



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA



TESIS

**IDENTIFICACIÓN DE GARRAPATAS (ORDEN: IXODIDA) EN
GANADO VACUNO DEL DEPARTAMENTO DE SAN MARTÍN,
PERÚ. 2024**

**PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO
BIOTECNÓLOGO**

Presentado por:

Bach: Héctor Fernando Aliaga Tambo

Asesor:

MCs. Nestor Estuardo Carbajal Caballero

Cajamarca – Perú

2025

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador: **Héctor Fernando Aliaga Tambo**
DNI: **70690715**
Escuela Profesional/Unidad UNC: **ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**
2. Asesor:
M.Cs. NESTOR ESTUARDO CARBAJAL CABALLERO.
Facultad/Unidad UNC: **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**
3. Grado académico o título profesional al que accede:
 Bachiller **X** Título profesional Segunda especialidad
 Maestro Doctor
4. Tipo de Investigación:
X Tesis Trabajo de investigación Trabajo de suficiencia profesional
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:
IDENTIFICACIÓN DE GARRAPATAS (ORDEN: IXODIDA) EN GANADO VACUNO DEL DEPARTAMENTO DE SAN MARTÍN, PERÚ. 2024
6. Fecha de evaluación del antiplagio: **30/9/2025**
7. Software antiplagio: **X TURNITIN** URKUND (OURIGINAL) (*)
8. Porcentaje de Informe de Similitud: **5 %**
9. Código Documento: **oid:3117:506104803**
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:
X APROBADO PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Cajamarca, 16 de octubre del 2025



En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

Copyright©
Héctor Fernando Aliaga Tambo
Todos los derechos reservados

FICHA CATALOGRÁFICA

Aliaga, H. 2025. **Identificación de garrapatas (Orden: Ixodida) en ganado vacuno del departamento de San Martín, Perú. 2024/** Héctor Fernando Aliaga Tambo

Escuela Académico profesional de Biología y Biotecnología

Asesor: Nestor Estuardo Carbajal Caballero

Disertación académica para obtener el Título profesional de Biólogo Biotecnólogo – UNC 2024

Identificación de garrapatas (Orden: Ixodida) en ganado vacuno del departamento de

San Martín, Perú. 2024

AUTOR: Héctor Fernando Aliaga Tambo

ASESOR: Nestor Estuardo Carbajal Caballero

Tesis evaluada y aprobada para obtener el Título profesional de Biólogo – Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

JURADO EVALUADOR



PRESIDENTE

PhD Ronald Fernando Zelada Mazmela



SECRETARIO (A)

Dra. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa


VOCAL

MCs. William Edgardo Soriano Castillo

Cajamarca, 2025 - Perú



Av. Atahualpa 1050

Universidad Nacional de Cajamarca

“Norte de la Universidad Peruana”

Fundada por Ley 14015 del 13 de Febrero de 1962

Facultad de Ciencias de la Salud

Teléfono/ Fax 36-5845



MODALIDAD “A”

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

En Cajamarca, siendo las 10:05 am del 26 de Septiembre del 2025, los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente II.304 de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada:

IDENTIFICACIÓN DE GARRAPATAS CORDENI: IXODIOA) EN SANANDA
VACUNO DEL DEPARTAMENTO DE SAN MARTÍN, PERÚ. 2024

dél (a) Bachiller en Ciencias Biológicas:

Héctor Fernando Aliaga Tambo

Siendo las 10:50 am del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: MUY BUENO, con el calificativo de: 78, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra APTO para la obtención del Título Profesional de: **BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**.

Miembros Jurado Evaluador Nombres y Apellidos		Firma
Presidente:	<u>Ronald Fernando Belada Maimela</u>	<u>R. Belada</u>
Secretario(a):	<u>Claudia Carolina Rodríguez Ulloa</u>	<u>C. Rodríguez</u>
Vocal:	<u>William Edgardo Soriano Castillo</u>	<u>W. Soriano</u>
Accesitaria:		
Asesor (a):	<u>Nestor Estuardo Corbojal Cobellero</u>	<u>N. Corbojal</u>
Asesor (a):		

Términos de Calificación:

EXCELENTE (19-20)

MUY BUENO (17-18)

BUENO (14-16)

REGULAR (12-13)

REGULAR BAJO (11)

DESAPROBADO (10 a menos)

A mis abuelos, mis padres, Belén y Athos por ser el pilar que me sostiene y guía todos los días.

Agradecimientos

A mis padres por el apoyo a través toda mi travesía universitaria.

A mi asesor por todas las oportunidades de aprendizaje y paciencia en el desarrollo del proyecto y la elaboración de este informe.

Al Laboratorio de Biotecnología en Sanidad Animal de la EEA de Baños del Inca-Cajamarca del INIA, en especial al Dr. Marco Antonio Cabrera, por la confianza y todo el apoyo recibido en la realización de este proyecto.

¡Gracias Totales!

Tabla de contenidos

CAPÍTULO I	15
INTRODUCCIÓN	15
CAPÍTULO II	18
MARCO TEÓRICO	18
2.1. Antecedentes de la investigación	18
2.2. Bases Teóricas	22
2.2.1. Características de los Ixódidos	22
2.2.2. Clasificación	27
2.2.3. Métodos de identificación de garrapatas	32
2.2.4. Importancia de las garrapatas en la ganadería	37
2.3. Definición de términos básicos	38
CAPÍTULO III.....	40
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS.....	40
3.1. Nivel de investigación	40
3.2. Tipo y Diseño de investigación	40
3.2.1. Tipo de investigación.....	40
3.2.2. Diseño de la investigación	40
3.3. Material biológico.....	40
3.4. Colección y transporte de las muestras.....	41
3.5. Identificación morfológica de las garrapatas	41
3.6. Extracción de ADN genómico de garrapatas.....	42
3.7. Amplificación del gen <i>COI</i>	43
3.8. Secuenciación y análisis de secuencias	44

CAPÍTULO IV	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
4.1. Resultados	45
4.1.1 Identificación morfológica	46
4.1.2. Identificación molecular	48
4.1.3. Análisis filogenético	51
4.2. Discusión	53
CAPÍTULO V	58
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	58
5.1. Conclusiones	58
5.2. Recomendaciones	59
LISTA DE REFERENCIAS	60
APÉNDICES	75
ANEXOS	80

Lista de abreviaciones

INIA: Instituto Nacional de Innovación Agraria

PEAM: Proyecto Especial Alto Mayo

INEI: Instituto Nacional de Estadística e Informática

PCR: Polimerase Chain Reaction

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

COI: Citocromo C Oxidasa subunidad I.

ITS-2: Internal Transcribed Spacer 2.

USA: United States of América.

MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis.

NCBI: National Center for Biotechnology Information.

BLAST: Basic Local Aligment Search Tool.

**Identificación de garrapatas (Orden: Ixodida) en ganado vacuno del departamento
de San Martín, Perú. 2024**

Resumen

La ganadería vacuna es una de las principales actividades económicas en el Perú, particularmente en el departamento de San Martín, donde las condiciones tropicales hacen posible la proliferación de las garrapatas, ectoparásitos que afectan negativamente la productividad animal. Teniendo en cuenta que la información disponible a cerca de su identidad y diversidad genética es poco conocida, la implementación de medidas de control se dificulta. El objetivo de este estudio fue identificar morfológica y molecularmente las garrapatas que afectan al ganado vacuno del departamento de San Martín y entender sus relaciones filogenéticas. Un total de 110 especímenes fueron recolectados de diferentes provincias del departamento entre los años 2022 al 2024, las cuales fueron identificadas morfológicamente siguiendo claves taxonómicas y molecularmente a través de la amplificación y secuenciación del gen *COI*. Los resultados de este estudio demuestran que *Rhipicephalus microplus* es la especie más frecuente en el ganado vacuno en el departamento de San Martín. Adicionalmente, los datos moleculares señalaron que las variantes genéticas de *R. microplus* en el departamento de San Martín pertenecen al Clado A, que agrupa a genotipos americanos. Estudios multilocus adicionales deberían realizarse posteriormente para una mejor comprensión de la diversidad genética y la resistencia a acaricidas de esta especie, que representa serios riesgos sanitarios y económicos en la región.

Palabras clave: *Rhipicephalus microplus*, garrapatas, ganado bovino, caracteres taxonómicos, gen *COI*, salud animal.

Abstract

Cattle farming is one of the main economic activities in Peru, particularly in the department of San Martín, where tropical conditions favor the proliferation of ticks, ectoparasites that negatively impact animal productivity. Considering that the available information on their identity and genetic diversity is limited, the implementation of effective control measures is hindered. The objective of this study was to identify, both morphologically and molecularly, the tick species affecting cattle in the department of San Martín and to understand their phylogenetic relationships. A total of 110 specimens were collected from different provinces of the department between 2022 and 2024, and were identified morphologically using taxonomic keys and molecularly through amplification and sequencing of the COI gene. The results of this study demonstrate that *Rhipicephalus microplus* is the most frequent species infesting cattle in San Martín. Additionally, molecular data indicated that the genetic variants of *R. microplus* in this region belong to Clade A, which encompasses American genotypes. Further multilocus studies should be conducted to gain a deeper understanding of the genetic diversity and acaricide resistance of this species, which poses serious health and economic risks in the region.

Keywords: *Rhipicephalus microplus*, ticks, cattle, taxonomic characters, *COI* gene, animal health.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La ganadería representa una actividad económica fundamental en el Perú. Según datos del último censo del INEI del 2012 existen unas 5 156 000 cabezas de ganado a nivel nacional -de las cuales- casi el 80% se encuentran en zonas de la sierra y selva (INEI, 2012) incluyendo el departamento de San Martín. En este sistema productivo, el ganado vacuno se utiliza principalmente como fuente de carne y leche (y sus derivados), por lo que la ganadería contribuye a la seguridad alimentaria y al sustento económico de numerosas familias. Sin embargo, la productividad de esta actividad se ve amenazada por diversos factores sanitarios, entre los que destaca la presencia de garrapatas, debido a que la infestación de estos ectoparásitos disminuye el rendimiento del animal, aumenta el costo de producción y puede transmitir agentes infecciosos. Todo esto representa pérdidas económicas considerables para los productores del departamento.

Las garrapatas son artrópodos hematófagos obligados del orden Ixodida, ampliamente distribuidos en zonas tropicales y subtropicales que parasitan a diversos grupos de animales vertebrados, incluido el ganado bovino. Se estima que el 80% del ganado de todo el mundo es afectado por las garrapatas (Alfredo Cortés-Vecino, 2011). Además del daño directo que genera su alimentación, las garrapatas son vectores de bacterias, virus, protozoos y helmintos, los cuales pueden causar enfermedades severas, como la babesiosis y la anaplasmosis bovina (Singh et al., 2022). También pueden transmitir enfermedades a los seres humanos, siendo consideradas como responsables de la mayor parte de enfermedades transmitidas por vectores en ciertas regiones y con número de casos en aumento (Eilbert y Matella, 2024).

Las condiciones climáticas cálidas y húmedas en zonas tropicales, como es el caso del departamento de San Martín, favorecen al desarrollo y proliferación las garrapatas durante todo el año, lo cual agrava la problemática sanitaria si no se aplican medidas de control adecuadas. Además, las modificaciones climáticas asociadas al calentamiento global, facilitan la expansión de la distribución geográfica, el aumento de las poblaciones de garrapatas y los riesgos de transmisión de enfermedades infecciosas (Tang et al., 2024).

La información actualizada sobre la diversidad y distribución de especies de garrapatas que afectan al ganado vacuno del departamento de San Martín es limitada. De acuerdo a la búsqueda de información realizada, la última publicación sobre el tema, que incluye el departamento de San Martín, es estudio que data del 2023, cuyos datos corresponden a los años 2017-2019 (Zambrano Morales, 2023). Además, dicho estudio se basó exclusivamente en caracteres morfológicos para identificar a los especímenes. Esta falta de conocimiento dificulta la implementación de estrategias efectivas de control y prevención, por lo que es necesario realizar estudios específicos de identificación y caracterización de estos ectoparásitos, complementando la información morfológica con datos moleculares.

Ante esta necesidad, y considerando que San Martín es una región ganadera, la presente investigación fue planteada con el objetivo principal de identificar las especies de garrapatas presentes en el ganado vacuno del departamento de San Martín, 2024. Se considera que los datos obtenidos pueden ser útiles para estudios de evaluación de riesgos epidemiológicos asociados a la transmisión de patógenos, el desarrollo de planes sanitarios adecuados y para contribuir a la mejora de la sanidad animal en la región. Esta

tesis forma parte del proyecto “Generación de una vacuna para el control de garrapatas en bovinos del trópico” presentado por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) y subvencionado en conjunto por el Programa Especial Alto Mayo del Gobierno Regional de San Martín y el Programa Nacional de Bovinos del INIA.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Berihum Afera y Jibril (2012), en su estudio “Prevalence and identification of ticks in cattle in and around Mekelle”, que tuvo como objetivo conocer los géneros de garrapatas que afectan al ganado en los alrededores de Mekelle-Etiopía. Para ello examinaron 370 animales y recolectaron 1480 garrapatas para identificar su género; observando que, los géneros *Rhipicephalus* (46,5%), *Boophilus* (12,2%), *Hyalomma* (5,4%) y *Amblyomma* (4,1%) fueron los más prevalentes, además que existe una relación estadísticamente significativa entre el sexo, la raza del animal, el sistema de producción y la composición corporal con la prevalencia de garrapatas ($p<0,005$), pero no con la edad ($p<0,005$); concluyendo que, existe una prevalencia mayor en hembras que en machos, en razas locales que exóticas y sistemas de producción extensivos que intensivos.

Bustillos Huilca (2014), en su Estudio “Ecología parasitaria de la garrapata (Acari:Ixodidae) en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador” Seleccionó 2 fincas de distintos tipos de producción y las observó por 6 meses con el fin de determinar la ecología de las garrapatas en función de la época y el manejo de garrapaticidas. Observó que todas las muestras que recolectaron fueron de la especie *R. microplus* y que, además, la fluctuación poblacional está influenciada por la época, siendo mayor en la época de sequía. También observó que existe una mayor carga parasitaria en las vacas de producción de leche, seguido de los bovinos de producción de carne y finalmente los terneros. Sus recomendaciones incluyeron adoptar y

mantener un plan sanitario periódico de control de garrapatas, realizando rotaciones en las áreas de pastizales y el uso de garrapaticidas.

Guimarães Csordas et al. (2016), en su estudio “New insights from molecular characterization of the tick *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* in Brazil”, cuyo objetivo principal fue realizar la caracterización molecular de las garrapatas de las 5 regiones de Brasil e inferir sus relaciones filogenéticas; para ello utilizaron ADN mitocondrial para caracterizar 10 halotipos del gen *COX-1* dentro de las 5 regiones de Brasil, y observaron que el halotipo “H2” (n=11) era el más disperso en las regiones estudiadas, el halotipo “H3” (n=2) fue el que mayor diferenciación genética presenta con respecto al resto de halotipos y concluyeron que las diferentes regiones de Brasil, presentan poblaciones de *Rhipicephalus microplus* con distintos halotipos entre sí.

Barraza Tizoc (2019), en su estudio “Identificación Morfológica, Genética y Georreferenciación de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en Sinaloa” cuyo objetivo fue identificar morfológica y genéticamente las garrapatas y su georreferenciación en los municipios de Sinaloa, para ello recolectó 2260 garrapatas de los municipios de Culiacán, Guasave y Elota, México durante el 2014 al 2018. La caracterización morfológica fue realizada mediante claves taxonómicas, y la caracterización genética se basó en la secuencia del gen 16s ARNr mitocondrial. Observó que todas las muestras analizadas fueron identificadas como *Rhipicephalus microplus*; concluyendo que su estudio contribuyó a la identificación morfológica, genética y georreferenciación de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en las zonas de la sierra, valle y costa del Estado de Sinaloa-México.

Acevedo-Gutiérrez et al. (2019), en su estudio “Garrapatas duras (Acari:Ixodidae) de Colombia, una revisión a su conocimiento en el País” Realizaron una búsqueda sistemática de información sobre estudios previos realizados en Colombia respecto a la identificación de las especies de garrapatas reportadas en este país. De este modo; observaron que existen reportes de 46 especies de garrapatas en Colombia, donde el género *Amblyomma* es el que más variedad de especies reporta (n=29), seguido de *Ixodes* (n=11). Estas estuvieron distribuidas en 28 de los 32 departamentos del país incluyendo una amplia variedad de hospederos y que, además, podrían servir de vectores en la infección por distintos microorganismos que afectan la salud pública y veterinaria.

En Perú, 2 estudios que buscaron catalogar tanto las especies de garrapatas como su distribución nacional. En el primero Dale (1976), en su estudio “Índice-Catálogo bibliográfico de garrapatas en el Perú” elabora una base de datos con las especies de garrapatas más importantes en el país, así como su distribución geográfica y los hospederos más prevalentes, demostrando que *Rhipicephalus microplus* era la especie más distribuida en el país. El siguiente estudio fue de Need et al., (1991) titulado “Annotated list of ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) Reported in Peru: Distribution, Host and Bibliography” en el cual actualiza la base de datos con información más precisa.

Luego de este estudio, la investigación se descontinuó hasta la última década, en la que trabajos de investigación de ámbito más local, identifican tanto a especies de

garrapatas como a sus hospederos en departamentos del Perú, principalmente en la zona Norte y Centro, incluido San Martín.

Rojas Monzón (2022), en su estudio titulado “Identificación de especies de garrapatas en bovinos de los departamentos de la región central del Perú” tuvo como objetivo describir las especies de garrapatas que afectan el ganado vacuno de la región central del Perú. Identificó cinco especies, de las cuales *Rhipicephalus microplus* fue la más prevalente (82,2%), seguida de *Otobius megnini* (14,4%) y concluyó que tanto la especie más prevalente como su hospedero presentan una relación significativa, y también que existe una relación significativa entre la región natural clasificada según su rango de altura y las especies de garrapatas.

Otro estudio, Zambrano Morales (2023), titulado “Identificación morfológica de garrapatas colectadas en bovinos de la región norte del Perú”, cuyo objetivo fue identificar morfológicamente las garra patas que infectan el ganado bovino del norte del país. Para ello recolectó 1276 especímenes de los cuales identificó ocho especies que infectan al ganado bovino, *Rhipicephalus microplus*, fue la especie más prevalente (92,6%) mientras que, *Otobius megnini* fue la segunda (6,0%). La autora también señala que existe una relación entre la zona de estudio y la especie más prevalente como parte de sus conclusiones.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Características de los Ixódidos

A) Taxonomía

Las garrapatas pertenecen a la clase Arachnida, subclase Achari, y se les considera dentro del superorden de los Parasitiformes debido a sus características filogenéticas y morfológicas, específicamente en el orden Ixoda. Actualmente se las clasifica en tres familias: Ixodidae, Argasidae y Nuttalliellidae (Rojas Monzón, 2022).

La familia Ixodidae, también denominadas “garrapatas duras”, contiene alrededor de 720 especies, entre ellas: *Rhipicephalus* spp., *Amblyoma* spp. *Ixodes* spp, etc; distribuidas en la mayoría de regiones biogeográficas (Johnson, 2023a). La segunda familia más grande es la familia Argasidae, también conocidas como “garrapatas blandas”, está representada por 186 especies, las que incluyen *Argas* spp., *Ornithodoros* spp. *Otobius* spp, etc.; con características biológicas y morfológicas distintas a las de las otras categorías (Avendaño-Reyes et al., 2022). Ambas familias se encuentran ampliamente distribuidas y poseen un gran número de especies hospedadoras tanto de animales silvestres como domésticos y, también, el ser humano. Finalmente, la familia Nuttalliellidae cuenta solo con una especie representante: *Nuttalliella namaqua*, reportada en Sudáfrica en 1931 (Keirans et al., 1976; Rojas Monzón, 2022). Según la clasificación taxonómica, en América se reporta la presencia de 2 familias: Ixodidae y Argasidae (Barraza Tizoc, 2019).

B) Ciclo biológico

Todas las garrapatas pasan por un proceso de metamorfosis incompleta, es decir que todos sus estadios presentan las mismas características de comportamiento y alimentación (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016). En los estadios inmaduros de larva y ninfa, el intercambio gaseoso se realiza a través de la cutícula y poseen 6 patas, mientras que las garrapatas adultas poseen 4 pares de patas y presentan placas espiculares en forma oval, redondeada o en coma las cuales cumplen la función de respiración (Stafford, 2007).

Para pasar de un estadio al siguiente, se requiere la ingesta abundante de sangre. Las especies pertenecientes a la familia Ixodidae se alimentan por un periodo de 2 a 13 días, durante este periodo llegan a consumir hasta 8.9 mL de sangre. Las garrapatas pertenecientes a la familia Argasidae se alimentan por periodos cortos de tiempo de 30 a 70 minutos, y pueden llegar a consumir hasta 10 veces su peso (Bates, 2012). El desarrollo biológico de una garrapata está estrechamente relacionado con la posibilidad de infectar a uno o más hospederos en el ambiente, así como las condiciones climáticas y la existencia de un microhábitat favorables (Márquez-Jiménez et al., 2005).

Para garrapatas de un solo hospedero, como *Rhipicephalus microplus*, *Dermacentor nintens*, *Otobius megnini*; el ciclo inicia con la eclosión del huevo, el cual es ovopositado en un sitio protegido y húmedo por parte de la hembra grávida denominada “teleogina” (Rojas Monzón, 2022).

Después de una semana, la larva que se encuentra en la vegetación busca un hospedador del cual conseguir alimento (Estrada-Peña, 2015). Para esto para esto hace uso de órganos sensoriales especializados como el órgano de Haller, que es capaz de detectar el olor y el dióxido de carbono (Pullido-Villamarín et al., 2016). Una vez que detectan a su hospedador dirigen el primer par de patas hacia él y se preparan para transferirse al hospedador por contacto. Luego, la garrafa migra hacia su lugar predilecto en el cuerpo del hospedador, que puede variar dependiendo de la especie (Márquez-Jiménez et al., 2005). Allí comienza a alimentarse hasta alcanzar la madurez sexual, para luego copular sobre el hospedero o sobre la vegetación. Finalmente, luego de la cópula, la hembra se sigue alimentando más rápido para engordar lo suficiente, desprenderse y caer al suelo para buscar un lugar protegido donde ovipositar (Quiroz- Romero, 2005). Como se observan en la Figura 1.

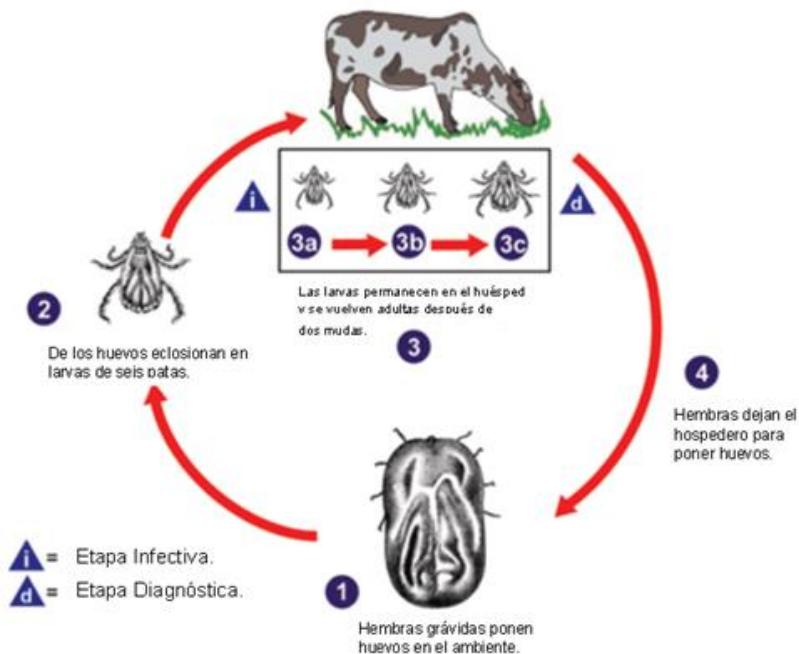


Figura 1. Ciclo biológico de las garrapatas de un solo hospedero. Fuente: Modificado de la página del Centro de Control de enfermedades (CDC) (National Center of Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, 2017).

Existen especies que requieren más de un hospedero; como las de la familia Argasidae, cuyas especies pueden requerir más de dos hospederos, debido a que poseen dos o más estadios ninfales (Melendreras-Fernández, 2019; Quiroz- Romero, 2005; Rojas Monzón, 2022).

C) Alimentación

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos estrictos. La alimentación hematófaga de los artrópodos evolucionó a lo largo del tiempo, transformándose en un sistema de alimentación único hace 165-145 millones de años entre los períodos jurásico a cretácico. Fue en el 2001 que se descubrió el primer fósil de una garrapata perteneciente a la familia Argasidae, el cual data del cretácico tardío. Es a partir de este periodo que se cree que las garrapatas pueden haberse convertido en posibles agentes patógenos de diferentes enfermedades (Klompen y Grimaldi, 2001; Márquez-Jiménez et al., 2005).

El especializado aparato bucal de las garrapatas consta de diversas secciones. El hipostoma, los quelíceros, dos palpos, segmentados (en 3 o 4 segmentos) o no, y la base del capítulo conforman el gnatosoma o “capítulo” de la garrapata (Rojas Monzón, 2022).

Para empezar a alimentarse, la garrapata busca un hospedero donde habitar, una vez que encuentra uno, se dirige a la zona de su preferencia. Luego, el parásito introduce el hipostoma en la piel del animal y dado que su extremo es dentado, perfora la piel y sirve también de anclaje (Walker

et al., 2003). Además, las garrapatas de la familia Ixodidae secretan en su saliva una sustancia conocida como “cemento”, la cual le sirve para adherirse al cuerpo; esta sustancia puede producir distintas lesiones, lo cual genera dermatosis en el hospedero (McGinley-Smith y Tsao, 2003). Mientras perfora la piel, desgarra los vasos capilares, lo cual genera una hemorragia cercana a la superficie y genera una lesión. Las garrapatas se alimentan de esta sangre y de la linfa liberada producto de la lesión (Walker et al., 2003).

La afinidad y elección del hospedero por parte de la garrapata está estrechamente relacionada con su método de alimentación. Si el hospedero no proporciona una respuesta inmunitaria efectiva, esto podría favorecer el éxito del parasitismo de la garrapata (Ribeiro, 1989).

D) Características morfológicas

El reconocimiento de estructuras es esencial para identificar garrapatas, ya que su morfología difiere según la familia, género y especie a la que pertenecen (Rojas Monzón, 2022).

Las garrapatas pertenecientes a la familia Ixodidae, tienen un cuerpo redondeado sin segmentación, conocido como idiosoma, y las piezas bucales o gnathosoma son visibles desde la vista dorsal; algunas especies pueden poseer ojos, y también se caracterizan por poseer un dismorfismo sexual marcado. Además, los especímenes de esta familia poseen una placa esclerotizada o escudo dorsal, lo que les otorga el nombre de

“garrapatas duras”. En la vista ventral se puede hallar otras estructuras tales como las placas anales, el espiráculo, la apertura genital, las coxas, entre otras (Cervantes Santa Cruz, 2018) (Figura 2).

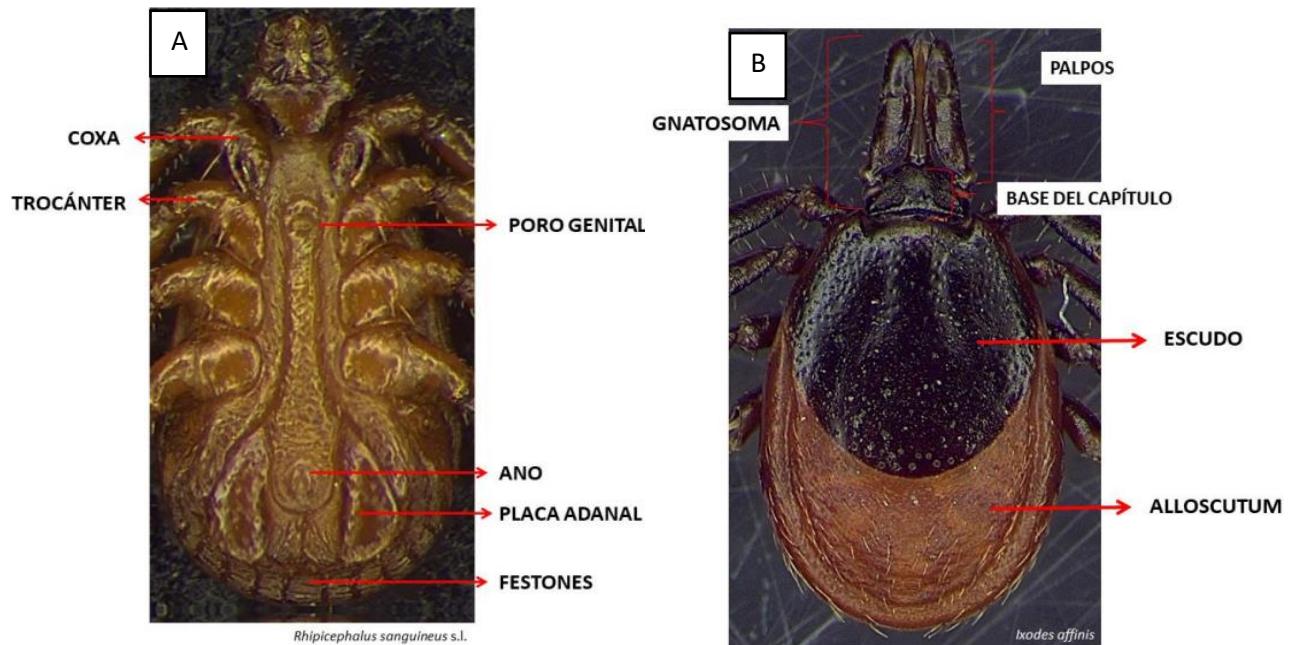


Figura 2. Principales caracteres taxonómicos de tipo morfológico en individuos adultos de la familia Ixodidae. Vista ventral de *Rhipicephalus sanguineus* (A) y dorsal de *Ixodes offnisi* (B). Fuente: (Bermúdez et al., 2018a).

En las garrapatas pertenecientes a la familia Argasidae, el dimorfismo no es tan marcado, el capítulo solo puede ser observado de manera ventral y no presentan escudo de quitina, por eso son conocidas como “garrapatas blandas” (Cervantes Santa Cruz, 2018).

2.2.2. Clasificación

Con la finalidad de una mayor comprensión para el agricultor, Walker et al., (2003), clasificaron a las garrapatas de acuerdo a ciertas características morfológicas como el aparato bucal, el tamaño y otras estructuras, las

garrapatas que infectan animales domésticos pueden clasificarse en 5 grupos, (Anexo 2).

a) Grupo 1

Se encuentran todas las especies de la familia Argasidae y se diferencian entre ellas por ciertas características como la sutura latera, el tegumento y la presencia o ausencia de ojos (Bowman, 2011; Rojas Monzón, 2022). Destaca *Otobius megnini*, una garrapata de 6mm de tamaño también conocida como la “garrapata espinosa del oído” (Bowman, 2011; Walker et al., 2003), por parasitar los conductos auditivos de distintas especies como vacunos, equinos, conejos, animales domésticos, silvestres y ocasionalmente, al ser humano. Carece de escudo dorsal, ojos y sutura lateral; posee un tegumento espinoso en las ninfas y mamelonado en los adultos. Solo las larvas mudan sobre el hospedero, mientras que, los adultos lo hacen fuera del huésped. Es nidícola y las hembras pueden poner hasta 1500 huevos (Bowman, 2011; Diyes y Rajakaruna, 2017; Quiroz- Romero, 2005; Walker et al., 2003). Es causante de otitis, problemas neurológicos, espasmos y ulceraciones que derivan en infecciones bacterianas graves (Radman et al., 2008).

b) Grupo 2

Se encuentran las especies de los géneros *Amblyoma* e *Hyalomma*, que suelen medir de 6 a 7 mm, presentan palpos largos, patas con anillos blanquecinos, ojos y un escudo dorsal ornamentado, siendo este último su rasgo más distintivo (Venzal et al., 2004). La especie más reportada en Latinoamérica es *Amblyoma triste* (Miraballes Ferrer, 2018; Nava et al., 2019a; Rojas Monzón,

2022; Venzal et al., 2004; Walker et al., 2003), que posee pluvillus, palpos con el segundo segmento más largo, festones y un escudo con una banda central y rayas castañas (Quiroz- Romero, 2005). La hembra presenta suctum y el macho consuctum. Requiere de tres hospederos para completar su ciclo, los cuales puede incluir perros, aves, conejos o roedores (Labruna et al., 2003). Está asociada con la transmisión de *Rickettsia parkerii*, un patógeno zoonótico causante de la rickettsiosis en humanos y perros, siendo un problema de salud pública (Venzal et al., 2004).

c) Grupo 3

Se encuentran agrupadas las del género *Ixodes*, miden entre 3 a 4 mm, no presentan escudo ornamentado ni ojos, y se caracterizan por un surco anal en forma de “U” que rodea las placas adanales. Las hembras tienen un aparato bucal más corto que el de los machos (Walker et al., 2003). La especie más destacada es *Ixodes ricinus*, común en Europa, pero también se encuentra en América y África, afectando principalmente al ganado bovino (Walker et al., 2003). Tiene un ciclo trifásico que requiere de tres hospederos como aves, mamíferos, reptiles y humanos (Mora Sandoval, 2018). Está distribuida en América, África, Asia y Europa (Rich et al., 1995; Rojas Monzón, 2022; Rumer et al., 2011). Esta especie es conocida por ser vector de patógenos como *Borrelia*, causante de la enfermedad de Lyme (Cervantes Santa Cruz, 2018), así como *Anaplasma* causante de la anaplasmosis y diversas Rickettsias (Márquez-Jiménez et al., 2005).

d) Grupo 4

Se encuentran las especies de los géneros *Dermacentor* y *Rhipicephalus*, ambos con coxa espinosa y ojos (Rojas Monzón, 2022). *Dermacentor nintens*, conocida también como “garrapata de la oreja del caballo”, mide alrededor de 3 mm, tiene palpos cortos, escudo no ornamentado y dimorfismo sexual (Walker et al., 2003). Requiere de un solo hospedero para completar su ciclo biológico, ubicándose en regiones específicas del cuerpo del hospedero, principalmente equinos (Koller et al., 2017), aunque también se ha reportado en bovinos (Serra Freire y Miziara, 1989). Está distribuida desde Estados Unidos (USA) hasta Argentina, especialmente en zonas tropicales y bajo los 900 m.s.n.m. (Guglielmone et al., 2005), y es el principal vector de la babesiosis equina (Rodrigues et al., 2017; Rojas Monzón, 2022).

Rhipicephalus sanguineus, o “garrapata marrón del perro”, mide 3 a 5 mm, presenta base del gnathosoma hexagonal, festones en machos, espiráculos en forma de coma, y dos placas adanales (Bowman, 2011; Walker et al., 2003). Su ciclo biológico es de tres hospederos, con cópula en el hospedero y oviposición de hasta 4000 huevos (Bowman, 2011). Presenta preferencia por los perros domésticos, pero también puede afectar rumiantes y al humano, debido a su adaptación a ambientes urbanos y templados (Bowman, 2011; Márquez-Jiménez et al., 2005). Es cosmopolita, posiblemente originada en África. Transmite *Erlichia canis* y *Rickettsia conorii*, causantes de erlichiosis y rickettsiosis (Pegram et al., 1993).

e) Grupo 5

También conocidas como garrapatas pequeñas, de 2 a 3 mm de tamaño, con espuelas cortas en la primera coxa, pertenecen las especies de los géneros *Margaropus*, *Haemaphysalis* y *Boophilus* (Actualmente subgénero de *Rhipicephalus*) (Walker et al., 2003). Se destaca *Rhipicephalus microplus*, conocida comúnmente como “garrapata del ganado”, con base del capítulo hexagonal, gnathosoma y palpos cortos, sin festones y 4 placas adanales en machos (Boada Parra, 2018; Muhanguzi et al., 2020).

Requiere un solo hospedero y su ciclo biológico tiene una fase parasítica y otra no parasítica. Las hembras descienden del hospedero para ovipositar hasta 400 huevos, cuyas larvas pueden sobrevivir hasta 240 días sin alimentarse. Estas ascienden por la vegetación y completan su desarrollo en el mismo hospedero (Nuñez et al., 1982). Este puede ser, generalmente, bovinos, aunque también puede infectar búfalos, ovejas, caprinos y ciervos (Cantú Covarrubias y García Vásquez, 2013; Nuñez et al., 1982; Quiroz- Romero, 2005).

Originaria de Asia, ahora es endémica en México, África, Centro y Sudamérica, Asia y varias islas, y ha sido erradicada de USA, salvo casos fronterizos (Madder et al., 2011; Spickler, 2022). Es el principal parásito en la ganadería bovina (Trigueros-V. y Rojas-C., 1999), transmisor de enfermedades como la babesiosis (*Babesia bovis*, *B. bigemina*) (Dias Filho et al., 2005) y la anaplasmosis (*Anaplasma marginale*) (Futse et al., 2003), y también puede transmitir *Mycoplasma* spp. (Shi et al., 2019).

2.2.3. Métodos de identificación de garrapatas

Dos son los principales métodos para identificar garrapatas: el análisis morfológico y el análisis molecular.

A) Identificación morfológica. Se basa en el reconocimiento de estructuras anatómicas propias de cada especie, generalmente a través del uso de claves taxonómicas, que mediante una serie de preguntas y enunciados conducen a la identificación del organismo. Entre los rasgos observados para identificar garrapatas están: el tamaño, la apertura genital, las características del capitulo, y el dimorfismo sexual entre otras varias. Esta metodología es utilizada tradicionalmente, aunque posee ciertas limitaciones, como el tiempo de guardado de las muestras o la integridad de las mismas, la falta de precisión para determinar subespecies o linajes. Aun así, esta técnica es suficiente para el desarrollo de un programa de control y, además, es fácil, rápida, barata y muy práctica (Nava et al., 2019).

B) Identificación molecular. Esta técnica se basa en el uso de marcadores moleculares de ADN, lo que le permite ser más específica al momento de la identificación de especies, subespecies y linajes puesto que, pueden existir especies crípticas que, morfológicamente son indistinguibles, o puede resolver la identificación de especímenes incompletos, que, de otra manera, no podrían ser identificados. Además, que con estas técnicas también se pueden identificar algunos patógenos que con las técnicas de identificación morfológica sería imposible determinar. Sin embargo, puede ser muy costosa y requiere de más tiempo y personal calificado, lo cual dificulta su accesibilidad a la población en

general. El secuenciamiento de subunidades ribosomales como 12s, 16s o 18s, la unidad del citocromo c oxidasa (*COI*) y el espaciador interno transcrita (*ITS*) han sido utilizados como una alternativa a las limitaciones de la identificación morfológica (Yssouf et al., 2016).

a) Marcadores moleculares

Tanto las garapatas duras como blandas pueden ser identificadas con el gen mitocondrial 16s rADN. Este gen es muy variable entre especies, pero conservado entre ellas, lo que lo hace ideal para identificarlas (Black and Piesmant, 1994). Sin embargo, su utilidad es limitada en especies estrechamente relacionadas entre sí, siendo poco efectivo que para especies más distantes (Takano et al., 2014). Esto por el alto grado de homoplasia y la velocidad de evolución de los genes mitocondriales, los cuales suelen tener una taza de mutación más lenta que el resto (Cervantes Santa Cruz, 2018; Norris et al., 1999). Se han realizado estudios que determinaron que el gen 16s rADN es el más efectivo en cuanto al diseño de primers, la tasa de amplificación y la eficiencia al momento de la secuenciación en una sola reacción frente a otros marcadores moleculares (Lv et al., 2014).

Otro gen mitocondrial frecuentemente usado es el 12s rADN (Norris et al., 1999). Este gen es corto (menos de 450 pb), no presenta heterozigocidad, es decir que presenta 2 alelos idénticos y no hay variación en el mismo individuo; y es útil en el análisis de relaciones intraespecíficas o taxas estrechamente relacionadas; debido a su alto contenido de AT (Lv et al., 2014). Se ha utilizado para el estudio de ramas filogenéticas recientemente

divergidas de garrapatas duras (Lv et al., 2014) . Se utilizó para demostrar que el subgénero *Boophilus* surgió dentro del género *Rhipicephalus* (Beati y Keirans, 2001).

Los loci no codificantes como el Espaciador transcrita interno (ITS-2, por sus siglas en inglés) es también usado en la identificación de especies de garrapatas. Debido a su alto número de copias en la matriz de ADN ribosomal, este ideal para facilitar su amplificación por PCR, incluso a partir de muestras degradadas. Su longitud relativamente corta, además de su presencia en genes ribosómicos conservados, lo hace ideal a la hora de diseñar primers para diversos géneros de garrapatas, además de un análisis filogenético más robusto, facilitando la clasificación de diversas especies. El gen *ITS-2* ha demostrado su eficacia a la hora de identificar 2 especies estrechamente relacionadas con morfologías similares (Encinosa Guzmán et al., 2016).

El gen del Citocromo C oxidasa Subunidad I (*COI*) es considerado el código de barras genético por excelencia en animales. Aunque las secuencias de *COI* en garrapatas disponibles en GenBank son limitadas (Song et al., 2011), se ha utilizado con éxito para la creación de un código de barras de ADN en garrapatas de la familia Ixodidae, gracias a los bajos niveles de divergencia entre especies de esta familia (Lv et al., 2014; Zhang y Zhang, 2014). Se ha evaluado 4 fragmentos de ADN (*COI*, *16s*, *12s*, *ITS2*) para identificar garrapatas duras y se ha determinado que el gen *COI* debe ser la primera

opción para la identificación de especies, en cuanto al estándar del código de barras de ADN (Cervantes Santa Cruz, 2018; Lv et al., 2014).

El complejo *Rhipicephalus microplus* agrupa a 6 especies del subgénero *Boophilus*, las cuales son *R. microplus*, *R. annulatus*, *R. decoloratus*, *R. australis*, *R. geygi* y *R. kohlsi*. Estas especies son morfológicamente parecidas y, con falta de experiencia en la identificación morfológica, son fácilmente confundibles; por ello, diferentes estudios genéticos se han llevado a cabo para desentrañar las diferencias moleculares entre estas. El estudio de Labruna et al. (2009), reporta la presencia de 3 clados dentro del complejo *R. microplus*, basado en los cruces reproductivos y resaltando las distancias genéticas entre ellos por la presencia de descendencia infértil entre especímenes separados geográficamente. Estudios posteriores como el de Moudgil et al. (2023), Burger et al. (2014), y (Low et al., 2015), utilizaron tanto genomas mitocondriales como marcadores moleculares como *COI* para demostrar las diferencias genéticas entre las especies de este complejo y describen confirman la presencia de los 3 clados ya descritos previamente. El clado A presente en América y África, el clado B de China; y el clado C de India y Malasia.

b) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es una técnica que amplifica de manera rápida una secuencia específica de ADN, la cual puede ser estudiada a gran detalle. Esta técnica usa segmentos de ADN sintéticos conocidos como “iniciadores” o “primers”, los cuales ayudan a seleccionar el segmento que queremos amplificar (Smith, 2024). Como parte del proceso el

ADN de la muestra debe ser desnaturalizado, es decir, separar el ADN en las dos hebras que lo componen. Luego, una enzima conocida como ADN polimerasa, se encarga de sintetizar dos nuevas hebras de ADN, a partir de la posición de los iniciadores y usando las hebras de la muestra de ADN como molde. El ciclo de desnaturalización y síntesis de nuevas hebras de ADN se puede repetir de 30 a 40 veces, lo que genera aproximadamente mil millones de copias del segmento de ADN original (Marmiroli y Maestri, 2025).

Existen diferentes tipos de PCR, pero podríamos clasificarlas principalmente en 2: técnicas cuantitativas o semicuantitativas de PCR, de las cuales la principal es la qPCR (PCR en tiempo real) la cual da una idea sobre cuánto ADN está presente en la muestra, y las técnicas cualitativas de PCR, que son usadas para detectar la presencia de un segmento de ADN específico. Ambas pueden ser utilizadas en la identificación de organismos como bacterias y virus (Rajalakshmi, 2017).

- c) **Secuenciación de ADN.** Es una técnica de laboratorio capaz de determinar el orden exacto de los nucleótidos o bases en una molécula de ADN. Esta secuencia de bases (A, C, T, G referidas así por el nombre de las bases nitrogenadas que las componen) codifican información biológica de suma importancia para las células, tales como su desarrollo o funcionamiento. Establecer la secuencia de ADN puede ser la llave para entender el funcionamiento de los genes y otras partes del genoma o la relación entre especímenes de la misma o diferentes especies (Adams, 2024).

La secuenciación del ADN puede ser usada para determinar la secuencia de un gen individual, regiones genéticas largas como clusters de genes u operones, cromosomas completos o genomas completos de cualquier organismo. Es una técnica utilizada en diferentes ciencias como la biología molecular, las ciencias forenses, biología evolucionaria, medicina, metagenómica y taxonomía (Adams, 2024).

El software de MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis), es un programa ampliamente utilizado en biología molecular, bioinformática y genética evolutiva. Este es capaz de alinear secuencias tanto de ADN como de proteínas, construir árboles filogenéticos y realizar análisis genéticos y evolutivos. Fue desarrollado con el fin de facilitar el estudio de las relaciones evolutivas entre genes, individuos o especies, utilizando datos moleculares como secuencias de genomas, genes mitocondriales, proteínas, etc (Tamura et al., 2021).

2.2.4. Importancia de las garrapatas en la ganadería

Las garrapatas son uno de los principales problemas sanitarios y económicos en la ganadería mundial, principalmente porque afectan directamente a la productividad al causar diversas afecciones como anemia, lesiones cutáneas, estrés, disminución en la producción de leche y carne, además de reducir el valor de las pieles(Guizzo et al., 2017). Al ser también vectores de diferentes patógenos como *Anaplasma* spp, *Babesia* spp, *Theileria* spp, etc (Rodriguez-Vivas et al., 2018). Los cuales son responsables de enfermedades que generan fiebres, abortos

espontáneos, alta tasa de mortalidad; además de generar altos costos de tratamientos. A nivel global, las pérdidas económicas derivadas de la infección por garrapatas, además de las enfermedades que transmiten ascienden a cientos de millones de dólares al año, lo que impacta en los sistemas pecuarios, principalmente en regiones tropicales y subtropicales (Abbas et al., 2014).

El control químico basado en acaricidas, aunque efectivo inicialmente, enfrenta un grave problema de resistencia por su uso continuo y las altas dosis empleadas que poco a poco pierden efecto en el control, generando altas pérdidas económicas y consecuencias ambientales negativas. Es por ello que las investigaciones actuales recomiendan estrategias de majeo integrado que incluyan el uso de acaricidas, la rotación de pasturas, la examinación permanente del hospedero, el desarrollo de vacunas y el uso de alternativas naturales. Estas medidas buscan disminuir la dependencia de los acaricidas, la reducción de pérdidas económicas y garantizar la sostenibilidad del control de las garrapatas (Rodríguez-Vivas et al., 2018).

2.3. Definición de términos básicos

- Gnatosoma: También llamado capítulo, se refiere a la región anterior del cuerpo de las garrapatas, especializada en la alimentación y fijación al hospedero (Nuñez et al., 1982).
- Hipostoma: Es la estructura bucal de las garrapatas, se ubica en la parte ventral y central del gnatosoma (Nuñez et al., 1982).

- Telegonia: Son las hembras de garrafa fecundadas que se alimentan del hospedador y luego descienden para dejar a su descendencia y morir (Nuñez et al., 1982).
- Idiosoma: Es la parte principal del cuerpo de las garrafas, contiene la mayoría de los órganos internos y externos (Nuñez et al., 1982).
- Clado: Son todos los organismos agrupados que descienden de un mismo ancestro común (Castillo-Cerón y Goyenechea, 2007).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1. Nivel de investigación

La presente investigación es de nivel descriptivo, dado que buscó describir una característica de la población estudiada, específicamente la identidad a nivel de especie de garrapatas en ganado vacuno de una región del Perú.

3.2. Tipo y Diseño de investigación

3.2.1. Tipo de investigación

Es de tipo básica, debido a que se enfocó en generar mayor conocimiento científico sobre las especies de garrapatas que infectan el ganado vacuno en una región del Perú.

3.2.2. Diseño de la investigación

Es de corte transversal y de enfoque mixto, ya que se realizó en un periodo de tiempo determinado y se combinó datos cuantitativos como frecuencias y porcentajes y cualitativos como la identificación morfológica y molecular de las garrapatas.

3.3. Material biológico

El material biológico estuvo conformado por todas las garrapatas (110) que fueron colectadas del ganado vacuno de ganaderos agremiados del departamento de San Martín en el periodo entre los años 2022 y 2024.

3.4. Colección y transporte de las muestras

Las muestras fueron recolectadas de los bovinos en los predios ganaderos de las distintas provincias del departamento de San Martín (Apéndice 2), por el personal del Proyecto Especial Alto Mayo (PEAM). El procedimiento utilizado incluyó la inmovilización inicial del animal y luego a la inspección del pelaje y piel, desde la cabeza hasta la cola con énfasis en las orejas, papada, cuello, región axilar, abdomen, glándulas mamarias, cara interna de los muslos, flancos, dorso, región ano caudal y base de la cola (Anexo 4). Pinzas planas fueron utilizadas para retirar con mucho cuidado las garrapatas del cuerpo del bóvido y colocarlas en microtubos tipo Eppendorf, de 1,5 mL, con etanol al 70%, para su conservación; todas las muestras fueron rotuladas.

Las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Biotecnología en Sanidad Animal de la Estación Experimental Agraria de Baños del Inca-Cajamarca del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), donde se almacenaron en refrigeración de 4-8 °C, hasta su análisis.

3.5. Identificación morfológica de las garrapatas

Las garrapatas se trajeron de los microtubos de 1,5 mL con pinzas de disección y se transfirieron a una placa Petri para ser observadas bajo el estereoscopio (Nikon SMZ645). Para la identificación morfológica de las garrapatas fueron utilizadas las claves taxonómicas descritas por Walker et al. (2003), descritas en el Anexo 1; y los datos se anotaron en una ficha de identificación (APÉNDICE 1). Una vez identificados, los especímenes fueron devueltos a los microtubos y conservados en refrigeración hasta su uso en la extracción de ADN genómico.

3.6. Extracción de ADN genómico de garrapatas

Se utilizó el kit de extracción Promega Wizard® Genomic DNA Purification Kit para extraer ADN de las garrapatas, siguiendo las especificaciones del fabricante. Para ello los especímenes fueron extraídos a una placa Petri para que se sequen al ambiente. En un mortero, una o dos garrapatas fueron trituradas usando un pilón y 15-20 mL de nitrógeno líquido. El material triturado se transfirió a un microtubo de 1,5 mL estéril con 120 µL de EDTA 0,5 M y 500 µL de solución de lisis nuclear enfriada en hielo, se adicionó 17,5 µL de proteinasa K (20 mg/mL) y se incubó en agitación a 55 °C por toda la noche. Al día siguiente, se agregó 3 µL de RNAsa, se mezcló por inversión 2-5 veces, se incubó durante 15 minutos a 37 °C y se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 5 minutos. A continuación, se agregó 200 µL de solución de precipitación de proteínas y se mezcló en vórtex a máxima velocidad por 20 segundos para luego enfriarla en hielo por 5 minutos.

Se centrifugó a 16 000 g por 4 minutos, se transfirió el sobrenadante a un nuevo microtubo de 1,5 mL estéril, se agregó 600 µL de isopropanol a temperatura ambiente, se mezcló por inversión, se centrifugó a 16 000 g por un minuto, y se decantó el sobrenadante con cuidado de no perder el pellet de ADN. El lavado fue hecho con 600 µL de etanol al 70% a temperatura ambiente y centrifugación a 16 000 g por un minuto. El sobrenadante fue retirado cuidadosamente y el ADN en el microtubo se dejó secar sobre papel absorbente por 15 minutos. Finalmente, el ADN fue resuspendido en 100 µL de solución de rehidratación de ADN con incubación a 4 °C por toda la noche. La concentración y calidad del ADN extraído se midió por espectrofotometría (PCRmax Lambda 3-in-1 spectrophotometer) a través de absorbancia a 260 y 280 nm con 1 µL de muestra (resultados en el Apéndice 2). El ADN genómico fue almacenado a 2-8 °C hasta su uso.

3.7. Amplificación del gen *COI*

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) del gen Cox I se realizó en un termociclador PCRmax, modelo: Alpha Thermal Cycler 1. Los iniciadores de PCR fueron: LCO 1490 (Forward): 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' y HC02198 (Reverse): 5'-AAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'. Los componentes de la PCR fueron los siguientes: Solución de Master Mix de Promega GoTaq® Green Master Mix 1X (12,5 µl), iniciadores a concentración final 10 mM, cada uno (0,5 µL), 100 µg de ADN genómico (3,5 µL) y Agua libre de nucleasas para completar un volumen de 25 µL.

Las condiciones de PCR fueron: desnaturalización inicial a 95 °C por 1,5 minutos, 35 ciclos de amplificación, con desnaturalización a 94 °C por 20 segundos, alineamiento a 40 °C por 45 segundos y extensión a 72 °C por 45 segundos; finalmente una extensión final a 72 °C por 10 minutos (Black et al., 1994). La amplificación del gen fue confirmada por electroforesis en gel de agarosa (al 1,5%). El corrido de las muestras se realizó a 100 V por 40 minutos en buffer TAE (Tris/Aacetato/EDTA). El tamaño del amplicón esperado fue de 710 pb (Silatsa et al., 2019), tamaño que fue confirmado en las bandas resultantes con el programa GelAnalyzer 23.1.1 (disponible en www.gelanalyzer.com por Lazar Jr. and Lazar Istvan Sr., PhD, CSc), el cual detecta automáticamente carriles y bandas a partir de la intensidad de los píxeles. Usando un marcador de peso molecular de 100 pb, se calibró el tamaño de los fragmentos mediante una relación logarítmica entre la distancia migrada y el tamaño de la banda.

3.8. Secuenciación y análisis de secuencias

Del producto de PCR sin purificar, 20 µL fueron colectados en un microtubo de 0,2 mL que fue sellado con cinta Parafilm. Las muestras fueron enviadas al proveedor de servicios de secuenciación Macrogen (Chile) en una caja de poliestireno, con hielo seco. Las secuencias de nucleótidos obtenidos fueron procesadas en los programas BioEdit versión 7.7 (Hall, 1999), y FinchTV versión 1.5.0 (Geospiza, 2006) con el objetivo de eliminar regiones de baja resolución y generar una secuencia consenso, entre las secuencias forward y el complemento reverso de la secuencia reverse.

Las secuencias nucleotídicas obtenidas se compararon con la base de datos Gen Bank para identificar a las especies de garrapatas en base al porcentaje de similitud de las secuencias nucleotídicas, considerando un porcentaje mayor al 90%. Para esto se utilizó la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Altschul et al., 1990).

Con el fin de clasificar y organizar evolutivamente las muestras obtenidas, se construyó un árbol filogenético con sus secuencias nucleotídicas y otras secuencias de *Rhipicephalus microplus* disponibles en Gen Bank con información anotada y correspondientes a diferentes clados. Para esto, las secuencias fueron alineadas con el programa ClustalW con el método de “Máxima verosimilitud” (Maximum Likelihood) y el modelo Tamura-Nei con 1000 réplicas (Bootstrap), todo esto dentro del programa MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Tamura et al., 2021).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

Un total de 110 garrapatas fueron recolectadas del ganado vacuno del departamento de San Martín durante la etapa de colecta del presente estudio. La procedencia de las muestras incluyó a todas las provincias del departamento de San Martín; un mayor número de especies fueron colectadas en los distritos de Moyobamba (n=28) y Calzada (n=22) de la provincia de Moyobamba (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución del número de muestras de garrapatas (Orden Ixodida) en el ganado vacuno del departamento de San Martín-Perú, 2024, por provincias y distritos.

Provincia	Distrito	Número de muestras
Bellavista	Huallaga	3
	San Pablo	1
El Dorado	Santa Rosa	1
Huallaga	Saposoa	3
Lamas	Chuñumbuqui	4
Mariscal Cáceres	Juanjuí	3
	Huicungo	2
Moyobamba	Moyobamba	28
	Calzada	22
	Habana	3
	Soritor	7
	Yantaló	2
Picota	Buenos Aires	3
Rioja	Rioja	1
	Elías Espolín Vargas	4
	Nueva Cajamarca	5
	Pardo Miguel	4
	Yaracyacu	1
	Yorongos	2
San Martín	Juan Guerra	2
	Santa Rosa	2
	Shapaja	2
Tocache	Pólvora	1
	Tocache	3
	Uchiza	1

4.1.1 Identificación morfológica

De acuerdo al análisis morfológico basado en las claves taxonómicas (Anexos 2 – 4), el 100% de las muestras fueron identificadas como *Rhipicephalus microplus*. Esta especie se caracteriza por presentar un gnatosoma corto con base hexagonal y palpos cortos y anchos, hipostoma con fórmula dentaria 4/4 en adultos, 4 pares de coxas, 4 placas adanales, el poro anal por debajo del cuarto par de coxas sin surco (vista ventral), escudo corto no ornamentado de color marrón, presencia de ojos pequeños en el borde posterior del escudo y seta en forma de “S” en vista dorsal (Figura 2).

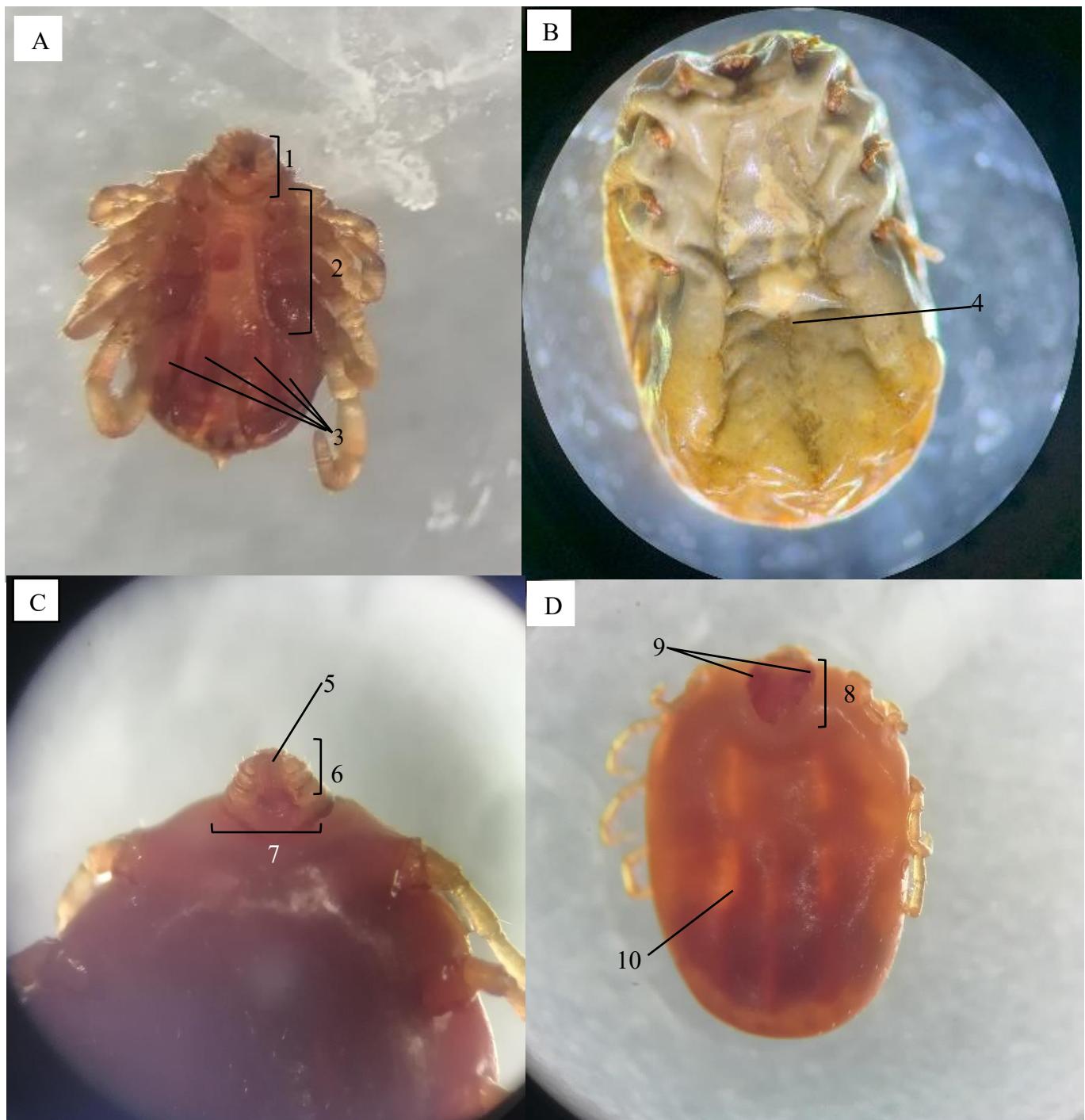


Figura 3. Caracteres morfológicos propios de la especie *Rhipicephalus microplus* observados en los especímenes de garrapatas (Orden: Ixodida) del ganado vacuno del departamento de San Martín. A) Vista ventral del espécimen macho; se observa, Gnatosoma corto (1), cuarto pares de coxas (2) placas adanales (3). B) Vista ventral de espécimen hembra; se observa, el orificio anal (4). C) Detalle del gnatosoma en vista ventral se observa hipostoma (5), palpos cortos (6) y base del capítulo (7). D) Vista dorsal de espécimen hembra; se observa, escudo corto (8) ojos (9) y seta en forma de “S” (10).

El análisis morfológico también permitió determinar el sexo y la fase de desarrollo de los especímenes. Se obtuvo una mayor proporción de hembras (n=93; 84,5%) frente a los machos (n=17; 15,5%). En cuanto a las fases de desarrollo, 105 fueron catalogadas como garapatas adultas y las 5 restantes como teleonias, es decir, hembras grávidas (Tabla 2)

Tabla 2: Fase de desarrollo y sexo de los especímenes de *Rhipicephalus microplus* identificados en el ganado vacuno del departamento de San Martín.

Variable	Nivel	Conteo	Total	Proporción
Estadio	Adulto	105	110	95,5%
	Teleonía	5	110	4,5%
Sexo	Hembra	93	110	84,5%
	Macho	17	110	15,5%

4.1.2. Identificación molecular

Del total de muestras recolectadas, se logró extraer el ADN de 78, de las otras 32 muestras no se logró una extracción eficiente por pérdida de la muestra o contaminación. El gen *COI* fue amplificado y visualizado en electroforesis en gel de agarosa (Figura 3), como una banda de tamaño aproximado de 710 pb, según el análisis con el software GelAnalyzer versión 23.1.1. (Apéndice 2), lo cual coincidió con el tamaño teórico del amplicón

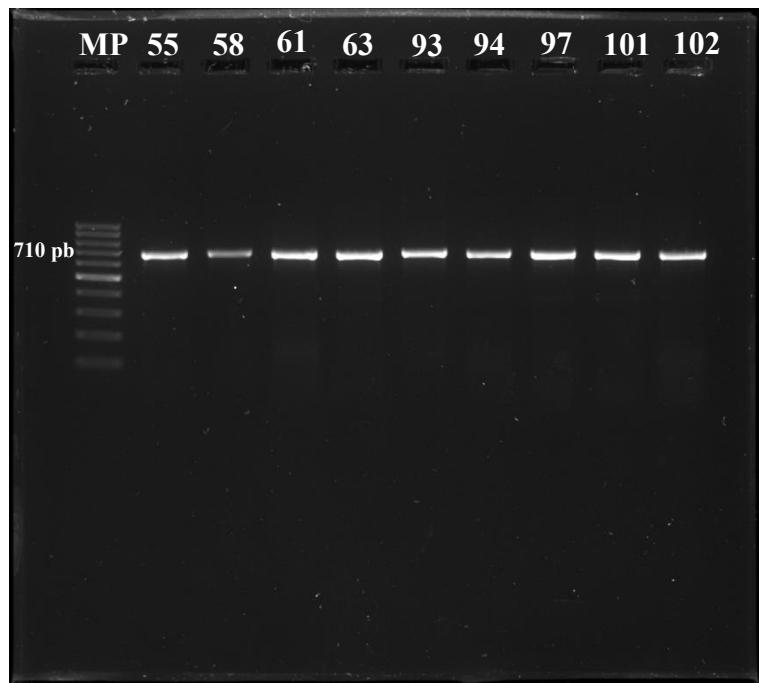


Figura 4. Amplicón del gen *COI* en muestras de garrapatas (Orden: Ixodida) de ganado vacuno del departamento de San Martín. MP es el marcador de peso molecular, y los números del 55 al 102 son los códigos de las muestras. Tamaño aproximado del amplicón ~710 pb.

Todas las secuencias obtenidas del gen *COI* fueron comparadas con el banco de genes de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), dando como resultado que todas pertenecen a la especie de *Rhipicephalus microplus*, con porcentajes de identidad entre 99,82%-96,75% siendo la de mayor porcentaje de identidad la muestra N° 61 y la de menor porcentaje la muestra N° 45, con una cobertura del 100% al 94% (Tabla 3).

Tabla 3: Identificación a nivel de especie de las muestras de garrapatas (Orden: Ixodida) de ganado vacuno del departamento de San Martín, según el análisis BLAST.

Código de muestra	Accesión en Genbank Descripción de la accesión	Cobertura (%)	Porcentaje de identidad	Identidad de la muestra
45	MH513251.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> isolate microplusN1608 cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	99%	96,75%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
55	KT906178.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> haplotype RmicColTolC cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	100%	98,90%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
58	KT906178.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> haplotype RmicColTolC cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	100%	99,47%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
61	KT906178.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> haplotype RmicColTolC cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	100%	99,82%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
63	KT906178.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> haplotype RmicColTolC cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	99%	97,43%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
93	LC731924.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> Rm_1FA mitochondrial COX1 gene for cytochrome c oxidase subunit 1, partial cds	97%	97,86%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
94	KT906178.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> haplotype RmicColTolC cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	100%	97,40%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
97	KT906178.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> haplotype RmicColTolC cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	100%	99,65%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
101	PQ425341.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> voucher M45_NE_Sn cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	100%	98,54%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
102	OR334946: <i>Rhipicephalus microplus</i> haplotype RmicColTolC cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	94%	98,16%	<i>Rhipicephalus microplus</i>
103	MT549810.1: <i>Rhipicephalus microplus</i> isolate 445 cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	99%	99,02%	<i>Rhipicephalus microplus</i>

4.1.3. Análisis filogenético

El árbol filogenético generado con las secuencias de ADN de garrapatas del departamento de San Martín y un grupo de secuencias *COI* de *R. microplus* pertenecientes a los clados de ubicación geográfica distinta, ubicó a los especímenes analizados de San Martín en el clado A, que contiene a las secuencias *COI* americanas (Figura 4). Cabe señalar que en pocos casos los valores de Bootstrap son altos (>70), algunos son moderados (50-69) y otros son bajos (<50).

En base a la topología del árbol, las secuencias *COI* de las muestras 101, 102, 93, 63, 55, 58 y 61 se agrupan en la sub-rama que contiene a *R. microplus* – USA y las muestras 45; 94, 97 y 103 se agrupan en una sub-rama que contiene a *R. microplus* - Colombia (Figura 4).

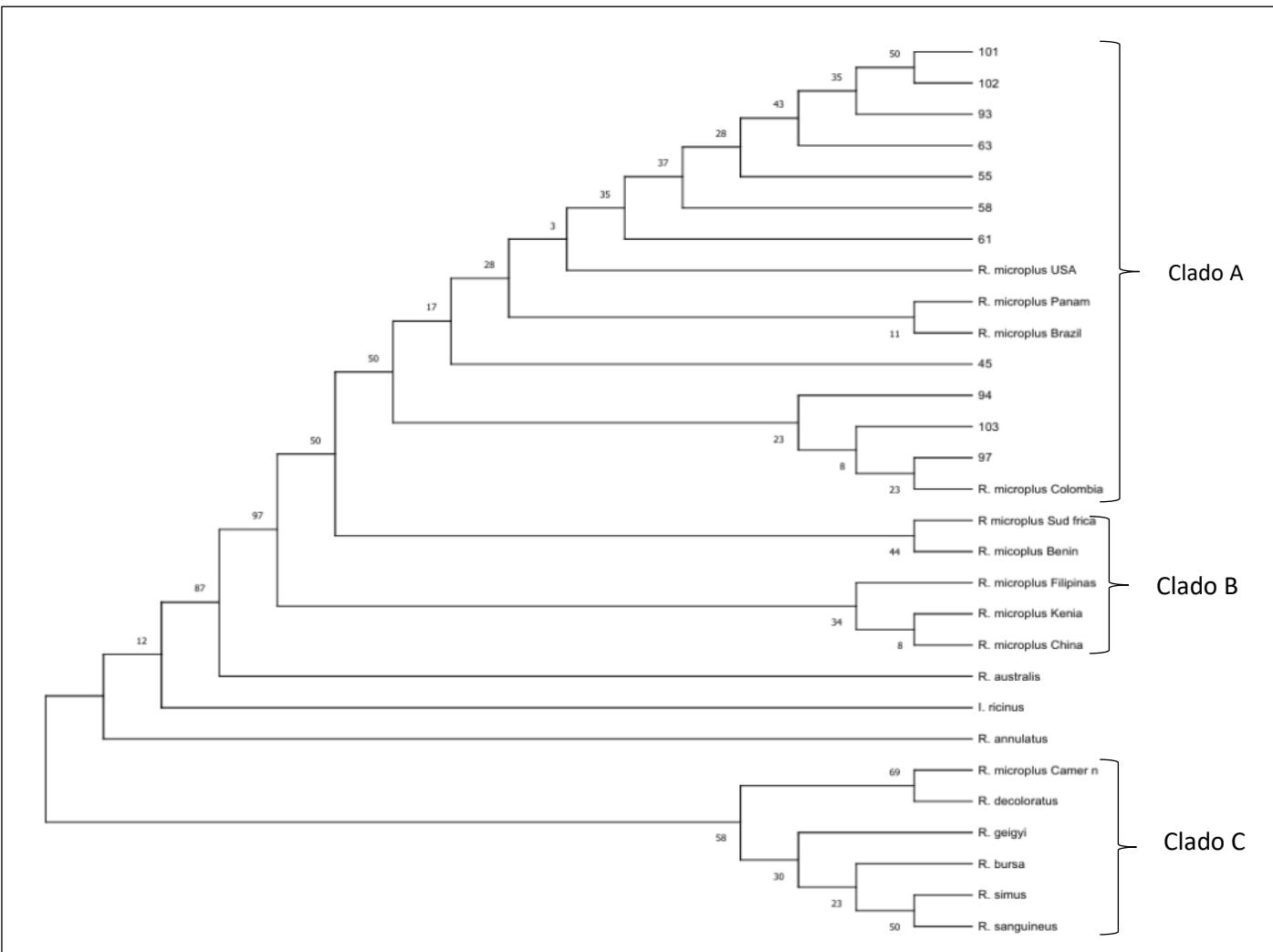


Figura 5. Análisis filogenético basado en las secuencias del gen *COI* de las muestras obtenidas de las provincias de Mariscal Cáceres (61 y 63), Moyobamba (93; 94; 97; 101; 102 y 103), Rioja (45) y Tocache (55 y 58) con secuencias de diferentes clados de *R. microplus* y un grupo externo.

4.2. Discusión

La identificación taxonómica de los especímenes de garrapatas colectadas en el presente estudio se basó en gran medida en el análisis de caracteres morfológicos. Este método tradicional es rápido, de bajo costo y puede aplicarse en condiciones que no exigen infraestructura o equipamiento especializados. Sin embargo, la determinación basada únicamente en caracteres morfológicos puede verse limitada por la variabilidad intraespecífica o el deterioro de estructuras diagnósticas (Nava et al., 2019a). Debido a esto, utilizar la secuenciación del gen *COI* se consideró relevante para reforzar el análisis taxonómico de los especímenes de garrapatas.

El género *Rhipicephalus* presenta estructuras morfológicas distintivas. Por ejemplo, se caracteriza por la presencia escudo corto no ornamentado, dos ojos pequeños en el margen lateral, base del gnatosoma de forma hexagonal y con palpos más cortos que su base, con fórmula denticulada 4/4 en adultos, el primer par de coxas con dos espuelas, una más desarrollada que la otra, y además posee dimorfismo sexual (Pratt y Littig, 1974). Por su parte la especie *R. microplus* se diferencia de otras especies del mismo género por variaciones en el gnatosoma, el color del espécimen y el desarrollo de las espuelas en el primer par de coxas. Esta especie es bastante parecida y se puede confundir con *R. annulatus*, ya que también infestan al mismo hospedero, pero se diferencian en la forma de las placas adanales y el desarrollo de las espuelas del primer par de coxas, las cuales son características diagnósticas en estas especies (Estrada-Peña, 2015; Walker et al., 2003).

En el presente estudio, el total de muestras analizadas fueron identificadas morfológicamente como *Rhipicephalus microplus*. Si bien no se pudo observar las espuelas en el primer par de coxas por la resolución del instrumento de observación, la forma hexagonal de la base de gnatosoma con ángulos laterales prominentes, la ausencia de surco anal en los especímenes hembras y las placas adanales en forma de coma en los machos permitieron su identificación.

R. microplus está ampliamente distribuida en la ganadería de las zonas tropicales y subtropicales. Según Cortés (2010) y de Clercq et al. (2012), *R. microplus* es el agente infeccioso más importante en la crianza de ganado vacuno alrededor del mundo, puesto que es vector de distintos patógenos como *Babesia bigemina*, *B. bovis* y *Anaplasma marginale*. Si bien en Estados Unidos, el control de *R. microplus* ha logrado erradicarla casi completamente de su territorio salvo en zonas fronterizas, en el resto de América, específicamente en centro y Sudamérica, es la especie más distribuida en las zonas ganaderas (Evans et al., 2000). A nivel nacional, Zambrano Morales (2023) y Rojas Monzón (2022), también describen a *R. microplus* como la más prevalente entre los bovinos muestreados en sus respectivos estudios, esto concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio.

Respecto a la proporción de sexos observada, el haber obtenido una cantidad mayor de especímenes hembras adultos se debería al tipo de muestreo utilizado, puesto que se hizo de forma manual, retirando a los ixódidos directamente de su hospedero. Son las hembras adultas las que presentan mayor tamaño y son relativamente más fáciles de observar a simple vista. Además, las hembras, específicamente las hembras ya fecundadas, necesitan de una mayor demanda de alimento, por lo que pueden aumentar su tamaño y son

fácilmente observadas. En fases previas de desarrollo, las garrafas suelen tener tamaños muy pequeños (0,6-4,0 mm), casi imperceptibles, y estas etapas son de menor duración (1 a 9 días), mientras que en fases adultas suelen durar de 16 a 23 días y medir hasta 7 mm (Nuñez et al., 1982).

El gen *COI* es utilizado como un marcador de ADN para identificar especies animales, incluidas las garrafas, siendo utilizado como un código de barras de ADN (DNA barcoding). Se ha demostrado también su superioridad en la diferenciación del complejo de subespecies de *R. microplus* con respecto a los demás genes mitocondriales como *12s*, *16s* o el *ITS2* (Sankar et al., 2024a). En el presente estudio el análisis de la secuencia nucleotídica del gen mitocondrial *COI* confirmó los resultados morfológicos. Aunque el número de muestras identificadas por el análisis molecular fue reducido (11 muestras), este fue realizada en muestras de especímenes que compartían los mismos caracteres morfológicos, y que son propios de *R. microplus*. Estudios como el de Barraza Tizoc, (2019), utilizó catorce muestras, de las cuales secuenció el gen *16s* y demostró poca variabilidad genética entre las poblaciones de diferentes regiones del estado de Sinaloa. De igual manera, Guimarães Csordas et al., (2016), utilizaron 22 secuencias del gen *COI* y demostraron la presencia de 10 halotipos en 5 regiones de Brasil sin una diferenciación clara en la distribución de estos halotipos. De este modo, el análisis del gen *COI* permitió reforzar los resultados obtenidos por el análisis morfológico, confirmando que las muestras trabajadas pertenecen a la especie *R. microplus*.

El análisis molecular permitió generar información adicional respecto a la relación entre las garrafas procedentes del ganado vacuno del departamento de San Martín y de otras partes del mundo. El árbol filogenético generado con las secuencias de *R. microplus* y

otras especies de garrapatas (Figura 4), demuestra una estrecha relación entre las muestras de San Martín con las de los países como Colombia y Estados Unidos (USA), las cuales han sido previamente agrupadas como parte del Clado A (Sankar et al., 2024b). En este clado se encuentran agrupadas las subespecies de *R. microplus* pertenecientes a regiones como Sudamérica, África y Asia (Guimarães Csordas et al., 2016).

Diferentes estudios han demostrado una baja variabilidad genética entre poblaciones pertenecientes a diferentes regiones geográficas (Barraza Tizoc, 2019; Guimarães Csordas et al., 2016). Las secuencias obtenidas están estrechamente relacionadas con las secuencias de Brasil, Panamá y Colombia, lo que demuestra una estructura geográfica clara que podría estar relacionada con el comercio de ganado y, por consecuencia, el traspaso de sus garrapatas. Para Sattler et al., (1986), el movimiento constante de ganado entre regiones puede dar lugar a un flujo de genes suficiente como para evitar una divergencia genética sustancial entre poblaciones geográficamente distantes. Si bien el gen *COI* ha sido ampliamente utilizado por su alta efectividad para identificar clados de *R. microplus*, presenta una resolución limitada para identificar variaciones intraespecíficas y puede no detectar divergencias poblacionales recientes, es por ello que se recomienda la incorporación de otros marcadores moleculares (*12s*, *16s*, *ITS2* y *Bm86*) en próximos estudios para un análisis más robusto (Berry, 2017; Sankar et al., 2024a).

Las pequeñas diferencias dentro de los subgrupos de *R. microplus* se deben principalmente a adaptaciones ambientales (condiciones de humedad y temperatura), además del creciente aumento de la resistencia a acaricidas con las que se controla (Domínguez-García et al., 2010; Rodríguez-Vivas et al., 2012). La aplicación extensiva e indiscriminada de acaricidas ha guiado el aumento de la resistencia a los acaricidas

químicos debido a la presión selectiva. Los polimorfismos de un solo nucleótido en genes diana son uno de los mecanismos más comunes responsables del desarrollo de la resistencia adquirida a los acaricidas químicos (Johnson, 2023b).

Las limitaciones, desde el lado de la identificación morfológica fueron principalmente la resolución de los instrumentos de laboratorio y la falta de experiencia previa que podría inducir errores en la identificación, puesto que existen especies con características similares, es por ello que se utilizó la caracterización molecular, con el fin de confirmar la identificación morfológica. A nivel molecular, la resolución del gen *COI* puede no ser suficiente para comprender todas las relaciones intraespecíficas de *R. microplus*, es por ello que actualmente se recomienda utilizar análisis multilocus para comprender más a fondo estas relaciones.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- *Rhipicephalus microplus* es la única especie identificada en el conjunto de muestras colectadas en el ganado vacuno del departamento de San Martín-Perú, durante el presente estudio, lo que confirma su alta prevalencia en zonas tropicales y subtropicales de Sudamérica.
- El análisis molecular fue congruente con la identificación morfológica con lo cual se respalda la validez del enfoque combinado como un método confiable para la caracterización taxonómica de las garrapatas.
- Las variantes genéticas del gen *COI* de *R. microplus* pertenecen al Clado A, del cual son parte especímenes presentes en diferentes zonas de América, lo cual sugiere una baja variabilidad genética y una posible dispersión reciente y homogénea en la región.
- La mayor cantidad de hembras podría estar relacionada con el método de muestreo y la estrategia reproductiva de la especie.
- La poca resolución del gen *COI* para detectar variaciones intraespecíficas, resalta la necesidad de incorporar otros marcadores moleculares para una mayor comprensión de la diversidad y resistencia a los acaricidas de *Rhipicephalus microplus*.

5.2. Recomendaciones

- Implementar programas de monitoreo epidemiológicos en el ganado del departamento de San Martín, a fin de detectar oportunamente la presencia de otras especies y la presencia de patógenos transmitidos por vectores.
- Realizar estudios multilocus utilizando marcadores adicionales, con el fin de evaluar la variabilidad genética regional y la posible aparición de cepas resistentes a acaricidas.
- Integrar la información generada en este estudio con programas nacionales de control sanitario bovino, de manera que sirva como base para el desarrollo de estrategias sostenibles de prevención de control de garrapatas en el trópico peruano.

LISTA DE REFERENCIAS

- Abbas, R.Z., Zaman, M.A., Colwell, D.D., Gilleard, J., Iqbal, Z., 2014. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. *Vet Parasitol.* <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.03.006>
- Acevedo-Gutiérrez, L.Y., Paternina, L.E., Pérez-Pérez, J.C., Londoño, A.F., López, G., Rodas, J.D., 2019. Garrapatas duras (Acari: Ixodidae) de Colombia, una revisión a su conocimiento en el país. *Acta biol. Colomb* 25, 126–139. <https://doi.org/10.15446/abc>
- Adams, D., 2024. DNA Sequencing [WWW Document]. URL <https://www.genome.gov/genetics-glossary/DNA-Sequencing> (accessed 3.31.24).
- Alfredo Cortés-Vecino, J., 2011. Garrapatas: estado actual y perspectivas, Biomédica.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J., 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215, 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Avendaño-Reyes, L., Macías-Cruz, U., Correa-Calderón, A., 2022. Parasites, External: Tick Infestations, in: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, pp. 444–450. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00068-4>
- Barraza Tizoc, C.L., 2019. Identificación morfológica, Genética y Georreferenciación de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en Sinaloa (Maestría). Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán.
- Barros-Battesti, D.M., Arzua, M., Bechara, G.H., 2006. Carrapatos de importância médica-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo.

Bates, P., 2012. Ticks (Ixodida)., in: External Parasites of Small Ruminants. A Practical Guide to Their Prevention and Control. CAB International, UK, pp. 49–61.
<https://doi.org/10.1079/9781845936648.0049>

Beati, L., Keirans, J.E., 2001. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *Journal of Parasitology* 87, 32–48. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087)

Berihum Afera, H. biruk, Jibril, Y., 2012. Prevalencia e identificación de garrapatas en el ganado alrededor de Mekelle. *Revista Electrónica de Veterinaria* 13, 1–11.

Bermúdez, S., Apanaskevich, D., Domínguez, L., Guglielmone, A., 2018. Garrapatas Ixodidae de Panamá.

Berry, C.M., 2017. Resolution of the taxonomic status of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. Institute of biodiversity, Glasgow.

Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*.

Black, W.C., Piesmant, J., 1994. Phylogeny of hard-and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* 91, 10034–10038.

Boada Parra, D.C., 2018. Determinación de la prevalencia y clasificación morfológica de garrapatas, mediante observación directa y examen clínico en caninos de la parroquia de Guayllabamba, Pichincha. Universidad de las Américas, Quito.

Bowman, D.D., 2011. Georgis Parasitología para Veterinarios, Novena. ed. Elsevier España, Barcelona.

Burger, T.D., Shao, R., Barker, S.C., 2014. Phylogenetic analysis of mitochondrial genome sequences indicates that the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, contains a cryptic species. *Mol Phylogenet Evol* 76, 241–253.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.03.017>

Bustillos Huilca, R.C., 2014. Ecología parasitaria de las Garrapatas (Acari: Ixodidae) en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador. Universidad Central del Ecuador, Quito.

Cantú Covarrubias, A., García Vásquez, Z., 2013. Estrategias para el control integrado de garrapata (*Boophilus* spp.) en la producción de bovinos de carne en pastoreo en Tamaulipas, Primera Edicion. ed. México D.F.

Castillo-Cerón, J.M., Goyenechea, I., 2007. Conceptos básicos en sistemática filogenética: los deuterostomados como ejemplo, in: La Sistemática, Base Del Conocimiento de La Biodiversidad. Amalgama Arte Editorial, México D.F., pp. 145–158.

Cervantes Santa Cruz, M.A., 2018. Identificación morfológica y molecular de garrapatas colectadas de perros con erlichiosis en el distrito de Chiclayo, Lambayeque- Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Cortés, J.A., 2010. Cambios en la distribución y abundancia de las garrapatas y su relación con el calentamiento global. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia* 57, 48–58.

Miraballes Ferrer, M.C., 2018. Antecedentes, prevención y control de *Rhipicephalus microplus* y de la tristeza parasitaria en Uruguay (Doctoral). Universidad de la República, Montevideo.

Dale, W.E., 1976. Índice-catálogo bibliográfico de las garrapatas (Ixodoidea) registradas en el Perú. Revista Peruana de Entomología 20, 100–102.

de Clercq, E.M., Vanwambeke, S.O., Sungirai, M., Adehan, S., Lokossou, R., Madder, M., 2012. Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. Exp Appl Acarol 58, 441–452.
<https://doi.org/10.1007/s10493-012-9587-0>

Dias Filho, F.D.C., Coelho Linhares, G.F., Castilho Duarte, S., Lima Linhares, D.C., 2005. Obtenção de isolados puros de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* a partir de larvas e ninfas de *Boophilus microplus* em bezerros neonatos privados de colostr. Revista de Patología Tropical 34, 197–204.

Diyes, G.C.P., Rajakaruna, R.S., 2017. Life cycle of Spinose ear tick, *Otobius megnini* (Acari: Argasidae) infesting the race horses in Nuwara Eliya, Sri Lanka. Acta Trop 166, 164–176. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2016.11.026>

Domínguez-García, D.I., Rosario-Cruz, R., Almanzán-García, C., Saltijeral- Oaxaja, J.A., De La Fuente, J., 2010. *Boophilus microplus*: aspectos biológicos y moleculares de la resistencia a los acaricidas y su impacto en la salud animal. Tropical and Subtropical Agroecosystems 12, 181–192.

Eilbert, W., Matella, A., 2024. Tick-Borne Diseases. Emerg Med Clin North Am 42, 287–302. <https://doi.org/10.1016/J.EMC.2024.01.004>

Encinosa Guzmán, P.E., Bello Soto, Y., Rodríguez-Mallon, A., 2016. Genetic and biological characterization of a Cuban tick strain from *Rhipicephalus sanguineus* complex and its sensitivity to different chemical acaricides. *Int J Acarol* 42, 18–25.

<https://doi.org/10.1080/01647954.2015.1113309>

Estrada-Peña, A., 2015. Orden Ixodida: Las garrapatas. *Ibero Diversidad Entomológica* 1–15.

Evans, D.E., Martins, J.R., Guglielmone, A.A., 2000. A review of the ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution - 1. The State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95, 453–470.

<https://doi.org/10.1590/S0074-02762000000400003>

Futse, J.E., Ueti, M.W., Knowles, D.P., Palmer, G.H., 2003. Transmission of *Anaplasma marginale* by *Boophilus microplus*: Retention of Vector Competence in the Absence of Vector-Pathogen Interaction. *J Clin Microbiol* 41, 3829–3834.

<https://doi.org/10.1128/JCM.41.8.3829-3834.2003>

Geospiza, I., 2006. FinchTV V1.4. (2006) A Brilliant Trace Viewer. [WWW Document].

Guglielmone, A.A., Nava, S., R, 2005. Las garrapatas de la familia Argasidae y de los géneros *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Rhipicephalus* (Ixodidae) de la Argentina: distribución y hospedadores. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 34, 123–141.

Guimarães Csordas, B., Valério Garcia, M., Casquero Cunha, R., Giachetto, P.F., Zaidan Blecha, I.M., Andreotti, R., 2016. New insights from molecular characterization of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. *Revista*

Brasileira de Parasitologia Veterinaria 25, 317–326. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016053>

Guizzo, M.G., Parizi, L.F., Nunes, R.D., Schama, R., Albano, R.M., Tirloni, L., Oldiges, D.P., Vieira, R.P., Oliveira, W.H.C., Leite, M.D.S., Gonzales, S.A., Farber, M., Martins, O., Vaz, I.D.S., Oliveira, P.L., 2017. A *Coxiella mutualist* symbiont is essential to the development of *Rhipicephalus microplus*. *Sci Rep* 7.

<https://doi.org/10.1038/s41598-017-17309-x>

Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NI. *Nucleic Acids Symp Ser* 41, 95–98.

INEI, 2012. Censo Nacional Agropecuario 2012, Resultados Definitivos. IV Censo Nacional Agropecuario. Lima.

Rodríguez-Vivas, R.I., Hodgkinson, J.E., Trees, A.J., 2012. Resistencia a los acaricidas en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: situación actual y mecanismos de resistencia. *Rev Mex Cienc Pecu* 3, 9–24.

Johnson, N., 2023a. Tick classification and diversity, in: Ticks. Elsevier, pp. 9–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91148-1.00013-7>

Johnson, N., 2023b. Ticks: biology, ecology, and diseases. *Ticks: Biology, Ecology, and Diseases* 1–229. <https://doi.org/10.1016/C2021-0-00008-0>

Keirans, J.E., Clifford, C.M., Hoogstraal, H., Easton, E.R., 1976. Discovery of *Nuttalliella namaqua* Bedford (Acarina: Ixodoidea: Nuttalliellidae) in Tanzania and redescription of the female based on scanning electron microscopy. *Ann Entomol Soc Am* 69, 926–932. <https://doi.org/10.1093/AESA/69.5.926>

Klompen, H., Grimaldi, D., 2001. First mesozoic record of a parasitiform mite: a larval Argasid tick in cretaceous amber (Acari: Ixodida: Argasidae). *Ann. Entomol. Soc. Am* 94, 10–15.

Koller, W.W., Da Silva Rodrigues, V., Valério Garcia, M., Cavalcante Barros, J., Andreotti, R., 2017. Biologia e controle de *Dermacentor nitens*: o carrapato-da-orelha-do-cavalo, Primera. ed. Brasilia.

Labruna, M.B., Fugisaki, E.Y.M., Pinter, A., Duarte, J.M.B., Szabó, M.J.P., 2003. Life cycle and host specificity of *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Exp Appl Acarol* 30, 305–316.

<https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000006514.02451.6D>

Labruna, M.B., Naranjo, V., Mangold, A.J., Thompson, C., Estrada-Peña, A., Guglielmone, A.A., Jongejan, F., De La Fuente, J., 2009. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *BMC Evol Biol* 9.

<https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-46>

Lazar, I.Jr., Lazar Istvan Sr., n.d. GelAnalyzer 23.1.1 [WWW Document]. URL <https://www.gelanalyzer.com> (accessed 9.10.25).

Low, V.L., Tay, S.T., Kho, K.L., Koh, F.X., Tan, T.K., Lim, Y.A.L., Ong, B.L., Panchadcharam, C., Norma-Rashid, Y., Sofian-Azirun, M., 2015. Molecular characterization of the tick *Rhipicephalus microplus* in Malaysia: New insights into the cryptic diversity and distinct genetic assemblages throughout the world. *Parasit Vectors* 8. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0956-5>

Lv, J., Wu, S., Zhang, Y., Chen, Y., Feng, C., Yuan, X., Jia, G., Deng, J., Wang, C., Wang, Q., Mei, L., Lin, X., 2014. Assessment of four DNA fragments (COI, 16S

- rDNA, ITS2, 12S rDNA) for species identification of the Ixodida (Acari: Ixodida). Parasit Vectors 7, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-93/TABLES/4>
- Madder, M., Thys, E., Achi, L., Touré, A., De Deken, R., 2011. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: A most successful invasive tick species in West-Africa. Exp Appl Acarol 53, 139–145. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9390-8>
- Marmiroli, N., Maestri, E., 2025. Polymerase Chain Reaction (PCR), in: Food Toxicants Analysis: Techniques, Strategies and Developments. StatPearls Publishing, pp. 147–187. <https://doi.org/10.1016/B978-044452843-8/50007-9>
- Márquez-Jiménez, F.J., Hidalgo-Pontiveros, A., Contreras-Chova, F., Rodríguez-Liébana, J.J., Muniain-Ezcurra, M.Á., 2005. Ticks (Acarina: Ixodidae) as vectors and reservoirs of pathogen microorganisms in Spain. Enferm Infect Microbiol Clin. <https://doi.org/10.1157/13071613>
- McGinley-Smith, D.E., Tsao, S.S., 2003. Dermatoses from ticks. J Am Acad Dermatol. [https://doi.org/10.1067/S0190-9622\(03\)01868-1](https://doi.org/10.1067/S0190-9622(03)01868-1)
- Melendreras-Fernández, B., 2019. Enfermedades víricas transmitidas por garrapatas en Canarias: sería posible la transmisión en Canarias del virus Crimea-Congo. Universidad de La Laguna, La Laguna.
- Mora Sandoval, F.A., 2018. Estado epidemiológico de las enfermedades transmitidas por garrapatas que afectan al hombre en Europa (Maestría). Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona.
- Moudgil, A.D., Nehra, A.K., Vohra, S., 2023. Phylogeography and demographic dynamics of *Rhipicephalus microplus* from North India. Infection, Genetics and Evolution 112. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2023.105464>

Muhanguzi, D., Byaruhanga, J., Amanyire, W., Ndekezi, C., Ochwo, S., Nkamwesiga, J., Mwiine, F.N., Tweyongyere, R., Fourie, J., Madder, M., Schetters, T., Horak, I., Juleff, N., Jongejan, F., 2020. Invasive cattle ticks in East Africa: Morphological and molecular confirmation of the presence of *Rhipicephalus microplus* in south-eastern Uganda. *Parasit Vectors* 13, 1–9. <https://doi.org/10.1186/S13071-020-04043-Z/FIGURES/5>

National Center of Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, 2017. CDC - DPDx - Ticks [WWW Document]. URL <https://www.cdc.gov/dpdx/ticks/index.html> (accessed 6.24.24).

Nava, S., Mangold, A.J., Simonato, G.E., Puntin, E., Sproat, M. del C., 2019a. Guía para la identificación de las principales especies de garrapatas que parasitan a los bovinos en la provincia de Entre Ríos, Argentina. Ediciones INTA.

Nava, S., Mangold, A.J., Simonato, G.E., Puntin, E., Sproat, M. del C., 2019b. Guía para la identificación de las principales especies de garrapatas que parasitan a los bovinos en la provincia de Entre Ríos, Argentina, Primera. ed. Ediciones INTA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Need, J.T., Dale, W.E., Keirans, J.E., Dasch, G.A., 1991. Annotated list of ticks (Acarina: Ixodidae, Argasidae) reported in Peru: distribution, hosts, and bibliography, J. Med. Entomol.

Norris, D.E., Klompen, J.S.H., Black IV, W.C., 1999. Comparison of the mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA genes in resolving phylogenetic relationships among hard ticks (Acarina: Ixodidae). *Ann Entomol Soc Am* 92, 117–129.

<https://doi.org/10.1093/AESA/92.1.117>

- Nuñez, J.L., Muñoz Cobeñas, M.E., Moltedo, H.L., 1982. *Boophilus microplus* La Garrapata del Ganado Vacuno, Primera Edición. ed. Buenos Aires.
- Pegram, R.G., Tatchell, R.J., de Castro, J.J., Chizyuka, H.G.B., Creek, M.J., McCosker, P.J., Moran, M.C., Nigarura, G., 1993. Tick control: New concepts [WWW Document]. FAO. URL <https://www.fao.org/3/U9550T/u9550T04.htm> (accessed 3.14.24).
- Polanco-Echeverry, D.N., Ríos-Osorio, L.A., 2016. Biological and ecological aspects of hard ticks. *Ciencia Tecnología Agropecuaria* 17, 81–95.
https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL17_NUM1_ART:463
- Pratt, H.D., Littig, K.S., 1974. Biological aspects of Ticks, in: *Ticks of Public Health Importance and Their Control*. Atlanta, pp. 11–26.
- Pullido-Villamarín, A. del P., Castañeda-Salazar, R., Ibarra-Ávila, H., Gómez-Méndez, L.D., Barbosa-Buitrago, A.M., 2016. Microscopy and morphological characteristics of some ectoparasites of veterinary interest. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru* 27, 91–113.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v27i1.11449>
- Quiroz- Romero, H., 2005. Ixódidos, in: Limusa (Ed.), *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México D.F., pp. 767–802.
- Radman, N.E., Gamboa, M.I., Monina M. I., Linzitto, O.R., 2008. Enfermedades parasitarias y parasitología Hallazgo de *Otobius megnini* (Dugès 1883) en equinos de la provincia de Buenos Aires. *Rev. Med. Vet. (B. Aires)* 89, 114–116.
- Rajalakshmi, S., 2017. Different types of PCR techniques and its applications. *IJPCBS* 2017, 285–292.

Ribeiro, J.M.C., 1989. Role of saliva in tick/host interactions. *Exp Appl Acarol* 7, 15–20. [https://doi.org/10.1007/BF01200449/METRICS](https://doi.org/10.1007/BF01200449)

Rich, S.M., Caporale, D.A., Telford, S.R., Kocher, T.D., Hartl, D.L., Spielman, A., 1995. Distribution of the *Ixodes ricinus*-like ticks of eastern North America. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 6284–6288. <https://doi.org/10.1073/PNAS.92.14.6284>

Rodrigues, V. da S., Garcia, M.V., Cruz, B.C., Maciel, W.G., Zimmermann, N.P., Koller, W.W., Barros, J.C., Andreotti, R., 2017. Life cycle and parasitic competence of *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. *Ticks Tick Borne Dis* 8, 379–384.
<https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2016.12.014>

Rodriguez-Vivas, R.I., Jonsson, N.N., Bhushan, C., 2018. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol Res*. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>

Rojas Monzón, E.A., 2022. Identificación de especies de garrapatas en bovinos de los departamentos de la región central del Perú (Pregrado). Universidad Nacional Agraria La molina, Lima.

Spickler, A.R., 2022. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Rumer, L., Sheshukova, O., Dautel, H., Mantke, O.D., Niedrig, M., 2011. Differentiation of medically important Euro-Asian tick species *Ixodes ricinus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes hexagonus*, and *Dermacentor reticulatus* by polymerase chain reaction. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11, 899–905.
<https://doi.org/10.1089/VBZ.2009.0191>

Sankar, M., Kumar, B., Manjunathachar, H.V., Parthasarathi, B.C., Nandi, A., Neethu, C.K.S., Nagar, G., Ghosh, S., 2024a. Genetic Diversity of *Rhipicephalus*

(*Boophilus*) *microplus* for a Global Scenario: A Comprehensive Review.

Pathogens 13, 516. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS13060516/S1>

Sankar, M., Kumar, B., Manjunathachar, H.V., Parthasarathi, B.C., Nandi, A., Neethu, C.K.S., Nagar, G., Ghosh, S., 2024b. Genetic diversity of *Rhipicephalus*

(*Boophilus*) *microplus* for a global scenario: A comprehensive review. Pathogens.

<https://doi.org/10.3390/pathogens13060516>

Sattler, P.W., Hilburn, L.R., Davey, R.B., George, J.E., Rojas Avalos, J.B., 1986.

Genetic similarity and variability between natural populations and laboratory

colonies of North American *Boophilus* (Acari: Ixodidae). J Parasitol 72, 95–100.

<https://doi.org/10.2307/3281799>

Serra Freire, N.M., Miziara, S.R., 1989. Influencia do hospedeiro no ciclo e

comprovacao do ciclo heteroxeno de *Anocentor nitens* (Nuemann 1897). Mem Inst

Oswaldo Cruz 84, 213–218. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0074-02761989000800040>

Shi, H., Duan, L., Liu, F., Hu, Y., Shi, Z., Chen, X., Yang, H., Yan, B., Yao, L., 2019.

Rhipicephalus (*Boophilus*) *microplus* ticks as reservoir and vector of “Candidatus

Mycoplasma haemobos” in China. Vet Parasitol 274, 1–5.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108929>

Silatsa, B.A., Simo, G., Githaka, N., Mwaura, S., Kamga, R.M., Oumarou, F.,

Keambou, C., Bishop, R.P., Djikeng, A., Kuiate, J.R., Njiokou, F., Pelle, R., 2019.

A comprehensive survey of the prevalence and spatial distribution of ticks

- infesting cattle in different agro-ecological zones of Cameroon. Parasit Vectors 12, 1–14. <https://doi.org/10.1186/S13071-019-3738-7/FIGURES/5>
- Singh, K., Kumar, S., Sharma, A.K., Jacob, S.S., RamVerma, M., Singh, N.K., Shakya, M., Sankar, M., Ghosh, S., 2022. Economic impact of predominant ticks and tick-borne diseases on Indian dairy production systems. Exp Parasitol 243. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2022.108408>
- Smith, M., 2024. Polymerase Chain Reaction (PCR) [WWW Document]. URL <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymerase-Chain-Reaction> (accessed 3.31.24).
- Smythe, B.G., Gerry, A.C., 2017. Spinose ear tick [WWW Document]. Veterinary Entomology. URL <https://www.veterinaryentomology.org/spinose-ear-tick> (accessed 3.17.24).
- Song, S., Shao, R., Atwell, R., Barker, S., Vankan, D., 2011. Phylogenetic and phylogeographic relationships in *Ixodes holocyclus* and *Ixodes cornuatus* (Acari: Ixodidae) inferred from COX1 and ITS2 sequences. Int J Parasitol 41, 871–880. <https://doi.org/10.1016/J.IJPARA.2011.03.008>
- Stafford, K.C., 2007. Tick management handbook an integrated guide for homeowners, pest control operators, and public health officials for the prevention of tick-associated disease. The Connecticut Agricultural Experiment Station.
- Takano, A., Fujita, H., Kadosaka, T., Takahashi, M., Yamauchi, T., 2014. Construction of a DNA database for ticks collected in Japan: application of molecular identification based on the mitochondrial 16S rDNA gene. Med. Entomol. Zool 65. <https://doi.org/10.7601/mez.65.13>

Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S., 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol* 38, 3022–3027.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

Tang, T., Ge, H.-H., Tian Ma, |, Meng-Meng Hao, |, Chen, S., Lv, C.-L., Qiu, Y.-B., Wang, Y.-H., Tian, Y., Chen, J.-J., Yuan, S., Wang, Q., Jiang, D., Fang, |, Ding, Y., Liu, W., Li, |, Fang, -Qun, Fang, L.-Q., Key, S., 2024. Global risk dynamics of *Borrelia miyamotoi* in the context of climate change ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.70000>

Trigueros-V., A., Rojas-C., M., 1999. Desarrollo y supervivencia de larvas de *Boophilus microplus* en Pucallpa, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 10, 26–33. <https://doi.org/10.15381/rivep.v10i1.6612>

Venzal, J.M., Portillo, A., Estrada-Peña, A., Castro, O., Cabrera, P.A., Oteo, J.A., 2004. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. *Emerg Infect Dis* 10, 1493–1495. <https://doi.org/10.3201/EID1008.030999>

Walker, A.R., 2012. File:Ixodes-ricinus-female-male.jpg - Wikimedia Commons [WWW Document]. URL <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ixodes-ricinus-female-male.jpg> (accessed 7.29.24).

Walker, A.R., Bouattour, A., Camicas, J.-L., Estrada-Peña, A., Horak, I.G., Latif, A.A., Pegram, R.G., Preston, P.M., 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species, Primera. ed. Bioscience Reports, Edinburgh.

Yssouf, A., Almeras, L., Raoult, D., Parola, P., 2016. Emerging tools for identification of arthropod vectors. *Future Microbiol*. <https://doi.org/10.2217/fmb.16.5>

Zambrano Morales, N.S., 2023. Identificación morfológica de garrapatas colectadas de bovinos de la región norte del Perú (Pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima.

Zhang, R.L., Zhang, B., 2014. Prospects of using DNA barcoding for species identification and evaluation of the accuracy of sequence databases for ticks (Acari: Ixodida). *Ticks Tick Borne Dis* 5, 352–358.

<https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2014.01.001>

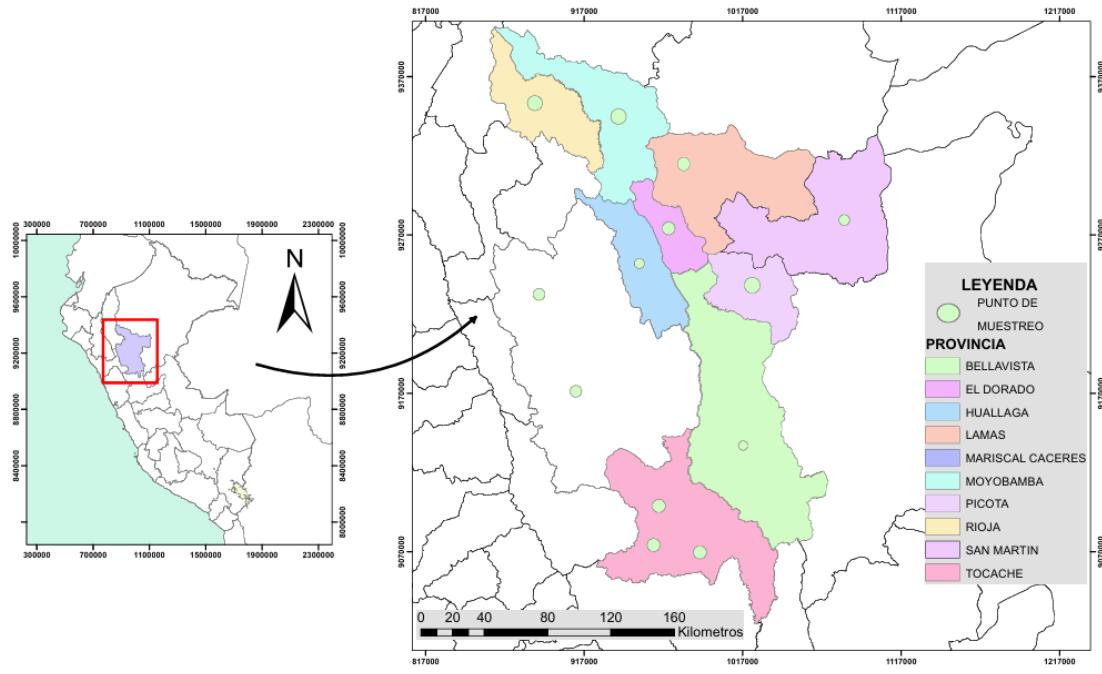
APÉNDICES

Apéndice 1: Ficha de identificación morfológica de garrapatas

Responsable.....

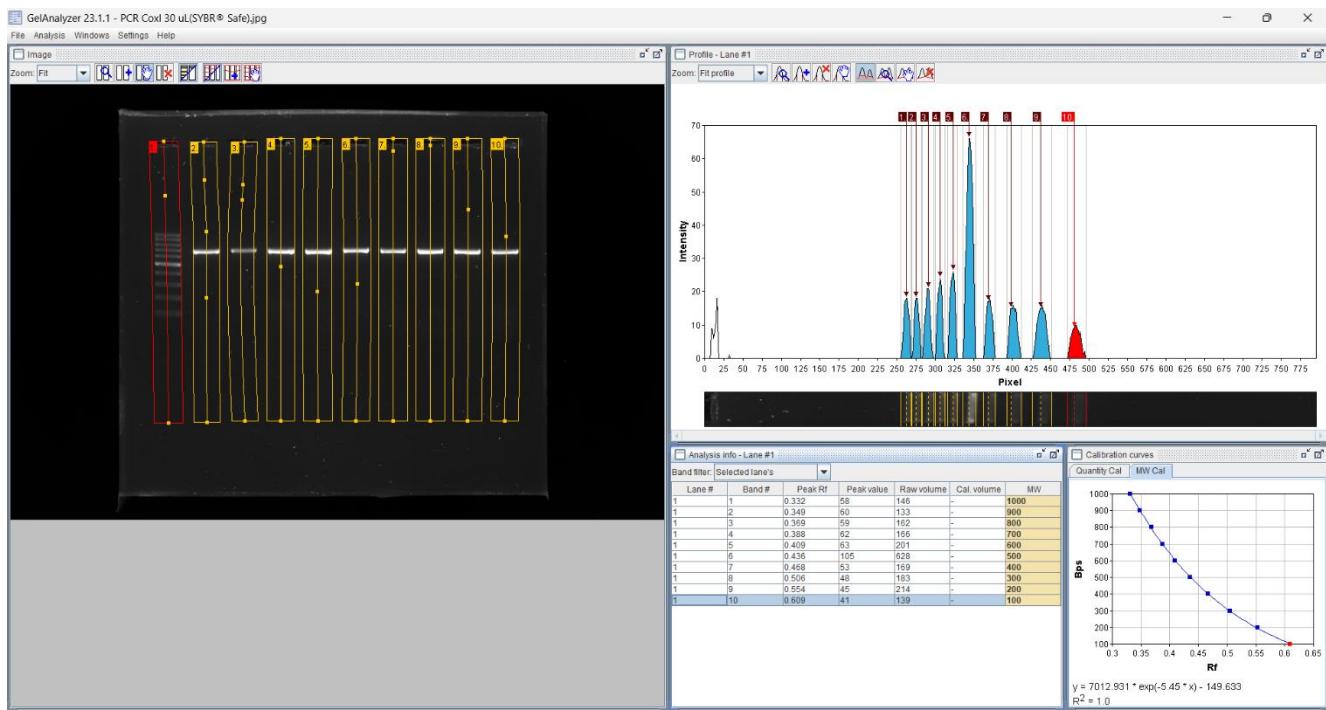
Fecha de recolección:

Apéndice 2: Mapa de la ubicación de estudio



MAPA DE UBICACIÓN DE ÁREA DE ESTUDIO

Apéndice 3: Análisis de bandas de electroforesis en el software de GelAnalyzer



Apéndice 4: Alineamiento de las secuencias del gen *COI* en MEGA

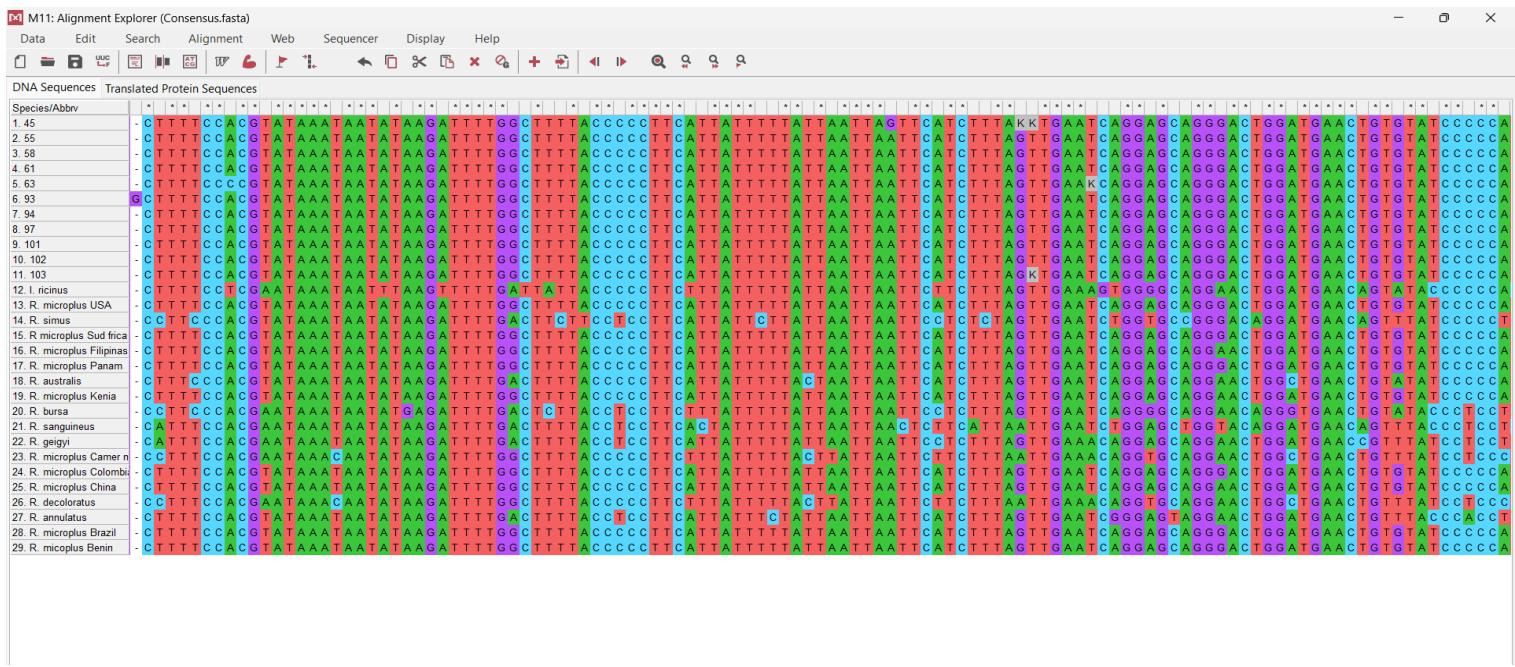


Figura 5. Alineamiento de las muestras con las secuencias obtenidas de NCBI con ClustalW.

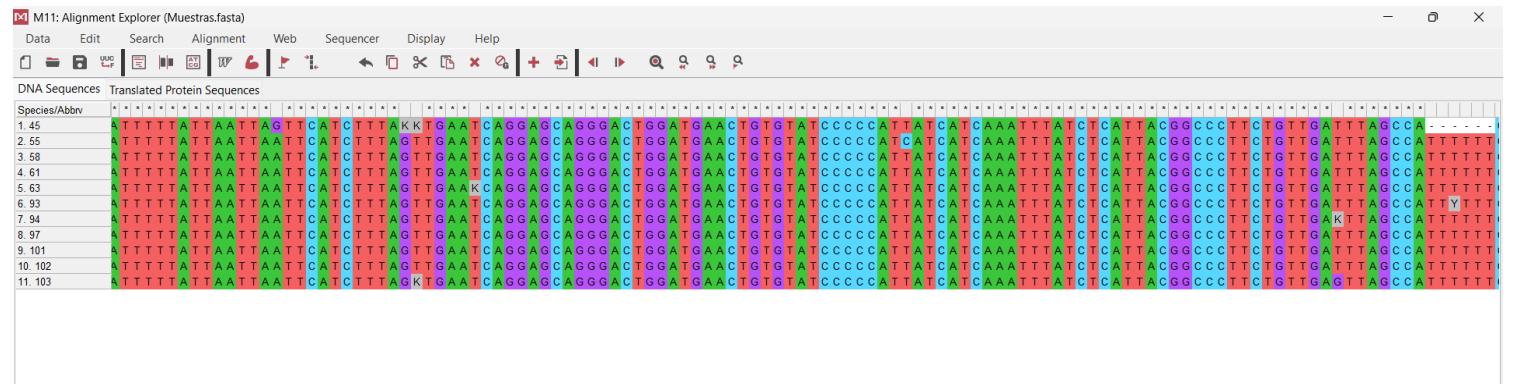


Figura 6. Alineamiento de las muestras por ClustalW

Apéndice 5: Parámetros de análisis para la construcción del árbol filogenético

M11: Analysis Preferences

Phylogeny Reconstruction

Option	Setting
ANALYSIS	
Statistical Method	→ <i>Maximum Likelihood</i>
PHYLOGENY TEST	
Test of Phylogeny	→ <i>Bootstrap method</i>
No. of Bootstrap Replications	→ <i>1000</i>
SUBSTITUTION MODEL	
Substitutions Type	→ <i>Nucleotide</i>
Genetic Code Table	→ <i>Not Applicable</i>
Model/Method	→ <i>Tamura-Nei model</i>
RATES AND PATTERNS	
Rates among Sites	→ <i>Uniform Rates</i>
No of Discrete Gamma Categories	→ <i>Not Applicable</i>
DATA SUBSET TO USE	
Gaps/Missing Data Treatment	→ <i>Use all sites</i>
Site Coverage Cutoff (%)	→ <i>Not Applicable</i>
Select Codon Positions	→ <input checked="" type="checkbox"/> 1st <input checked="" type="checkbox"/> 2nd <input checked="" type="checkbox"/> 3rd <input checked="" type="checkbox"/> Noncoding Sites
TREE INFERENCE OPTIONS	
ML Heuristic Method	→ <i>Nearest-Neighbor-Interchange (NNI)</i>
Initial Tree for ML	→ <i>Make initial tree automatically (Default - NJ/BioNJ)</i>
Initial Tree File	→ <i>Not Applicable</i>
Branch Swap Filter	→ <i>None</i>
SYSTEM RESOURCE USAGE	
Number of Threads	→ <i>7</i>
<input type="button" value="? Help"/> <input type="button" value="× Cancel"/> <input type="button" value="✓ OK"/>	

ANEXOS

Anexo 1: Clasificación de las garrapatas según Walker et.al

Tabla 1: Clasificación de las garrapatas según sus características morfológicas (Walker et al., 2003).

Grupo	Tamaño*	Aparato bucal		Otras características
		Posición	Tamaño	
Grupo 1	Grande	Ventral	Corto	Ausencia de suctum (escudo dorsal) y pulvillus.
Grupo 2	Grande	Anterior	Largo	Presencia de ojos. Patas adornadas con franjas blanquecinas.
Grupo 3	Mediano	Anterior	Largo	Ausencia de ojos. Patas totalmente oscuras.
Grupo 4	Mediano	Anterior	Corto	Ojos largos. Primera coxa con espuelas.
Grupo 5	Pequeño	Anterior	Corto	Ojos pequeños o ausentes. Primera coxa con o sin espuelas

*Tamaño grande: 6 a 8 mm; mediano 4 a 5 mm; pequeño 2 a 5 mm

Anexo 2:



Figura 6. Vista dorsal de la garrapata *Otobius megnini*. Fuente: Alec Gerry (Smythe and Gerry, 2017).

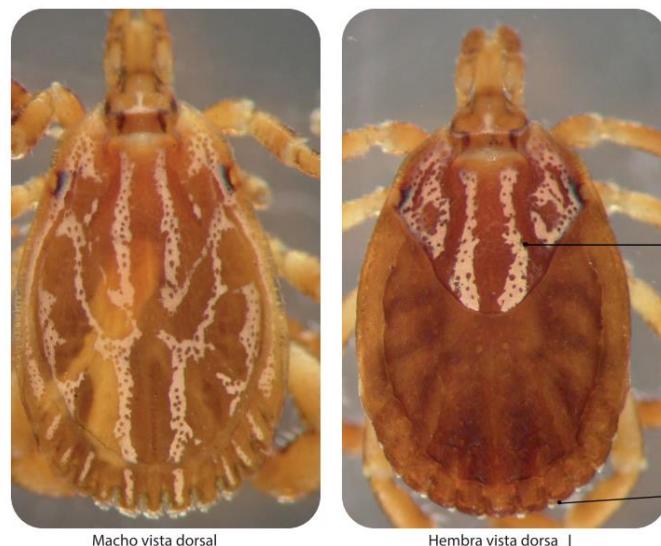


Figura 7. Vista dorsal del macho (izquierda) y hembra (derecha) de *Amblyomma triste*. Fuente: Zambrano-Morales (Zambrano Morales, 2023)



Figura 8. *Ixodes ricinus*. A la izquierda hembra adulta; a la derecha macho adulto.
Fuente: Alan Walker (Walker, 2012).

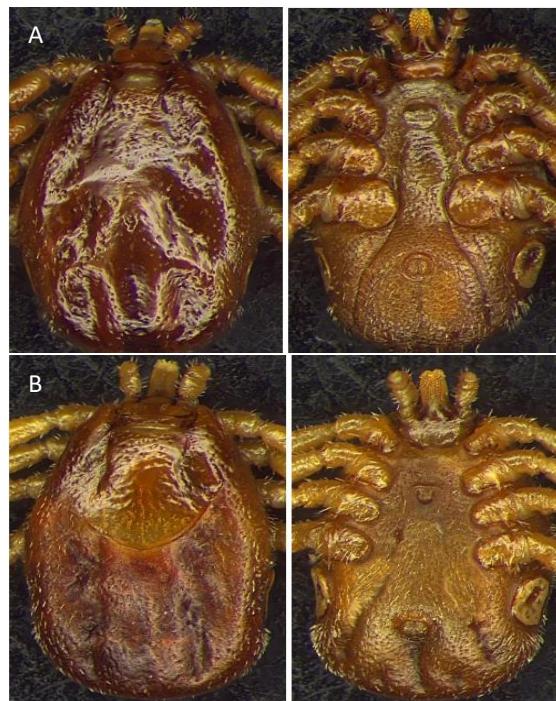


Figura 9. A. vista dorsal y ventral de macho, B. vista dorsal y ventral de la hembra de *Dermacentor nitens*. Fuente: Bermúdez et.al (Bermúdez et al., 2018b).



Figura 10. Vista dorsal y ventral de macho (A) y hembra (B) de *Rhipicephalus sanguineus*. Fuente: Bermúdez et.al (Bermúdez et al., 2018b).

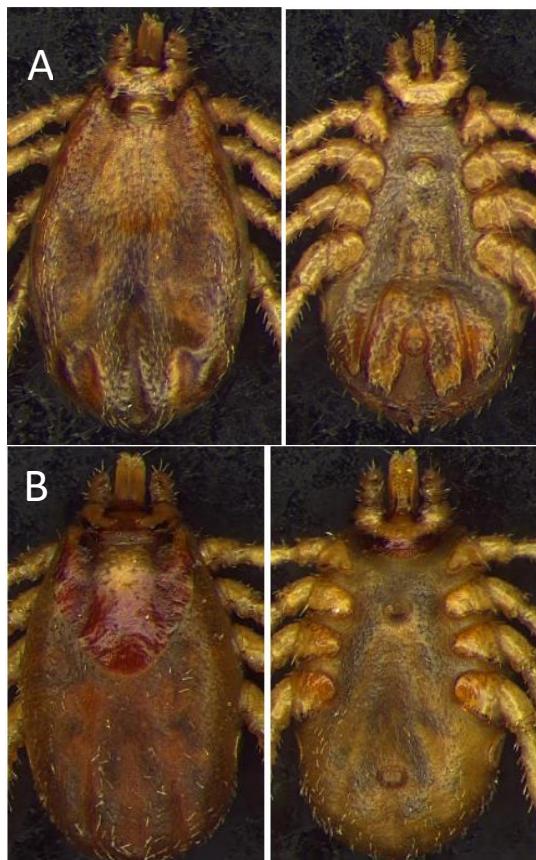


Figura 11. Vista dorsal y ventral de A. macho y B. hembra de *Rhipicephalus microplus*. Fuente: Bermúdez et.al (Bermúdez et al., 2018b).

Anexo 3: Procedimiento técnico para la inspección del ganado (Rojas Monzón, 2022)

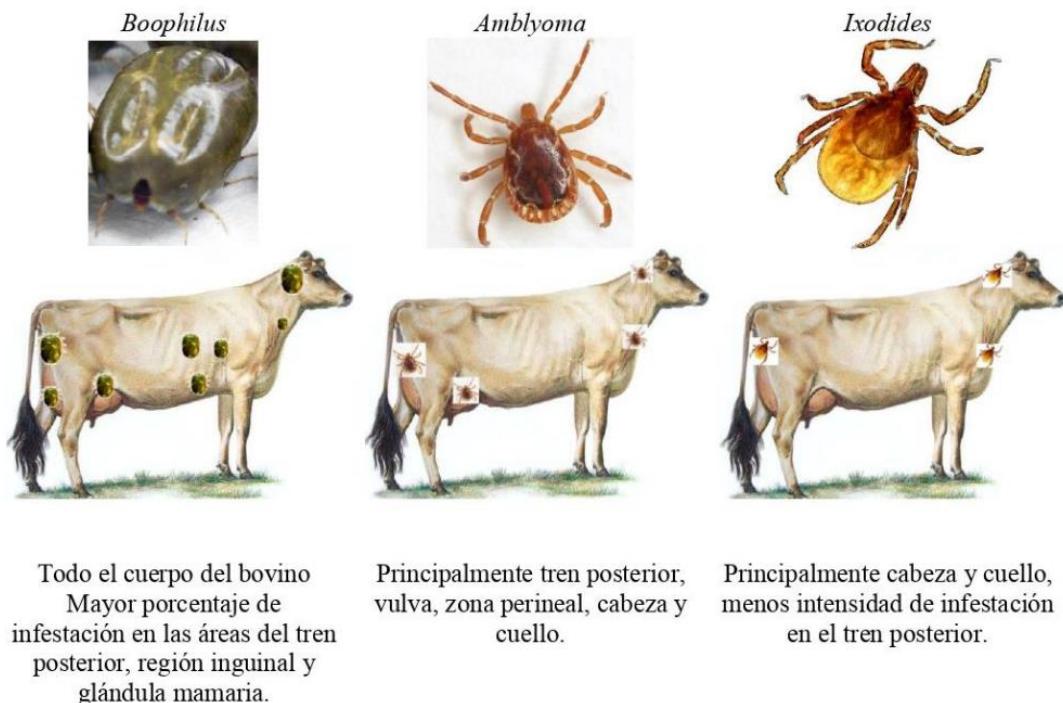
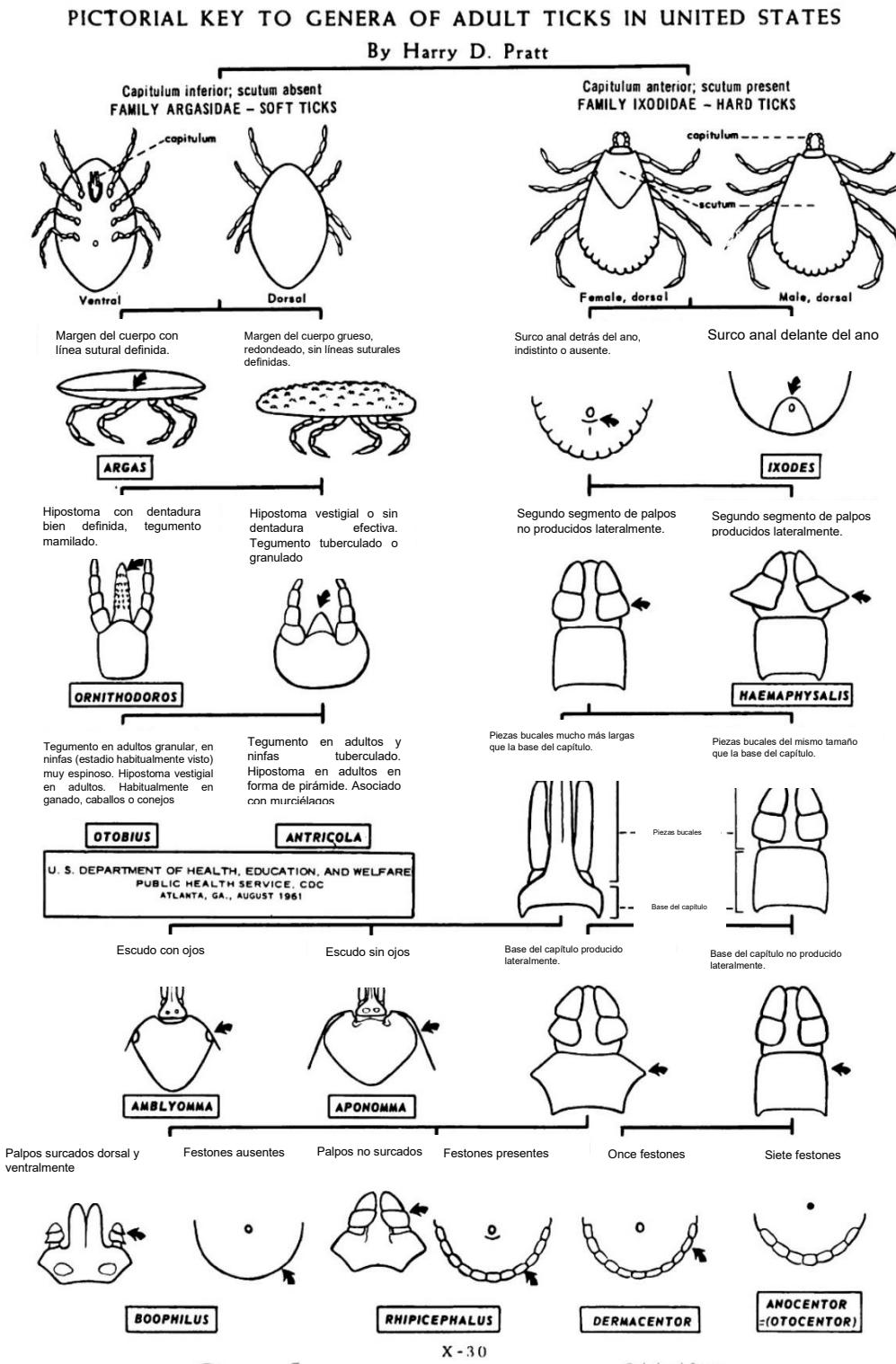


Figura 6. Ubicación anatómica referencial de las garrafas *Boophilus*, *Amblyoma* e *Ixodes* en el ganado.

Anexo 4: Claves taxonómicas para la distinción de géneros de garrapatas. Traducido de Pratt (Pratt and Littig, 1974)



Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF MINNESOTA

Figura 7. Claves pictóricas de los géneros de garrapatas adultas en Estados Unidos

Anexo 5. Claves taxonómicas para la identificación de *Dermacentor* nintes y *Rhipicephalus* spp. Traducido de Barros-Battesti (Barros-Battesti et al., 2006).

1. Surco anterior al ano, ojos y festones ausentes.....*Ixodes*.

Surco anal posterior al ano o indistinto, ojos y festones presentes o ausentes2.

2. Segundo artículo de palpos con una proyección saliente externa, ojos ausentes, escudo no ornamentado.....*Haemaphysalis*

Segundo artículo de los palpos sin proyección saliente externa, ojos presentes, escudo ornamentado o no ornamentado.....3

3. Rostro corto, base del capítulo hexagonal, placas ventrales en los machos.....*Rhipicephalus*

Rostro largo o mediano, base del capítulo no hexagonal, escudo ornamentado o no4

4. Siete festones, escudo no ornamentado, placa espiracular con 6 - 7 poros.....*Dermacentor* nintes

Once festones, escudo ornamentado o no, placa espiracular con muchos poros.....*Amblyoma*

**Anexo 6. Claves taxonómicas para la identificación de garrapatas de la especie
Otobius megnini. Traducido de Barros-Batesti (Barros-Batesti et al., 2006)**

1. Ojos presentes.....*Otobius*

Ojos ausentes.....2

2. Segmento IV de los palpos igual o más largo que le resto de los segmentos.....*Argas*

Segmento IV de los palpos más corto de los segmentos II y III.....3

3. Presencia de 3 pares de setas postcoxales.....*Antricola*

Presencia de 1 par de setas postcoxales o ausentes.....4

4. Presencia de 3 a 4 pares de setas circumanales.....*Ornithodoros*

Presencia de 5 pares de setas circumanales.....*Nothoaspis*