

Correo electrónico: rodrigor@pavet.inifap.conacyt.mx

Palabras clave: *esterasas, resistencia, B. microplus.*

Introducción. El uso constante de pesticidas en el control de plagas agrícolas, y de insectos transmisores de enfermedades tanto animales como humanas, ha ejercido una presión de selección sobre las poblaciones que ha conducido al desarrollo de resistencia hacia prácticamente todas las familias químicas utilizadas para su control. En el caso de *Boophilus microplus* el problema es aun más complejo, por que aunado a esto, se carece de un sistema para diagnosticar la resistencia, ya que el que actualmente está autorizado por FAO, es un sistema poco práctico en relación del tiempo empleado y muy limitado en cuanto al número de muestras que se pueden analizar. Por esta razón el uso de la biotecnología para la clonación de secuencias de ADN útiles para el diagnóstico y la generación de sistemas diagnósticos más prácticos representa una alternativa viable para el desarrollo de nuevas tecnologías que ayuden a resolver en parte los problemas nacionales.

Por esta razón el objetivo del presente trabajo ha sido clonar de la secuencia de una colinesterasa potencialmente útil para el desarrollo de un sistema diagnóstico para la resistencia a ixodícidias.

Metodología. Se extrajo DNA genómico a partir de larvas de *B. microplus* después de homogeneizadas a -70°C , el cual fue utilizado como plantilla en las reacciones de PCR. Se diseñaron oligonucleótidos degenerados a partir de los alineamientos de secuencias de esterasas heterólogas. El producto de PCR fue directamente clonado en el vector PCR-TOPO de acuerdo con las instrucciones del fabricante. se extrajo el DNA plasmídico el cual fue secuenciado y analizado mediante el programa BLAST (Altschul, et al. 1990).

Resultados y discusión. Se amplificó una banda de 348 bp, que fue clonada en el vector TOPO-TA. se seleccionaron cuatro colonias blancas de las que se obtuvieron dos secuencia difirieron en la presencia de tres mutaciones de punto, una de ellas produciendo un cambio del aminoácido serina por una glicina. El análisis por computadora mediante el programa BLAST mostró una alta homología con las colinesterasas de ratón (61%), de rata (60%), de humano (60%), y solo un 54% de identidad con la acetilcolinesterasa de *Boophilus microplus* reportada por Baxter y Barker en 1998. La homología entre las secuencias encontradas y las secuencias reportadas sugieren una alta probabilidad de que esta secuencia, corresponda con el gene de una colinesterasa, con dos variantes, diferentes en la secuencia, en un aminoácido. Actualmente se sabe que las esterasas en *B. microplus* presentan una actividad incrementada (Rosario-Cruz et al. 1997) y también mutaciones responsables de la resistencia (Hernández-Ortiz et al. 2000). Por lo que es probable que estas secuencias provengan de larvas susceptibles y resistentes mezcladas en la población de la cual se obtuvo el ADN. Es probable que esta mutación pueda ser utilizada como marcador molecular de resistencia mediante el diseño de un ensayo de PCR para detectar poblaciones susceptibles y resistentes de *B. microplus*.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por el CONACYT mediante el proyecto de instalación convenio I35761-B.

Bibliografía. Altschul., S.F., Warren, G., Web M, Eugene, W.M., & David J.L. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.* 215, 403-410.

Rosario, C.R., Miranda, M. E., García, V. Z. & Ortiz, E.M. (1997). Detection of esterase activity in susceptible and resistant *Boophilus microplus* tick strains. *Bull.Entomol.Res.*87, 197-202.

Hernandez, R., He, H., Chen, A.C., Waghela, S.D., Ivie, G.W., George, J.E., Wagner, G.G., 2000. Identification of a point mutation in an esterase gene in different populations of the southern cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30, 969-977.