 148–155.
- Chaparro-Gutiérrez JJ, Villar D, Schaeffer DJ. 2020. Interpretation of the larval immersion test with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from Colombian farms. *Ticks and Tick-Borne Diseases.* 11(2): 101–323.
- Chitimia-Dobler L, Mans BJ, Handschuh S, Dunlop JA. 2022. A remarkable assemblage of ticks from mid-Cretaceous Burmese amber. *Parasitology.* 149(6): 820–830.
- Cutullé C, Lovis L, D'Agostino BI, Balbiani GG, Morici G, Citroni D, Reggi J, Caracostantogolo JL. 2013. *In vitro* diagnosis of the first case of amitraz resistance in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. *Vet. Parasitol.* 192: 296–300.
- Davey RB. 1988. Effect of temperature on the ovipositional biology and egg viability of the cattle tick *Boophilus annulatus* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.* 5, 1–14.

- Davey RB y Cooksey LM. 1989. Effects of prolonged exposure at low temperature on *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). J. Med. Entomol. 26: 407–410.
- Davey RB, Pound JM, Cooksey LM. 1994. Comparative reproduction and nonparasitic development of *Boophilus microplus* and hybridized *Boophilus* ticks (Acari: Ixodidae) under natural field conditions in subtropical south Texas. Exp. Appl. Acarol. 18: 185–200.
- De Souza AP, Gonzales JC, Ramos CI, Paloschi CG, De Moraes NA. 1988. Fase de vida livre do *Boophilus microplus* no planalto Catarinense. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 23: 627–634.
- Dobson RJ, Sangster NC, Besier RB, Woodgate, R.G. 2009. Geometric means provide a biased result when conducting a faecal egg count reduction test (FECRT). Vet. Parasitol. 161:162–167.
- Estrada-Peña A. 2008. Climate, niche, ticks, and models: what they are and how we should interpret them. Parasitol. Res. 103 (Supp. 1): 87–95.
- Estrada-Peña A, Mallón AR, Bermúdez S, de la Fuente J, Domingos A, García PE, Labruna MB, Merino O, Mosqueda J, Nava S. 2022. One Health Approach to Identify Research Needs on *Rhipicephalus microplus* Ticks in the Americas. Pathogens. 11: 11–80.
- FAO. 2004. Guideline resistance management and integrated parasite control in ruminants. Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention. Agr. Dept. Animal Production and Health Division. Roma, Italia. 25–77.
- FAO. 2025. Guidelines for sustainable tick control and acaricide resistance management in livestock. FAO Animal Production and Health Guidelines, No. 38. Rome.
- Fernández-Salas A, Rodríguez-Vivas RI, Alonso-Díaz MA. 2012. First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. Vet. Parasitol. 183(3-4): 338–342.
- Ferreira PT, Bidone NB, Groff F, da Silva PS, de Jesus MS, Pellegrini DDCP, Doyle RL, Reck J, Klafke G. 2024. Prevalence of and potential risk factors for multiple resistance to

- acaricides in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks: A survey in the state of Rio Grande Do Sul, Brazil. *Med. Vet. Entomol.* 39: 134–145.
- Figueiredo A, Agnolon IC, Lopes LG, Giglioti R, de Souza Chagas AC. 2018. Comparative study of hatching estimation methods of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* eggs. *Vet. Parasitol.* 264: 35–38.
- Gaudêncio FN, Rodrigues JAV, Baeta BA, Bittencourt VREP, Fonseca AH, Angelo ID, Pinheiro J. 2017. Effects of fluazuron on the biological parameters of engorged females of *Rhipicephalus microplus*. *Braz. J. Vet. Med.* 39:231–238
- George JE, Pound JM, Davey RB. 2008. Acaricides for controlling tick on cattle and the problem of acaricide resistance. *Ticks: Biology, Diseases and Control* (ed. by Bowman AS & Nuttall P) 408–423. Cambridge University Press, Cambridge
- Gonzales JC, da Silva NR, Francon N, Pereira JH. 1985. A vida livre do *Boophilus microplus* (Can. 1887). *Arquivos da Faculdade de Veterinária. UFRGS.* 3: 21–28.
- Graf JF. 1999. Fluazuron for systemic tick control on cattle. 17th International WAAVP Conference, August 15–19, Copenhagen. abstracts, pp. 19–24.
- Graf JF, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EL, Arantes GJ. 2004. Tick control: an industry point of view. *Parasitology.* 129: 427–444.
- Grillo Torrado JM, Pérez Arrieta A. 1977. Nuevo tipo de fósforo-resistencia en la garrapata común del ganado bovino (*Boophilus microplus*) en la República Argentina. *Rev. Med. Vet.* 58: 101–105.
- Guerrero FD, Lovis L, Martins JR. 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 21: 1–6.
- Guglielmone AA, Hadani A, Mangold AJ, De Haan L, Bermúdez A. 1981. Garrapatas (Ixodoidea-Ixodidae) del Ganado bovino en la provincia de Salta: especies y carga en 5 zonas ecológicas. *Rev. Med. Vet.* 62: 194–205
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Gaido AB, Aguirre DH. 1990. Parasitismo natural por *Boophilus microplus* de bovinos Hereford, Criolla, Nelore y cruza Hereford x Nelore. *Rev. Med. Vet.* 71: 108–117.

- Guglielmo AA. 1992. The level of infestation with the vector of cattle babesiosis in Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 87: 133–137.
- Guglielmo AA. 1995. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Vet. Parasitol.* 57(1-3): 109–119.
- Guglielmo AA, Mangold AJ, Castelli M, Suárez VH, Aguirre DH, Alcaraz E, Cafrune MM, Cetrá B, Fader OW, Luciani CA, Medus PD, Nava S. 2006. Toxicidad *in vitro* de la cipermetrina para *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Can.) y del diazinón para *Haematobia irritans* (L.) en la Argentina. *RIA.* 35, 31–41.
- Guglielmo AA, Castelli ME, Mangold AJ, Aguirre DH, Alcaraz E, Cafrune MM, Cetrá B, Luciani CA, Suárez VH. 2007. El uso de acaricidas para el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) en la Argentina. *Rev. Invest. Agropec.* 36: 155–167.
- Guglielmo AA, Nava S. 2013. Epidemiología y control de las garrapatas de los bovinos en la Argentina. *Enfermedades Parasitarias con Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes: Fundamentos Epidemiológicos para su Diagnóstico y Control* (ed. A. Nari y C. Fiel), pp. 441–456. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Guglielmo AA, Robbins RG, Apanaskevich DA, Petney TN, Estrada-Peña A, Horak IG. 2014. *The Hard Ticks of the world.* 10: 978-994. Dordrecht: Springer.
- Guglielmo AA, Nava S, Robbins RG. 2021. *Neotropical Hard Ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae).* (p 486). Berlin-Heidelberg, Germany: Springer International Publishing.
- Guglielmo AA, Nava S, Robbins RG. 2023. Geographic distribution of the hard ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae) of the world by countries and territories. *Zootaxa.* 5251(1): 1–274.
- Ivancovich JC. 1975. Bioecología de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888). *Rev. Inv. Agro.* 12: 1–54.
- Ivancovich JC, Braithwaite GB, Barnett SF. 1982. Comportamiento de los estados no-parasitarios de la garrapata del ganado—*Boophilus microplus* (Canestrini). I. El Colorado (provincia de Formosa). *Bol. Estac. Exp. Reg. Agropecu. Pres. Roque Sáenz Peña INTA.* 82: 3–40.
- Ivancovich JC, Braithwaite GB, Barnett SF. 1984. Comportamiento de los estados no-parasitarios de la garrapata del ganado —*Boophilus microplus* (Canestrini). II. El

Sombrerito (provincia de Corrientes). III. Bartolomé de las Casas (provincia de Formosa). IV. Siete diferentes localidades. Bol. Estac. Exp. Reg. Agropecu. Pres. Roque Sáenz Peña INTA. 88: 4–109.

Johnston LAY, Haydock KP, Leatch G. 1981. The effect of two systems of cattle tick (*Boophilus microplus*) control on tick populations, transmission of *Babesia* spp. and *Anaplasma* spp. and production of Brahman crossbred cattle in the dry tropics. Aust. Jour. Exp. Agric. 21: 256–267.

Jongejan F y Uilenberg G. 2004. The global importance of ticks. Parasitology. 129: 1–12.

Jonsson NN, Matschoss AL, Pepper P, Green PE, Albrecht MS, Hungerford J, Ansell J. 2000. Evaluation of Tick GARDPLUS, a novel vaccine against *Boophilus microplus*, in lactating Holstein–Friesian cows. Vet. Parasitol. 88(3-4): 275–285.

Junquera P, Hosking B, Gameiro M, Macdonald A. 2019. Benzoylphenyl ureas as veterinary antiparasitics. An overview and outlook with emphasis on efficacy, usage and resistance. Parasite. 26:26.

Klafke GM, Sabatini GA, de Albuquerque TA, Martins JR, Kemp DH, Miller RJ, Schumaker TT. 2006. Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. Vet. Parasitol. 142: 386–390.

Klafke GM, Castro-Janer E, Mendes MC, Namindome A, Schumaker TTS. 2012. Applicability of *in vitro* bioassays for the diagnosis of ivermectin resistance in *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Vet. Parasitol 184: 212–220.

Klafke GM, Webster A, Dall’Agnol B, Pradel E, Silva J, de La Canal LH, Becker M, Osório MF, Mansson M, Barreto R, Scheffer R, Souza UA, Corassini VB, dos Santos J, Reck J, Martins JR. 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, southern Brazil. Ticks Tick-borne Dis. 8: 73–80

Legg J. 1930. Some observations on the life history of the cattle tick (*Boophilus australis*). Proc. R. Soc. Queensl. 41: 121–132.

- LeOra Software, 2003. In: Robertson, J.L., Preisler, H.K., Russel, R.M. (Eds.), Polo Plus Probit and Logit Analysis, User's Guide. Berkeley, 36 pp.
- Lovis L, Mendes MC, Perret JL, Martins JR, Bouvier J, Betschart B, Sager H. 2013. Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. *Vet. Parasitol.* 191: 323–331.
- Mangold AJ, Muñoz Cobeñas ME, Castelli ME, Scherling NJ, Delfino MR, Guglielmone AA. 2000. Resistencia a la cipermetrina de una población de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) del norte de Santa Fe, Argentina. *Ver. Med. Vet.* 81: 259–261.
- Mangold AJ, Castelli ME, Nava S, Aguirre DH, Guglielmone AA. 2004. Poblaciones de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistentes a los piretroides en Córdoba y Salta, Argentina. *Revista FAVE (Sección Ciencias Veterinarias)*. 3: 55–59.
- Mans BJ, Featherston J, Kvas M, Pillay KA, de Klerk DG, Pienaar R, de Castro MH, Schwan TG, Lopez JE, Teel P, Pérez de León AA, Sonenshine DE, Egekwu NI, Bakkes DK, Heyne H, Kanduma EG, Nyangiwe N, Bouattour A, Latif AA. 2019. Argasid and ixodid systematics: implications for soft tick evolution and systematics, with a new argasid species list. *Ticks Tick Borne Dis.* 10: 219–240.
- Martins JR y Furlong J. 2001. Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *Vet. Rec.* 149 (2): 64–69.
- Mastropaolo M, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2017. Non-parasitic life cycle of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Panicum maximum* pastures in northern Argentina. *Res. Vet. Science.* 115: 138–145.
- McKenna PB. 1998. What do anthelmintic efficacy figures really signify. *New Zealand Vet. Jour.* 46: 82–83.
- Miller RJ, Davey RB, George JE. 2002. Modification of the food and agriculture organization larval packet test to measure amitraz-susceptibility against Ixodidae. *Jour. Med. Entomol.* 39(4): 645–651.
- Morel N, Signorini ML, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2017. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in *Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. *Prev. Vet. Med.* 144: 179–183.

- Morel N, Torrents J, Sarli M, Rossner MV, Lifschitz AL, Nava S. 2025. Spatiotemporal heterogeneity of *Rhipicephalus microplus* resistance to chemical acaricides at intra-farm level: A case study using ivermectin. *Med. Vet. Entomol.* 39 (2): 351–360.
- Muñoz-Leal S, Venzal JM, Kneubehl AR, Lopez JE, Martins TF, Labruna MB. 2023. Description of a new *Pavlovskyella* species (Acari: Argasidae) from Chile. *J Med Entomol.* 60(5):968–977.
- Nari Henrioud A. 2011. Towards sustainable parasite control practices in livestock production with emphasis in Latin America. *Vet. Parasitol.* 180: 2–11.
- Nava S, Mastropaolo M, Guglielmone AA, Mangold AJ. 2013. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on the population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. *Research in veterinary science.* 95(3): 1046–1054.
- Nava S, Mangold AJ, Canevari JT, Morel N, Guglielmone AA. 2014. Strategic treatments with systemic biocides to control *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northwestern Argentina. *InVet.* 16: 23–30.
- Nava S, Mangold AJ, Canevari JT, Guglielmone AA. 2015. Strategic applications of long acting acaricides against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in northwestern Argentina, with an analysis of tick distribution among cattle. *Vet. Parasitol.* 208: 225–230.
- Nava S, Venzal JM, Acuña DG, Martins TF, Guglielmone AA. 2017. Ticks of the Southern Cone of America: diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Academic Press.
- Nava S, Morel N, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2018. Un caso de resistencia de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) al fipronil detectado en pruebas de campo en el este de Santiago del Estero, Argentina. *Revista FAVE (Sección Ciencias Veterinarias).* 17: 1–5.
- Nava S, Toffaletti JR, Morel N, Guglielmone AA, Mangold AJ. 2019. Efficacy of winter–spring strategic control against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestations on cattle in an area with ecological conditions highly favourable for the tick in northeast Argentina. *Med. Vet. Entomol.* 33(2): 312–316.

- Nava S, Rossner MV, Torrents J, Morel N, Martínez NC, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2020. Management strategies to minimize the use of synthetic chemical acaricides in the control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) in an area highly favourable for its development in Argentina. *Med. Vet. Entomol.* 34(3): 264–278.
- Nava S, Gamieta IJ, Morel N, Guglielmone AA, Estrada-Peña A. 2022. Assessment of habitat suitability for the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in temperate areas. *Res. Vet. Sci.* 150: 10–21.
- Nava S, Morel N, Ortega Masague MF, Rossner MV, Torrents J, Anziani OS. 2024. Epidemiología y control de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Argentina. In: 1a ed - Córdoba: EDUCC -Editorial de la Universidad Católica de Córdoba. Libro digital, PDF - (Producción Bovina. Sanidad Animal). ISBN 978-987-626-561-4.
- Norris KR. 1957. Strategic dipping for control of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini), in South Queensland. *Aust. Jour. Agric. Res.* 8: 768–787.
- Norton GA, Sutherst RW, Maywald GF. 1983. A framework for integrating control methods against the cattle tick, *Boophilus microplus* in Australia. *Jour. App. Ecol.* 20: 489–505.
- Nuñez JL, Muñoz Cobeñas M, Moltedo H. 1982. *Boophilus microplus: la garrapata común del ganado vacuno*. Hemisferio Sur, Buenos Aires, p184.
- Nuñez JL, Pugliese ME, Hayes RP. 1972. *Boophilus microplus* Can. Estudios sobre los estadios parasitarios del ciclo biológico. *Rev Med Vet Buenos Aires.* 53(1): 19–35.
- Ortega Masagué MF, Giovambattista G, Cutullé C, Dos Santos D, Nava S, Bonamy M, Holgado F. Phenotypic Evaluation of Genetic Resistance to the Tick *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* in Argentine Creole Cattle. *Ticks Tick-borne Dis.* 14 (6): 102–223.
- Peñalver E, Arillo A, Delclós X, Peris D, Grimaldi DA, Anderson SR, Nascimbene PC, Pérez-de la Fuente R. 2017. Ticks parasitized feathered dinosaurs as revealed by Cretaceous amber assemblages. *Nat Commun.* 8: 10–24.
- Pérez-Otáñez X, Vanwambeke SO, Orozco-Alvarez G, Arciniegas-Ortega S, Ron-Garrido L, Rodríguez-Hidalgo R. 2023. Widespread acaricide resistance and multi-resistance in

- Rhipicephalus microplus* in Ecuador and associated environmental and management risk factors. *Ticks Tick-borne Dis.* 15: 102–274.
- Reck J, Klafke GM, Webster A, Dall'Agnol B, Scheffer R, Souza UA, Corassini VB, Vargas R, Santos JS, Martins JR. 2014a. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet. Parasitol.* 201: 128–136
- Reck J, Marks FS, Rodrigues RO, Souza UA, Webster A, Leite RC, Gonzalez JC, Klafke GM, Martins JR. 2014b. Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle. *Prev Vet Med.* 113: 59–62.
- Robbins RG, Nava S, Ronai I, Chong KL, Guglielmone AA. 2025. Type specimens of the world's hard tick species (Acari: Ixodida: Ixodidae): collection data and depositories for all valid names and the current status of invalid names. *Zootaxa.* 5606(1): 1–287.
- Rossner MV, Torrents J, Morel N, Prieto PN, Lottero F, Mangold AJ, Nava S. 2022. Efecto del control estratégico de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sobre la ganancia de peso en vaquillas Braford en el noreste de Argentina. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias.* 48(1): 41–47.
- Roush RT y McKenzie JA. 1987. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annu Rev Entomol.* 32: 361–380.
- Roush RT y Tabashnik BE. 1990. Pesticide resistance in arthropods. Chapman and Hall, New York, 311 pp. *Rev. Invest. Agropec.* 48: 41–47.
- Sabatini GA, Kemp DH, Hughes S, Nari A, Hansen J. 2001. Tests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.* 95(1): 53-62.
- Saporiti T, Losiewicz S, Trelles A, Miraballes C, Riet-Correa F, Cuore U. 2021. Susceptibility profile and associated factors analysis of *Rhipicephalus microplus* for 5 chemical groups on 47 populations from the north of Uruguay. *Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay (SMVU). Veterinaria (Montevideo).* 57(215): 1–11.
- Sapre SN. 1940. The life history of *Boophilus australis* (Fuller). *Indian J Vet Sci.* 10: 346–353.

- Singh NK, Singh H, Jyoti, Prerna M, Rath SS. 2015. First report of ivermectin resistance in field populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in Punjab districts of India. *Vet Parasitol.* 214(1-2):192–4.
- Sibley CH y Price RN. 2012. Monitoring antimalarial drug resistance: Applying lessons learned from the past in a fast-moving present. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 20: 126–33.
- Shaw RD. 1966. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Canestrini) and assessment of its resistance spectrum. *Bull. Entomol. Res.* 56 (4): 398–405.
- Short NJ, Floyd RB, Norval RAI, Sutherst RW. 1989. Development rates, fecundity and survival of developmental stages of the ticks *Rhipicephalus appendiculatus*, *Boophilus decoloratus* and *Boophilus microplus* under field conditions in Zimbabwe. *Exp. Appl. Acarol.* 6: 123–141.
- Sonenshine DE y Roe RM (eds.). 2014. *Biology of ticks volume 2*. Oxford University Press.
- Späth EJ, Guglielmone AA, Signorini AR, Mangold AJ. 1994. Estimación de las pérdidas económicas directas producidas por la garrapata *Boophilus microplus* y las enfermedades asociadas en la Argentina. 1ra parte. *Therios.* 23: 341–360.
- Sutherst RW, Sutherland ID, Bourne AS, Maywald GF, Stegeman DA. 1988. Ecology of the cattle tick (*Boophilus microplus*) in Subtropical Australia. Introduction and free-living stages. *Aust. J. Agric. Res.* 39: 285–297.
- Sutherst RW, Bourne AS, Sutherland ID. 1999. Production and survival of eggs of the cattle tick *Boophilus microplus* in the wet and dry tropics of north Queensland. *Aust. J. Entomol.* 38: 340–347.
- Sutherst RW y Bourne AS. 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: 193–200.
- Sutherst RW y Utech KBW. 1981. Controlling livestock parasites with host resistance. *CRC Handbook of Pest Management* (ed. by D. Pimentel), pp. 385–407. CRC Press, Boca Raton, FL.

- Tabashnik BE, Mota-Sanchez D, Whalon ME, Hollingworth RM, Carrière Y. 2014. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. *J. Econ. Entomol.* 107: 496–507
- Torrents J, Sarli M, Rossner MV, Toffaletti JR, Morel N, Martinez NC, Webster A, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2020a. Resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin in Argentina. *Res. Vet. Sci.* 132, 332–337.
- Torrents J, Morel N, Rossner MV, Martinez NC, Toffaletti JR, Nava S. 2020b. *In vitro* diagnosis of resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to fipronil in Argentina. *Exp. Appl. Acarol.*82: 397–403.
- Torrents J, Martinez NC, Nava S. 2021. Resistencia a los antiparasitarios utilizados para el control de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: estado de situación en la provincia de Santa Fe. En: Información Técnica de Producción Animal 2021. Publicación Miscelánea Año 9 - N.º 3–ISSN en línea 2314-3126. Pp. 57–61. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/11017>
- Torrents J, Sarli M, Sarmiento NF, Rossner MV, Morel N, Guglielmone AA, Nava S. 2022. Resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to fluazuron in Argentina. *Exp. Appl. Acarol.* 86: 599–606
- Torrents J, Morel N, Rossner MV, Martinez NC, Nava, S. 2023. A comparison of two *in vitro* bioassays to detect resistance of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* to fipronil. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports* 37: 100816.
- Torrents J, Sarli M, Rossner MV, Morel N, Nava S. 2025. A mapping of *Rhipicephalus microplus* resistance to acaricides in the littoral region of Argentina. *Vet. Parasitol: Regional Studies and Reports.* 101344.
- Wharton RH y Utech KBW. 1970. The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* to the assessment of tick numbers on cattle. *J. Aust. Ent. Soc.* 9.
- Wharton RH, Roulston WJ, Utech KBW, Kerr JD. 1970. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini). *Awr. J. agric. Res.* 21: 985–1006.

Wharton RH. 1972. Ticks with special emphasis on *Boophilus microplus*. Control of Arthropods of Medical and Veterinary Importance (ed. by R. Pal & R.H. Wharton), pp. 35–52. Plenum Press, New York, NY.

Wittmann EJ y Baylis M. 2000. Climate change: effects on *Culicoides*-transmitted viruses and implications for the UK. Vet. J. 160: 107–117.

ANEXOS

Determinación de gradiente de concentraciones necesario para la obtención de la dosis letal 50%.

Ivermectina: Para la obtención del gradiente de concentraciones empleado en la Sección 2.2 (materiales y métodos) de pruebas de inmersión de larvas se siguió el procedimiento a continuación:

I) Búsqueda bibliográfica:

Se realizó una revisión de gradientes estandarizados por otros investigadores (Tabla 28).

Tabla 28:

Gradientes de concentraciones estandarizados para prueba de inmersión de larvas (PIL) para ivermectina.

Klafke et al. (2006)	Klafke et al. (2012), Castro- Janer et al. (2011)	Singh et al. (2015)*	Singh et al. (2015)**	Sabatini et al. (2001)
0,625	2,8	0,39	2,5	0,31
1,25	4,0	0,78	5,0	0,62
2,5	5,7	1,56	10,0	1,25
5,0	8,2	3,12	20,0	2,5
10,0	11,7	6,25	40,0	5,0
25,0	16,8	12,5	80,0	10,0
50,0	24,0	25,0	160,0	
100,0	34,3		320,0	
	49,0		640,0	
	70,0		1280,0	
	100,0			

Concentraciones expresadas en ppm

* Gradiente aplicado para la obtención de datos de mortalidad de una cepa susceptible de referencia.

** Gradiente aplicado para aislamientos de campo con perfil de susceptibilidad desconocido.

II) Aplicación de gradientes preliminares:

Se partió de una solución madre al 10% de ivermectina técnica (95% de pureza, 22,23-dihydroavermectin B1, batch number MKCK0618, Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA) en acetona. La misma fue diluida al 1% en diluyente (1% acetona, 0,02% de Triton-X100 y agua destilada c.s.p) para crear la solución de trabajo 100.000 ppm. A partir de la solución madre se aplicó un gradiente de dilución 1:10 para obtener las siguientes concentraciones en ppm: 100.000, 10.000, 1000, 100, 10, 1, 0,1 además de un grupo control con diluyente sin ivermectina. El procedimiento de siembra y conteo de larvas se realizó tal como se indica en la Sección 2.2 (Materiales y Métodos).

III) Aplicación de ensayos finales

Como las mortalidades fueron del 100 % a partir de 100 ppm, se aplicó un nuevo gradiente con una concentración máxima de 100 ppm con un factor de dilución 1:2. Las nuevas concentraciones en ppm fueron: 0,195; 0,391; 0,781; 1,563; 3,125; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 y 100,0. Para ello se comenzó con una solución madre 1 % (10.000 ppm) de ivermectina técnica en acetona. Luego esta solución 1 % se diluyó al 0,1 % (1000 ppm) en diluyente para crear la solución de trabajo y a partir de esta última se realizaron las soluciones de inmersión. Las dosis por debajo de 6,25 ppm presentaban mortalidades similares a las del grupo control sin droga, por lo que fueron descartadas. Sin embargo, la cantidad de concentraciones activas (6,25 a 100) no eran suficientes para obtener ajuste estadístico adecuado en el programa Polo-Plus. Por ello se aplicó un tercer gradiente aumentando la cantidad de concentraciones intermedias quedando en: 6,25; 12,5; 25; 30; 35; 40; 45; 50 y 100 ppm.

IV) Aplicación de gradiente final

Con base en los resultados obtenidos y considerando los gradientes estandarizados por otros autores (Tabla 28), se seleccionaron concentraciones que permitieron obtener un mejor ajuste estadístico. Las concentraciones finales fueron: 4; 5,8; 8,2; 11; 16,8; 32,4; 43,9; 51,4 y 100 ppm.

Fipronil: Para la obtención del gradiente de concentraciones empleado en la Sección 2.2 (Materiales y Métodos) de pruebas de inmersión de larvas para fipronil se aplicó como prueba preliminar el gradiente de concentraciones de prueba de inmersión de larvas (PIL) y prueba de paquete de larvas (PPL) descritos por Castro-Janer et al. (2009) (Tabla 29). A partir de estos resultados se realizaron modificaciones, se muestra en la Tabla 29.

Tabla 29:

Gradientes de concentraciones en estandarizados para prueba de inmersión de larvas (PIL) y prueba de paquete de larvas (PPL) para fipronil.

Castro-Janer et al. (2009) PIL	Castro-Janer et al. (2009) PPL	Torrents et al. (2023) PIL	Torrents et al. (2023) PPL
0,2	0,59	0,39	2,5
0,4	1,17	0,78	5
0,5	2,34	1,56	10
0,6	4,69	3,12	20
0,7	9,37	6,25	40
0,8	18,75	12,5	80
1	37,5	25	160
1,2	75		320
1,5	150		640
1,7	300		1280
2			
2,5			
3			

Concentraciones expresadas en ppm.

Anexo II

Publicaciones derivadas de la presente tesis doctoral

1. Torrents J, Martínez NC, Nava S. 2021. Resistencia a los antiparasitarios utilizados para el control de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: estado de situación en la provincia de Santa Fe. En: Información Técnica de Producción Animal 2021. Publicación Miscelánea Año 9 - N.º 3–ISSN en línea 2314-3126. Pp. 57–61. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/11017>
2. Torrents J, Morel N, Rossner MV, Martinez NC, Toffaletti JR, Nava S. 2020b. *In vitro* diagnosis of resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to fipronil in Argentina. Exp. Appl. Acarol.82: 397–403.
3. Torrents J, Sarli M, Rossner MV, Toffaletti JR, Morel N, Martinez NC, Webster A, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2020a. Resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin in Argentina. Res. Vet. Sci. 132, 332–337.
4. Torrents J, Sarli M, Sarmiento NF, Rossner MV, Morel N, Guglielmone AA, Nava S. 2022. Resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to fluazuron in Argentina. Exp. Appl. Acarol. 86: 599–606
5. Torrents J, Morel N, Rossner MV, Martinez NC, Nava, S. 2023. A comparison of two *in vitro* bioassays to detect resistance of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* to fipronil. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports 37: 100816.
6. Torrents J, Sarli M, Rossner MV, Morel N, Nava S. 2025. A mapping of *Rhipicephalus microplus* resistance to acaricides in the littoral region of Argentina. Vet. Parasitol: *Regional Studies and Reports*. 101344.

Publicaciones complementarias realizadas durante el desarrollo de la tesis

7. Morel N, Torrents J, Sarli M, Rossner MV, Lifschitz AL, Nava S. 2025. Spatiotemporal heterogeneity of *Rhipicephalus microplus* resistance to chemical acaricides at intra-farm level: A case study using ivermectin. Med. Vet. Entomol. 39(2): 351–360.

8. Rossner MV, Torrents J, Morel N, Prieto PN, Lottero F, Mangold AJ, Nava S. 2022b. Efecto del control estratégico de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sobre la ganancia de peso en vaquillas Braford en el noreste de Argentina. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*. 48(1): 41–47.
9. Nava S, Morel N, Ortega Masague MF, Rossner MV, Torrents J, Anziani OS. 2024. Epidemiología y control de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Argentina. In: 1a ed - Córdoba: EDUCC -Editorial de la Universidad Católica de Córdoba. Libro digital, PDF - (Producción Bovina. Sanidad Animal). ISBN 978-987-626-561-4.
10. Nava S, Rossner MV, Torrents J, Morel N, Martínez NC, Mangold AJ, Guglielmo AA. 2020. Management strategies to minimize the use of synthetic chemical acaricides in the control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) in an area highly favourable for its development in Argentina. *Med. Vet. Entomol*. 34(3): 264–278.