

T
342

83995

 **NACIONAL SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO**

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



**“ALTERNATIVAS DE COMBATE CONTRA LA GARRAPATA
Boophilus microplus POR MEDIO DE PLANTAS FORRAJERAS CON
EFECTO ANTI-GARRAPATA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T A

MANUEL FERNANDEZ RUVALCABA

COMITE TUTORAL

TUTOR : Dr. JORGE SALTIJERAL OAXACA

ASESOR : Dr. ZEFERINO S. GARCIA VAZQUEZ

ASESOR : Dr. RODRIGO ROSARIO CRUZ

MEXICO, DISTRITO FEDERAL , DICIEMBRE DEL 2003.

“ El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-200-93 “.

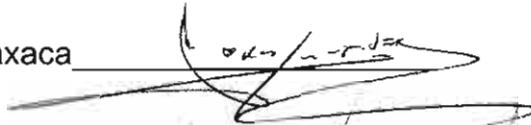
El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de las
Unidades Iztapalapa y Xochimilco
Aprobó la tesis que presentó

Manuel Fernández Ruvalcaba

El día 5 de diciembre del año de 2003

Jurado:

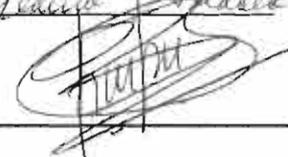
Tutor: Dr. Jorge A. Saltijeral Oaxaca



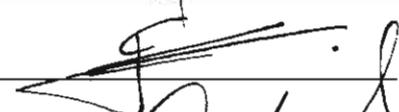
Asesor: Dr. Zeferino S. García Vázquez



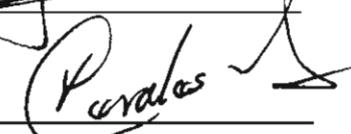
Asesor: Dr. Rodrigo Rosario Cruz



Sinodal: Dr. Carlos Cruz Vázquez



Sinodal: Dr. Catarino Perales Segovia



AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de investigación fue parcialmente financiado por el fondo concurrente SAGAR-CONACYT K0083-9702.

Al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria del INIFAP y a la UAM-X, en donde ha habido el medio de cultivo necesario para el desarrollo y culminación de la presente tesis.

A todos los asesores y sinodales que colaboraron en este trabajo.

In Memoria : Dr. Mario Camino Lavin, el cual formo parte de la elaboración y consecución de este trabajo de tesis doctoral mostrando un gran entusiasmo, dedicación, y compartimiento de sus conocimientos en los momentos en que se le requirió. Descanse en paz.

A Ingeniería, Organización y Sistemas, S. A., por el apoyo y facilidades otorgadas con su equipo de cómputo.

A mi esposa, Lorena Corral de Fernández

A mi madre, Lic. Ma. de los Angeles Ruvalcaba Vda. de Fernández

A mis hermanas, Margarita y Ma. de los Angeles

A la memoria de mi padre, Sr. Manuel Fernández Vázquez y mi hermano Rubén

Gracias

El tiempo es la sustancia de que estoy hecho, el tiempo es un río que me arrebató, pero yo soy el río; es un tigre que me destroza, pero yo soy el tigre; es un fuego que me consume, pero yo soy el fuego. El mundo desgraciadamente, es real; yo, desgraciadamente, soy . . .

Jorge Luis Borges

RESUMEN

El objetivo general del presente trabajo fue determinar el efecto anti-garrapata sobre *Boophilus microplus* de las gramíneas forrajeras *Andropogon gayanus* y *Melinis minutiflora* y las leguminosas forrajeras *Leucaena leucocephala* y *Macroptilium atropurpureum*.

El estudio de campo fue realizado en terrenos de Progreso, municipio de Jiutepec, Morelos, México, localizado en un clima subtropical subhúmedo, y en el laboratorio de Ecología de garrapatas del CENID-Parasitología Veterinaria del INIFAP en Jiutepec, Morelos, México. El experimento fue dividido en una fase de preensayos para la estandarización de la técnica de muestreo, tres fases de estudios de campo y una en condiciones de laboratorio. En la primera fase fueron establecidas las gramíneas y leguminosas y se determinó que especies presentaban el efecto anti-garrapata en las diferentes estaciones del año, en la segunda fase se estudió el efecto anti-garrapata de combinaciones gramínea-leguminosa usando a *M. minutiflora*, *A. gayanus* y *L. leucocephala*, para las combinaciones y en la fase tres se estudió el efecto anti-garrapata involucrando al hospedero bovino en los muestreos. Se establecieron parcelas experimentales para cada especie en estudio incluyendo a las leguminosas *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata*, como controles positivos y a la gramínea *Cenchrus ciliaris* como control negativo, con seis replicas para cada especie bajo un diseño factorial completamente al azar. La densidad de siembra fue equivalente a 12 kg de semilla comercial por Ha. para las gramíneas y de 6 kg por ha. para las leguminosas a excepción del pasto *M. minutiflora* el cual fue cultivado por medio de material vegetativo a razón de 4 toneladas por Ha. Una vez establecidos los cultivos el mantenimiento fue realizado manualmente y se hicieron cortes estacionales con remoción del forraje. El área experimental fue irrigada solamente durante el inicio en la estación seca cuando las forrajeras fueron sembradas. Se determinaron estacionalmente las siguientes variables agronómicas: número de plantas por m², altura de plantas, porcentaje de cobertura aérea y terrestre. Un análisis químico proximal fue realizado con muestras provenientes de las parcelas experimentales y fueron obtenidos datos climatológicos de una estación adyacente al área de

estudio. La técnica de muestreo de doble arrastre con bandera y la cantidad de 5,000 larvas activas de *B. microplus* fueron seleccionadas. Las parcelas se infestaron con las 5,000 larvas por cada repetición y especie y siete días después se efectuó el muestreo. Las infestaciones se realizaron durante cada estación del año iniciando en el otoño de 1997 y continuándose durante los otoños de 1998, 1999 y 2000, para las gramíneas. El efecto anti-garrapata fue medido como el grado de reducción en la recuperación larvaria de las parcelas experimentales comparado con los controles. Los datos fueron analizados por ANDEVA y pruebas de Duncan y Tukey. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), entre estaciones y entre especies. Los resultados demostraron el mayor efecto anti-garrapata en *M. minutiflora* el cual fue mayor en el otoño y un considerable efecto en *A. gayanus* durante el verano lo cual es coincidente con las alzas estacionales de las poblaciones de garrapatas en México. En el estudio de seguimiento de las gramíneas durante cuatro otoños se pudo comprobar que el efecto anti-garrapata se mantuvo en *M. minutiflora* y *A. gayanus*. a lo largo del lapso de tiempo estudiado, siendo este mayor en la primera.

Un estudio de correlación fue realizado, utilizando los valores de humedad, temperatura y precipitación pluvial y se encontró una fuerte correlación entre la humedad y la cantidad de larvas, tanto para gramíneas como para leguminosas. Con respecto a las leguminosas se determino que el efecto anti-garrapata se manifestó en *L. leucocephala* y *M. artropurpureum*. En las combinaciones gramínea-leguminosa se encontró que el efecto es igual al de las especies solas pero existe ventaja agronómica en la combinación *M. minutiflora* - *L. leucocephala*. En la fase tres se determino que independientemente de la técnica de muestreo y la presencia del hospedero bovino el efecto anti-garrapata siguió manifestándose en las especies antes seleccionadas por poseerlo.

El efecto anti-garrapata pudo ser demostrado también bajo condiciones de laboratorio con las plantas en cultivadas en macetas. El análisis de los datos se realizó por medio de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y ANDEVA, observándose que *M. minutiflora* y *L. leucocephala* mostraron el mayor efecto seguidas de *A. gayanus* y *B. brizanta*.

ABSTRACT

The main objective was to determine anti-tick *Boophilus microplus* effect of the grasses *Melinis minutiflora* and *Andropogon gayanus* and the legumes *Leucaena leucocephala* and *Macroptilium artropurpureum* with *Cenchrus ciliaris*, *Stylosanthes humilis*, *Stylosanthes hamata*, as controls .

The experiment was carried out at Progreso, municipality of Jiutepec, Morelos, Mexico, which has a subtropical subhumid climate on ejidal land and in the Ticks Ecology Laboratory of the CENID-Parasitología Veterinaria-INIFAP at Jiutepec, Morelos. The experiment was divided in a sampling test phase and 3 phases under field conditions. In the phase 1, was seeded and established the studied species and the selection of those that showed anti-tick effects, phase 2 was the determination of the presence or absence of this effect in the combination grass-legumen and phase 3 was the involving of the natural host of *B. microplus* in the evaluation of the anti-tick effect. Experimental plots were established for all the species studied with six replications of each one under a randomized factorial design. The seeding density was equivalent to 12 kg of commercial seed per Ha. for the grasses with the exception of *M. minutiflora* which was established with 4 tons of vegetative material per Ha. The legumes were seed with 6 kg per Ha. Maintenance of the cultures was by hand removal of the shrubs and clipping, collection and removal seasonally. The experimental field was irrigated during the spring dry season when the grasses were seeded. When the grasses were established the following agronomic characteristics were measured; number of plants per m², plant height, and percentage of aerial and ground covering. A hygrotermograph and pluviometer were placed at the border of the experimental area to record precipitation, environmental temperature and relative humidity (%). Different sampling methods and infestation numbers of tick larvae were evaluated. A double-dragging technique and the use of 5,000 larvae for infestation of the cultures were selected. Once the plots were established, they were infested with 5,000 active larvae of *B. microplus* and sampled by double dragging flannel cloths at 7 days posterior to the larval infestation. Infestation and samplings were repeated throughout 1997 and then also for the autumns of 1998, 1999 and 2000

The anti-tick effect was measured as a reduction in larvae recovered from the experimental plots and compared with the control treatments. ANOVA, Duncan and Tukey test were carried out with the data and the results showed that both *M. minutiflora* and *A. gayanus* had anti-tick *B. microplus* effect ($P < 0.05$). Tick control was most effective in autumn and *A. gayanus* in summer seasons coinciding with the greatest tick numbers in the field at Mexico. The experiment along 4 autumns for the grasses showed that the anti-tick effect was present during this period and it was major in the first grass. A correlation analysis was realized with all foraging species and showed strong correlation with the humidity. The legumes *L. leucocephala* and *M. artropurpureum* showed too anti-tick effect and the combination grass-legume was similar to the foraging species without combination but was observed an agronomical advantage in the combination. The anti-tick effect studied in plants seeded in containers and analyzed by non parametric test of Kruskal-Wallis ns ANDEVA could be checked out too under laboratory condition with the species cultured. It was observed that independently of the sampling technique or the presence of the natural host the anti-tick effect was observed.

INDICE

| | Página |
|--------|---|
| 1 | INTRODUCCIÓN..... 1 |
| 1.1. | Clasificación taxonómica..... 3 |
| 1.2. | Antecedentes..... 3 |
| 1.3. | Distribución en el país..... 6 |
| 1.4. | Ciclo biológico..... 9 |
| 1.5. | Dinámica poblacional..... 12 |
| 1.6. | Control y erradicación..... 13 |
| 1.7. | Métodos de lucha orientados al control de <i>Boophilus microplus</i> 14 |
| 1.7.1. | Control químico..... 14 |
| 1.7.2. | Razas de bovinos resistentes..... 17 |
| 1.7.3. | Control inmunológico..... 17 |
| 1.7.4. | Control cultural..... 19 |
| 1.7.5. | Rotación de potreros..... 20 |
| 1.7.6. | Manipulación del hábitat..... 21 |
| 1.8. | Mecanismos de defensa de la planta..... 23 |
| 1.9. | Control biológico..... 27 |
| 1.10. | Manejo integral de plagas (MIP)..... 32 |
| 1.11. | Manejo integral de la resistencia (MIR)..... 35 |
| 1.12. | Modelos de predicción..... 36 |
| 1.13. | Situación de la ganadería en México y en el Estado de Morelos..... 37 |
| 1.14. | Perspectivas en el control de <i>Boophilus microplus</i> en México..... 38 |
| 2 | JUSTIFICACIÓN..... 40 |
| 3 | OBJETIVO GENERAL..... 42 |
| 3.1. | Objetivos específicos..... 42 |
| 3.2. | Hipótesis..... 43 |
| 4 | METODOLOGÍA..... 44 |
| 4.1. | Sitio de estudio..... 44 |
| 4.2. | Experimentos en condiciones de campo..... 44 |
| 4.3. | Colonia de garrapatas <i>Boophilus microplus</i> 45 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.4. | Ensayos preliminares para la estandarización de la técnica de muestreo..... | 45 |
| 4.5. | Fase 1. Evaluación del efecto anti-garrapata en gramíneas y leguminosas forrajeras..... | 47 |
| 4.5.1. | Tratamientos..... | 47 |
| 4.5.2. | Pruebas de escarificación y germinación..... | 48 |
| 4.5.3. | Parcelas experimentales..... | 48 |
| 4.5.4. | Siembra..... | 50 |
| 4.5.5. | Análisis químico de los forrajes..... | 51 |
| 4.5.6. | Diseño experimental de la Fase 1..... | 51 |
| 4.5.7. | Infestación de parcelas experimentales..... | 52 |
| 4.5.8. | Evaluación del efecto anti-garrapata..... | 52 |
| 4.5.9. | Muestras..... | 52 |
| 4.5.10. | Análisis estadístico de la Fase 1..... | 53 |
| 4.6. | Fase 2. Evaluación de combinaciones de gramíneas y leguminosas en base a su efecto anti-garrapata..... | 53 |
| 4.6.1. | Diseño de Tratamientos..... | 53 |
| 4.6.2. | Siembra..... | 55 |
| 4.6.3. | Infestación..... | 55 |
| 4.6.4. | Análisis estadístico de la Fase 2..... | 56 |
| 4.7. | Fase 3. Comparación de diferentes técnicas de muestreo involucrando al hospedero bovino en pastos con efecto anti-garrapata..... | 56 |
| 4.7.1. | Tratamientos..... | 56 |
| 4.7.2. | Parcelas experimentales e infestaciones..... | 56 |
| 4.7.3. | Análisis estadístico de la Fase 3..... | 62 |
| 4.8. | Experimento de cultivo en macetas en condiciones de laboratorio de cinco especies forrajeras..... | 62 |
| 4.8.1. | Cultivo en macetas..... | 62 |
| 4.8.2. | Análisis estadístico..... | 63 |
| 5 | RESULTADOS | 64 |
| 5.1. | Resultados de los ensayos preliminares para la estandarización de la técnica de muestreo..... | 64 |
| 5.2. | Fase 1..... | 66 |
| 5.2.1. | Evaluación del efecto anti-garrapata en gramíneas..... | 66 |
| 5.2.2. | Evaluación del efecto anti-garrapata en leguminosas..... | 68 |
| 5.2.3. | Evaluación del efecto anti-garrapata en gramíneas y leguminosas analizadas conjuntamente..... | 70 |
| 5.3. | Fase 2. Evaluación de combinaciones de gramíneas y leguminosas en base a su efecto anti-garrapata..... | 78 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 5.4. | Fase 3. Comparación de diferentes técnicas de muestreo involucrando al hospedero bovino en pastos con efecto anti-garrapata..... | 82 |
| 5.5. | Experimento de cultivo en macetas en condiciones de laboratorio de cinco especies forrajeras..... | 86 |
| 6 | DISCUSIÓN..... | 94 |
| 7 | CONCLUSIONES..... | 103 |
| 8 | LITERATURA CITADA..... | 105 |
| 9 | APÉNDICE..... | 129 |
| 9.1. | Promedios de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas de tres gramíneas forrajeras y sus gráficas de la prueba de normalidad..... | 129 |
| 9.2. | Descripción de variables agronómicas de tres gramíneas forrajeras al establecimiento y al tiempo del muestreo de larvas de <i>B. Microplus</i> | 134 |
| 9.3. | Descripción de variables agronómicas de cuatro leguminosas forrajeras al establecimiento y al tiempo del muestreo de larvas de <i>B. microplus</i> | 135 |
| 9.4. | Resultados de ANDEVA de un factor para la fase 2 de combinación gramíneas–leguminosa..... | 136 |
| 9.5. | Resultados del análisis de Kruskal-Wallis para la combinación de gramíneas-leguminosa..... | 136 |
| 9.6. | Porcentajes de reducción de número de larvas de garrapata en gramíneas y leguminosas comparadas con <i>C. Ciliaris</i> durante cuatro estaciones del año..... | 137 |
| 9.7.a. | Porcentajes de reducción de larvas de <i>B. Microplus</i> en tres gramíneas forrajeras considerando como 100% a las 5,000 larvas liberadas..... | 138 |
| 9.7.b. | Porcentajes de reducción de larvas de <i>B. microplus</i> en dos gramíneas forrajeras considerando como 100% al promedio de larvas recuperadas en el testigo <i>C. ciliaris</i> para cada estación..... | 138 |
| 9.8. | Larvas de <i>B. Microplus</i> recuperadas en cuatro leguminosas forrajeras a los 7 días posteriores a su liberación..... | 139 |

| | | |
|------|--|-----|
| 9.9. | Resultados del análisis químico proximal de muestras de parcelas cultivadas con especies forrajeras..... | 140 |
|------|--|-----|

LISTA DE FIGURAS.....

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1. | Distribución geográfica de <i>Boophilus microplus</i> en la República Mexicana..... | 7 |
| Figura 2. | Ciclo biológico de <i>Boophilus microplus</i> | 11 |
| Figura 3. | Distribución geográfica de los estados en que se ha reportado resistencia a los ixodídeos de la garrapata <i>B. microplus</i> en México..... | 16 |
| Figura 4. | Diseño de la parcela y subparcelas experimentales utilizadas..... | 49 |
| Figura 5. | Diseño del área experimental y distribución de tratamientos de la fase 1 en Jiutepec, Morelos, México..... | 50 |
| Figura 6. | Diseño del área experimental y distribución de las parcelas experimentales para los tratamientos de la fase 2 en Jiutepec, Morelos, México..... | 54 |
| Figura 7. | Técnica de muestreo de bandera consistente de una franela de 1x1m ² para el muestreo de larvas de <i>B. microplus</i> | 57 |
| Figura 8. | Becerro utilizado en la técnica de bandera cebada. | 58 |
| Figura 9. | Técnica de Chaparrera..... | 59 |
| Figura 10. | Técnica de bovino con vestimenta en la cual se observa al bovino caminar a través de la parcela experimental infestada con larvas de <i>B. Microplus</i> | 60 |
| Figura 11. | Tiempo y movimientos para realizar el muestreo con cada técnica en los pastos forrajeros..... | 61 |
| Figura 12. | Temperatura media mensual de Abril de 1997 a Diciembre de 1999 en Jiutepec, Morelos, México. | 73 |

| | |
|---|----|
| Figura 13. Porcentaje de humedad relativa de Abril de 1997 a Diciembre de 1999, en Jiutepec, Morelos, México..... | 73 |
| Figura 14. Precipitación pluvial mensual de Abril de 1997 a Diciembre de 1999 en Jiutepec, Morelos, México. | 73 |
| Figura 15. Correlación entre los valores de temperatura, humedad y precipitación pluvial con la abundancia de larvas de <i>B. microplus</i> en las cuatro estaciones del año en siete especies forrajeras en Jiutepec, Morelos, México..... | 76 |
| Figura 16. Correlación entre los valores de humedad, temperatura y precipitación pluvial con la abundancia de larvas de <i>B. microplus</i> en tres otoños de 1997-1999 en tres especies forrajeras en Jiutepec, Morelos, México..... | 77 |
| Figura 17. Distribución total de larvas de <i>B. microplus</i> en el follaje de cinco especies forrajeras cultivadas en maceta y mantenidas bajo condiciones de laboratorio..... | 92 |
| Figura 18. Total de larvas de <i>B. microplus</i> localizadas y recuperadas del macollo de la planta y diferentes sitios de la caja y maceta..... | 93 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Distribución geográfica de <i>Boophilus spp.</i> en México por Estado (2001) | 8 |
| Cuadro 2. Porcentaje de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas por medio de dos variantes de la técnica de muestreo de rastreo con bandera en parcelas de <i>C. plectostachyus</i> (pasto estrella de África) experimentalmente infestadas con 3 diferentes números de larvas (2,500, 5,000 y 10,000) en el verano de 1997 en Jiutepec, Morelos, México..... | 65 |

| | |
|---|----|
| Cuadro 3. Larvas recuperadas a diferentes tiempos de muestreo por medio de técnica de bandera en <i>C. ciliaris</i> en verano..... | 65 |
| Cuadro 4. Larvas recuperadas a diferentes tiempos de muestreo por medio de técnica de bandera (otoño) en 3 pastos forrajeros en Jiutepec, Morelos, México..... | 66 |
| Cuadro 5. Promedios de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas a los 7 días posteriores a su liberación en tres especies de pastos durante cuatro estaciones del año (1997-1998)..... | 67 |
| Cuadro 6. Promedios de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas de seis réplicas a 7 días de su liberación en parcelas experimentales con tres especies de pastos forrajeros en 4 otoños consecutivos (1997-2000)..... | 68 |
| Cuadro 7. Promedios de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas en cuatro leguminosas forrajeras en las cuatro estaciones 1997-1998..... | 70 |
| Cuadro 8. Promedios de larvas infestantes de <i>B. microplus</i> recuperadas en siete especies forrajeras en las cuatro estaciones del año analizadas por ANDEVA en forma conjunta..... | 72 |
| Cuadro 9. Valores porcentuales del análisis de correlación entre 3 factores climáticos y el número de larvas de <i>B. Microplus</i> en gramíneas y leguminosas forrajeras..... | 75 |
| Cuadro 10. Promedios de recuperación larvaria por medio de cuatro técnicas de muestreo en tres gramíneas forrajeras en el otoño 1999..... | 83 |
| Cuadro 11. Promedios de recuperación larvaria por medio de cuatro técnicas de muestreo en tres gramíneas forrajeras en el invierno 1999..... | 83 |

| | |
|--|----|
| Cuadro 12. Promedios acumulados de la recuperación de larvas <i>Boophilus microplus</i> mediante cuatro técnicas de muestreo larvario en tres pastos forrajeros y dos estaciones del año 1999..... | 84 |
| Cuadro 13. Número y ubicación de larvas <i>B. microplus</i> recuperadas por medio del muestreo con chaparreras y bovino con vestimenta en tres pastos forrajeros en otoño de 1999..... | 85 |
| Cuadro 14. Larvas de <i>Boophilus microplus</i> recuperadas en cinco especies forrajeras tropicales en condiciones de laboratorio..... | 87 |
| Cuadro 15. Promedios de larvas de <i>Boophilus microplus</i> recuperadas en cinco especies forrajeras tropicales en condiciones de laboratorio..... | 88 |
| Cuadro 16. Larvas de <i>Boophilus microplus</i> recuperadas en cinco especies forrajeras tropicales en condiciones de laboratorio..... | 90 |
| Cuadro 17. Promedios de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas en cuatro especies forrajeras Vs <i>C. ciliaris</i> en condiciones de laboratorio..... | 90 |
| Cuadro 18. Promedios de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas en cuatro especies forrajeras Vs <i>C. ciliaris</i> en condiciones de laboratorio..... | 91 |
| Cuadro 19. Promedios de larvas de <i>B. microplus</i> recuperadas en cuatro especies forrajeras Vs <i>C. ciliaris</i> en cuatro especies forrajeras en condiciones de laboratorio..... | 91 |

1. INTRODUCCIÓN

La garrapata *Boophilus microplus* es un ácaro ectoparásito hematófago del ganado bovino que produce en el animal disminución en su productividad, transmite babesiosis y anaplasmosis y es puerta de entrada para otras diversas infecciones, cohabita en regiones de zonas tropicales y subtropicales con bovinos de variadas razas, pero afecta en forma particularmente grave a bovinos de razas especializadas de un alto rendimiento, pero elevada susceptibilidad a estos ectoparásitos y a las enfermedades por ellas transmitidas (Anónimo, 1987; Gee, 1959; Pegram *et al*, 1993).

En México, aproximadamente el 40% del territorio nacional está cubierto por pastizales que se aprovechan para la cría de ganado, principalmente para la producción de bovinos de carne y doble propósito bajo sistemas de producción extensivos (Quiroz, 1991). Desafortunadamente, las condiciones agroecológicas que permiten el establecimiento de especies forrajeras, favorecen también el desarrollo de parásitos, destacando entre ellos, por su importancia económica, las garrapatas *Boophilus microplus*, *Amblyomma cajenense*, *A. maculatum*, y *A. americanum*, las cuales constituyen una barrera para el desarrollo de la industria pecuaria del país (González, 1976; Quiroz, 1991). La necesidad de usar acaricidas para combatir a las garrapatas ha incrementado la dependencia hacia estos productos para mantener las poblaciones de garrapatas dentro de umbrales económicamente rentables y esto ha generado un incremento en la resistencia de los insectos plaga hacia estos productos. La principal arma para retardar la aparición de la resistencia ha consistido en usar compuestos alternativos con estructuras químicas que no son afectadas por resistencia cruzada. La reducción gradual de los compuestos disponibles a medida que la resistencia a ellos se desarrolla ha revelado las limitaciones de esta práctica y ha enfatizado la necesidad de maximizar la vida útil de nuevos plaguicidas a través de su aplicación bajo condiciones que retrasen o prevengan el desarrollo de la resistencia (Georghiou and Taylor, 1986). La frecuencia de la resistencia en varios ordenes de artrópodos refleja la magnitud a la cual cada orden ha sido

objeto de una presión química severa. No obstante de que los insectos del Orden Díptera contienen la mayor proporción relativa de especies resistentes de alrededor de un 36% del total; sin lugar a dudas es debido al amplio uso de insecticidas en el combate de moscas y mosquitos transmisores de enfermedades al ser humano. Una gran cantidad de casos se ha detectado en ordenes de importancia agrícola tales como Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera y Acarina. Actualmente se han documentado alrededor de 525 especies de insectos y ácaros resistentes a uno o más plaguicidas bajo condiciones de campo (Rodríguez, 1997).

Se ha reportado (Anónimo, 1986) que las principales consecuencias de la resistencia son: incremento en los costos de combate debido a aplicaciones más frecuentes y a la necesidad de cambiar a insecticidas alternativos más costosos, abandono de cultivos debido a la carencia de insecticidas alternativos eficientes, incremento en los costos de la investigación tendiente a desarrollar nuevos plaguicidas e incremento en el costo al consumidor pues es quien paga las consecuencias de los costos de producción ocasionados por la resistencia. Sin embargo los costos económicos de la resistencia son difíciles de estimar debido a las consecuencias indirectas de la presencia de los plaguicidas en el medio ambiente. En una encuesta llevada a cabo por Pimentel (1979), se considera que los costos directos de la resistencia en los Estados Unidos de Norteamérica son de aproximadamente 130 millones de dólares. A nivel mundial se ha estimado que estos costos son del orden de 1,000 millones de dólares y los costos indirectos pueden ser muy severos, especialmente en términos de inversión sobre desarrollo de plaguicidas que resultan no ser redituables (Georghiou and Taylor, 1986).

La sustentabilidad de la agricultura esta amenazada por el problema de la resistencia (Donald, 1994), es por ello necesario que los productores, investigadores, instancias gubernamentales y de extensionismo actúen de manera conjunta, para enfrentar el problema con un enfoque holístico, en donde el manejo integral de plagas (MIP) y manejo integral de resistencia (MIR), aportan conceptos fundamentales para el buen desarrollo de programas de

control de insectos plaga en los que la clave del éxito es la colaboración (Leonard, 1997; Jutsum *et al*, 1998; Hilborn, 1993; Arteaga *et al*, 1995).

1.1 Clasificación taxonómica

La garrapata *B. microplus* se clasifican de la siguiente forma (Encinas *et al*, 1999):

| | | |
|--------------|---|----------------|
| PHYLUM | - | ARTROPODA |
| SUBPHYLUM | - | CHELICERATA |
| CLASE | - | ACARIDA |
| SUBCLASE | - | PARASITIFORMES |
| ORDEN | - | IXODIDA |
| SUPERFAMILIA | - | IXODOIDEA |
| FAMILIA | - | IXODIDAE |
| GENERO | - | Boophilus |
| ESPECIE | - | microplus |

1.2 Antecedentes

Las garrapatas se encuentran ampliamente distribuidas por todo el mundo especialmente en los países tropicales y subtropicales. Ha sido estimado que un 80% de los bovinos existentes mundialmente están infestados con garrapatas (Pegram and Chizyuka, 1987).

Las garrapatas del género *Boophilus spp.* es de singular importancia para la ganadería bovina, este género en América está presente desde México hasta Argentina (Núñez *et al*, 1982). La garrapata del ganado bovino *B. microplus*, originaria del viejo continente, se encuentra distribuida en México en la mayor parte de los estados a excepción de Chihuahua, Sonora, Distrito Federal y Tlaxcala (Solís, 1991).

Las altas infestaciones en el ganado bovino por la garrapata *B. microplus*, constituyen un grave problema de índole económico ocasionado por la pérdida de sangre; interferencia con la ganancia de peso vivo del bovino; las molestias e irritación que la infestación produce en el animal provocando stress y pérdida de apetito; daño en piel y ubres que provocan pérdida de valor comercial y menor producción láctea; inoculación de toxinas por medio de la saliva de la garrapata. Las garrapatas son capaces de transmitir una gran variedad de enfermedades, principalmente anaplasmosis y babesiosis, las cuales en sí mismas son graves plagas del ganado bovino que reducen considerablemente su productividad, pueden causar la muerte del animal y llegar a producir epizootias en zonas pobladas por garrapatas (Sutherst and Kerr, 1987). Además constituyen una puerta de entrada a diversos organismos tales como larvas de moscas predisponiendo al ganado al desarrollo de miasis por *Cochliomya hominivorax*, *Chrysomya bezziana* y hongos como *Dermatophylus congolensis* (González, 1976). También es considerable el gasto en acaricidas químicos y medicamentos necesarios para combatir tanto a las garrapatas como a las enfermedades que transmiten (Sutherst and Kerr, 1987).

El daño económico provocado por las garrapatas del género *Boophilus spp.* es debido básicamente al gran efecto adverso que existe sobre la productividad bovina cuando se analiza a nivel de hatos. Estudios realizados en Australia, sobre las infestaciones por *B. microplus* han determinado una reducción de ganancia de peso de 0.28 a 0.8 kg por garrapata por año (Sutherst *et al*, 1979); en 1959, se calculó en aquel país que las pérdidas económicas debidas a garrapatas eran de 8.50 dólares por cabeza, desglosados de la siguiente forma: aumento del costo de mano de obra 36%, pérdidas en carne 20%, pérdidas en producción láctea 16%, costo de acaricidas 11%, pérdidas por muertes 7%, daño a las pieles 5%, pérdidas por otras parasitosis consecuentes y subnutrición 5% (Pegram and Chizyuka, 1987). Ha sido estimado que las pérdidas ocasionadas por las garrapatas para la región afectada en América ascienden al orden de los 7,000 millones de dólares (Pegram and Chizyuka, 1987). En África se considera que las garrapatas y las enfermedades

transmitidas por éstas constituyen el obstáculo más grave para el aumento de la producción de carne para consumo humano. En Sudáfrica se estimó que la pérdida diaria en la ganancia de peso vivo era de 132 g y en Zambia fue estimada una pérdida de 440 g de leche por día y la mortalidad en becerros libres era de 13% contra 19% en becerros infestados (Pegram *et al*, 1993).

En México la garrapata *B. microplus* es considerada como la principal limitante para el mejoramiento genético y aumento de la productividad bovina, debido a que las razas especializadas de alto rendimiento son muy susceptibles en zonas endémicas a las garrapatas (López *et al*, 1985). En este país en la década de los 70's las pérdidas debidas a los géneros *Boophilus spp.* y *Amblyomma spp.* fueron estimadas en 103 millones de dólares al año y se ha calculado que el 53% del hato bovino nacional estaba infestado por garrapatas (Solís, 1991). En 1985 en Morelos, México, en un estudio acerca de la infestación con garrapatas *B. microplus* sobre la ganancia de peso en bovinos, se estimó que en un periodo de 50 días, bovinos de la raza Aberdeen Angus libres de garrapatas ganaron 39.5 kg de peso vivo contra solo 7.5 kg para el grupo de animales infestados con garrapatas (Castellanos y Quiroz, 1985).

Las consecuencias del daño ocasionado por *B. microplus* se ven agravadas al sumarse factores concomitantes y oportunistas tales como las condiciones climáticas adversas al hospedero, parásitos gastroentéricos, infecciones bacterianas y virales y trastornos metabólicos (Quiroz, 1991). Sin embargo, la valoración precisa del impacto económico producido por las garrapatas en el país dependerá del conocimiento actualizado de factores tales como su distribución, dinámica poblacional y factores agroecológicos asociados en las diferentes regiones ganaderas del país, así como del comportamiento de las enfermedades que transmiten y de la resistencia tanto de las diferentes razas bovinas como la de las garrapatas hacia los acaricidas usados para combatirlas (Sutherst *et al*, 1979; Haile y Mount, 1991).

Las infestaciones por garrapatas *Boophilus spp.* constituyen una limitante sanitaria para la movilización de ganado de México hacia los Estados Unidos de Norteamérica, lo cual ocasiona disminución de la oportunidad comercial (Aguirre,

1991). Aunado a esto los esfuerzos de control químico en el país se han visto obstaculizados por el aumento en el desarrollo de resistencia de ciertas poblaciones de garrapatas *B. microplus* en contra de los ixodicidas organoclorados, organofosforados, piretroides y recientemente amidinas, incrementándose la frecuencia de reportes de niveles de control inaceptables por parte de estas sustancias en diferentes regiones ganaderas del país (Aguirre, 1991; Soberanes *et al*, 2002).

1.3 Distribución en el país

La garrapata *B. microplus* presenta en el país una amplia área de distribución, que abarca zonas tropicales, templadas y áridas; en conjunto se considera que cubre 1'043,772.4 km² (53% del territorio nacional) teniendo como límite o frontera marginal, parte del norte árido del país (Chihuahua, Coahuila y Nuevo León). La distribución de *B. annulatus* abarca aproximadamente 539,087.8 km² (27% del territorio nacional, Figura 1 y Cuadro 1). Se estima que dentro del área de distribución de ambas especies, se encuentran ubicadas aproximadamente 21 millones de cabezas de ganado bovino, que corresponden a las zonas con una mayor posibilidad de desarrollo ganadero (Solís, 1991; Woodham *et al*, 1983).

Figura 1. Distribución geográfica de *B. microplus* en la República Mexicana



Fuente: SENASICA-DGSA-SAGARPA (2001)

Cuadro 1. Distribución geográfica por Estado en México de *Boophilus spp.* (2001)

| Estados | <i>B. microplus</i> | <i>B. annulatus</i> | Estados | <i>B. microplus</i> | <i>B. annulatus</i> |
|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|
| Aguascalientes | x | x | Morelos | x | |
| B.C.Sur | x | x | Nayarit | x | |
| B.C.Norte | x | x | N.León | x | x |
| Campeche | x | | Oaxaca | x | |
| Coahuila | x | x | Puebla | x | |
| Colima | x | x | Querétaro | x | x |
| Chiapas | x | | Q.Roo | x | |
| Chihuahua | x | x | S.L.P. | x | x |
| D.F. | | | Sinaloa | x | x |
| Durango | x | x | Sonora | | x |
| Guanajuato | x | x | Tabasco | x | x |
| Guerrero | x | x | Tamaulipas | x | x |
| Hidalgo | x | x | Tlaxcala | x | x |
| Jalisco | x | x | Veracruz | x | |
| Edo. de Mex. | x | x | Yucatán | x | |
| Michoacán | x | x | Zacatecas | x | x |

Fuente: SENASICA-DGSA-SAGARPA (2001)

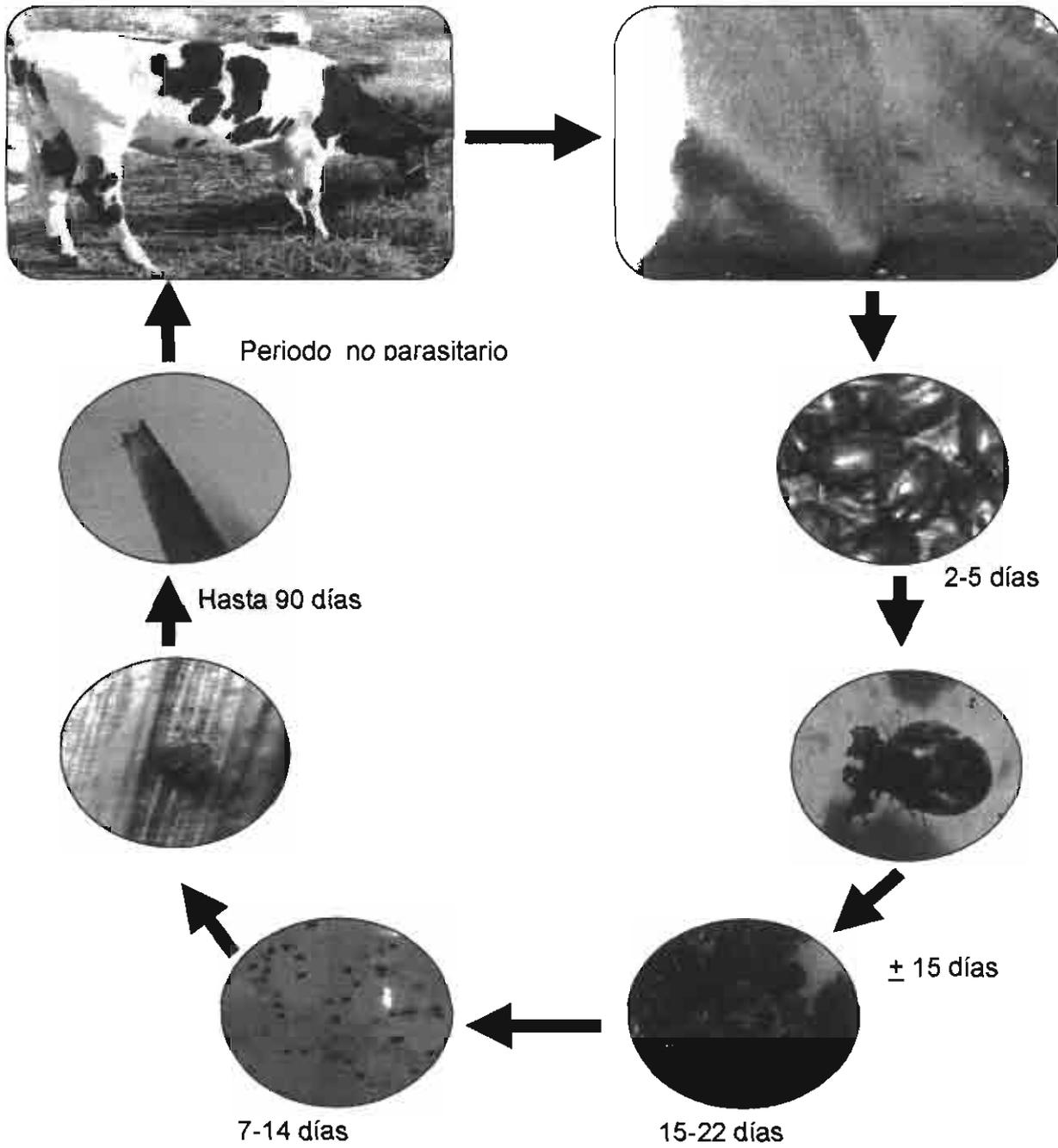
1.4 Ciclo biológico

La garrapata *B. microplus* es un ácaro ectoparásito con sexos separados de un solo hospedero y hábitos hematófagos estrictos, se caracteriza por tener el cefalotórax y el abdomen fusionados y un aparato bucal especializado para succionar sangre. Su ciclo de vida se compone de dos fases: a) Fase de vida libre o no parasitaria y b) Fase parasitaria (Figura 2). Esta garrapata tiene cuatro etapas evolutivas en su ciclo de vida: huevo, larva hexápoda o pinolillo, ninfa octápoda y adulto con sexos separados. La transformación de un estado a otro requiere de una muda y estos cambios no están restringidos a una estación climática (Quiroz, 1984; Núñez *et al*, 1982).

La infestación por la garrapata *B. microplus*, ocurre al encontrarse el hospedero bovino en los pastizales con la fase larvaria (larva hexápoda), que en estado activo, hambrienta y por medio de higrotropismo y fototropismo positivos, pasa de la vegetación al bovino, el que también atrae a las larvas por su emanación de CO² y del que se sujeta a su paso entre el pastizal con sus garras, en el cual evoluciona en varias etapas al estadio adulto (ácaro octópodo), con diferenciación de sexos, copula y se alimenta de sangre hasta su repleción (ingurgitación), momento en el que se desprende del bovino para caer al suelo en el pastizal. La hembra inicia así un nuevo ciclo al ovipositar los huevos de los cuales emergerán las larvas de vida libre (Núñez *et al*, 1982). La fase parásita sobre el bovino es poco variable en su desarrollo en cuanto a tiempo (21-23 días), independiente de las condiciones climáticas imperantes, no así la de vida libre (Núñez *et al*, 1982). La duración de vida de la fase larvaria libre en los pastizales es muy variable e importante cuando se pretende establecer algún programa de control de esta especie. Porque es durante esta etapa cuando ocurre el evento denominado "etapa de encuentro garrapata-hospedero", cuando la larva activa hambrienta asciende a la parte del estrato vegetativo en busca de su hospedero (Sutherst *et al*, 1979). Este evento es de vital importancia para la garrapata porque de no poder sujetarse a un bovino, morirá de inanición y deshidratación dentro de un rango de tiempo que varía de acuerdo a las

condiciones climáticas imperantes y al tipo de vegetación presente (Schmidtman, 1993). Para el humano, es importante porque es una etapa en la cual puede manipular el hábitat natural de *B. microplus* con el objeto de crear condiciones ambientales desfavorables al desarrollo de las garrapatas y aprovechar otras como las sequías y el frío, condiciones características de la primavera y el invierno (Camino, 1980).

Figura 2. Ciclo Biológico de *Boophilus microplus*
Periodo parasitario 21-23 días



1.5 Dinámica poblacional

El establecimiento de programas de manejo integral de plagas orientados al control de garrapatas requiere de tener datos actualizados en la localidad o región de interés, acerca de la dinámica poblacional de las especies de garrapatas que afecten a la ganadería a lo largo del tiempo (Garris *et al*, 1990).

Para *B. microplus* se deben tener datos acerca del período de duración de cada uno de los estadios de desarrollo. 1) en su fase larvaria no parásita: períodos de preoviposición, oviposición, eclosión, sobrevivencia, de las condiciones climáticas imperantes, de factores bióticos propios del lugar como tipo de vegetación y presencia de depredadores (Floyd, 1987; Barnard, 1991). De este tipo de estudios se puede obtener información acerca de la influencia de los factores bióticos y abióticos asociados al ciclo de vida libre de *B. microplus* en sincronía con eventos climáticos y de manejo idóneos para su control (Davey *et al*, 1982), lo que posibilita el uso racional de los baños garrapaticidas de una manera estratégica u ocasional 2) en su fase parásita (Barnard *et al*, 1994) que por ser muy constante en su duración sobre el bovino (21-25 días), permite realizar el monitoreo de la denominada "hembra estándar", la cual mide entre 4.5 y 8.0 mm de longitud. Su conteo constituye la base para la realización de estudios ecológicos, estimación del daño ocasionado, valoración de métodos de control y estudios de predicción y se basa en el hecho de que las hembras repletas de *B. microplus* generalmente se desprenden del hospedero por la mañana, observándose que el número de hembras repletas que están a punto de desprenderse en la mañana de cualquier día es igual al número de "hembras standard" del día anterior (Anónimo, 1987). Por lo tanto el conteo se puede realizar con un calibrador con un orificio de 4.5 y otro de 8.0 mm, contando las garrapatas que hay entre estos dos valores en al menos 10 bovinos (de un solo flanco) cada 21 días (Anónimo, 1987). Los datos generados por medio de este tipo de conteo, permite determinar el efecto del manejo, del tratamiento y de las intervenciones que sé estén usando (Mount *et al*, 1991; Brizuela *et al*, 1996).

1.6 Control y erradicación

El control y la erradicación de las garrapatas son dos conceptos que es conveniente diferenciar. El control consiste en disminuir la población del parásito a niveles tolerables que no causen daño al animal ni ocasionen pérdidas económicas de consideración (Schmitdman, 1993) y que sean convenientes para mantener el estado inmune del hato, principalmente contra la babesiosis, la anaplasmosis y las garrapatas mismas (Mahoney, 1972).

La erradicación es la acción que se realiza para eliminar por completo a un parásito de una explotación, región o país; el control a diferencia de la erradicación acepta ciertos niveles de parasitismo como tolerables (Kilgore and Doult, 1967; Popham *et al*, 1991) sin embargo, el concepto de erradicación actualmente puede considerarse obsoleto debido a que en la actualidad se ha reconocido que la presencia o ausencia de un parásito esta determinado por barreras bioecológicas y no por la acción del hombre (Hilje, 1994). La presencia y abundancia de *B. microplus* varia de acuerdo a tres factores:

El primer factor corresponde a la zona ecológica, que es determinante para la existencia de un mayor o menor número de garrapatas además de influir en su fluctuación estacional. En México, las zonas tropicales son las más densamente pobladas por *B. microplus* (Solís, 1986).

La manifestación de la resistencia hacia *B. microplus* por parte del ganado *Bos indicus* y sus cruzas con *Bos taurus* es el segundo factor importante en la abundancia de esta garrapata. Este tipo de ganado es abundante en el trópico húmedo y permite un menor número de garrapatas en su fase parásita (Solís, 1991).

El tercer factor esta relacionado con la intensidad y extensión de la aplicación de tratamientos ixodicidas, lo cual ha modificado la epidemiología de esta garrapata y de las enfermedades que transmite. Estas modificaciones se relacionan con tres aspectos: Inestabilidad enzootica de babesiosis, resistencia química a los ixodicidas y sustitución de nichos por la garrapata *Amblyomma*

spp. Esta situación ha ocasionado que el concepto de erradicación para la garrapata *B. microplus* en México haya caído en desuso (Solís, 1991).

Existen actualmente en el país zonas libres de *Boophilus spp.* como los estados de Sonora y Chihuahua (Figura 1) en donde ésto fue posible gracias a las favorables condiciones ecológicas para ello y al combate intensivo de este ácaro. Esta situación es diferente para otros estados de la república mexicana, principalmente de las vertientes del golfo; desde Tamaulipas hasta Quintana Roo y del pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas (Solís, 1991), debido fundamentalmente a las condiciones agroecológicas favorables al desarrollo de *B. microplus*. Ante este contexto cobra relevancia el manejo integral de plagas (Schmidtman, 1993).

1.7 Métodos de lucha orientados al control de *Boophilus microplus*

De manera general seis tipos de métodos de lucha han sido usados en contra de las garrapatas en el mundo y cuando se trata de llevarlos a cabo a nivel extensivo, bajo diferentes condiciones agroecológicas algunos son más factibles que otros, debido a su estado de desarrollo. A continuación se describen.

1.7.1 Control químico

Consiste en la aplicación de sustancias acaricidas principalmente de los grupos de los arsenicales, organoclorados, organofosforados, piretroides; amidinas inhibidores del crecimiento y avemectinas.

La mayoría son plaguicidas caracterizados por ser productos tóxicos no selectivos, que atacan tanto a las especies nocivas como a las benéficas así como a especies superiores incluyendo al humano. Cuando los plaguicidas son aplicados en los campos de cultivo, el suelo recibe una gran cantidad de estos productos que son arrastrados por el agua y contaminan corrientes y embalses. Parte de estas sustancias químicas pueden incorporarse al aire y viajar

grandes distancias; otras son absorbidas por plantas que serán ingeridas por animales y el hombre. Cabe señalar que de acuerdo a las características que posea cada plaguicida, se podrá determinar el grado en el que estos productos contaminarán agua, aire y alimentos (López, 1993). Este es el tipo de control más ampliamente usado en el mundo, sin embargo algunos compuestos altamente tóxicos y con elevado daño ambiental como los arsenicales y los organoclorados han sido retirados del mercado y otros como los organofosforados debido a sus efectos nocivos a la salud humana y por su alto uso agrícola, industrial y doméstico, en Estados Unidos se están reevaluando para determinar si es necesario cancelar sus registros y prohibir el uso de algunos de ellos (Pérez, 2003).

Debido al indiscriminado, immoderado e irracional uso de los acaricidas, se ha originado el grave problema de la aparición de la resistencia en contra de estos compuestos, por parte de diferentes poblaciones de garrapatas principalmente de *B. microplus*, debido a la presión selectiva realizada con estas sustancias (Aguirre, 1991; Soberanes *et al*, 2002) (Figura 3).

Aunado a ello está el costo de aplicación de estos compuestos que al ser elevado limita el acceso y periodicidad de su uso en muchas situaciones. Además la presencia de residuos tóxicos de estos compuestos en la carne y otros productos del ganado implican un aumento de costos en la comercialización de canales y cortes de carne ocasionados por los exámenes a que deben someterse para su verificación (Scholl *et al*, 1990).

Pero de mayor relevancia, es el daño ambiental a nivel ecosistema involucrando a la salud pública debido al consumo de productos con residuos de estos compuestos de muy alta residuabilidad y lenta degradación ambiental (Shelton and Karns, 1988; Grice *et al*, 1996). No obstante en la actualidad están disponibles nuevos métodos de aplicación como aretes para la oreja, bandas para el cuello y cola y vertedores para la parte dorsal, cuya función es aplicar óptimamente el acaricida con una liberación pausada, que usados de manera racional y estratégica pueden ser de gran utilidad a pesar de su elevado costo (Scholl *et al*, 1990).

Figura 3. Distribución geográfica de los estados en que se ha reportado resistencia a los ixodicidas de la garrapata *B. microplus* en México



Fuente: SENASICA-DGSA-SAGARPA (2001)

1.7.2 Razas de bovinos resistentes

Desde hace poco más de medio siglo se sabe que el ganado *Bos indicus* es más resistente a las garrapatas que el ganado *Bos taurus*, esto debido tanto por sus características fenotípicas como por su capacidad de desarrollar una respuesta inmune más eficiente después de una primera infestación (Utech *et al*, 1978). El aumento de sangre *Bos indicus* en cruzas de ganado con el fin de aumentar su resistencia a las garrapatas también ha sido ampliamente recomendado (Frish, 1999), pero esto implica algunas limitantes productivas como son la disminución en producción láctea y de carne debido a esta cruza (Jonsson *et al*, 1998). Sin embargo esta es una alternativa altamente efectiva, pero de largo plazo y elevado costo, e implica el involucramiento de instancias oficiales, técnicas y financieras que colaboren para lograr una organización sectorial planeada a nivel regional o aún nacional de un nivel muy por encima del que existe en nuestro país actualmente (Norton *et al*, 1983; George, 1990), sin embargo esta alternativa también puede ser adoptada por algunos productores en forma individual ó uniones de productores que tengan los medios para lograrla.

1.7.3 Control inmunológico

La inmunidad artificialmente adquirida como una alternativa en el control de la infestación por garrapatas en los animales domésticos, especialmente en el ganado bovino, ha recibido particular atención en los últimos tiempos debido a las ventajas que su uso puede ofrecer (Cruz *et al*, 1995).

Durante la infestación con garrapatas se establece una relación muy estrecha con el hospedero bovino, la cual se lleva a cabo en los sitios en donde la larva se fija en la piel a través de su aparato bucal, en estos sitios las glándulas salivales de la garrapata secretan enzimas digestivas, inhibidores de la coagulación y otras sustancias activas que aseguran una relación inmunológica favorable al parásito e incluyen sustancias tales como

inactivadores del complejo inmunológico del complemento, bradiquinina, anafilatoxina, histamina y sustancias que impiden la agregación de neutrófilos y la activación de linfocitos T y en algunos casos agentes antiinflamatorios (Cruz *et al*, 1995). En la saliva de la garrapata se encuentran antígenos que se han identificado intradérmicamente alrededor de los sitios de fijación del ácaro (Allen *et al*, 1979; Willadsen and McKenna, 1983). Existen antígenos salivales capaces de inducir la producción de anticuerpos circulantes detectados por medio de diferentes pruebas inmunológicas, esto ha sido comprobado en cerdos de Guinea con la garrapata *Amblyomma americanum*, *Dermacentor andersoni* y *Rhipicephalus sanguineus* (Brown and Askenase, 1981; Wikel *et al*, 1992), en conejos con *Dermacentor variabilis*, *Amblyomma americanum* e *Ixodes ricinus* (Ackerman *et al*, 1981; Brossard and Girardin, 1979; Wikel *et al*, 1992) y en bovinos con *Boophilus microplus* y *Rhipicephalus appendiculatus* (Rechav, 1987; Willadsen *et al*, 1978). Se sabe además que existe una respuesta inmune celular a este nivel (Willadsen and Kemp *et al*, 1989). Es debido a la presencia de estos indicadores de la respuesta inmune en la relación garrapata - hospedero que se han desarrollado vacunas experimentales basadas en esta relación, ya sea por medio de la inoculación de extractos de glándulas salivales, antígenos salivales o antígenos de tipo oculto que son antígenos de órganos internos de la garrapata como el antígeno Bm 86, a partir del cual se han originado algunas proteínas recombinantes como vacunas experimentales (Willadsen and Williams, 1976; Kemp *et al*, 1989). El efecto de estas vacunas es el daño ocasionado a nivel de intestino del parásito que le produce problemas de sobrevivencia y aún la muerte. Sin embargo el efecto de estas vacunas no es inmediato y se ve reflejado hasta después de tres meses de la vacunación, no mata ni derriba inmediatamente a las garrapatas adheridas al bovino, su acción se ejerce sobre las siguientes generaciones y paulatinamente va disminuyendo la carga parasitaria en los potreros por una reducción en el potencial reproductivo de la garrapata y no elimina por completo el uso de ixodicidas solo lo reduce por el espaciamiento que hay en los lapsos para aplicar los baños (Anónimo, 1997).

La investigación acerca de la generación de vacunas en contra de garrapatas en México es aún muy incipiente y no ha habido continuidad en su estudio para lograr una vacuna de origen nacional (Cruz *et al*, 1995) y el impacto de las de origen extranjero no se ha reflejado a un nivel comercial además de existir el inconveniente de que no son polivalentes (Cruz *et al*, 1995). En su momento cuando la inmunización contra garrapatas haya adquirido el nivel de avance y de accesibilidad necesarios para el productor, será un elemento más de indudable valor en el control integral de la infestación por garrapatas, la evaluación de campo en diferentes escenarios y la posible combinación de varios inmunógenos provenientes de garrapatas de varios géneros son elementos que esperan ser experimentados, analizados y probados a nivel campo (Redondo *et al*, 1999).

1.7.4 Control cultural

Este tipo de control se ubica fuera del hospedero y está estrechamente relacionado con las prácticas culturales de los cultivos que en el caso de la ganadería son las prácticas relacionadas con el mantenimiento de potreros e involucra actividades tales como: quema controlada, inundación, remoción de maleza y subsoleo, descanso y rotación de potreros, y modificación o manipulación del hábitat, que son actividades que afectan adversamente al desarrollo de las garrapatas por el efecto que se produce sobre el micro y el mesoclima lo que ocasiona desbalances en el microhábitat de *B. microplus* y por ende un efecto negativo en su dinámica poblacional (Carles, 1991). Su mayor efecto es sobre la fase de vida libre y su valor radica en que es un método de lucha limpio, completamente ecológico (Barre, 1988) y por lo tanto brinda apoyo a la sustentabilidad de la ganadería del país (Zizumbo y Colunga, 1993).

El control cultural es una alternativa que ha sido componente esencial en el manejo integral de plagas en el área agrícola y pecuaria en otros países (Pareja, 1992; Cook, 1991; Norton *et al*, 1983). La utilización de éste tipo de control para la regulación de las poblaciones de garrapatas ha sido ampliamente

discutida y comprobada y en la actualidad su uso es ya común en algunas partes del mundo. En lugares donde se ha tratado de controlar a la garrapata *Amblyomma americanum*, que por ser una garrapata de tres hospederos es más difícil de controlar, se ha utilizado la remoción de la maleza, el corte de la capa superior de la vegetación como el follaje de las copas de los árboles y de la vegetación alta y se ha demostrado que el segado de la vegetación de esta forma reduce la densidad de garrapatas de esta especie de un 50 a un 85% por hectárea (Hair and Howell, 1970). Esta práctica podría ser utilizada para el control de *Amblyomma cajenense*, una garrapata muy abundante en medios silvestres de regiones tropicales y subtropicales de nuestro país (Solís, 1991). Se ha observado que la aplicación de herbicidas en la vegetación foliar baja es menos efectiva que la limpieza mecánica para el control de garrapatas, siendo más efectiva solo para la etapa de larva (Wilkinson, 1977; Barnard, 1986).

1.7.5 Rotación de potreros

En la rotación y descanso de potreros el fundamento es presionar a las garrapatas en su etapa de vida libre al impedir o retardar que como larvas activas encuentren a su hospedero para que mueran por hambre y deshidratación (Wilkinson and Wilson, 1958; Harley and Wilkinson, 1964). El sistema de rotación de potreros requiere del descanso obligado de las pasturas por espacios de tiempo que varían de acuerdo al lugar, índice de agostadero y cantidad de garrapatas; pero por lo general no va más allá de tres meses (Wilkinson, 1957). Sin embargo en la práctica existe cierta resistencia a utilizar este método, por considerar que hay una pérdida de pastura. Si bien, esto puede ser cierto, conviene evaluar entonces los costos entre mantener unos potreros altamente infestados de garrapatas y otros mantenidos en nivel tolerable y conveniente. Al programar estratégicamente las actividades de pastoreo del hato de manera precisa y adecuada en un determinado lugar, tal pérdida se podría reducir a un mínimo (Wilkinson, 1979). Es importante señalar que el empleo de la rotación y descanso de potreros es efectivo principalmente

contra garrapatas de un solo hospedero, en este caso *B. microplus*, que por ser de ciclo directo no busca otros hospederos alternos al hospedero natural, a menos que sea muy presionada; sin embargo, puede afectar a otras especies que estén presentes en su etapa de larvas activas en busca de hospedero y no tan selectivas en cuanto a ello como *Amblyomma spp.* Pero también pueden verse afectados otros parásitos que se encuentren en el pastizal y que requieran a un hospedero bovino para completar su ciclo biológico (Waller, 1999). Además es un método que reduce el riesgo de desarrollo de resistencia a los ixodicidas, debido a que usando potreros limpios se espacia más el uso de esta clase de plaguicidas (Wilkinson, 1957).

1.7.6 Manipulación del hábitat

La manipulación o manejo del hábitat es una forma de conservar y amplificar el control biológico que se da bajo condiciones naturales. Es una aportación con base ecológica orientada a favorecer a los enemigos naturales existentes dentro de un agroecosistema (Douglas *et al*, 2000). En lo referente a las garrapatas este tipo de manejo es dirigido a la alteración de su hábitat, desfavoreciendo su desarrollo, dentro de éste podrían quedar comprendidas todas las prácticas culturales antes mencionadas, con la diferencia de que en la cultural estas prácticas están dirigidas básicamente a los cultivos en sí y en la manipulación del hábitat estas prácticas son realizadas con el objeto de afectar a la garrapata, en este caso *B. microplus*, que por ser hematófaga, su relación con los cultivos es transitoria y el manejo del hábitat se dirige contra esta fase no parásita y transitoria por medio de cultivos que le sean adversos para alcanzar al bovino (Camino, 1991). En un sentido estricto, el hábitat puede definirse como el espacio físico restringido a una especie, en el cual vive y prolifera, sin embargo, cabe destacar aquí, los conceptos de Eltón (Andrewartha, 1973). En su ensayo sobre la distribución interna de las poblaciones, un hábitat queda definido como una área que parece poseer cierta uniformidad en cuanto a geografía física, vegetación o cualquier característica que el ecólogo decida que es importante o

fácilmente reconocible, pero considerando que ante todo y arbitrariamente es el ecólogo el que decide los límites del hábitat, en un primer paso de su estudio de la comunidad, es importante también recalcar, que ningún hábitat es homogéneo al 100% (Andrewarha, 1973). La aportación más reciente que se ha hecho a la manipulación del hábitat de garrapatas que afectan a la ganadería ha sido el uso de especies de plantas que posean algún efecto anti-garrapata, entendido este como la presencia de cualquier factor que afecte desfavorablemente el desarrollo de las garrapatas en su hábitat, principalmente plantas forrajeras como las leguminosas *Stylosanthes scabra* (Sutherst *et al*, 1982; Sutherst *et al*, 1988) *Stylosanthes viscosa*, *Stylosanthes guianensis* (Zimmerman and Garris, 1984) y las gramíneas *Melinis minutiflora* (Mwangi *et al*, 1995) *Andropogon gayanus* y *Brachiaria brizantha* (Thadeu *et al*, 1989). Estas especies tienen valor nutritivo para el ganado con una ventaja zoonosanitaria adicional al proteger al ganado de la infestación por garrapatas, bloqueando o dificultando el tropismo ascendente innato de las larvas hacia la parte superior de la vegetación como un mecanismo que les asegura un mayor acercamiento al hospedero para poder alimentarse y continuar su desarrollo al estadio adulto, por lo que son conocidas también como especies trampa (Sutherst *et al*, 1988). Este método resulta particularmente atractivo porque aprovecha el pastizal como estrategia de lucha dirigida al control de *B. microplus* (Camino, 1980). Existen otro tipo de especies como *Acalipha fruticosa* (Hassan *et al*, 1994) y *Gynandropsis gynandra* (Malonza *et al*, 1992) son plantas arbustivas comunes en África que poseen sustancias conocidas como semioquímicos, las cuales son atractivas a las garrapatas, actuando también como especies trampa, solamente que por no ser forrajeras, su uso práctico es más restringido pero tales sustancias podrían ser aisladas de la planta y probadas como cebos para las garrapatas. El manejo del hábitat también podría ser dirigido a favorecer las condiciones microambientales tendientes a favorecer el desarrollo de los depredadores de la garrapata, pero esta medida puede conducir a convertir en otra plaga para los cultivos al depredador favorecido como es el caso la hormiga *Solenopsis geminata* (hormiga de fuego) (Camino, 1980), sin embargo, podrían buscarse otros

depredadores más selectivos como las avispas de la familia *Encyrtidae* (Smith and Cole, 1943).

1.8 Mecanismos de defensa de la planta

Si los herbívoros fueran capaces de pastorear sin restricción, muchas especies de plantas incapaces de reproducirse sexual o vegetativamente, tenderían a extinguirse con rapidez. Así, a través de millones de años la coevolución de plantas y animales, incluidos insectos, ha surgido como un mecanismo regulador que asegura que ni la planta ni el animal corran tal suerte de extinción (Vickery, 1987). Algunas plantas producen abrojos, espinas, púas o pelos punzantes como defensa en contra de los invasores. Los pelos densos de la superficie de una planta la protegen dificultando la penetración de la hoja por los insectos, algunas otras secretan sustancias pegajosas (gomas) que inmovilizan al insecto, otras producen resinas y látex como un mecanismo de defensa similar, sin embargo para todas las plantas habrá al menos un animal capaz de vencer el mecanismo de defensa (Price, 1975; Abelson, 1994). Estos compuestos denominados metabolitos secundarios, están más extendidos entre las angiospermas, protegen a la planta de los efectos del ataque de herbívoros y fitoparásitos por densidad de plantas y otras sustancias o propiedades producidas por ellas, como un mecanismo de defensa cuya función es proteger a la planta, de este tipo, del ataque de herbívoros y fitoparásitos, tales compuestos son de composición química muy diversa e incluyen alcaloides, aminoácidos no proteicos, glucósidos cianogénicos, glucósidos cardiacos, saponinas, terpenoides y una gran variedad de otros compuestos (Dirzo, 1985; Gershenzon, 1994; Grainge and Saleem, 1990). Se afirma que por medio del cultivo de este tipo de plantas, dentro del contexto del manejo integral de plagas, se han llegado a abatir las poblaciones de garrapatas hasta a niveles cercanos a cero (Camino, 1991; Pegram *et al*, 1993). Esta alternativa de lucha, puede en un momento dado, no solo afectar al parásito contra el que está dirigida, sino colateralmente podría afectar también a otros parásitos (o enfermedades por

ellos transmitidas) que coincidan en el lugar, tales como otras especies de garrapatas, moscas y mosquitos (Thompson *et al*, 1977). Incluso podrían verse afectadas también especies de parasitoides y depredadores naturales presentes en la biota del lugar, por lo que es conveniente realizar estudios acerca del impacto sobre estos organismos.

En la gramínea *Melinis minutiflora* es conocido de tiempo atrás su efecto anti-insectos (Dawe, 1922; De Jesús, 1934) y ha sido usada en América del sur, África y Filipinas como una medida de control de la mosca tse tse, garrapatas y mosquitos (Prates *et al*, 1993; Mwangi, 1995b; De Jesús, 1934). En Brasil y Colombia se ha observado que la mosca *Dermatobia hominis*, desapareció de lugares donde había un cultivo extensivo de este pasto. En el sureste de México y en Guatemala, se ha constatado que algunas plagas agrícolas han sido controladas por la leguminosa *Meibomia amans* y la gramínea *M. minutiflora* (Thompson *et al*, 1978). La planta completa de *M. minutiflora* es insecticida y en Brasil y África central ha sido cultivada más para este fin que para el pastoreo, ya que puede ser usada frotándose sobre los animales como un insecticida repelente o el follaje verde, como base del nido de aves ponedoras para el control de ácaros y vermes de aves, también ha sido usada como desparasitante contra gusanos gastroentéricos de animales y el hombre (Duke, 2003).

En las leguminosas del género *Stylosanthes* se ha demostrado que su efecto anti-garrapata es debido a la secreción, por medio de sus tricomas glandulares presentes en tallos y hojas, de sustancias viscosas que repelen o atrapan e incluso intoxican a las larvas de garrapata evitando de esta manera que las garrapatas en su fase no parásita asciendan a la punta de las plantas, durante la etapa de encuentro garrapata-hospedero (Sutherst *et al*, 1982; Wilson *et al*, 1989; Wilson and Sutherst, 1990).

En otras especies forrajeras como *Andropogon gayanus*, *Hyparrhenia ruffa* y *Cynodon dactylon* existe alguna evidencia acerca de que su efecto anti-garrapata podría deberse a sus características fenológicas y morfológicas que generan un microclima desfavorable al desarrollo de la fase no parásita (Cruz y Fernández, 2000; Fernández y García, 1994; Delgado, 1983), cabe aclarar que

la mayoría de éstas especies ya están presentes en el territorio nacional. El uso de este tipo de tecnología depende de la adaptabilidad que las especies mencionadas tengan en las distintas regiones ganaderas, también deberá evaluarse su posible uso combinado con otras especies forrajeras para elevar su valor nutricional.

Es bien sabido que las leguminosas forrajeras enriquecen la tierra de cultivo ya que pueden incorporar nitrógeno atmosférico a la tierra y son fuente rica en proteína de alta calidad para los rumiantes (Whitman, 1976; Humpreys, 1980). En México, se han hecho estudios agronómicos que manifiestan la factibilidad de poder usar leguminosas como ingredientes que enriquecen el valor proteínico del pastizal entre ellas algunas especies del género *Stylosanthes*, (Fernández *et al*, 1999a,b) y *Leucaena leucocephala* (Sosa y Zapata, 1996). Herrera (1996), experimentando con *Stylosanthes* (*S. humilis* y *S. hamata*), en condiciones de subtrópico subhúmedo en Morelos, México, determinó que *S. humilis*, especie que había sido reportada como carente del efecto anti-garrapata, demostró poseerlo en alto grado y *S. hamata*, especie reportada con poco efecto, demostró poseer un grado considerable de éste efecto (Zimmerman, 1984), sin embargo su mayor efecto se presentó solo en su etapa temprana (Fernández *et al*, 1999b).

La gramínea *Melinis minutiflora* es una especie forrajera que puede ejemplificar el tipo de propiedades deseadas para su empleo como estrategia no química de lucha contra *B. microplus*, particularmente como una alternativa de uso en la manipulación del hábitat. Esta gramínea presenta un marcado poder adhesivo en su superficie por la secreción oleosa que produce, en donde quedan atrapados pequeños insectos, garrapatas y pulgones, por lo que algunos autores recomiendan cultivarla en plantaciones de caña de azúcar para combatir a los gorgojos que devoran el follaje. De Jesús (1934), describe un efecto repelente y letal de *M. minutiflora* sobre larvas de la garrapata *B. australis* en Filipinas y se le ha citado como un forraje de gran potencial para regiones tropicales y subtropicales, recomendándose su cultivo, inclusive alrededor de las casas en áreas rurales como una barrera contra moscas, mosquitos y hormigas

(Duke, 2003) . En un estudio realizado por Thompson y colaboradores (1978), en condiciones de campo, colocando 40,000 larvas de *B. microplus* en cultivos de seis especies forrajeras para el estudio de su actividad, pudo comprobar 14 días posteriores a la infestación, por medio del muestreo con la técnica de arrastre de una superficie de algodón (bandera), que el número de larvas recuperadas fue mucho menor en praderas con *M. minutiflora* que en las demás pasturas estudiadas, lo que la situaba, como una especie promisoría en regiones donde es preciso mantener las poblaciones de garrapatas en niveles bajos, sin embargo, en su trabajo no considera la evaluación estacional. Estudios en Brasil han demostrado que en condiciones de laboratorio *M. minutiflora* resultó ser altamente letal para las larvas de *B. microplus* (Da Rosa, 1984; Thadeu *et al*, 1989). Recientemente se ha determinado que algunas plantas de este tipo, también son de interés, porque las sustancias involucradas en el efecto anti-garrapata en forma de extractos, han demostrado ser letales a ciertas garrapatas, y otras plantas *per se*, atraen a las garrapatas, lo que podría usarse como trampa (Hassan *et al*, 1994).

Es conveniente resaltar que esta alternativa de combate no pretende sustituir otros cultivos de alto rendimiento a un nivel extensivo, sino que su uso podría ser implementado como una barrera estratégica contra el desarrollo de *B. microplus* en la etapa (determinada por monitoreo) en que la mayoría de hembras ingurgitadas están a punto de desprenderse del bovino, en este momento, los animales son introducidos a un potrero cultivado con algunas de las especies mencionadas, en el que las garrapatas potencialmente contaminantes caen en un hábitat desfavorable a su desarrollo, interrumpiendo su ciclo biológico con lo que se reduce el riesgo de infestación de los bovinos y por ende el empleo de acaricida con el ahorro de recursos consiguiente (Harley and Wilkinson, 1964; Norton *et al*, 1983). Su uso puede también ser en pradera mixta ya sea con leguminosas u otras forrajeras de alto rendimiento que brinden un elevado contenido de nutrientes. Pero de cualquier manera estratégicamente programada, dentro de un manejo integrado de plagas (Kaaya, 1992; Kaposhi,

1992; Camino, 1980, 1991), para evaluar paralelamente los costos económicos, sociales y ecológicos que este tipo de alternativa implica (Hilje, 1994).

1.9 Control biológico

El control biológico es un método que utiliza los principios de control natural de las poblaciones, es decir, que tiende a reducir la población plaga por medio del incremento de la actividad de los agentes biológicos de mortalidad propios de las especies (Hogsette, 1999). En un sentido amplio puede ser definido como la supresión de una plaga por medio de la introducción, propagación y diseminación de depredadores, parásitos y enfermedades por medio de los cuales ésta es controlada (García *et al.*, 1988).

El género *Boophilus* spp., tiene en la naturaleza enemigos naturales como hongos y nemátodos entomopatógenos (Fernández *et al.*, 2001; Castiñeiras *et al.*, 1987; Guedes *et al.*, 2000), así como ciertas especies de hormigas, avispas, arañas y algunas especies de aves que las depredan sobre el bovino (Samish and Rehacek, 1999), pero la posibilidad de su aplicabilidad como control biológico a gran escala en el sector pecuario es aún incipiente, lo que en caso contrario acarrearía un mayor interés, apoyo financiero y consecuente desarrollo de este tipo de alternativas para llegar a tal grado de ejecución. Sin embargo es apremiante la necesidad de contar con opciones alternas al control químico clásico, y algunos estudios realizados que indican resultados alentadores al menos a nivel experimental, sugieren que su viabilidad necesita ser alentada en universidades y centros de investigación, como parte de las aportaciones que estas instituciones deben brindar a la sustentabilidad en México y por ende al reforzamiento de su soberanía .

En México ha sido demostrada la capacidad de *Metarhizium anisopliae* para parasitar los huevos de la garrapata *B. microplus* y en un estudio hecho acerca de la sensibilidad in vitro de la garrapata *Boophilus* spp. al hongo entomopatógeno *M. anisopliae*, se encontró que las esporas de este hongo pueden infectar a la garrapata y por lo tanto, las esporas podrían ser utilizadas

en el control de esta plaga; se probó que la inmersión de garrapatas adultos en una suspensión de esporas produce hasta el 63% de mortalidad, validando la hipótesis de que la aspersion de esporas pudiera tener efecto sobre las garrapatas adheridas al bovino (Galindo, 1994; Fernández *et al*, 2001, 2003). También ha sido comprobado que *M. anisopliae* es efectivo en más de un 80% contra cepas resistentes a los acaricidas más comunes en el país a nivel *in vitro* (Zhioua *et al*, 2002). En el Noroeste del país se distribuyen productos comerciales hechos a base de *M. anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus* y *Beauveria bassiana* que son usados para el combate de algunas plagas agrícolas y forestales (*Mahanarva posticata*, *Anthonomus grandis* *Anthonomus eugenil*, *Hypsipyla grandella*) y en cultivos de tomate, pepino, berenjena, melón, soya, arroz, caña de azúcar y maíz, aplicados por medio de aspersiones aéreas y terrestres, no son tóxicos para vertebrados y tiene poca persistencia en el medio (Anónimo-Sagar, CB-08; Sánchez y Velázquez, 1998). En África, también se han encontrado resultados similares y se ha reportado a *M. anisopliae* y *B. bassiana* como las especies con mayores posibilidades de éxito para el control de las garrapatas *R. appendiculatus*, *A. variegatum* y *B. decoloratus* (Mwangi *et al*, 1995; Kaaya and Munyinyi, 1995; Kaaya and Hassan, 2000; Mwangi, 1995a) y *Glossina morsitans* (Kaaya, 1989). En Cuba se cita que una parte importante en el control de las garrapatas y otras plagas tanto pecuarias como agrícolas es realizada por medio de la liberación de hongos entomopatógenos, principalmente de los antes mencionados y de *Verticillium lecani* (Rijo, 2001; Fernández-Larrea, 2001). En cuanto al uso de *Bacillus thuringensis* para el control biológico de garrapatas se ha demostrado que puede ocasionar una mortalidad de hasta 96% en la garrapata *Ixodes scapularis*, sin embargo, se considera que los hongos entomopatógenos tienen una mayor factibilidad para el control biológico de garrapatas, dado su relativamente fácil aislamiento, reproducción y menor costo económico para su producción a gran escala (Zhioua *et al*, 1999).

Los nemátodos entomopatógenos o entomófagos de los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* constituyen otra alternativa de control biológico, estos son parásitos obligados de insectos, que viven en la capa superficial del

suelo y que han demostrado tener actividad depredadora sobre *Galleria mellonella*, y garrapatas ixodidas (Kocan *et al*, 1998), su acción patógena es principalmente por las bacterias mutualistas que poseen en su tracto digestivo y que no se encuentran libres en la naturaleza (*Xenorhabditis* y *Photorhabditis*), los que al invadir al insecto le producen una septicemia mortal (Samish and Glazer, 1991), sin embargo existen grandes diferencias inter e intraespecíficas en la capacidad infectiva de poblaciones de *Heterorhabditis* y *Steirnerma*, (Doucet *et al*, 1992; Mauléon *et al*, 1993), además de estar influenciados en gran medida por condiciones climáticas y ambientales (Samish and Glazer, 1991; Samish *et al*, 1998), y de existir gran dificultad para su reproducción *in vivo* obligada a nivel masivo, ya que es el estadio infectivo de larva 3 la que puede ser usada con fines de control, y una vez liberados no tienen la capacidad de autopropagarse en el medio por requerir de un huésped intermediario para poder lograrlo (*Galleria mellonella*) (Fernández *et al*, 2001).

Se sabe que las avispas de la familia *Encyrtidae* son parasitoides de un amplio número de especies de garrapatas y que tienen una distribución mundial (Smith and Cole, 1943). El parasitismo por estas avispas causa directamente la mortalidad de la garrapata hospedero y puede tener potencial como un enemigo natural de las garrapatas (Lyon Van Drieshe and Edman, 1998). Sin embargo los resultados obtenidos en diversos estudios de liberación de estas avispas en varias partes del mundo han acabado en fracaso, lo cual es atribuido a un número insuficiente de parasitoides para una región geográfica dada, o al número insuficiente de hospederos para los parasitoides liberados (Stinner, 1977; Hu *et al*, 1998). *Ixodiphagus hookeri* ha sido encontrada en *Ixodes scapularis* solamente en áreas donde la población de esta garrapata es extremadamente alta, lo que indica que quizás el establecimiento de una población del parasitoide requiere de un cierto umbral de densidad de la garrapata (Hu *et al*, 1993). Sin embargo en una reciente comunicación, Mwangi *et al*, (1997), indican que en Kenya se encontró que la liberación de *I. hookeri* en áreas con ganado por un período de un año produjo una infestación del 51% de las ninfas de *A. variegatum* y el número de garrapatas fue reducido de 44 a 2 por

animal, lo que da nueva esperanza para esta alternativa de control. Cabe señalar que el 30% de la mortalidad que ocurre en condiciones naturales en algunas garrapatas es debida a la acción depredadora de esta avispa (Lyon Van Drieshe and Edman, 1998). Sin embargo se requieren estudios exhaustivos acerca de la estrategia de liberación en relación con los hospederos blanco (Stinner, 1977).

Debido a la dependencia de las garrapatas ixódidas adultas hacia sus animales hospederos como un sitio de agregación en donde se reúnen machos y hembras para el apareamiento, se presenta una oportunidad orientada al control por medio de tecnologías que interfieran esta actividad, como la estrategia denominada "hospedero–señal" que utiliza feromonas sexuales de las garrapatas para interferir su apareamiento (Sonenshine *et al*, 1986).

A partir del descubrimiento de la feromona de la palomilla del gusano de la seda *Bombyx mori* (Karlson and Luscher, 1959), las feromonas de otras 11 especies de insectos fueron identificadas; sin embargo, la primera feromona comercial apareció hasta 1978 y fue para uso agrícola (gusano encapsulado del algodón). La producción posterior de copias sintéticas de las feromonas sexuales ha llevado a la difusión y uso comercial de trampas con feromonas para el monitoreo y captura de insectos plaga en los sectores agrícola y forestal, programas gubernamentales de detección, cuarentena y protección de consumidores (Thompson *et al*, 1999). Una de las grandes ventajas de las feromonas es que no son tóxicas a enemigos naturales en contraste con los insecticidas químicos los cuales generalmente son de muy amplio espectro (Thompson *et al*, 1999). Entre los primeros obstáculos que se encuentran para el estudio de las feromonas esta el hecho de que son producidas solamente a niveles de nanogramos o aún de picogramos (Tumlinson, 1988). Otra de las consideraciones que se deberán tomar en cuenta en la identificación de una feromona es poder determinar con precisión y seguridad la composición de la feromona liberada en el aire por el insecto durante el período de evento biológico denominado como: "señalamiento" o "llamado". Esto es importante por varias razones; una es que la glándula que produce la feromona puede contener

muchas otras sustancias, incluyendo precursores, algunos de los cuales son inhibitorios, asimismo, la proporción de componentes liberada en el aire puede diferir de aquella encontrada en la glándula (Teal and Tumlinson, 1986). En algunos casos la feromona puede no estar almacenada en la glándula, sino ser producida exactamente antes de que sea liberada, o debido a un estímulo externo instantáneo y estos, son hechos que pueden afectar tanto a las feromonas de insectos plaga de la agricultura como los de la ganadería (Tumlinson, 1988). Estas sustancias en las garrapatas, promueven la agregación, atracción, fijación a hospederos adecuados, diferenciación de sexos y transferencia del espermátforo (Sonenshine *et al*, 1986). Con base en las feromonas que han sido ya descubiertas se puede afirmar que incluyen: fenoles, sesquiterpenos, terpenoides e hidrocarburos (Sonenshine, 1985). Como en el caso de los insectos, la clasificación de las feromonas de las garrapatas obedece al comportamiento que provocan, más que a su estructura química. (Con esto en mente) Se pueden identificar 4 tipos de feromonas en garrapatas: 1) Feromonas de agrupamiento, 2) feromonas de agregación o adherimiento, 3) feromonas sexuales y finalmente 4) feromonas primer (Sonenshine, Taylor and Carlson, 1986).

El empleo de aves domésticas depredadoras a nivel de granjas pequeñas, ganadería rustica o de traspatio, ha probado ser de utilidad en otras partes del mundo, sobre todo cuando es combinada con otras medidas de control (Hassan *et al*, 1991). Algunas aves son depredadores naturales de las garrapatas, sin embargo la única especie de ave documentada como depredadora es *Buphagus erythrorhychus*, por lo que es necesaria mayor evidencia para la depredación que realizan los pollos domésticos. La garrapata *R. appendiculatus* ha sido recuperada en grandes números de las mollejas de aves domésticas que escarban de 30 minutos a 1 hora en terrenos donde pastorea ganado infestado y en estas mismas aves se han detectado otras especies de garrapatas como *B. decoloratus* y *A. variegatum*, los promedios de garrapatas recuperadas variaron de 3 a 331 con un promedio de 81 por ave, en este mismo estudio se observa que el ganado facilita la depredación debido a

ciertos hábitos conductuales y que las aves depredaron tanto garrapatas ingurgitadas recién desprendidas presentes entre la vegetación como no ingurgitadas, sin embargo, parece existir cierta predilección de las aves hacia las garrapatas no ingurgitadas, tal vez debido a que presentan mayor movilidad y llaman más su atención (Hassan *et al*, 1991).

1.10 Manejo integral de plagas (MIP)

Esencialmente, el control de plagas es el manejo de las poblaciones de organismos plaga en los agroecosistemas del hombre, en los que este manejo involucra un “escenario alterado” por el hombre también conocido como “ecosistema humano”, el cual ha avanzado rápidamente cubriendo gran parte de la zonas templadas y tropicales de la tierra (Kilgore and Doult, 1967).

En un sentido más amplio, el MIP es una noción o estrategia de carácter preventivo y perdurable, que combina tácticas compatibles para reducir las poblaciones de organismos nocivos a niveles que no causen pérdidas económicamente importantes, con efectos negativos mínimos sobre el ambiente y la salud humana (Angus, 1996). Entendiendo como estrategia la planificación y conducción global de operaciones a gran escala y táctica a el conjunto de reglas o técnicas ejecutadas para lograr los objetivos señalados por la estrategia (Hilje, 1994). El concepto de manejo se refiere al hecho de manipular ciertos componentes o procesos del agroecosistema para reducir las poblaciones plaga hasta niveles que no representes pérdidas económicas y que en el caso del MIP se enfatizan los aspectos de prevención y convivencia con las plagas y de sostenibilidad ecológica y económica (Hilje, 1994). Sin embargo, existe controversia en torno a la definición del MIP, puesto que algunos autores consideran que sería conveniente redefinir el MIP debido a que históricamente los plaguicidas han dominado dentro de este concepto, que es usado más para justificar su uso que para minimizarlos (Royer *et al*, 1999; Redondo, 1999), pero cabe aquí destacar que desde su origen el control integrado de plagas, en el contexto del agroecosistema no necesariamente se ha caracterizado por la

preservación y mantenimiento de ecosistema sin perturbación (Kilgore and Doult, 1967); no obstante, de no haber sido así, las plagas de los agroecosistemas humanos hubieran devastado y aún desaparecido, muchos cultivos vitales para la sobrevivencia del hombre en el planeta (Royer *et al*, 1999).

Es por ello que en el concepto del MIP, el uso de las diferentes tecnologías se hace de manera racional, sin abusar de una sola, como es el caso del control químico con pesticidas y debe utilizar los diferentes métodos de combate: culturales, químicos, genéticos, inmunológicos y biológicos de manera armónica y estratégica. Considera además el entorno social y ambiental que pueda influir sobre el control de la garrapata, tratando de reducir el efecto de los plaguicidas en las cadenas tróficas y sobre organismos no blanco, debido al mal uso de los plaguicidas (George, 1990; Williams, 1999; Mount *et al*, 1999; Cook, 1991; Norton *et al*, 1983). En el ámbito del combate contra las garrapatas, existen discrepancias por el uso de las tácticas seleccionadas para la estrategia de lucha contra las garrapatas, algunos autores (George, 1990; Williams, 1999; Norton *et al*, 1983) dividen en tres categorías básicas el tipo de control a usar dentro del MIP: 1) Control químico, 2) Ganado resistente y 3) Manejo del hospedero. En el primero, hacen hincapié en el tener suficiente conocimiento acerca de la situación actual que guarde la resistencia de las garrapatas a los ixodicidas en el sitio de interés para planear y programar baños estrictamente estratégicos, cobrando radical importancia, el número de baños a aplicar así como el acaricida y el tipo de aplicación idóneos a la situación del lugar. En el segundo, recomiendan la adopción de medidas selectivas de ganado resistente a las garrapatas y cruza de sangre *Bos Taurus* con *Bos indicus*, inclusive a un grado de calidad genética F1, que en un mediano plazo incrementen este atributo heredable dentro de sus hatos, sin descuidar el tratar de conservar las características de alta productividad del ganado. En el tercero, se recomiendan alternativas de combate orientadas al control que fundamentalmente involucran el manejo del medio en donde se desarrolla el hospedero, esto es, de los

pastizales, incluyendo manejo del índice de agostadero, rotación y descanso de pasturas y evitando la introducción de fauna silvestre a los potreros.

Otros opinan, que los esfuerzos deben ser encaminados a la inmunización artificial, la utilización de pastos anti-garrapatas y el uso estratégico de los plaguicidas (Beesley, 1982). Otros autores, vinculan más el MIP con el empleo de medidas prácticas que abatan las poblaciones de garrapatas dentro de un lapso de tiempo razonable y dan mayor peso a las opciones de control biológico, manipulación del hábitat, rotación de potreros y empleo de fuentes potenciales de acaricidas botánicos (Dipeolu, 1984; Dipeolu *et al*, 1992; Kaposhi, 1992; Barre, 1988; Pegram *et al*, 1993; Kaaya, 1992). Algunos describen la necesidad de sistemas de producción orgánicos donde se privilegie el empleo del control biológico y toda aquella medida que contribuya al abatimiento de las poblaciones de parásitos sin el uso del control químico (Thamsborg *et al*, 1999), lo que entra más en el campo del Manejo Agroecológico de Plagas (MAP) el cual cobra cada vez más relevancia en la agricultura, ante la demanda de productos libres de contaminantes, principalmente por parte de los países del primer mundo (Bahena, 2001). Puede resultar sencillo argumentar que el MIP, es en resumen, una combinación de medidas de control en contra de una plaga, enumerarlas y describirlas, sin embargo, el llevarlas a cabo con apego a su principio ecologista fundamental y enfoque holístico es lo realmente meritorio. Pero también puede ser una sola táctica que en determinado momento demuestre ser efectiva y resulte ser suficiente en contra de una plaga de interés de acuerdo a las condiciones particulares de cada lugar (Hilje, 1994).

La información necesaria para establecer programas de control integrado comprenden: a) La biología general, el comportamiento y la distribución de la plaga, b) Los niveles de población de la plaga que pueden tolerarse sin que causen pérdidas importantes o alcancen niveles económicamente perjudiciales, c) Los principales factores de mortalidad natural que regulan la abundancia y la dinámica poblacional de la plaga, d) Los momentos y lugares de aparición y la importancia de los principales depredadores, parásitos y patógenos, e) El impacto de los procedimientos de control en la plaga, en los factores de

mortalidad natural y el ecosistema en general (Williams, 1999; Hernández, 2000). En México, los estudios de MIP en contra de *B. microplus* que aborden el problema tanto en su planeación como en su ejecución con un enfoque holístico son muy escasos y el mejor fundamentado en cuanto a esto, es el estudio hecho por Camino (1980), quien en el estado de Morelos abordó el problema considerando los aspectos de distribución geográfica y sobre el ganado, factores climáticos, dinámica poblacional de las fases de vida libre y parásita, tipo de hábitat, tipo de ganado, tipo de manejo y depredadores presentes: midiendo todos estos factores en un periodo de tiempo, para determinar su impacto sobre *B. microplus* en clima subtropical subhúmedo.

Redondo *et al*, (1999) reportó que con el solo uso del control químico con amidinas y una vacuna hecha a partir del antígeno Bm 86, se puede alcanzar casi un 100% de control sobre *B. microplus* resistente a piretroides y organofosforados en condiciones de campo, sin embargo, el hato con el que se trabajó estaba conformado por tres variedades de cruza entre *Bos indicus* y *Bos taurus*, que significa no partir de cero en cuanto al grado de control alcanzado, empleándose cuatro revacunaciones en el lapso estudiado y varios baños antes y después de la vacunación e indican que parece haber un mecanismo de sinergismo entre la vacuna y el acaricida, además no se reportan los costos que este tipo de control involucró (Redondo *et al*, 1999).

1.11 Manejo integral de la resistencia (MIR)

La necesidad de estrategias efectivas para el manejo de la resistencia se hace más apremiante a medida que el número de especies resistentes a los plaguicidas se incrementa a nivel mundial mientras que el arsenal químico decrece. Las perspectivas de tales estrategias son alentadoras debido a los recientes avances en el conocimiento de la bioquímica genética molecular, ecología, dinámica, inspección periódica, y otros aspectos importantes de la resistencia. Las tácticas generalmente reconocidas para manejar la resistencia se agrupan en tres categorías principales: primera, baja presión de selección

complementada por un fuerte componente de medidas no químicas (manejo por moderación); segunda, la eliminación de la ventaja selectiva de los individuos resistentes al incrementar la cantidad de plaguicida que reciben a través del uso de atrayentes, o al suprimir a las enzimas desintoxicantes mediante el uso de sinergistas (manejo por saturación); y tercera, la aplicación de una selección multidireccional a través del uso de mezclas, rotaciones de plaguicidas no relacionados, o mediante el uso de plaguicidas que actúan en varios sitios de acción (manejo por ataque múltiple) (Elder and Morris, 1986; Georghiou and Taylor, 1986).

Estas tácticas no son excluyentes pues algunos de los elementos de cada una de ellas se pueden usar para formular un programa de la resistencia a largo plazo. La estrategia que se escoja debe estar sustentada en un conocimiento profundo de las implicaciones en la resistencia que cada plaguicida candidato tiene y de la biología y ecología de las especies involucradas, y dicha estrategia debe de hacer uso de todas las medidas de combate no químicas que estén disponibles (Georghiou and Taylor, 1986).

1.12 Modelos de predicción

Dentro del contexto del MIP el arribo de equipos y programas de cómputo que facilitan la simulación de procesos en donde están involucradas diversas clases de microorganismos, han llevado al desarrollo de modelos de simulación por computación. Éstos permiten la predicción de eventos, basados en el uso de modelos matemáticos que permiten ahondar en la comprensión de fenómenos complejos al someter a prueba las hipótesis planteadas y observar los comportamientos descritos matemáticamente por el modelo, bajo condiciones externas experimentales poco factibles, difíciles de llevarse a cabo, con resultados a menudo sorprendentes que dan más luz sobre el fenómeno estudiado y pueden auxiliar a la modificación de las hipótesis originales (Galíndez, 1996; Popham *et al*, 1991; Mount *et al*, 1999; Boscompte and Solé, 1995; Bourne *et al*, 1988).

Encontrar el número de baños acaricidas óptimo para una localidad o región, así como la integración de otras tácticas orientadas al control, bajo diferentes escenarios ecológicos puede ser realizado por medio de pruebas de simulación para conocer el potencial de la estrategia a usar. Si demuestra ser suficientemente fuerte pueden entonces llevarse a cabo las recomendaciones a un nivel regional (Mount *et al*, 1999; Floyd *et al*, 1987). El uso de los modelos matemáticos ha demostrado su contribución en la evaluación del impacto que nuevas tecnologías puedan tener sobre la relación garrapata-hospedero-medio ambiente (Floyd *et al*, 1987; Mount *et al*, 1991).

Para lograr la utilización racional de los acaricidas dentro de un programa de manejo integral de *B. microplus* acompañándose de nuevas tecnologías y estrategias de uso que ayuden al control de este ectoparásito, se requiere de métodos de muestreo confiables tanto en la fase de vida libre como la parásita para poder evaluar las interacciones que se efectúen sobre las poblaciones de garrapatas (Fernández, 1996; Fernández *et al*, 1999a; Frish, 1999; Zimmerman and Garris, 1985).

1.13 Situación de la ganadería en México y en el Estado de Morelos

En México, existe una superficie de aproximadamente 90 millones de ha que es susceptible de ser explotada para fines ganaderos principalmente por ganado bovino, debido a la presencia de extensas zonas de pastizales y agostadero (Tamayo, 1978), en estas zonas habita aproximadamente el 70% del hato bovino nacional (alrededor de 20 millones) (Solís, 1991), que es la actividad ganadera preponderante en el país (Tamayo, 1978). El estado de Morelos cuenta con una superficie de 4,958.2 km², en él existe una superficie explotada por ganado bovino de 186,931 ha, equivalente al 37.7% de su superficie total, de las cuales 71,552 ha (14.43%) son de pastizales y 115,379 (23.27%) son de agostadero. La producción de carne de ave y bovino constituye el 88% del volumen de la producción pecuaria en el estado, existen 110,159 bovinos, sin embargo, la producción de carne de pollo es la actividad ganadera más importante en el estado, en los últimos años, el valor de la aportación de la agricultura fue mayor al de la ganadería y la acuacultura (Anónimo, 1999). El

régimen de tenencia ejidal es el que sostiene la superficie de agostadero, dedicada a la ganadería, por lo que la inversión en infraestructura pecuaria es reducida, predominando las explotaciones de tipo extensivo. El número de productores pecuarios dedicados de lleno a esta actividad es limitado debido a la falta de rentabilidad en ocasiones motivada por la falta de calidad genética de sus rebaños (Anónimo, 1990).

1.14 Perspectivas en el control de *Boophilus microplus* en México

En la actualidad, es reconocido el valor fundamental que el conocimiento de la ecología debe tener en cualquier intento de establecimiento de sistemas de manejo en contra de las garrapatas o cualquier otra plaga (Leonard, 1997; Jutsum, 1998; Frish, 1999). Tal conocimiento también debe ser considerado cuando se estudian planes de substitución de pesticidas de amplio espectro por tácticas de control biológico, donde un cabal entendimiento de los sistemas ecológicos implicados, es requerido tanto para su desarrollo, como para su implementación (Mooney and Sala, 1993). Esto se genera del hecho de que el conocimiento científico ha sido exitosamente utilizado para maximizar la producción biótica, cuyos resultados en el mundo ahora experimentan extraordinarios niveles de producción de alimentos y fibra en los países industrializados. Estos altos niveles de producción han sido logrados por medio de la utilización de nuevas variedades de cultivos, fertilizantes, pesticidas y prácticas de manejo, desafortunadamente a medida que la producción se ha incrementado los recursos naturales han sido gravemente abatidos, la acumulación de los contaminantes se ha incrementado hasta niveles alarmantes y el deterioro ambiental ha llegado a un grado tal, que estas metas de alta productividad son ahora cuestionadas (Ehrlich, 1993). Existe apremiante necesidad de elementos que posibiliten un plan orientado al control integral de *B. microplus*. Un proyecto de tal magnitud debe contar con opciones de manejo amigables al ambiente, fácilmente aplicables, ecológicas y económicas, que coadyuven a la disminución en el uso indiscriminado de ixodicidas, sin

menoscabo de su utilización racional y apoyen su uso estratégico. Dada la situación por la que atraviesa el país, los elementos que permitan una mayor rentabilidad en la producción agropecuaria por medio del uso de opciones de esta naturaleza deben de cobrar mayor relevancia.

2. JUSTIFICACION

El potencial ganadero de México debido a la presencia de extensas áreas de pastizales y de agostadero obliga a enfocar la atención en la búsqueda de soluciones que eleven la rentabilidad de esta actividad y que sean menos dependientes de tácticas de origen extranjero (acaricidas químicos), para la lucha contra las garrapatas. En el país se estima que se aplican 90 millones de tratamientos anti-garrapatas al año (Fragoso, 2003), a un costo que puede variar entre 3 a 15 pesos por tratamiento, dependiendo del producto utilizado, lo que puede dar una idea del costo económico derivado del uso de estos productos y del grado de dependencia hacia ellos por parte de los productores, situación que ocasiona la pérdida de la sustentabilidad de la producción agropecuaria y de la soberanía nacional (Correa, 2001), además del deterioro ambiental (Leonard, 1997). En México los daños ocasionados a la ganadería por la garrapata *B. microplus* son de elevado costo y difícil solución. Desafortunadamente las regiones del trópico y subtropical del país, donde se dan las condiciones más favorables para el desarrollo de la ganadería, proliferan paralelamente plagas que afectan al ganado, destacándose entre ellas la garrapata *B. microplus*, por su amplia distribución en estas zonas y la envergadura del daño ocasionado a la productividad ganadera. Aunado a ello se ha reportado el incremento del fenómeno de resistencia manifestado en diferentes poblaciones de la garrapata *B. microplus* en el país, por una intensa presión selectiva con casi todas las familias de ixodidas presentes en el mercado de plaguicidas (Ortiz *et al*, 1995; García, 1995; Soberanes *et al*, 2002), a un nivel tal que se han hecho señalamientos oficiales acerca de la imperante necesidad de contar con otras alternativas para el combate orientado al control de esta plaga, que sean más amigables con el ambiente y factible de realizar. Es debido a esto que las opciones de índole natural como el control biológico, cultural e inmunológico dentro de un contexto de Manejo Integrado de Plaga deben evolucionar a un grado tal que permitan el uso racional, optimizado y estratégico de los ixodidas

solo en su momento y lugar adecuados con el consecuente beneficio ambiental y económico que ello involucra.

No obstante en el país el desarrollo del control cultural y biológico ha sido poco difundido y apoyado, razones por las que este tipo de control no ha podido mostrar su real capacidad y grado de contribución en el manejo del problema. Actualmente se desconoce la sobrevivencia de la garrapata *B. microplus* en diferentes tipos de pastos, en distintos agrohábittats del país, entre éstos aquellos con propiedades anti-garrapata y son escasas las investigaciones orientadas al aprovechamiento de los mismos pastizales como estrategia de control de este parásito (Camino, 1991; Barnard, 1991; Brizuela *et al*, 1996), que encierra dos ventajas, una nutricional y otra zoonosanitaria y que en su medida redundaría en la sustentabilidad (Meyer and Helfman, 1993) de la ganadería de esas regiones, al incidir en la reducción de la resistencia de las garrapatas a los ixodicidas usados para combatirlas (Leonard, 1997; Jutsum *et al*, 1998).

3. OBJETIVO GENERAL

Identificar y ensayar opciones de control en contra de *Boophilus microplus* por medio de plantas forrajeras solas o combinadas, que manifiesten un efecto anti-garrapata debido a la producción de mucílagos, exudados o alguna otra característica y que resulten ser desfavorables a la garrapata e inofensivos al hospedero.

3.1 Objetivos específicos

1. Determinar el grado de efecto anti-garrapata *Boophilus microplus* de las gramíneas *Andropogon gayanus* y *Melinis minutiflora* y las leguminosas *Leucaena leucocephala*, *Macroptillium artropurpureum*, *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata* .

2. Correlacionar la temperatura ambiental y la humedad relativa con la cantidad y actividad de las garrapatas en su estadio larval, presentes en gramíneas y leguminosas forrajeras infestadas con larvas de *Boophilus microplus*.

3. Determinar la sobrevivencia de las larvas de *Boophilus microplus*, en diferentes especies de gramíneas y leguminosas durante las distintas estaciones del año.

4. Determinar el valor nutricional de las especies forrajeras con efecto anti-garrapata.

3.2 Hipótesis

1. El uso de plantas forrajeras con efecto anti-garrapata reduce la población de *Boophilus. microplus* infestantes presentes en parcelas experimentales.

2. Las especies forrajeras con efecto anti-garrapata son inocuas al hospedero bovino, aportan un valor nutricional a la pradera, y son susceptibles de ser pastoreadas.

3. La sobrevivencia de *Boophilus. microplus* en su fase larval está influenciada por el tipo de pasto y condiciones climatológicas en donde esté presente.

4. Si el efecto anti-garrapata de algunas especies forrajeras se manifiesta en parcelas experimentales en condiciones de campo, entonces este mismo efecto se manifiesta en plantas individuales en condiciones de laboratorio semi controladas.

4. METODOLOGÍA

4.1 Sitio de estudio

La fase experimental de campo fue llevada a cabo en terrenos agrícolas del Ejido Progreso en Jiutepec, Morelos a 1,528 MSNM, con un clima tipo subtropical subhúmedo Awo, (García, 1988) con una precipitación pluvial anual que varía entre 800 y 1,100 mm, con la máxima precipitación de junio a septiembre y mínima de diciembre a mayo. La temperatura media anual varía entre 18 a 20.7°C (García, 1988). En este sitio fueron establecidas y estudiadas parcelas experimentales durante tres fases. Las actividades de laboratorio se realizaron en el área de laboratorio de ecología de garrapatas del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET) del INIFAP-SAGARPA en Jiutepec, Morelos, en donde se efectuó el procesamiento de las muestras de larvas de garrapatas para su conteo e identificación y la reproducción del ciclo biológico de *B. microplus*, para disponer del material biológico necesario en el experimento. En el área de invernadero del CENID-PAVET, fueron conducidos los estudios bajo condiciones controladas de la actividad de las larvas de *B. microplus* en las especies forrajeras con efecto anti-garrapata.

4.2 Experimentos en condiciones de campo

Los estudios realizados bajo estas condiciones fueron divididos en una fase de ensayos preliminares para la estandarización de la técnica de muestreo y tres fases de experimentación bajo condiciones de campo. La fase 1, consistió en la siembra y establecimiento de gramíneas y leguminosas e infestación de parcelas experimentales con larvas activas de *B. microplus* de 7 a 14 días de edad, en las cuatro estaciones del año. La fase 2, en donde se probaron combinaciones de dos gramíneas y una leguminosa en las cuatro estaciones del año. La fase 3, en la que se compararon diferentes técnicas de muestreo involucrando al hospedero bovino en pastos con efecto anti-garrapata.

4.3 Colonia de garrapatas *Boophilus microplus*.

Las larvas de garrapatas *B. microplus* utilizadas, fueron de la cepa "Zapata", susceptible a los organofosforados y piretroides y libre de hemoparásitos. Esta cepa fue mantenida por pase en bovinos jóvenes de la raza Holstein, de aproximadamente 120 kg de peso, alojados en el área de aislamiento del CENID-PAVET del INIFAP e infestados con 20,000 larvas activas de *B. microplus* de 7 a 14 días de edad para reproducir el ciclo biológico. Las larvas se liberaron sobre el dorso del animal, que fue mantenido en una corraleta individual y sujetado con yugo. Se realizó una inspección diaria del animal y a partir del día 21 posterior a la infestación se colectaron las hembras ingurgitadas desprendidas del bovino y capturadas en las charolas de recolección ubicadas en el piso de la corraleta para este fin. Terminado el lapso de desprendimiento de garrapatas adultas del bovino infestado, éste fue liberado del yugo, sacado de la corraleta, bañado con ixodicida, se le aplicaron reconstituyentes y fue entonces retirado del área de aislamiento. Las hembras ingurgitadas recién desprendidas se llevaron al laboratorio para su limpieza con agua y se colocaron en cajas de petri, 25 hembras por caja, las cuales una vez identificadas fueron incubadas a 28°C y 90% de humedad relativa. Aproximadamente 14 días después de iniciada su incubación fue completada la oviposición, las masas ovígeras fueron colectadas, pesadas y depositadas en viales de 5 ml en cantidades de 1.0, 0.5, 0.25 y 0.125 g para la obtención de los diferentes números de larvas requeridos en los experimentos y reproducción del ciclo biológico, una vez finalizada la eclosión de las larvas y alcanzada la edad de las larvas de 7 a 14 días.

4.4 Ensayos preliminares para la estandarización de la técnica de muestreo

Fueron realizados cuatro experimentos preliminares para la estandarización de la técnica de muestreo, el primero tuvo como objetivos determinar: 1) el número de larvas de *B. microplus* requeridas para asegurar la

infestación de las parcelas experimentales en el lugar de estudio, 2) la modalidad de la técnica de muestreo a usar para una mejor recuperación de larvas en los muestreos. Para esto fueron establecidas parcelas en un área adyacente al sitio de estudio principal, con la gramínea forrajera estrella de África (*Cynodon plectostachyus*) con las siguientes características de diseño experimental: un cuadrante de 5 m de largo por 1 m de ancho con 1 m de separación entre ellas, posteriormente se realizó un corte de homogenización a una altura de 50 cm de altura y de las cuales se seleccionaron 24; este ensayo fue realizado durante el verano de 1997. La infestación de las parcelas se realizó por medio de un diseño factorial al azar a x b x c (Snedecor y Cochran, 1977) con cuatro repeticiones, donde el factor "a" fue la cantidad de larvas de *B. microplus* liberadas: 2,500, 5,000 y 10,000 larvas de 7-14 días de edad en el piso del pasto. El factor "b" consistió en dos variantes de la técnica de muestreo de rastreo con bandera (Zimmerman and Garris, 1985; Sutherst, *et al*, 1978), en las que se utilizaron franelas de 1 x 1 m fijadas por un extremo a un sujetador de madera. Las modalidades fueron: la técnica de muestreo de rastreo simple consistente en una ida y un retorno con 30 segundos de duración en total a lo largo de los 5 m de la parcela (cuadrante), y la técnica de muestreo de doble rastreo consistente en dos idas y dos retornos y 1 minuto de duración total. El factor "c" fue el tiempo en que se efectuó el muestreo a las 24, 48 y 168 horas después de liberadas las larvas. La cantidad de larvas de *B. microplus* recuperadas se determinó al contabilizar las larvas en la franela, considerando como larva activa e infestante (previo examen al microscopio estereoscópico) aquella que haya quedado prendida de la superficie de franela del dispositivo de muestreo. La liberación de larvas en los pastos fue de acuerdo a la técnica de Fernández (1996).

El segundo estudio de muestreo en esta fase preliminar, se realizó en el otoño de 1997, para determinar el número de larvas recuperadas en cada recorrido (15 segundos) por medio de un rastreo total con un tiempo de muestreo de 1 minuto. En este ensayo se cuantificó el número de larvas recuperadas a cuatro tiempos: 5, 10 y 20 minutos posteriores a la liberación de

5,000 larvas de *B. microplus* de 7-14 días de edad, liberadas en las subparcelas de muestreo sembradas con zacate buffel (*Cenchrus ciliaris*) con seis réplicas. Una semana después las subparcelas fueron muestreadas con franelas marcadas con las letras A y B para cada lado de la primera franela y con las letras C y D de la segunda franela; el muestreo se realizó en el mismo sitio.

Un tercer estudio se realizó para determinar el periodo de mayor actividad de larvas de *B. microplus* en los pastos *M. minutiflora*, *A. gayanus* y *C. ciliaris* por medio de muestreo de bandera de doble rastreo a las 24, 48, 72, 96 y 168 horas posteriores a la infestación con 5,000 larvas de 7-10 días de edad por cada subparcela. El cuarto estudio se realizó para cuantificar la sobrevivencia larvaria en las subparcelas muestreando con bandera de doble rastreo a los 14, 21, 28 y 35 días posteriores a la liberación de larvas.

Todos los resultados de la fase preliminar se analizaron por medio de ANDEVA y prueba de Duncan (Daniel, 1998) y con ayuda de la hoja electrónica y funciones estadísticas Excel.

4.5 Fase 1. Evaluación del efecto anti-garrapata en gramíneas y leguminosas forrajeras

4.5.1 Tratamientos.

Gramíneas:

Melinis minutiflora (gordura)

Andropogon gayanus (llanero)

Cenchrus ciliaris (buffel)

Leguminosas:

Leucaena leucocephala (guaje)

Stylosanthes humilis

Stylosanthes hamata

Macroptilium atropurpureum (siratro)

4.5.2 Pruebas de escarificación y germinación

Se llevaron a cabo pruebas de escarificación (Carvajal y Huchín, 1996) y germinación de las leguminosas del género *Stylosanthes* y siratro: (*M. artropurpureum*) y de germinación para *C. ciliaris*, *A. gayanus* y *M. minutiflora*, para su posterior cultivo en germinadores para comparar el grado de efecto que el proceso de escarificación tuviera sobre el porcentaje de germinación de éstas especies. De todas las gramíneas y leguminosas empleadas se tomaron muestras de semillas para estudios de germinación en el Campo Agrícola Experimental Iguala-INIFAP, especializado en producción de germoplasma.

4.5.3 Parcelas experimentales

Para cada especie de pasto fueron preparadas seis parcelas de 5 m de ancho por 7 m de largo con una separación entre parcelas de 1 m. Cada parcela contenía cinco subparcelas de 1 m de ancho por 5 m de largo que constituyeron las unidades experimentales de muestreo (Figura 4). Dentro de cada parcela fueron hechos tres surcos de cultivo (cada uno de 5 cm de profundidad y con separación de 25 cm entre surcos), dentro de los cuales fue sembrada la especie de pasto correspondiente.

Figura 4. Diseño de la parcela y subparcelas experimentales utilizadas en cada repetición

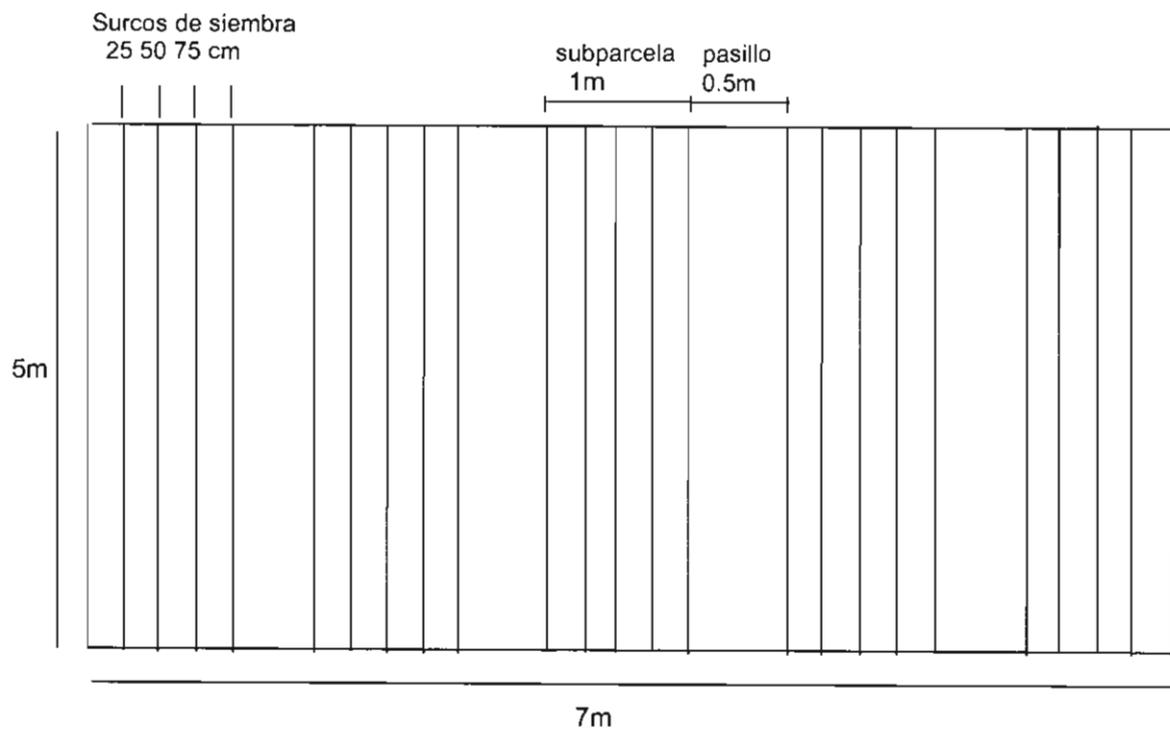
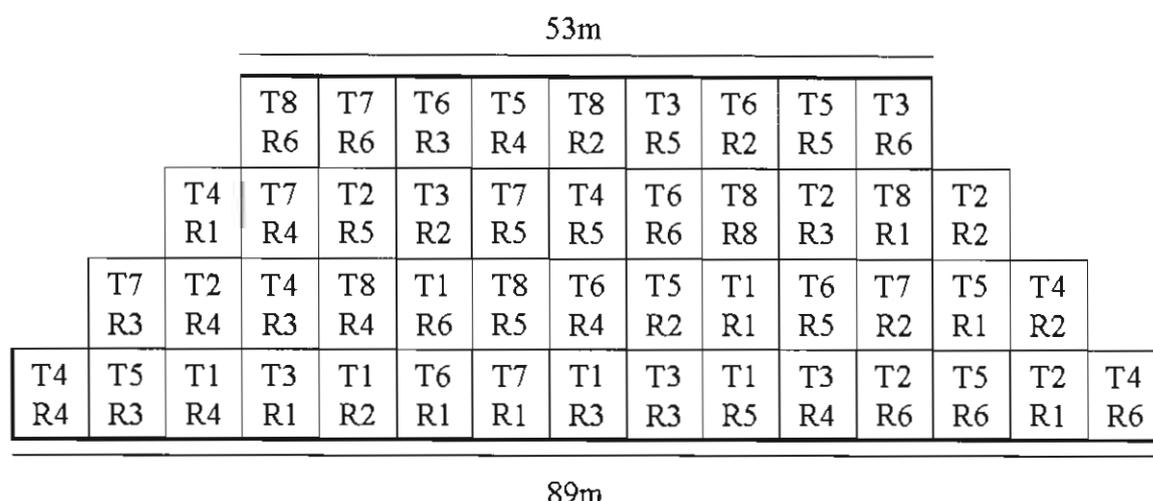


Figura 5. Diseño del área experimental y distribución de tratamientos de la fase 1 en Jiutepec, Morelos, Mexico.



TR ATAMIENTOS

T1 *C. ciliaris*

T2 *A. gayanus*

T3 *M. minutiflora*

T4 *L. leucocephala*

T5 *M. artropurpureum*

T6 *S. humilis*

T7 *S. hamata*

T8 *S. humilis/ S. hamata*

4.5.4 Siembra

La gramínea *C. ciliaris* fue usada como control negativo, debido a los antecedentes existentes acerca de su carencia de efecto anti-garrapata (Fernández *et al*, 1999ab). El terreno de siembra fue de tipo vertisol, con topografía plana y pedregosidad moderada, el cual fue preparado mecánicamente, con remoción de maleza y piedras. La densidad de siembra fue equivalente a 12 Kg/Ha (Whitman, 1976) de semilla comercial con excepción de *M. minutiflora* el cual fue establecido con cuatro toneladas de material vegetativo por Ha. El mantenimiento de los pastos consistió en la remoción manual de maleza, fertilización en la época de establecimiento y corte, colecta y remoción

estacional de la pastura. El área de siembra fue irrigada durante la estación seca de primavera cuando los pastos fueron sembrados; en los años posteriores se realizó una irrigación por estación (excepto en veranos húmedos). Para las especies de leguminosas utilizadas (*Leucaena leucocephala*, *Macroptilium artropurpureum*, *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata*), se utilizó una densidad de siembra equivalente a 12kg de semilla comercial por Ha. (Whitman, 1976). La siembra se realizó en el verano de 1997, bajo un diseño completamente al azar con seis repeticiones para todas las especies en estudio (Figura 5). Una vez establecidas las especies forrajeras fueron determinadas las siguientes características agronómicas: número de plantas por m² (usando un cuadrante de 1 x 1 m), altura de plantas (con la ayuda de una regla), porcentaje de cobertura aérea y basal (por medio del cuadrante de 1 x 1 m) y producción de materia seca (usando un cuadrante de 1 x 1 m).

4.5.5 Análisis químico de los forrajes

Se realizó el análisis químico proximal de las gramíneas *M. minutiflora*, *A. gayanus* y *C. ciliaris* y de las leguminosas *S. humilis*, y *S. hamata*, tomando una muestra representativa (1kg), con el fin de corroborar su valor nutricional.

4.5.6 Diseño experimental de la Fase 1

Las parcelas experimentales fueron establecidas en el terreno bajo un patrón de distribución completamente al azar (Figura 5) y se utilizó un diseño factorial a x b x c, con 6 repeticiones por tratamiento, donde el factor "a" fueron las especies forrajeras en estudio, (*A. gayanus*, *M. minutiflora* y *C. Ciliaris*, *L. leucocephala*, *M. artropurpureum*, *S. humilis*, *S. hamata*). El factor "b" fue el tiempo para la toma de muestra, 7 días posteriores a la infestación. El factor "c" fueron las estaciones del año estudiadas de 1997 a 1999 (Snedecor y Cochran, 1981).

4.5.7 Infestación de parcelas experimentales

Una vez establecidas las parcelas experimentales y con base en los estudios preliminares, éstas fueron infestadas con larvas de *B. microplus* de 7-10 días de edad liberando 5,000 larvas por parcela por estación. Para esto fue colocado un vial conteniendo 5,000 larvas en el centro de cada parcela, entonces el vial se destapó y desde el centro se movió hacia ambos extremos de cada parcela en una línea recta central para asegurar una distribución uniforme de las larvas (Fernández, 1996). La liberación de larvas en los estudios preliminares fue realizado en la misma forma.

4.5.8 Evaluación del efecto anti-garrapata

Este experimento fue llevado a cabo en las estaciones de otoño e invierno 1997, primavera, verano y otoño de 1998 y otoño de 1999 para las gramíneas. Para las leguminosas el seguimiento se hizo en el otoño e invierno 1997, primavera y verano 1998. Una vez liberadas las larvas, se realizó el muestreo de bandera con doble rastreo a los 7 días posteriores a la infestación y fueron muestreadas 6 replicas (parcelas) por tratamiento por muestreo. Este procedimiento fue repetido durante cada una de las estaciones estudiadas utilizando las mismas parcelas después del corte estacional.

4.5.9 Muestras

Cada franela usada para los muestreos fue identificada con los datos de la parcela y fecha, la franela fue entonces doblada e introducida a una bolsa de plástico que se cerró con cinta adhesiva y fueron transportadas al laboratorio del CENID-PAVET para su procesamiento. Las franelas fueron extraídas de las bolsas, desdobladas sobre una superficie blanca rodeada de cinta adhesiva, identificando y contabilizando las larvas de *B. microplus* adheridas a la franela por medio de microscopio estereoscópico.

4.5.10 Análisis estadístico de la Fase 1

Todos los datos fueron capturados en una hoja de datos (Excel). Los datos obtenidos de la evaluación del efecto anti-garrapata fueron analizados por medio de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, ANDEVA simple y prueba de Tukey (Zar, 1991; Daniel, 1998). En esta fase se realizó además un análisis de correlación de Pearson entre el número de larvas recuperadas y los valores de temperatura, humedad relativa y precipitación pluvial para el sitio de estudio (1997-1998). Para los análisis de datos de esta fase se usaron los programas estadísticos MAT-LAB, Excel y SPSS.

4.6 Fase 2. Evaluación de combinaciones de gramíneas y leguminosas en base a su efecto anti-garrapata

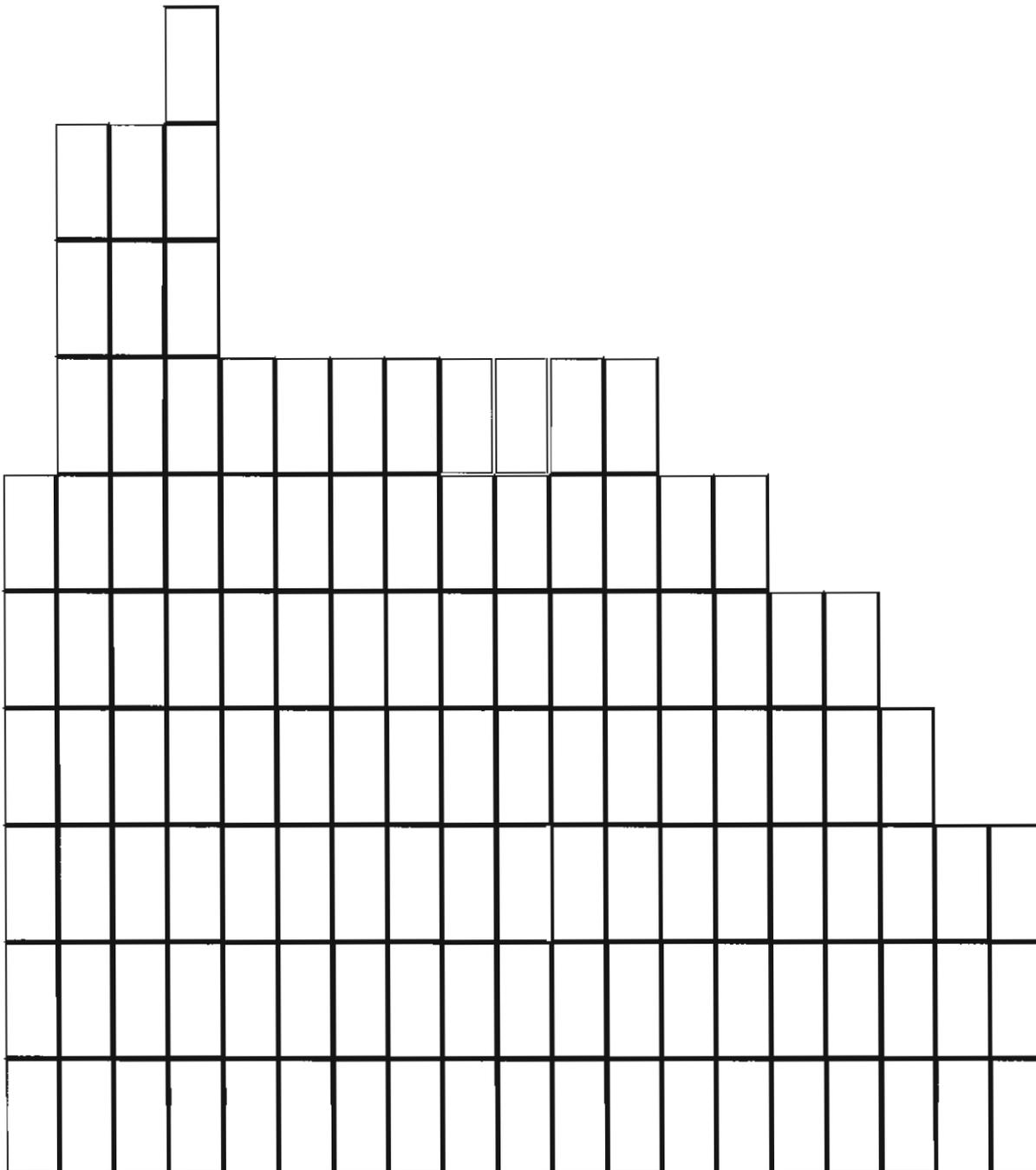
4.6.1 Diseño de Tratamientos

En el área de la Fase 2 (Figura 6) se siguió un patrón de distribución completamente al azar.

Proporciones porcentuales de las combinaciones gramínea – *L.leucocephala*

| Tratamiento | Leguminosas | % | | % |
|-------------|--|-----|------------------------------|----|
| T1 | <i>Melinis minutiflora</i> | 100 | | |
| T2 | <i>Melinis minutiflora</i> | 75 | <i>Leucaena leucocephala</i> | 25 |
| T3 | <i>Melinis minutiflora</i> | 50 | <i>Leucaena leucocephala</i> | 50 |
| T4 | <i>Melinis minutiflora</i> | 25 | <i>Leucaena leucocephala</i> | 75 |
| T5 | <i>Andropogon gayanus</i> | 100 | | |
| T6 | <i>Andropogon gayanus</i> | 75 | <i>Leucaena leucocephala</i> | 25 |
| T7 | <i>Andropogon gayanus</i> | 50 | <i>Leucaena leucocephala</i> | 50 |
| T8 | <i>Andropogon gayanus</i> | 25 | <i>Leucaena leucocephala</i> | 75 |
| T9 | <i>Leucaena leucocephala</i> | 100 | | |
| T10 | <i>Cenchrus ciliaris</i> (testigo negativo para gramíneas) | | | |
| T11 | <i>Clitoria ternatea</i> (testigo negativo para leguminosas) | | | |

Figura 6. Diseño del área experimental y distribución de las parcelas experimentales para los tratamientos de la fase 2 en Jiutepec, Morelos, México.



4.6.2 Siembra

La siembra de los pastos se realizó manualmente en el verano de 1998; con el fin de tener una buena población de plantas al establecimiento, se utilizó una densidad de siembra equivalente a 6kg de semilla comercial de las leguminosas y 12kg para las gramíneas por hectárea y se aplicó un 25% de semilla en cada surco (0.75 g de leguminosa o 1.5 g de gramínea). Al inicio de la primavera de 1999, se efectuó un ajuste de la densidad de población por parcela a un equivalente a 100,000 plantas por Ha. en las gramíneas, 200,000 en *C. ternantea* y 34,000 en *L. leucocephala*, mediante la eliminación de excesos de plantas o con la plantación de faltantes principalmente *L. leucocephala* de la cual se contaba con material vegetativo germinado previamente y desarrollado a una altura suficiente para ser transplantado. Como labores culturales para el mantenimiento de las especies se realizaron periódicamente deshierbes manuales y se aplicó una vez por año, una fórmula de fertilización 80-40-00 N-P-K/Ha, con riegos de auxilio en la estación seca y cortes manuales de follaje al final de cada estación.

4.6.3 Infestación

Se realizó una infestación en cada estación (verano y otoño de 1999, invierno de 1999-2000 y primavera del 2000), liberando 5,000 larvas activas de 7 a 14 días de edad por repetición para todos los tratamientos de esta fase y a los siete días de la liberación de las larvas se procedió a realizar los muestreos por medio de la técnica de arrastre con bandera (Fernández,1996). El procesamiento de las muestras, la evaluación del efecto anti-garrapata, así como la identificación y conteo de las larvas de *B. microplus* recuperadas con las banderas, se efectuó en el laboratorio, de igual manera que en la fase 1.

4.6.4 Análisis estadístico de la Fase 2

Todos los datos fueron capturados en una hoja electrónica (Excel) y analizados por medio de un ANDEVA simple, análisis no paramétrico de Kruskal Wallis y prueba de Tukey. Empleando para ello los programas estadísticos MAT- LAB, Excel y SPSS.

4.7 Fase 3. Comparación de diferentes técnicas de muestreo involucrando al hospedero bovino en pastos con efecto anti-garrapata

4.7.1 Tratamientos

El ensayo, realizado en otoño e invierno 1999-2000, consistió en la comparación de cuatro métodos de muestreo de campo para larvas de garrapata, que se consideran como tratamientos: T1.- Técnica de bandera (Figura 7), T2.- Bandera cebada (Figura 8); T3.- Humano con vestimenta (Chaparrera Figura 9) y T4.- Bovino con vestimenta (Figura 10).

4.7.2 Parcelas experimentales e infestaciones

Los muestreos se realizaron sobre parcelas experimentales (integradas por 5 parcelas de 1 x 5 m) de tres gramíneas forrajeras: *A. gayanus* (llanero), *M. minutiflora* (gordura), y *C. ciliaris* (buffel). Para la infestación de las parcelas de ambos ensayos, se procedió a la liberación de 5,000 larvas de *B. microplus* de entre 2-3 semanas de edad en las unidades experimentales (parcelas). Se utilizaron larvas de una cepa susceptible a organofosforados y libre de hemoparásitos.

Figura 7. Técnica de muestreo de bandera consistente de una franela de 1x1m² para el muestreo de larvas de *B. microplus*



Esta técnica consiste en el arrastre una franela blanca, que es colocada al extremo de un poste para su manejo. Esta técnica tiene la finalidad de simular el paso del bovino sobre el forraje cuando este se encuentra pastando.

Figura 8. Becerro utilizado en la técnica de bandera cebada



En esta técnica se utiliza como en la anterior, una franela de $1 \times 1 \text{m}^2$ friccionada enérgicamente sobre el bovino para que se impregne de su olor y se procede a colocarlo en el extremo del poste para su arrastre sobre el estrato vegetativo.

Figura 9. Técnica de Chaparrera

En la figura 9 a se muestran las chaparreras utilizadas y que consisten en Una franela de $1 \times 1 \text{m}^2$ cortada por la mitad y en la figura b se muestra las chaparreras colocadas en la persona que camina a través de las parcelas experimentales infestadas



a

b

Para esta técnica, la franela de muestreo está dividida en dos fracciones iguales en las dos terceras partes inferiores, con las cuales se cubre por completo las piernas del muestreador que simulan el paso del bovino en el pasto.

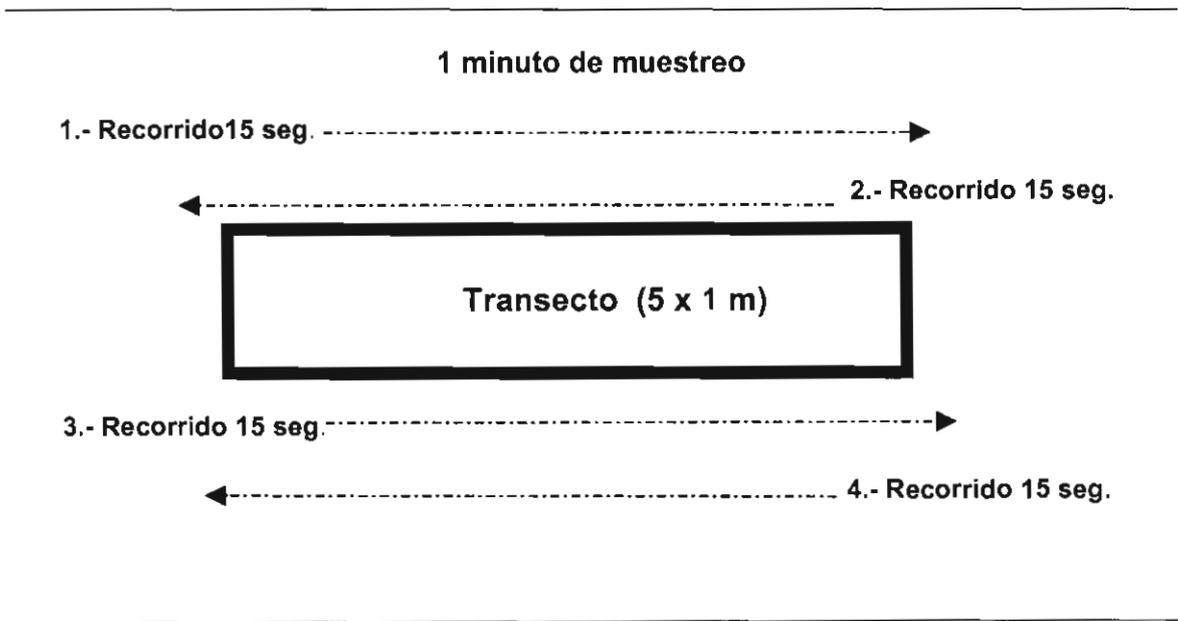
Figura 10. Técnica de bovino con vestimenta en la cual se observa al bovino caminar a través de la parcela experimental infestada con larvas de *B. microplus*



En esta técnica se utiliza franela para cubrir la totalidad del cuerpo del bovino, en 5 partes: extremidades anteriores, cabeza, tronco, abdomen y extremidades posteriores, las dimensiones dependerán del tamaño del animal muestreador que se pasa por el transecto (parcela) de cada pasto.

El tiempo de muestreo y movimientos en cada una de las técnicas fue de 1 minuto de duración (Figura 11), el cual se dividió en 4 secciones de recorrido, utilizando 15 segundos por sección para lograr un muestreo uniforme dentro de la parcela de cada pasto forrajero.

Figura 11. Tiempo y movimientos para realizar el muestreo con cada técnica en los pastos forrajeros.



Todos los muestreos se realizaron a los 7 días de la infestación. Las muestras se procesaron y analizaron de la misma forma que en las fases 1 y 2. El efecto anti-garrapata se evaluó por la identificación y el conteo de las larvas recuperadas, bajo los mismos criterios observados en la fase preliminar y fases 1 y 2

4.7.3 Análisis estadístico de la Fase 3

Todos los datos fueron capturados en una hoja electrónica (Excel) y fueron analizados por ANDEVA y prueba de Duncan, utilizando para ello los programas estadísticos SPSS y Excel.

4.8 Experimento de cultivo en macetas en condiciones de laboratorio de cinco especies forrajeras

El experimento realizado en esta etapa consistió en el estudio del efecto anti-garrapata en especies forrajeras cultivadas en recipientes y mantenidas bajo condiciones de laboratorio y tuvo por objetivos: Determinar el porcentaje de distribución de larvas activas de *Boophilus microplus* presentes en el material vegetativo y fuera de él, en las gramíneas: buffel (*Cenchrus ciliaris*), gordura (*Melinis minutiflora*), llanero (*Andropogon gayanus*), insurgente (*Brachiaria brizantha*) y la leguminosa *Leucaena leucocephala*, cultivadas en maceta y mantenidas en condiciones de laboratorio y definir el grado de selectividad de las larvas en las combinaciones: *C. ciliaris/A. gayanus*, *C. ciliaris/B. brizantha*, *C. ciliaris/M. minutiflora* y *C. ciliaris/L. leucocephala*.

4.8.1 Cultivo en macetas

El estudio se dividió en dos etapas, en la primera fueron sembradas en macetas plásticas de 350 cc conteniendo tierra, 5 semillas por especie/maceta. Cuando alcanzaron una altura de 25 a 30 cm fueron seleccionadas 5 repeticiones por especie, a las que se les colocó una barrera de papel aluminio con gravilla entre la tierra y el macollo y otra barrera de cinta adhesiva (maskin) alrededor de la superficie externa de la maceta. Una vez preparadas se liberaron en la gravilla contigua a la parte inferior del tallo, 100 larvas de *B. microplus*, de 10-15 días de edad, susceptibles a los organofosforados. Posteriormente, se elaboró una trampa de larvas a prueba de fugas y consistió en que las macetas

infestadas fueron introducidas en cajas de unicel (hieleras) de 62 x 42 cm y 60 cm de profundidad con otra barrera de cinta adhesiva en los márgenes superiores internos de la caja y cerrada ésta con tela de tul doble como techo. Las cajas conteniendo las macetas fueron colocadas bajo condiciones de laboratorio en un sitio con acceso a la luz natural y 48 horas después, de las 8 a las 10 a.m., se sacaron las macetas y las plántulas fueron seccionadas por estratos en tercio superior, tercio medio y tercio inferior, guardando las secciones en bolsas de plástico. De la maceta se quitaron las barreras y se guardaron por separado el macollo, la gravilla, el papel aluminio, y la barrera de cinta adhesiva de la superficie externa, y de la caja se separaron las barreras adhesivas de los márgenes superiores internos. Las observaciones y conteos por estratos se realizaron al microscopio estereoscópico. En la segunda etapa se utilizaron macetas rectangulares de 3,000 cc y 50 cm de largo con las combinaciones: 1) *C.ciliaris* – *A. gayanus*, 2) *C. ciliaris* – *B. brizantha*, 3) *C. ciliaris* – *M. minutiflora*, 4) *C.ciliaris* – *L. leucocephala* con 3 repeticiones, para definir el grado de selectividad de las 100 larvas liberadas en la parte central de la maceta, entre las 2 plántulas, mediando un espacio de 12.5 cm entre el sitio en donde se colocaron y los tallos de las plantas y fueron tratadas y analizadas con la misma metodología que en la primera etapa del experimento.

4.8.2 Análisis estadístico

Se analizaron los datos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1998) para análisis de varianza por rango, utilizando para ello el programa estadístico SPSS.

5. RESULTADOS

5.1 Resultados de los ensayos preliminares para la estandarización de la técnica de muestreo

En los ensayos preliminares de muestreo fue determinado que entre las dos variantes de la técnica usada; bandera simple y bandera con doble recorrido y el tiempo de muestreo realizado (24, 48 y 168 horas) no hubo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre el número de larvas recuperadas en ambos tipos de muestreo (Cuadro 2). Pero el número de larvas recuperadas fue aumentando a medida que había más larvas activas en las unidades experimentales de muestreo; mientras más alta la infestación mejor la recuperación de larvas ($P < 0.05$). Por lo tanto se eligió muestrear a los 7 días posteriores a la infestación de las parcelas e infestar el pasto con 5,000 larvas por parcela, y muestrear con la técnica de bandera con doble rastreo. En el estudio referente a la recuperación de larvas a tres tiempos posteriores al primer minuto de muestreo, se encontró que a los 15 segundos de muestreo el 64% del total de larvas recuperadas habían sido colectadas en la franela; a partir de este momento la recuperación larval fue decreciendo.

En el estudio con *C. ciliaris*, solamente en el verano, para la determinación del tiempo para realizar el muestreo larvario de *B. microplus*, se encontró en este pasto la más alta media de recuperación larval a los 7 días después de liberadas las larvas y fue después disminuyendo con el tiempo la recuperación larval al muestreo (Cuadro 3): en los muestreos realizados dentro de un rango de 24 a 168 horas en *C. ciliaris*, *A. gayanus*, y *M. minutiflora* durante el otoño, se observó que fue en *C. ciliaris* en donde se obtuvo la mayor cantidad de larvas y en *M. minutiflora* la menor para la estación ($P < 0.05$) (Cuadro 4). En la serie de muestreos realizados después de los efectuados en el rango de 24 a 168 horas, se encontraron a los 14 días posteriores al realizado a las 24 horas, diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$); las larvas encontradas en *C. ciliaris* fueron: 2 larvas, a los 21 días 1 larva, a los 28 días 0

larvas y a los 35 días posteriores 0 larvas; en *A. gayanus*, fueron: 20 larvas, 4 larvas, 0 larvas y 0 larvas respectivamente; y en *M. minutiflora* se encontraron 0 larvas en cada uno de estos tiempos respectivamente. En las tres especies de pastos para estos muestreos se usaron 5 repeticiones.

Cuadro 2. Porcentaje de larvas de *B. microplus* recuperadas por medio de dos variantes de la técnica de muestreo de rastreo con bandera en parcelas de *C. plectostachyus* (pasto estrella de África) experimentalmente infestadas con 3 diferentes números de larvas (2,500, 5,000 y 10,000) en el verano de 1997 en Jiutepec, Morelos, México.

| Tiempo | Técnica de muestreo | Porcentaje de larvas recuperadas | | |
|----------|---------------------|----------------------------------|-------|--------|
| | | 2,500 | 5,000 | 10,000 |
| 24 horas | Rastreo | 10.9 | 8.6 | 11.3 |
| 24 horas | Doble rastreo | 12.5 | 8.2 | 15.1 |
| 48 horas | Rastreo | 3.4 | 2.8 | 5.1 |
| 48 horas | Doble rastreo | 4.1 | 3.9 | 6.1 |
| 168horas | Rastreo | 0.2 | 0.1 | 0.1 |
| 168horas | Doble rastreo | 0.2 | 0.2 | 0.1 |

Cuadro 3. Larvas recuperadas a diferentes tiempos de muestreo por medio de técnica de bandera en *C. ciliaris* en verano.

| DIAS POST-INFESTACION | LARVAS RECUPERADAS |
|-----------------------|--------------------|
| 7 | 1,198a |
| 14 | 459b |
| 21 | 117c |

a, b, c: Valores con diferente literal en la misma columna son diferentes ($P < 0.05$)

Cuadro 4. Larvas recuperadas a diferentes tiempos de muestreo por medio de la técnica de bandera (otoño) en 3 pastos forrajeros en Jiutepec, Morelos, México.

| HORAS POST-INFESTACIÓN | LARVAS RECUPERADAS | | |
|---------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
| 24 | 818a | 590b | 29c |
| 48 | 483b | 767a | 51c |
| 72 | 336b | 517a | 20c |
| 96 | 1,049a | 594b | 60c |
| 168 | 103a | 57b | 3c |

a, b, c: Valores con diferente literal en la misma columna son diferentes ($P < 0.05$)

5.2 Fase 1

5.2.1 Evaluación del efecto anti-garrapata en gramíneas

Durante la estación de otoño de 1997, entre las tres especies de pasto estudiadas hubo diferencias estadísticas significativas ($F=9.6$; $gl=2,15$; $p < 0.05$), en las medias de recuperación larvaria entre *A. gayanus* y *M. minutiflora* en comparación con *C. ciliaris*; en el invierno 97-98 hubo diferencias significativas entre *C. ciliaris* y *A. gayanus* en comparación con *M. minutiflora* ($F=11.26$; $gl=2,15$; $p < 0.05$); en primavera 98, hubo diferencia significativa entre las tres especies de gramíneas ($F=21.26$, $gl=2,15$; $p < 0.05$) y en verano 98, hubo diferencias significativas entre *A. gayanus* y *M. minutiflora* en comparación con *C. ciliaris* ($F=50.07$, $gl=2,15$; $p < 0.05$). Entre estaciones *C. ciliaris*, fue significativamente diferente entre las estaciones de otoño y verano en comparación con invierno y primavera ($F=64.08$; $gl=3.20$; $p < 0.05$); *A. gayanus* mostró diferencias significativas ($F=40.6$; $gl=3.20$; $p < 0.05$) en otoño con las otras tres estaciones; *M. minutiflora* también mostró diferencias significativas ($F=34.1$; $gl=3.20$; $p < 0.05$) entre el otoño y las otras estaciones (Cuadro 5).

Cuadro 5. Promedios de larvas de *B. microplus* recuperadas a los 7 días posteriores a su liberación en tres especies de pastos durante cuatro estaciones del año (1997-1998).

| Gramíneas | <i>Cenchrus ciliaris</i> | | <i>Andropogon gayanus</i> | | <i>Melinis minutiflora</i> | |
|-----------|--------------------------|-----|---------------------------|-----|----------------------------|-----|
| Estación | Larvas Prom. | DE* | Larvas Prom. | DE | Larvas Prom. | DE |
| Otoño | 802Aa | 216 | 544Ab | 289 | 396Ab | 258 |
| Invierno | 32Ba | 15 | 23Ba | 7 | 4Bb | 7 |
| Primavera | 68Ba | 7 | 21BCb | 9 | 2BCc | 2 |
| Verano | 648Aa | 198 | 143BCb | 32 | 13BCb | 8 |

DE* Desviación estándar

a, b, c: Valores con diferente literal en la misma línea son estadísticamente significativos (P< 0.05)

A, B, C: Valores con diferente literal en la misma columna son estadísticamente significativos (P< 0.05)

En el muestreo realizado en cuatro estaciones de otoño consecutivos (1997-2000), *M. minutiflora* mostró el mayor efecto anti-garrapata. En *C. ciliaris* y *A. gayanus* se observó el mismo patrón de comportamiento en cuanto a la media de recuperación larvaria en los muestreos correspondientes a estos otoños, (F= 1.13, gl=3,20, p>0.05) y (F=0.40, gl=3.20, p>0.05) respectivamente (Cuadro 6).

En *M. minutiflora* hubo diferencias estadísticas significativas entre los otoños 1997 y 1998 con los otoños de 1999 y 2000 (F=4.9; df=3.20; p<0.05) (Cuadro 6). Entre especies, durante los otoños 97 y 98 hubo diferencias significativas de *C. ciliaris* con *A. gayanus* y *M. minutiflora* (F=9.6; df=2.15; p<0.05) y (F=8.37; gl=2,15; p<0.05), respectivamente (Cuadro 6).

Durante los otoños 99 y 2000 se encontraron diferencias entre las tres especies en estudio (F=21.8; gl=2,15; p<0.05) y (F=43.0; gl=2,15; p<005) respectivamente (Cuadro 6).

Cuadro 6. Promedios de larvas de *B. microplus* recuperadas de seis réplicas a 7 días de su liberación en parcelas experimentales con tres especies de pastos forrajeros en 4 otoños consecutivos (1997-2000).

| Pastos | 1997 | DE* | 1998 | DE | 1999 | DE | 2000 | DE |
|----------------------------|-------|-----|--------|-----|---------|-----|-------|-----|
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 802Aa | 137 | 865Aa | 243 | 1033Aa | 306 | 882Aa | 174 |
| <i>Andropogon gayanus</i> | 544Ba | 183 | 469Ba | 63 | 571Ba | 228 | 550Ba | 168 |
| <i>Melinis minutiflora</i> | 396Ba | 163 | 404Bab | 266 | 154Cabc | 118 | 119Cc | 51 |

DE* Desviación estándar

a,b,c: valores con diferente literal en la misma línea son estadísticamente significativos (P<0.05)

A,B,C: Valores con diferente literal en la misma columna son estadísticamente significativos (P<0.05)

De acuerdo a la prueba de normalidad aplicada a la muestra por estación se observa que solo tres grupos presentan una distribución normal, sin embargo por el teorema central del limite (para muestras grandes), la falta de normalidad tiene poca influencia en la prueba de F del cuadro de ANDEVA y en las estimaciones puntuales de las medias y de las diferencias de medias en las estaciones. Dado que se realizaron seis muestreos por tipo de pasto, se consideró el promedio en cada uno de los casos (Apéndice 1).

5.2.2 Evaluación del efecto anti-garrapata en leguminosas

En lo referente a las leguminosas estudiadas por separado se observó que en el invierno de 1997, hubo diferencias estadísticamente significativas (F=12.4; gl=3; P< 0.05) entre *M. artrourpureum* y las otras tres especies de leguminosas, debido a que la diferencia de medias determinada por medio de la prueba de Tukey, entre *S. hamata* y *M. artropurpureum* (59.5) es mayor al coeficiente de Tukey correspondiente a esta estación del año (31.3). Sin embargo se encontró que *L. leucocephala* no difirió de *S. hamata* ni de *S. humilis* para la estación.

En la primavera de 1998, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($F=11.1$; $gl=3$; $P<0.05$) entre *S. humilis* y *M. artropurpureum* (171.0) y entre *S. humilis* y *L. leucocephala* (182.6), puesto que los valores de diferencias de medias son mayores al coeficiente de Tukey para primavera (101.3), en contraste, la diferencia de medias entre *S. humilis* y *S. hamata* (83.6), *S. hamata* y *M. artropurpureum* (87.3), *S. hamata* y *L. leucocephala* (99.0), *M. artropurpureum* y *L. leucocephala* son menores (Cuadro 7).

En el verano de 1998, hubo diferencias significativas ($F=46.07$; $gl=3$; $P<0.05$) y estas diferencias fueron entre *S. hamata* y *L. leucocephala* (393.6), *S. humilis* y *M. artropurpureum* (409.3), *S. humilis* y *L. leucocephala* (687.1), *M. artropurpureum* y *L. leucocephala* (277.8), *S. humilis* y *S. hamata* (293.5), debido a que sus diferencias fueron mayores al coeficiente de Tukey de la estación (165.9). Las únicas especies que no difirieron entre si, fueron *S. hamata* y *M. artropurpureum* (115.8) cuyo diferencia fue menor al coeficiente de la estación (165.9) (Cuadro 7).

En el otoño de 1998, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($F=2.32$; $gl=3$; $P>0.05$) debido a que las diferencias entre *S. hamata* y *S. humilis* (241.8) *S. hamata* y *M. artropurpureum* (133.3), *S. hamata* y *L. leucocephala* (396.1), *S. humilis* y *M. artropurpureum* (108.5), *S. humilis* y *L. leucocephala* (153.3), *M. artropurpureum* y *L. leucocephala* (261.8) son todas menores al coeficiente de la estación (435.0) (Cuadro 7).

Por otra parte, considerando la variación de las especies entre estaciones se encuentra que para *S. hamata*, hubo diferencias significativas entre estaciones ($F=62.6$; $gl=3,20$; $P<0.05$) debido a diferencias de verano del 98 con las otras 3 estaciones y de otoño del 98 con invierno 97-98 y primavera 98.

S. humilis tuvo diferencias significativas entre estaciones ($F=53.4$; $gl=3,20$; $P>0.05$) debido a las diferencias de invierno 97-98, con las otras tres estaciones y de primavera 98 con verano y otoño 98.

M. artropurpureum, tuvo diferencias significativas entre estaciones ($F=57.4$; $gl=3,20$; $P<0.05$) debido a las diferencias de otoño 98 con las otras tres estaciones y de verano 1998 con invierno 1997-98 y primavera 1998.

L. leucocephala tuvo diferencias significativas entre estaciones ($F=3.97$; $gl=3,20$; $P<0.05$), debido únicamente a las diferencias de otoño 98 con invierno 97-98 y verano 98.

Cuadro 7. Promedios de larvas de *B. microplus* recuperadas en cuatro leguminosas forrajeras en las cuatro estaciones (1997-1998).

| Especie | Invierno | | Primavera | | Verano | | Otoño | |
|--------------------------|----------|-----|-----------|----|--------|-----|--------|-----|
| | Prom | DE* | Prom | DE | Prom | DE | Prom | DE |
| <i>L. leucocephala</i> | 18Aba | 12 | 37Aab | 11 | 29Cab | 19 | 411Abc | 71 |
| <i>M. artropurpureum</i> | 76Ca | 31 | 48Aab | 20 | 306Ac | 122 | 673Ac | 136 |
| <i>S. humilis</i> | 32Aba | 19 | 219Abb | 81 | 716Bc | 90 | 564Ac | 170 |
| <i>S. hamata</i> | 16Aa | 5 | 136Aa | 92 | 422Ab | 137 | 806Ac | 142 |

DE* Desviación estándar

Prom.= Promedio

a,b,c: valores con diferente literal en la misma línea son estadísticamente significativos ($P<0.05$)

A,B,C: Valores con diferente literal en la misma columna son estadísticamente significativos ($P<0.05$)

5.2.3 Evaluación del efecto anti-garrapata en gramíneas y leguminosas analizadas conjuntamente

Al analizar a todas las especies forrajeras estudiadas en conjunto se encontró lo siguiente: El análisis del otoño de 1997, realizado por ANDEVA, mostró que no existe diferencia entre los pastos y las leguminosas, lo cual puede ser debido a las pocas observaciones de la muestra (3), por ello se realizó nuevamente el muestreo en el otoño de 1998 (Cuadro 7). En el invierno de 1998, se encontró que las especies forrajeras con mayor número de larvas fueron *M. artropurpureum* y las especies con menos larvas fueron *M. minutiflora*, *L. leucocephala* y *S. hamata*.

Las diferencias significativas arrojadas por el ANDEVA se dan entre las especies *M. minutiflora* y el *M. artropurpureum*, *C. ciliaris* y *S. humilis*, también

existe diferencia entre *M. artropurpureum* y *S. hamata* y *L. leucocephala*. Nuevamente se confirma que el pasto *M. minutiflora* sí presenta diferencias significativas en cuanto a la recuperación de larvas activas de *B. microplus* en las parcelas sembradas con esta especie forrajera. En la primavera de 1998, los resultados que se encontraron indican que existe una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las especies forrajeras analizadas. La planta con mayor número de larvas fue *S. humilis* seguido por *S. hamata* y la que tuvo menos larvas fue el pasto *M. minutiflora* seguido por el pasto *A. gayanus*.

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) para la comparación entre *M. minutiflora*, *S. hamata* y *S. humilis*, es decir que con un 95% de confianza se encontraron más larvas de *B. microplus* en estas dos leguminosas, pero por otro lado también se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre estas dos leguminosas con el pasto *A. gayanus* y la leguminosa *L. leucocephala*, además de haber diferencias entre *S. humilis* y el resto de las plantas estudiadas excepto contra *S. hamata*.

En el verano de 1998, el ANDEVA mostró que las especies que mayor número de larvas tuvieron fueron *S. humilis*, seguida por *C. ciliaris* y *S. hamata* y las que menos larvas tuvieron fueron *M. minutiflora*, *L. leucocephala* y *A. gayanus*. En las pruebas de diferencias estadísticas es muy marcada la diferencia entre estos dos grupos, es decir *M. minutiflora* es significativamente diferente a *C. ciliaris*, *S. humilis*, *S. hamata*, lo mismo ocurre con *L. leucocephala*, y *A. gayanus*. Por lo tanto estas especies tendrán bajo las mismas condiciones del estudio, en 95 muestras de 100 un menor número de larvas de *B. microplus* para esta estación del año. En el Cuadro 8 se muestran los promedios de las gramíneas y leguminosas forrajeras analizadas conjuntamente.

Los registros climáticos de las medias mensuales de temperatura, humedad relativa y precipitación pluvial de 1997 a 1999, mostraron sus valores más altos durante el otoño y el verano de cada año, los cuales fueron favorables al desarrollo de la actividad de las larvas de *B. microplus* en el sitio de estudio. (Figuras 12, 13, 14).

Cuadro 8. Promedios de larvas infestantes de *B. microplus* recuperadas en siete especies forrajeras en las cuatro estaciones del año analizadas por ANDEVA en forma conjunta

| Gramíneas | Invierno 97-98 | DE | Primavera 98 | DE | Verano 98 | DE | Otoño 98 | DE |
|-------------------------|----------------|----|--------------|----|-----------|-----|----------|-----|
| <i>C. ciliaris</i> | 32a | 15 | 68a | 7 | 648a | 199 | 865a | 243 |
| <i>A. gayanus</i> | 23a | 7 | 35ab | 29 | 143 b | 32 | 469ab | 63 |
| <i>M. minutiflora</i> | 4a | 7 | 2abc | 2 | 13bc | 8 | 404b | 266 |
| Leguminosas | | | | | | | | |
| <i>L. leucocephala</i> | 18a | 5 | 37bcf | 11 | 29bc | 19 | 412b | 471 |
| <i>M.artropurpureum</i> | 76b | 19 | 49abcdf | 20 | 307bd | 122 | 673ab | 136 |
| <i>S. humilis</i> | 32a | 31 | 220de | 81 | 716ae | 90 | 565ab | 170 |
| <i>S. hamata</i> | 17a | 12 | 136ad | 93 | 423d | 137 | 807ab | 142 |

DE= Desviación estándar

a,b,c...Valores con diferente literal en la misma columna son diferentes (P<0.05)

Figura 12. Temperatura media mensual de Abril de 1997 a Diciembre de 1999, en Jiutepec, Morelos, México

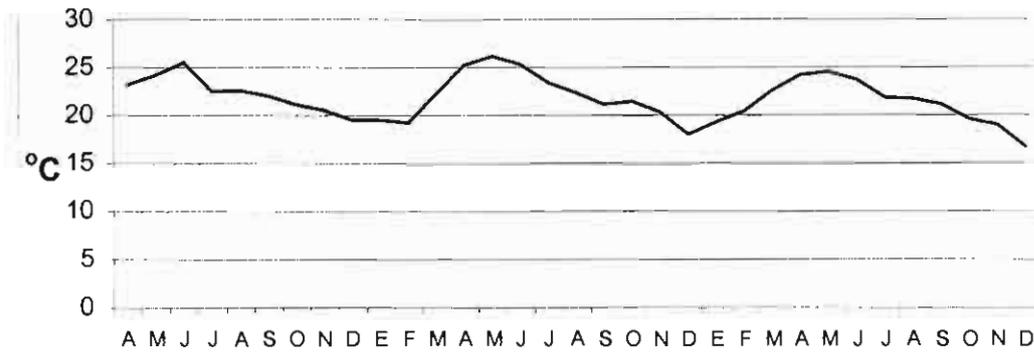
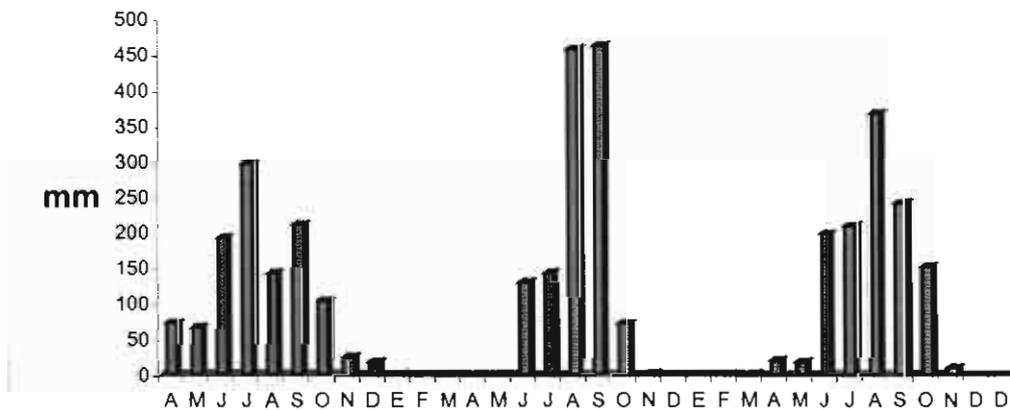


Figura 13. Porcentaje de humedad relativa de Abril de 1997 a Diciembre de 1999, en Jiutepec, Morelos, México



Figure 14. Precipitación pluvial mensual de Abril de 1997 a Diciembre de 1999, en Jiutepec, Morelos, México



La correlación que existe entre el número de larvas en los diferentes tipos de gramíneas y leguminosas, respecto a la temperatura, humedad y lluvias es presentada en el Cuadro 9 y en las Figuras 15 y 16.

Se realizó un análisis de correlación para determinar el grado de relación lineal positiva o negativa entre el número de larvas encontrado en los diferentes tipos de gramíneas y leguminosas estudiados, respecto a los factores climáticos temperatura ambiental, humedad y precipitación pluvial. Los coeficientes de determinación de correlación se reportan en porcentajes debido a que se obtiene de un análisis muestral (Márques, 1990).

En el cuadro 9 se puede observar que para el caso de las gramíneas el número de larvas encontradas están en relación lineal negativa con la temperatura, alrededor de -30% para *Cenchrus ciliaris* y *Andropogon gayanus* y -0.4% para *Melinis minutiflora*; una relación lineal negativa significa que a mayor temperatura menor número de larvas, el porcentaje indica el grado de relación lineal negativa o positiva que existe entre el número de larvas y cada uno de los factores climáticos. El número de larvas encontradas están en relación lineal positiva con la humedad, 53% para *Andropogon gayanus*, 67.0% para *Cenchrus ciliaris* y 89.5% para *Melinis minutiflora*; una relación lineal positiva significa que a mayor humedad mayor número de larvas. El número de larvas encontradas están en relación lineal negativa con la precipitación pluvial, -14% para *Cenchrus ciliaris*, -31.8% para *Andropogon gayanus* y para *Melinis minutiflora* el número de larvas encontradas está en relación lineal positiva en un 36.1%.

Para el caso de las leguminosas el número de larvas encontradas están en relación lineal negativa con la temperatura, para *M. artropurpureum* -14.2% y para *L. leucocephala* -30.1% y en relación lineal positiva para *S. hamata* 53.5% y para *S. humilis* 61.2%. El número de larvas encontradas están en relación lineal positiva con la humedad, 53.3% para *L. leucocephala*, 53.5% para *S. humilis*, 82.7% para *M. artropurpureum* y 97.3% para *S. hamata*. El número de larvas encontradas están en relación lineal positiva con la precipitación pluvial, 22.7% para *M. artropurpureum*, 57.8% para *S. hamata* y 97.0% para *S. humilis*, para el

caso de *L. leucocephala* se encuentra que el número de larvas encontradas está en relación lineal negativa con la lluvia en -31.5%.

Cuadro 9. Valores porcentuales del análisis de correlación entre 3 factores climáticos y el número de larvas de *B. microplus* en gramíneas y leguminosas forrajeras

| Especie forrajera | Temperatura | Humedad | Precipitación pluvial |
|-------------------------|-------------|---------|-----------------------|
| <i>C.ciliaris</i> | -24% | 67% | -14% |
| <i>A.gyanus</i> | -33% | 53% | -31.8% |
| <i>M.minutiflora</i> | -0.4% | 89.5% | 36.1% |
| <i>M.artropurpureum</i> | -14.2% | 82.7% | 22.7% |
| <i>S. humilis</i> | 61.2% | 53.5% | 97% |
| <i>S. hamata</i> | 53.5% | 97.3% | 57.8% |
| <i>L. leucocephala</i> | -30.1% | 53.3% | -31.5% |

Figura 15. Correlación entre los valores de temperatura, humedad y precipitación pluvial con la abundancia de larvas de *B. microplus* en las cuatro estaciones del año en siete especies forrajeras en Jiutepec, Morelos, Mexico.

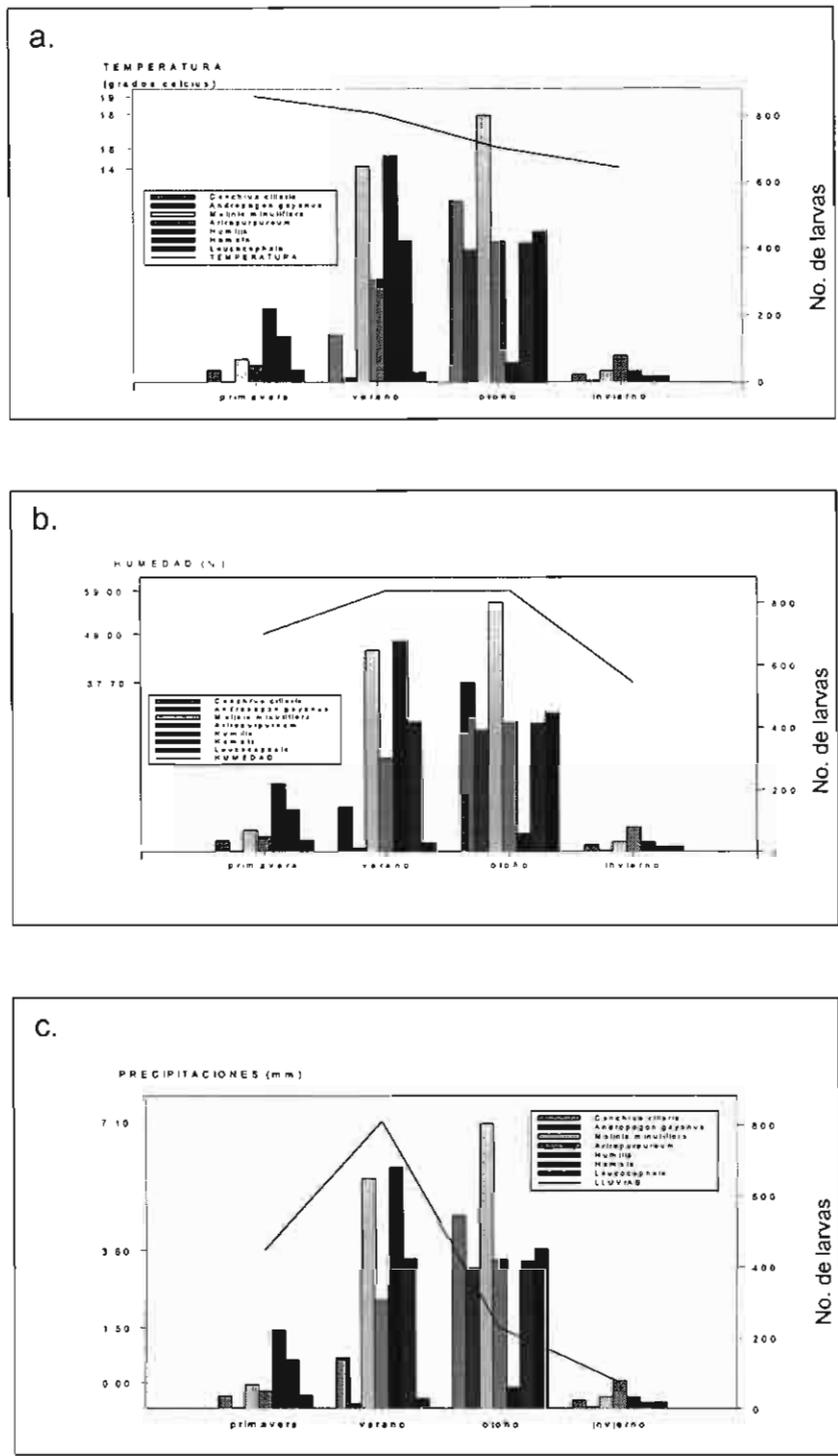
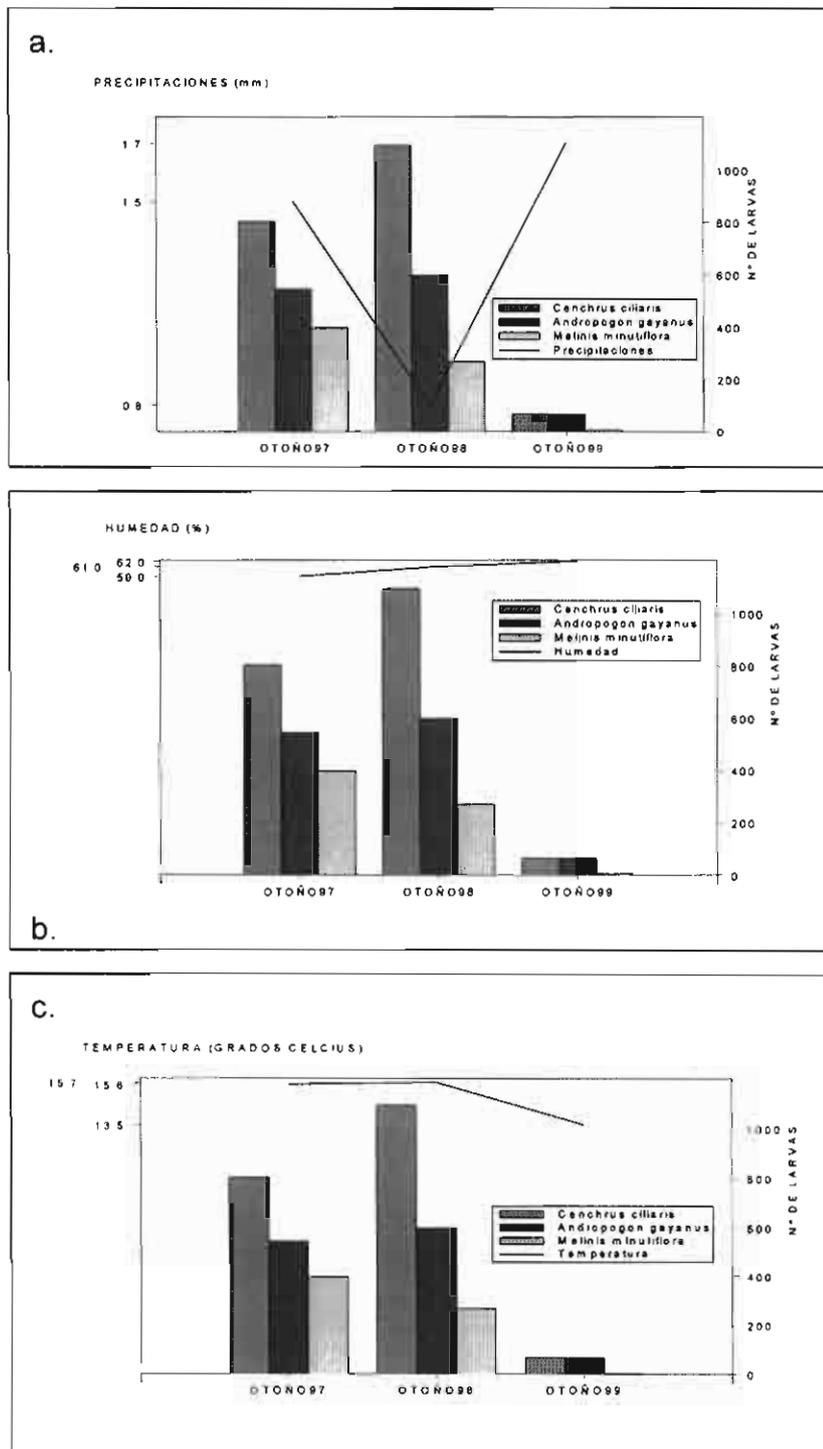


Figura 16. Correlación entre los valores de humedad, temperatura y precipitación pluvial con la abundancia de larvas de *B. microplus* en tres otoños de 1997-1999 en tres especies forrajeras en Jiutepec, Morelos, México.



En el apéndice 9.2 se muestran las variables agronómicas medidas desde el establecimiento hasta el otoño de 1998. Las variables muestran el mismo patrón de comportamiento en cada una de las especies de gramínea y éstas fueron influenciadas por las condiciones climáticas prevalecientes. El porcentaje de cobertura aérea fue diferente entre estaciones. Hubo diferencias entre los pastos durante las estaciones, verano y otoño, y entre primavera e invierno. La cobertura basal fue más alta en otoño (63%), primavera y verano 1998 (45, 43%) y menor para *M. minutiflora* en el invierno posterior a su establecimiento (9%) y otoño 1997 (11%), verano y otoño 1998 (14%). La producción de forraje seco en otoño de 1997, fue más alta para *A. gayanus* en invierno, primavera y verano 1998 (8.4, 8.5 y 9.7 ton/ha).

En el apéndice 9.3 se muestran estas mismas variables agronómicas determinadas para las leguminosas .

5.3 Fase 2. Evaluación de combinaciones de gramíneas y leguminosas en base a su efecto anti-garrapata

En la fase 2, se estudiaron las siguientes proporciones de combinación en porcentajes de semillas entre las gramíneas *A. gayanus* y *M. minutiflora* con la leguminosa *L. leucocephala* :

1. *A. gayanus* 100%
2. *A. gayanus* 75% - *L. leucocephala* 25%
3. *A. gayanus* 50% - *L. leucocephala* 50%
4. *A. gayanus* 25% - *L. leucocephala* 75%
5. *L. leucocephala* 100%
6. *M. minutiflora* 100%
7. *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25%
8. *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50%
9. *M. minutiflora* 25% - *L. leucocephala* 75%
10. *C. ciliaris*
11. *Clitoria ternatea*

El análisis de datos se realizó con una ANDEVA simple, dado que el modelo presenta normalidad en algunas combinaciones y se ha asumido por el teorema central del límite que el estadístico de este mecanismo de comparación es válido aun sin normalidad, se investigó el patrón por estación del año, de tal manera que podemos comparar entre los pastos y las diferentes combinaciones de los mismos con leguminosas, los resultados por estación se presentan a continuación. En la comparación global estación por estación, el ANDEVA nos indica que existen diferencias significativas dentro de cada uno de los grupos estudiados, por ello se realiza para cada estación un análisis intra grupo comparando pasto a pasto y combinación a combinación (Apéndice 9.4).

En primavera del 99, las combinaciones que menos garrapatas presentaron en orden creciente fueron *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% seguido de *M. minutiflora* 100% y de *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50%. Las combinaciones que presentaron mayor número de garrapatas en orden decreciente fueron *C. ciliaris* 100%, *C. ternantea* 100% y *A. gayanus* 50% - *L. leucocephala* 50%. La comparación de la gramínea *C. ciliaris* con la combinación con menor número de garrapatas presenta diferencias significativas con una ($P < 0.05$) por lo que en un 95% de las veces este tipo de gramínea tendrá mayor número de garrapatas que la combinación *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25%.

Al analizar el otoño 99, hay diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las combinaciones de manera interna, lo que nos lleva a comparar combinación a combinación, los resultados muestran que la combinación con menor número de larvas fue la de *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50% seguido de la combinación *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% y *M. minutiflora* 100%; en contraste la combinación con mayor número de larvas fue *C. ciliaris* 100% seguido de *C. Ternantea* 100% y *A. Gayanus* 100%. Como en los casos anteriores al comparar el pasto *A. gayanus* contra las combinaciones y el pasto con menor número de larvas para esta temporada (citada en el texto) resulta en un rechazo de la hipótesis de igualdad de medias, a una ($P < 0.05$) ya que se encontraron diferencias significativas entre *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala*

50% y *A. gayanus* 100%, *A. gayanus* 50% - *L. leucocephala* 50%, *C. ciliaris* 100% y *C. ternantea* 100%.

Como en los casos anteriores (primavera y verano), se comparó el efecto de las combinaciones del pasto *M. minutiflora* y en todos los casos (tres), la diferencia no es significativa con una $P > 0.05$, lo que se confirma en las anteriores estaciones analizadas.

En Invierno 99, las diferencias entre las combinaciones y pastos estudiados se observó que nuevamente los pastos con menos garrapatas fueron *M. minutiflora* 100% seguido de *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% y *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50%, los de mayor número de larvas encontradas fueron *Clitoria ternantea* 100% seguido de *C. ciliaris* 100% y *A. gayanus* 75% - *L. leucocephala* 25%. Los resultados de la prueba de Tukey indican diferencias significativas entre *M. minutiflora* 100% y *A. gayanus* 75% - *L. leucocephala* 25%; entre *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% y *A. gayanus* 75% - *L. leucocephala* 25%, *C. ciliaris* 100% y *C. ternantea* 100%; entre *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50% y *A. gayanus* 75% - *L. leucocephala* 25%, *C. ciliaris* 100% y *C. ternantea* 100%.

Al igual como en el resto de las estaciones del año, las combinaciones entre *M. minutiflora* y *L. leucocephala* y *M. minutiflora* al 100% no son significativamente diferentes ($P > 0.05$), lo que confirma nuevamente este hecho ocurrido en las cuatro estaciones del año.

Los resultados de las variaciones encontradas por combinación entre estaciones se indican a continuación:

A. gayanus al 100%, *A. gayanus* 50% - *L. leucocephala* 50%, *A. gayanus* 25% - *L. leucocephala* 75% y *C. ciliaris* al 100% no presentaron diferencias significativas entre las cuatro estaciones del año estudiadas ($F=0.6$; $gl= 3,16$; $P > 0.05$), ($F=2.8$; $gl=3,16$; $p > 0.05$), ($F=1.6$; $gl=3,16$; $p > 0.05$,) y ($F=2.3$; $gl=3,16$; $p > 0.05$), respectivamente.

A. gayanus 75% - *L. leucocephala* 25% solo presentó diferencias significativas entre verano 99 y otoño 99 ($F=3.6$; $gl=3,16$; $p>0.05$).

L. leucocephala al 100% presentó diferencias significativas entre las estaciones primavera y verano 99 con otoño e invierno 99 ($F=12.2$; $gl=3,16$; $P<0.05$).

M. minutiflora al 100% presentó diferencias significativas en la estación primavera 99 con otoño e invierno 99 ($F=12.2$; $gl=3,16$; $P<0.05$). *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% presentó diferencias significativas en la estación primavera 99 con verano y otoño 99 ($F=6.4$; $gl=3,16$; $P<0.05$). *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50% presentó diferencias significativas en la estación primavera 99 con las otras tres estaciones del 99 ($F=13.2$; $gl=3,16$; $P<0.05$). *M. minutiflora* 25% - *L. leucocephala* 75% presentó como la anterior combinación diferencias significativas en la estación primavera 99 con las otras tres estaciones del 99 ($F=12.8$; $gl=3,16$; $P<0.05$).

C. ternantea al 100% presentó una diferencia significativa mínima entre las estaciones verano y otoño del 99 ($F=3.38$; $gl=3.16$; $P<0.05$).

Se aplicó la prueba de Kruskal Wallis (Apéndice 9.5) a los muestreos de las combinaciones resultando diferencias significativas mucho menos marcadas que las encontradas en el ANDEVA de un factor. En primavera 99, solo se observa diferencia de *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% con *C. ciliaris* al 100% y *C. ternantea* al 100%. En el verano 99, *A. gayanus* 75% - *L. leucocephala* 25% presenta diferencias significativas ($P<0.05$) con las combinaciones *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% y *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50%; Las combinaciones *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% y *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50% con *C. ciliaris* y *C. ternantea* al 100%, y finalmente la combinación *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 75% con *C. ternantea* al 100%.

En el otoño 99, *A. gayanus* al 100% y la combinación *A. gayanus* 50% - *L. leucocephala* 50% presentaron diferencias significativas ($P<0.05$) con la combinación *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50%; *M. minutiflora* al 100% y sus combinaciones *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% y *M. minutiflora*

50% - *L. leucocephala* 50% presentan diferencias significativas con *C. ciliaris* al 100% y *C. ternantea* al 100%; la combinación *M. minutiflora* 25% - *L. leucocephala* 75% presenta diferencias significativas con *C. ternantea* al 100%.

En el invierno del 99, la combinación *A. gayanus* 75% - *L. leucocephala* 25% presenta diferencias significativas ($P < 0.05$) con *M. minutiflora* al 100%; *M. minutiflora* al 100% presenta diferencias significativas con *C. ciliaris* y *C. ternantea* al 100%; las combinaciones *M. minutiflora* 75% - *L. leucocephala* 25% y *M. minutiflora* 50% - *L. leucocephala* 50% presentan diferencias significativas con *C. ternantea* al 100%.

En general, en esta fase se observó que tanto en el ANDEVA como en la prueba de Kruskal Wallis (Apendice 9.5) *M. minutiflora* y sus combinaciones tienen diferencias significativas con *C. ciliaris* y *C. ternantea* al 100%, presentando por ende un mayor efecto anti-garrapata a lo largo de las cuatro estaciones del año.

5.4 Fase 3. Comparación de técnicas de muestreo involucrando al hospedero bovino en pastos con efecto anti-garrapata

En este experimento se encontró, en la evaluación del efecto anti-garrapata de los pastos por medio de diferentes técnicas de muestreo, una marcada diferencia entre *Melinis minutiflora* (gordura) que presenta el menor número de larvas recuperadas y las demás especies. El análisis de varianza demuestra que la técnica de bandera cebada logra la mayor colecta de larvas en las parcelas en comparación con las técnicas restantes (Cuadros 10 y 11). En la interacción de técnica-pasto, la técnica no mejora la capacidad del pasto para evitar la escalada de la larva hacia la superficie y poder adherirse a su hospedero para completar su ciclo.

Cuadro 10. Promedios de recuperación larvaria por medio de cuatro técnicas de muestreo en tres gramíneas forrajeras en el otoño 1999.

Pastos forrajeros

| TECNICA DE MUESTREO | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
|--------------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
| HUMANO CON CHAPARRERAS | 61+24 ^{bc} | 69+33 ^{abc} | 4+3.2 ^e |
| BOVINO CON VESTIMENTA DE MUESTREO | 44+18 ^{cd} | 57+28 ^{bcd} | 8+2.6 ^e |
| BANDERA CON DOBLE RECORRIDO | 82+45 ^{ab} | 26+19 ^{de} | 3+3.5 ^e |
| BANDERA CEBADA (con doble recorrido) | 98+19 ^a | 51+31 ^{bcd} | 3+4.4 ^e |

a, b, c: valores con diferente literal son diferentes (P<0.05).

Cuadro 11. Promedios de recuperación larvaria por medio de cuatro técnicas de muestreo en tres gramíneas forrajeras en el invierno 1999.

Pastos forrajeros

| TECNICA DE MUESTREO | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
|--------------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
| HUMANO CON CHAPARRERAS | 22+17 ^{cd} | 17+8 ^{cd} | 2.6+2.2 ^d |
| BOVINO CON VESTIMENTA DE MUESTREO | 14+30 ^{cd} | 25+50 ^{abc} | 1.4+2.8 ^d |
| BANDERA DOBLE RECORRIDO | 34+33 ^{ab} | 33+12 ^{ab} | 3.0+3.2 ^d |
| BANDERA CEBADA (con doble recorrido) | 50+25 ^a | 35+13 ^{ab} | 0.4+0.6 ^d |

a, b, c: valores con diferente literal son diferentes (P<0.05).

Quando se compararon los promedios totales de cada técnica de muestreo para larvas de *B. microplus*, englobando los datos de las tres especies y en las dos estaciones, la evaluación reveló que la técnica de bandera cebada recolectó el mayor número de larvas y la técnica con menor número de larvas recuperadas fue el bovino con vestimenta (Cuadro 12).

Cuadro 12. Promedios acumulados de la recuperación de larvas *Boophilus microplus* mediante cuatro técnicas de muestreo larvario en tres pastos forrajeros y dos estaciones del año 1999.

| Técnica | Media |
|-------------------------------------|-------|
| Humano con vestimenta (chaparrera) | 29.2b |
| Bovino con vestimenta | 24.8b |
| Bandera | 30.1a |
| Bandera cebada | 40.1a |

En lo referente a la ubicación de las larvas en las franelas de muestreo de la chaparrera y la vestimenta del bovino se observó un mayor número de larvas, pero sin diferencias estadísticamente significativas, en las secciones más bajas de las chaparreras, en la cabeza y extremidades anteriores de la vestimenta del bovino para el pasto buffel y la parte ventral y extremidades del bovino para los otros dos pastos (Cuadro 13).

Cuadro 13. Número y ubicación de larvas de *B. microplus* recuperadas por medio del muestreo con chaparreras y bovino con vestimenta en tres pastos forrajeros en otoño de 1999.

Chaparreras

Pastos forrajeros

| Espece y altura(cm) | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
|---------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| | 52 | 54 | 52 |
| 0 – 20 | 21 | 15 | 2 |
| 20 – 40 | 24 | 22 | 2 |
| 40 - 60 | 11 | 31 | 0.2 |
| 60 - 80 | 4 | 1 | 0 |
| 80 - 100 | 1 | 0 | 0 |
| Total | 61 | 69 | 4 |

Bovino con vestimenta

| Espece – altura (cm) | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M minutiflora</i> |
|-----------------------------|--------------------|-------------------|----------------------|
| Cabeza | 59 | 6 | 0 |
| Extremidades anteriores | 20 | 15 | 1 |
| Parte ventral | 9 | 22 | 3 |
| Extremidades posteriores | 8 | 11 | 2 |
| Parte dorsal | 2 | 2 | 0 |
| Total | 98 | 56 | 6 |

5.5 Experimento de cultivo en macetas en condiciones de laboratorio de cinco especies forrajeras

En este experimento cuya finalidad fue determinar la distribución de las larvas en la planta y su selectividad hacia varias especies forrajeras, los resultados que se encontraron tienen un 95% de confianza, basado en el estadístico de prueba Kruskal–Wallis y ANDEVA al comparar los cinco tipos de pastos con la cantidad de larvas de garrapatas en todos los niveles estudiados, incluidos la maceta y la caja contenedora, se concluye en rechazar la hipótesis de que todos contienen la misma cantidad de larvas, por lo que se abre la posibilidad de análisis individual para encontrar en donde radican dichas diferencias.

El análisis se realizó entonces por cada segmento de pasto, maceta y caja, comparando a cada pasto con los demás; el primer análisis que se llevó a cabo fue el número de garrapatas en toda la planta, aquí los resultados muestran que el pasto que guarda menos larvas de garrapatas fue *L. leucocephala* seguido de *M. minutiflora* y el que presenta más larvas de garrapatas es *C. ciliaris*, además de que existen diferencias significativas entre estos pastos al compararlas individualmente, es decir en el 95% de los casos se encontrarán menos larvas de garrapatas en *L. leucocephala* y *M. minutiflora* que en *C. ciliaris* (Cuadro 14).

Cuadro 14. Larvas de *Boophilus microplus* recuperadas en cinco especies forrajeras tropicales en condiciones de laboratorio*

| Especie forrajera | Localización | | | |
|------------------------------|--------------|--------|------|-------|
| | Planta | Maceta | Caja | Total |
| <i>Andropogon gayanus</i> | 39b | 61b | 0 | 100 |
| <i>Brachiaria brizantha</i> | 35bc | 58bc | 7 | 100 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 58a | 42c | 0 | 100 |
| <i>Melinis minutiflora</i> | 19c | 81a | 0 | 100 |
| <i>Leucaena leucocephala</i> | 18c | 77a | 5 | 100 |

* 48 hs después de la liberación de las larvas

a,b,c: literales diferentes en la misma columna indican diferencia (P<0.05)

El análisis por tercios de la planta mostró (Cuadro 15), que en el tercio inferior de la planta encontramos que el pasto que presenta menos larvas de garrapatas es *M. minutiflora*, seguido por *L. leucocephala*, la que presenta un mayor número de garrapatas fue *Cenchrus ciliaris*, seguido por *A. gayanus*; el pasto *M. minutiflora* presenta diferencias significativas a un 95% de confianza con respecto a los de mayor número de larvas encontradas, concluyendo que de 100 muestras, el 95 de ellas tendrá un menor número de larvas, en la recolección a las 48 horas. La comparación del resto de las especies resultó ser no significativamente diferente.

En el tercio medio de la planta se observó que el pasto que guarda menos larvas de garrapata fue *M. minutiflora* seguido de *B. brizantha* y el de mayor número fue *C. ciliaris*, la única comparación que resulta diferente a un 95% de confianza es el de *M. minutiflora* contra el *C. Ciliaris*, con la misma conclusión que en el tercio inferior.

En el tercio superior, al igual que los dos anteriores observamos que el pasto *M. minutiflora* seguido de *L. leucocephala* presentan el menor número de garrapatas, el de mayor número es *B. brizantha* seguido de *C. ciliaris*, nuevamente existe una diferencia significativa entre *M. minutiflora*, *B. brizantha* y *C. ciliaris* y entre *L. leucocephala* y *B. brizantha*, esto nos indica que en el 95%

de los casos en una medición a 48 horas las especies *M. minutiflora* y *L. leucocephala* tendrán menor número de larvas que los pastos *C. ciliaris* y *B. brizantha* en esta parte de la planta.

En el macollo de *L. leucocephala* y *B. brizantha* se presenta el menor número de larvas de garrapatas, los que presentan el mayor número de larvas son los pastos *M. minutiflora* y *C. ciliaris*, el análisis de varianza no paramétrica nos muestra que existen diferencias significativas entre los pastos *M. minutiflora* contra *L. leucocephala* y *B. brizantha* y, esto es un buen indicador de que encontraremos en un 95% de los casos más garrapatas en *M. minutiflora* que en *B. brizantha* y *L. leucocephala* en esta parte de la planta, también hubo una diferencia estadísticamente significativa para la comparación entre el pasto *C. ciliaris* y *L. leucocephala*.

Cuadro 15. Promedios de larvas de *Boophilus microplus* recuperadas en cinco especies forrajeras tropicales en condiciones de laboratorio.

Localización en la planta

| Especie forrajera | Tercio Superior | medio | inferior | macollo | Total |
|------------------------------|-----------------|-------|----------|---------|-------|
| <i>Andropogon gayanus</i> | 8 | 7 | 14 | 10 | 39 |
| <i>Brachiaria brizantha</i> | 18 | 5 | 7 | 5 | 35 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 12 | 15 | 16 | 15 | 58 |
| <i>Melinis minutiflora</i> | 0 | 0 | 0 | 19 | 19 |
| <i>Leucaena leucocephala</i> | 5 | 6 | 4 | 3 | 18 |

En la maceta de la planta, los promedios de larvas encontradas en las tres repeticiones (Cuadro 16), indican que la menor cantidad de larvas de garrapatas se encuentra en *C. ciliaris* y *B. brizantha* y las especies que más cantidad guardaron en esta parte fueron el pasto *M. minutiflora* y *L. leucocephala* con diferencias significativas entre *M. minutiflora* y *C. ciliaris* y entre *L. leucocephala* y *C. ciliaris*, es decir, que con una certeza del 95% encontraremos más larvas de garrapatas en los pastos *M. minutiflora* y *L. leucocephala* en esta parte de la planta que en el pasto *C. ciliaris*, en esta misma sección de la trampa.

En la grava colocada en la maceta, el análisis mostró que el pasto *B. brizantha* contiene el menor número de larvas seguido de *A. gayanus* y la especie que más garrapatas presentó fue la leguminosa *L. leucocephala* seguido de *M. minutiflora*, además de que al comparar estas especies contra *B. brizantha* se rechaza la hipótesis de igualdad en el número de larvas, lo que es un buen indicador de que existe con un 95% de confianza un mayor número de garrapatas en estos pastos que en *B. brizantha* en esta parte de la trampa.

En la charola de la maceta encontramos que el pasto que presenta mayor número de larvas de garrapata es el *B. brizantha* seguida de *L. leucocephala* y los pastos con un menor número de larvas fueron *C. ciliaris* y *M. minutiflora*, al comparar el *B. brizantha* contra *C. ciliaris* y *M. minutiflora* encontramos diferencias significativas al 95% de confianza, al igual que al comparar *L. leucocephala* contra *C. ciliaris*.

Al analizar la cinta adhesiva colocada alrededor de la maceta, encontramos que el pasto con mayor número de garrapatas es *M. minutiflora*, seguido de *A. gayanus*, las especies que presentan menor número de larvas fueron *B. brizantha* y *L. leucocephala*, existe además una diferencia significativa al 95% de confianza entre el *M. minutiflora* contra *B. brizantha* y *L. leucocephala* lo mismo pasa con *A. gayanus* y *B. brizantha*.

Por último se analizó la cinta adhesiva colocada en el margen superior de la caja, en donde se encontró que el pasto que presentó menor número de larvas fue *M. minutiflora* seguido de *C. ciliaris*, el que presentó mayor número fue el *B. brizantha* seguido de *L. leucocephala*, donde hay diferencias significativas entre *M. minutiflora* y *B. brizantha* y entre *C. ciliaris* y *B. brizantha*.

Cuadro 16. Larvas de *Boophilus microplus* recuperadas en cinco especies forrajeras tropicales en condiciones de laboratorio.

Localización en la maceta

| Especie forrajera | Grava | Charola | Maskin | total |
|------------------------------|-------|---------|--------|-------|
| <i>Andropogon gayanus</i> | 11 | 26 | 24 | 61 |
| <i>Brachiaria brizantha</i> | 6 | 48 | 4 | 58 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 15 | 15 | 12 | 42 |
| <i>Melinis minutiflora</i> | 17 | 17 | 47 | 81 |
| <i>Leucaena leucocephala</i> | 29 | 49 | 7 | 77 |

En la segunda etapa de este experimento, consistente en la comparación de las mismas especies forrajeras estudiadas en la etapa anterior, pero de manera pareada, usando a *C. ciliaris* como la especie con la que se enfrentaron las demás, se encontró en todos los caso una mayor cantidad de larvas en *C. ciliaris* que en las demás especies como se aprecia en los cuadros 19, 20 y 21, por lo que se demuestra que existió una mayor selectividad de las larvas hacia *C. ciliaris*, mayor al 50% ($P < 0.05$) a las 48 horas de haber sido liberadas.

Cuadro 17. Promedios de larvas de *B. microplus* recuperadas en cuatro especies forrajeras Vs *C. ciliaris* en condiciones de laboratorio

Localización

| Especie forrajera | Planta | Maceta | Caja | Total |
|------------------------------|--------|--------|------|-------|
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 50a | 25a | 0 | 75 |
| <i>Andropogon gayanus</i> | 7b | 18a | 0 | 25 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 50a | 21a | 0 | 71 |
| <i>Brachiaria brizantha</i> | 13c | 16b | 0 | 29 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 52a | 27a | 0 | 79 |
| <i>Melinis minutiflora</i> | 3d | 18c | 0 | 21 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> | 51a | 27a | 0 | 78 |
| <i>Leucaena leucocephala</i> | 7e | 15d | 0 | 22 |

a,b,c...Valores con diferente literal en la misma columna son significativos ($P < 0.05$)

Cuadro 18. Promedios de larvas de *B. microplus* recuperadas en cuatro especies forrajeras Vs *C. ciliaris* en condiciones de laboratorio.

Localización en la planta

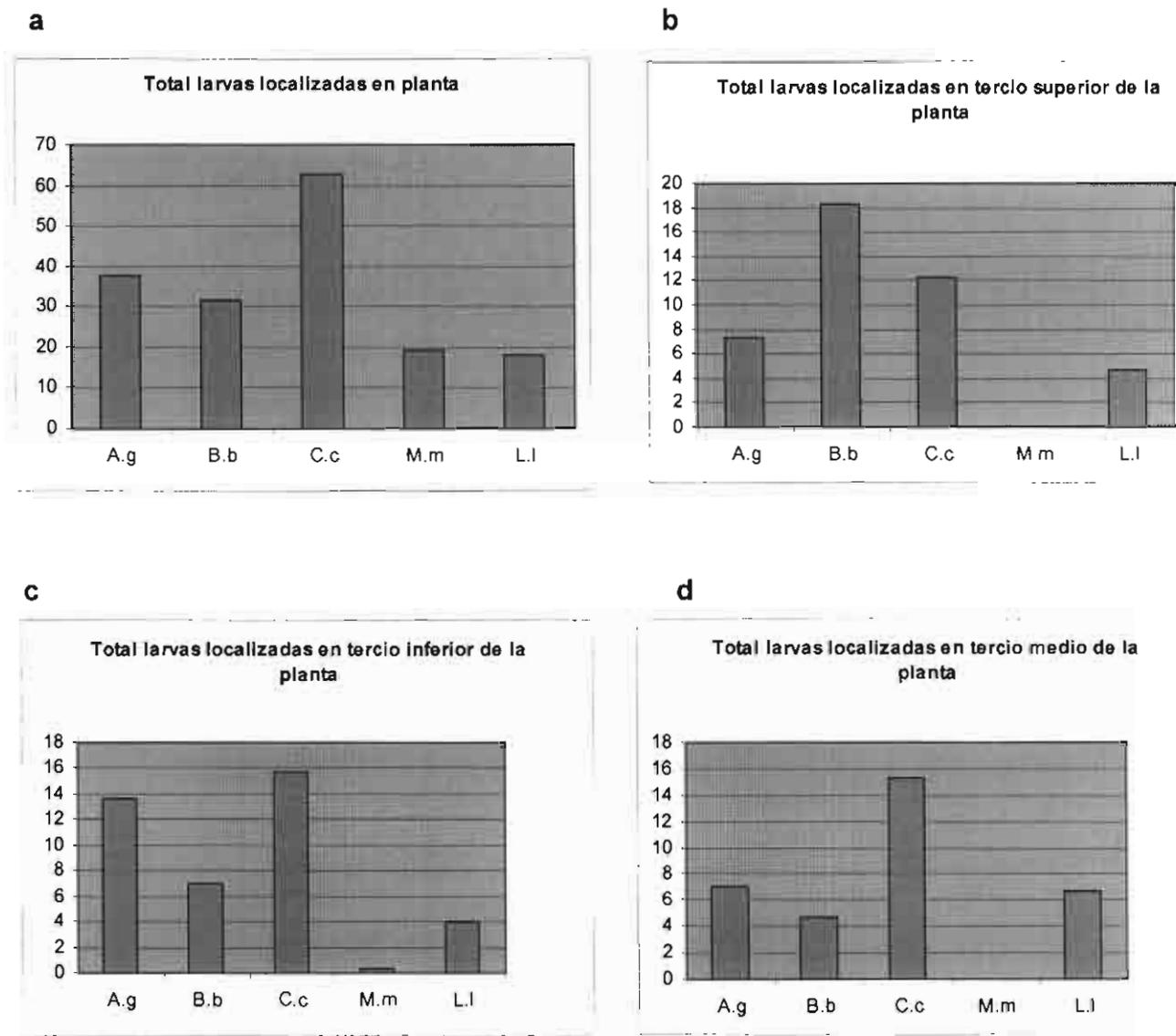
| Especie forrajera | Tercio : Superior | Medio | Inferior | Macollo | Total |
|--|-------------------|---------|----------|---------|----------|
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Andropogon gayanus</i> | 13 1 | 13 1 | 12 3 | 12 2 | 50 7 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Brachiaria brizantha</i> | 13 4 | 9 2 | 13 3 | 15 4 | 50 13 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Melinis minutiflora</i> | 14 0 | 12 0 | 13 0 | 13 3 | 52 3 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Leucaena leucocephala</i> | 14 1 | 13 3 | 13 2 | 11 1 | 51 7 |

Cuadro 19. Promedios de larvas de *B. microplus* recuperadas en cuatro especies forrajeras Vs *C. ciliaris* en cuatro especies forrajeras en condiciones de laboratorio.

Localización en la maceta

| Especie forrajera | Grava | Charola | Maskin | total |
|--|----------|---------|--------|----------|
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Andropogon gayanus</i> | 17 9 | 6 7 | 2 2 | 25 18 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Brachiaria brizantha</i> | 13 9 | 6 5 | 2 2 | 21 16 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Melinis minutiflora</i> | 18 11 | 7 6 | 2 1 | 27 18 |
| <i>Cenchrus ciliaris</i> <i>Leucaena leucocephala</i> | 17 7 | 8 6 | 2 2 | 27 15 |

Figura 17. Distribución total de larvas de *B. microplus* en el follaje de cinco especies forrajeras cultivadas en macetas y mantenidas bajo condiciones de laboratorio



Ag = *Andropogon gayanus*

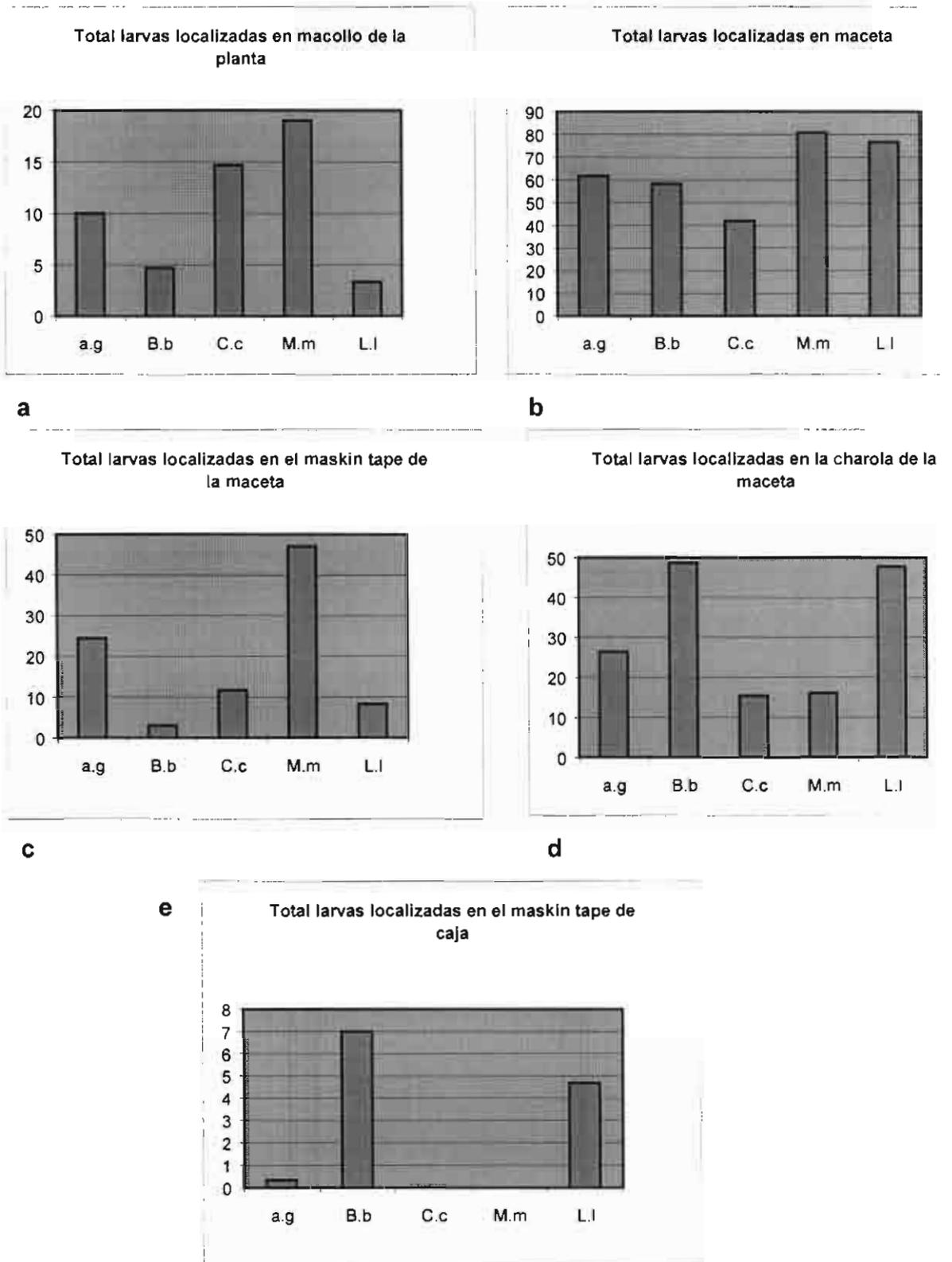
Bb = *Brachiaria brizantha*

Cc = *Cenchrus ciliaris*

Mm = *Melinis minutiflora*

LI = *Leucaena leucocephala*

Figura 18. Total de larvas de *B. microplus* localizadas y recuperadas del macollo de la planta y diferentes sitios de la caja y maceta.



6. DISCUSION

El daño que la garrapata *B. microplus* puede ejercer sobre la productividad bovina de países con potencial ganadero, tanto por la pérdida de carne, leche y productos derivados, como por el creciente problema de la resistencia a los acaricidas está fuera de duda (Evans, 1992; García, 1995; Ortiz *et al*, 1995; Soberanes *et al*, 2002). Los ensayos preliminares de muestreo aquí realizados, confirmaron los resultados encontrados en estudios previos en condiciones similares de experimentación (Fernández, 1996; Cruz *et al*, 1999) y aportaron nuevos datos acerca de cómo las larvas se van fijando al dispositivo de muestreo conforme avanza el tiempo y el movimiento del que muestrea, tal comportamiento no había sido antes registrado en las condiciones en las que se realizaron estos experimentos. Además en el experimento de la fase 3 se exploraron otras posibilidades de muestreo de larvas de *B. microplus* que buscan hospedero (infestantes) en diferentes pastizales.

Los resultados referentes al efecto anti-garrapata en *M. minutiflora* coinciden con Mwangi *et al*, (1995), el cual experimentando con material vegetativo verde recién cortado, pudo demostrar que esta especie de gramínea era evitada por los estadios adultos y larvarios de la garrapata *R. appendiculatus*. En nuestro estudio encontramos el mismo patrón de comportamiento con larvas de *B. microplus* en busca de hospedero, en parcelas de *M. minutiflora* bajo condiciones naturales, el cual alcanza su máxima producción de forraje durante el otoño, situación coincidente con los picos poblacionales más altos de garrapatas en el estado de Morelos y en el país (Solís, 1986, 1991). Esta situación podría apoyar el uso de *M. minutiflora* como parte de un programa de manejo integrado de la garrapata *B. microplus* en aquellas zonas donde esta especie de gramínea prolifere. Nuestros resultados son también similares con los reportados por Thompson *et al*, (1978) y Aycardi *et al*, (1984), con *B. microplus* bajo condiciones de campo y también con los resultados encontrados por Thadeu *et al*, (1989), bajo condiciones de invernadero.

M. minutiflora mostró los valores más bajos en cuanto a la recuperación larvaria encontrados a lo largo de las cuatro estaciones del año y durante cuatro otoños consecutivos en los muestreos realizados a los 7 días de ser liberadas las larvas activas en las parcelas experimentales. Las diferencias de temperatura y humedad a lo largo del año son manifiestas; sin embargo, la media de recuperación larvaria de *M. minutiflora* permiten verificar que a pesar de las diferencias climáticas el patrón de recuperación larvaria se conservó para esta especie cuando se comparó con *C. ciliaris* (testigo negativo) y contra *A. gayanus*.

El porcentaje de recuperación larvaria se reduce drásticamente en invierno y primavera, pero esto es común para *B. microplus* bajo condiciones naturales debido a las bajas temperaturas de invierno y a la drástica sequía de primavera en el estado de Morelos; sin embargo las medias de recuperación larvaria mostraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre *M. minutiflora* y las otras dos especies de gramíneas estudiadas. En *A. gayanus*, la única estación en donde es similar al testigo negativo (*C. ciliaris*) es en invierno, pero no en las estaciones húmedas de verano y otoño en las que se presentan las alzas poblacionales de *B. microplus* en condiciones naturales, en las que es similar a *M. minutiflora* (Cuadro 5).

El otoño es la estación del año que tiene los valores de temperatura y humedad más adecuados para el desarrollo de *B. microplus* en el área de estudio (Solís, 1991) y es también donde se manifiesta el más alto efecto anti-garrapata por parte de *M. minutiflora* por ser estas mismas condiciones en las que la planta presenta su mejor condición fenológica, llegando a ser el efecto de hasta el 92% cuando se compara con la cantidad de larvas infestantes iniciales con respecto al control negativo *C. ciliaris* a 7 días de liberadas las larvas en ambas especies de gramíneas. Esto demuestra que durante las mejores condiciones ambientales para el desarrollo de *B. microplus* hay una alternativa de control no químico para este ácaro, con la ventaja de la permanencia de este efecto anti-garrapata a lo largo de 4 años en comparación a lo reportado por Sutherst et al, (1982), para la leguminosa *Stylosanthes*

scabra, la cual va perdiendo el efecto anti-garrapata a medida que su edad se incrementa. Situación contraria en *M. minutiflora*, ya que el efecto anti-garrapata encontrado a lo largo de 4 otoños aumentó considerablemente en los dos últimos otoños, lo cual puede ser debido a un efecto de maduración del cultivo, ya que a medida que el cultivo madura el efecto aumenta (Cuadro 6). Por otra parte, a pesar de que el efecto anti-garrapata de *A. gyanus* es menor al de *M. minutiflora*, 89% con respecto a la cantidad de larvas de la infestación inicial o del 32% con respecto al control negativo (*C. ciliaris*) también debe de ser considerado en programas de control de la garrapata debido a que su efecto anti-garrapata tampoco se pierde a lo largo del tiempo y fue igual al de *M. minutiflora* durante los otoños de 1997 y 1998 y aunque menor en los de 1999 y 2000 se conservó dentro de un rango estrecho en este lapso de tiempo estudiado, otra ventaja en *A. gyanus* es su alto potencial forrajero y conocida tolerancia a la sequía de la primavera (Whitman, 1976) en la que a pesar de ésta, si manifiesta su efecto anti-garrapata.

En lo referente a las leguminosas, *S. humilis* y *S. hamata* se comportaron de acuerdo a lo esperado, basados en experiencias previas con ellas (Cruz *et al*, 1999; Fernández *et al*, 1999 a,b; Cruz *et al*, 2000) y por las cuales fueron seleccionadas como testigos para leguminosas; las dos especies, se caracterizaron por manifestar un elevado efecto anti-garrapata en las etapas tempranas del cultivo en el otoño de 1997, para declinar posteriormente (Cuadro 7 y Apéndice 9.5). Las diferencias entre especies en todas las leguminosas estudiadas no son tan claras como las encontradas en las gramíneas, esto puede deberse a que los testigos utilizados (*S. humilis* y *S. hamata*) presentan un efecto anti-garrapata (Fernández, 1999ab) y las especies *M. artropurpureum* y *L. leucocephala*, no parecen distar mucho en cuanto al grado de efecto anti-garrapata que se presenta en estos dos testigos positivos, lo cual para el caso de, *L. leucocephala* parece confirmar lo reportado por Ellis y Midgley (1996), referente a que en *L. leucocephala* existe un mutualismo entre esta planta y la presencia de insectos hemipteros. Que para el caso de *B. microplus*, podría representar algún tipo de resistencia o competencia ambiental, suposición que

se complementa con observaciones hechas por nosotros en condiciones de campo con esta leguminosa, en la que se observó la confluencia de un amplio número de insectos visitantes; sin embargo esto deberá ser comprobado por medio de estudios de campo en los que pueda determinarse con seguridad si esta confluencia realmente afecta a *B. microplus* y esto mismo pudo estar sucediendo en *M. arthropureum*, ya que su grado de efecto también fue similar al de los testigos positivos (*S. humilis*, *S. hamata*) y también se observó confluencia de insectos visitantes a semejanza de *L. Leucocephala*. Es de remarcar que tal confluencia no fue observada en las gramíneas.

Al graficar los porcentajes de reducción de gramíneas y leguminosas en conjunto para cuatro estaciones del año, tomando como testigo a *C. ciliaris* (Apéndice 9.6), se observa que dichos porcentajes toman su valor máximo alrededor del verano excepto para el caso de *S. hamata* y *S. humilis* que lo tienen en el invierno y en el verano, respectivamente. *S. hamata* y *S. humilis* también presentan un porcentaje de reducción negativo el cual indica finalmente un aumento del número de larvas de garrapata en primavera, del 100% y 200%, respectivamente. *M. arthropureum* también presenta un aumento del número de larvas de garrapata en invierno del 137%. De la gráfica también se observa que *M. minutiflora* mantiene prácticamente su porcentaje de reducción durante primavera y verano, tiene un mínimo en el otoño y empieza a aumentar en el invierno para alcanzar su máximo en el verano.

Al analizar la presencia de larvas de *B. microplus* en cada uno de los diferentes pastos y leguminosas con cada uno de los diferentes factores climáticos estudiados, para el caso de los pastos observamos una correlación consistente solo al compararla contra la humedad del ambiente, con valores positivos y superiores al 50%, (esto es, al aumentar la humedad, el número de larvas de garrapata aumenta, se hace entonces referencia a una fuerte influencia directa de este factor sobre el desarrollo y sobrevivencia de las larvas de garrapatas. Para el caso de la temperatura, el análisis arroja una relación negativa, (esto es, al aumentar la temperatura, el número de larvas de garrapata disminuye), pero sin mucha importancia, al ser casi nula para *Melinis minutiflora*.

Para la precipitación pluvial, se encuentran valores negativos para *Cenchrus ciliaris* y *Andropogon gayanus* y positivo para *Melinis minutiflora*, pero valores insignificantes que no son de gran importancia.

Al analizar las diferentes especies de leguminosas contra la humedad nuevamente se observa una correlación positiva y mayor al 50% como en el caso de los pastos, lo que confirma la influencia de la humedad sobre el desarrollo de las larvas de garrapata. Por otro lado al analizar la temperatura se obtuvo una influencia significativa para el caso del *S. humilis* y *S. hamata*, pero para el tercer caso, *L. leucocephala* no es así. Por último las lluvias también tienen una influencia positiva y significativa sobre *S. humilis* y *S. hamata*, siendo para la primera incluso más fuerte que la temperatura y la humedad, para el caso de *L. leucocephala* esta relación es insignificante e incluso negativa.

En cuanto a los resultados de la fase 2, es de señalar que el cultivo de leguminosas forrajeras tiene la ventaja de abonar el suelo por el N atmosférico que fijan, por lo que su combinación con gramíneas es recomendable por el hecho de que estas últimas resultan beneficiadas de esta combinación. Después de estudiar las cuatro estaciones se puede afirmar que el pasto *M. minutiflora*, sin importar con que proporción de combinación de leguminosa (*L. leucocephala*) se mezcle, presenta un menor número de garrapatas que las combinaciones de *L. leucocephala* con *A. gayanus* y *C. ternatea* al 100%, los resultados son muy consistentes para las cuatro estaciones del año, además de que no es importante la combinación para reducir el número de garrapatas encontradas.

En lo referente a los resultados de la fase 3, lo destacable es que independientemente de la técnica de muestreo usada, la gramínea *M. minutiflora* mostró la menor cantidad de larvas en este estudio. De entre algunas de las interacciones se encontró una marcada diferencia de técnicas y pastos, es decir en *C. ciliaris* con bovino con vestimenta contra *M. minutiflora* y bandera cebada, es notable la diferencia, por ello las técnicas no interfieren en la recolección de larvas, por ello independientemente del método, la diferencia significativa ($P < 0.05$) se da por el tipo de pasto y no por la técnica de muestreo.

Dentro de las interacciones entre métodos se encontró que no hay diferencia significativa ($P>0.05$) entre la técnica de chaparrera y bovino con vestimenta, de igual manera entre bandera y bandera cebada.

Por otro lado es de remarcar que aunque fue usado el hospedero bovino, el hecho de cubrir totalmente su superficie parece bloquear su emanación de CO₂ y feromona, hecho que sobresale cuando se compara con el muestreo con bandera cebada.

Los resultados del estudio en macetas tienen un 95% de confianza basado en el estadístico de Kruskal-Wallis y corrobora el comportamiento de las larvas de *B. microplus* en condiciones de campo, destacándose en todos los casos y en las combinaciones con el testigo *C. ciliaris* una menor cantidad de larvas en el follaje de *M. minutiflora* ($P<0.05$), seguido de *L. leucocephala*.

La especie forrajera con el menor número de larvas de *B. microplus* en los tercios inferior, medio y superior del follaje fue *M. minutiflora*, seguido por la leguminosa *L. leucocephala* que mostró menores números de larvas en los tercios inferior y superior. Por el contrario la especie forrajera con el mayor número de larvas en las tres secciones del follaje fue el *C. ciliaris*, seguido por el *A. gayanus* en el tercio inferior y *B. brizantha* en el tercio superior.

En cuanto al mayor número de larvas localizadas en las secciones de la maceta, grava y charola, fue *L. leucocephala* la que mostró más larvas en estos sitios, seguida por *M. minutiflora*, en donde se presentan en maceta y grava. El comportamiento de las larvas observado en estas secciones puede interpretarse como un rechazo de las larvas hacia el follaje de estas dos especies con respecto a las otras especies forrajeras aquí estudiadas. Esto se confirma al observar que en *B. brizantha* se ubicó el menor número de larvas en estas tres secciones, en *C. ciliaris* se ubicaron los menores números de larvas en la maceta y la charola, en *A. gayanus* en la grava y en *M. minutiflora* en la charola.

El hecho de haber constatado el efecto anti-garrapata de *M. minutiflora* y *L. leucocephala*, en condiciones de laboratorio reafirman lo determinado en condiciones de campo e indican que en la planta hay algo inherente a ella por lo que las larvas de *B. microplus* evitan su follaje, lo cual es un hecho conocido

para *M. minutiflora*, por su producción de metabolitos secundarios, de ahí su sinonimia de pasto melaza (Muro, 2000), pero aún no determinada para *L. leucocephala*. Aún cuando no se estudió a la gramínea *B. brizantaha* en condiciones naturales y la decisión de incluirla en el estudio de macetas fue de último momento, resultó acertado el incluirla, ya que mostró valores muy similares a los de *A. gayanus*, lo que nos hace suponer que en esta especie, existe potencial para ser usada como pasto anti-garrapata, lo cual deberá ser comprobado con estudios de seguimiento en condiciones naturales.

De una manera más representativa en el apéndice 9.7 a y b se muestran los porcentajes de reducción de larvas de *B. microplus*, con respecto a las 5,000 larvas liberadas y a las encontradas en el testigo negativo para las gramíneas. Es evidente que el impacto ambiental sobre la cantidad total de larvas es muy drástico, pero esto sucede con las poblaciones cuya tasa de reproducción es alta, cuya sobrevivencia es relativamente baja (Schmitzman, 1993); sin embargo, este aparentemente pequeño remanente de larvas de *B. microplus*, a los efectos del ambiente es suficiente para producir todos los problemas económicos y de sanidad que ocasiona *B. microplus*. En el apéndice 9.7 b se aprecia la disminución que sobre este remanente ejercen las gramíneas *M. minutiflora* y *A. gayanus* y son destacables las reducciones que se observan en el otoño y el verano, debido a que se presentan durante las épocas de alzas poblacionales de *B. microplus* en condiciones naturales en México, que coinciden con la mayor producción de forraje y con la mayor expresión del efecto anti-garrapata en estas especies, confluyendo de esta manera, factores clave para el control de esta garrapata en programas de MIP.

Por último cabe destacar que el comportamiento agronómico y composición química de las especies forrajeras aquí estudiadas (Apéndices 9.2, 9.3 y 9.8) coincidió con lo reportado en la literatura (Whitman, 1976; Humphreys, 1980; Cruz *et al*, 2000). Esto, no pudo haber sido de otra forma, ya que los cultivos se realizaron siguiendo las indicaciones para el adecuado establecimiento de cada especie y no estuvo entre los objetivos de esta tesis el experimentar con las variables agronómicas sino, solamente registrarlas, para

constatar su adecuado establecimiento y desarrollo. El hecho de no haber podido realizar experimentos con lotes de animales para comprobar su valor nutricional y no toxicidad, se debió a que el recorte de presupuesto para compra de bovinos afectó esta parte del experimento; sin embargo se pudo constatar su palatabilidad y no toxicidad, por el hecho de que en cada corte estacional y después de haber sido tomadas las muestras para la determinación de variables agronómicas, el forraje remanente fue consumido por los bovinos de las áreas circundantes al sitio de estudio, sin que nunca en el lapso estudiado se presentaran complicaciones metabólicas aparentes en los animales que lo consumieron.

La alternativa de controlar a las garrapatas por medio de plantas forrajeras con efecto anti-garrapata, ha sufrido en la última década una notable disminución en la evolución de su desarrollo (Sutherst, 1982; Aycardi, 1984; Da Rosa, 1984; Thadeu *et al*, 1989 Mwangi *et al*, 1995b), esto es lamentable debido a que representa una alternativa ambientalista y sustentable y brinda a los ganaderos tácticas de combate que usadas estratégicamente en un programa de MIP, abaten las poblaciones de la garrapata *B. microplus*, redundando en un menor consumo de plaguicidas, lo que coadyuva a la disminución del problema de resistencia de las garrapatas debido al irracional uso de los plaguicidas para combatirlas.

En el presente trabajo, se probaron tanto en condiciones naturales semi-controladas como en condiciones de laboratorio nuevas especies con el enfoque del efecto anti-garrapata y se comprobó el de otras de las que había escasa referencia; sin embargo, quedaba la duda de cómo se comportarían en estudios que abarcaran las cuatro estaciones del año y que fueran más allá. Los resultados aquí obtenidos permitieron cumplir con los objetivos del trabajo, al establecer el comportamiento del efecto anti-garrapata *B. microplus* de *M. minutiflora* y *A. gayanus* bajo estas condiciones y sugieren la presencia de efecto anti-garrapata en *L. Leucocephala* y *M. artropurpureum*, el cual deberá ser objeto de posteriores estudios. Sirven para apoyar futuros estudios de campo cuyo objetivo sea el control de las garrapatas en el contexto del MIP (Kilgore and

Doutt, 1967) validando la utilización de pasturas anti-garrapata.

En un futuro cercano, deberán buscarse nuevas especies que presenten este tipo de efectos sobre las garrapatas, buscando también otras plantas que no necesariamente sean forrajeras pero de las cuales se pueda aprender acerca de estas propiedades, sobre todo cuando los efectos anti-garrapatas encontrados sean más bien debidos a barreras físicas y no a las características químicas de las sustancias que pudieran producir y aplicar este conocimiento así adquirido al control de las garrapatas.

7. CONCLUSIONES

Las gramíneas *M. minutiflora* y *A. gayanus* mostraron un elevado efecto anti-garrapata *B. microplus* siendo este efecto mayor en *M. minutiflora*.

La gramínea *M. minutiflora* mostró un considerable efecto anti-garrapata *B. microplus* en las cuatro estaciones, lo que permite su uso en todo el año.

El efecto anti-garrapata *B. microplus* presente en *M. minutiflora* y *A. gayanus* permaneció durante los cuatro otoños estudiados.

Existe en las leguminosas *L. leucocephala* y *M. artropurpureum* presencia de efecto anti-garrapata.

Todas las especies forrajeras mostraron un alto porcentaje de relación directa positiva entre el número de larvas encontradas y la humedad.

Las estaciones que ofrecen condiciones más favorables al desarrollo de las larvas de *B. microplus* fueron el verano y el otoño.

Las estaciones más favorables al desarrollo de esta garrapata en México coinciden con las más altas manifestaciones del efecto anti-garrapata por parte de las especies *M. minutiflora*, *A. gayanus* y *L. leucocephala*.

No hay diferencia en cuanto al número de larvas de *B. microplus* recuperadas en las combinaciones gramíneas-leguminosa al ser comparadas con el cultivo puro de *M. minutiflora*, pero si las hay cuando se comparan con los testigos *C. ternantea* y *C. ciliaris*.

Las especies *M. minutiflora*, *L. leucocephala*, *A. gayanus* y *B. brizantha* manifestaron efecto anti-garrapata en orden decreciente, en el estudio bajo condiciones de laboratorio.

El valor nutricional determinado por medio del análisis químico de las especies analizadas en el estudio corresponde con los valores reportados en la literatura.

8. LITERATURA CITADA

Abelson, H.P., (1994) Chemical Ecology. *Science* 264: 487.

Ackerman, S., Clare, F.B., McGill, T. W. and Sonenshine, D. E. (1981) Passage of host serum components including antibody across the digestive tract of *Dermacentor variabilis*. *J. Parasitol.*, 67:737-740.

Aguirre, E.J. (1991) Estudios acerca de la genética y mecanismos de resistencia de las garrapatas ixodidae con origen en México. En: Memorias del Segundo Seminario Internacional de Parasitología Animal. 9-11 de Octubre, Oaxtepec, Mor., México pp.78-95.

Allen, J.R., Khalil, H.M., Wikel, S.K., (1979) Langerhans cells trap tick salivary gland antigens in tick resistant guinea pigs. *J. Immunol*, 122: 563-565

Angus, M.B. (1996) The history of the cattle tick *Boophilus microplus* in Australia and Achievements in its control. *Int. J. Parasitol.* 26:1341-1355

Anónimo (1986) Detection and Management of pesticide resistance. Report to USA Congress. USDA-ARS

Anónimo. (1987) En: FAO, El control de Las Garrapatas y de Las Enfermedades Que Transmiten, Vol. 1, ROMA, pp. 138-177

Anónimo, (1997) Como combatir garrapatas con la vacuna gavac. En: México Ganadero Organo Oficial de la Confederación Nacional Ganadera No. 429 pp.14-15.

Anónimo, (1990) Secretaría de Agricultura y Recursos Hidraulicos- Delegación Estatal Morelos- Subdelegación de Ganadería. Programa operativo Anual.

Anónimo, SAGAR, Ficha Técnica CB-08. Control microbioal de la mosca pinta *Aeneolamia* spp. con *Metarhizium anisopliae* .Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria-Dirección General de Sanidad Vegetal, Dirección del entro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Centro Nacional de Referencia en Control Biológico.

Anónimo, (1999) Secretaría de Desarrollo Agropecuario-SIAGROPEC-MOR.- Gobierno del Estado de Morelos. Morelos Tierra Fértil. Folleto Divulgativo .

Andrewartha, G.H. (1973). Introducción al estudio de las poblaciones animales. Editorial Alhambra, pp. 3-23.

Arteaga, O., Ojeda, L., Hernández, C., Brunet, E. and Espinoza, W. (1995) Factibilidad de una agricultura sostenible y sus posibilidades en Cuba. En : Agroecología y desarrollo sustentable. Memorias del 2º Seminario Internacional de Agroecología. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo , Estado de México. pp. 63-65.

Aycardi E., Benavides E., García O., Mateus G., Henao F.and Zuluaga N.F. (1984) *Boophilus microplus* tick burdens on grazing cattle in Colombia. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 16:78-84.

Bahena, J.F. (2001) El nim una alternativa para el manejo agroecológico de plagas. Agenda técnica No. 3, Centro Nacional de Investigaciones para la producción Sostenible CENAPROS-INIFAP-SAGAR, 22p.

Barnard, D.R. (1986) Density perturbation in populations of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in beef cattle forage areas in response to two regimens of vegetation management. *J. Econ. Entomol.* 79: 122-127.

Barnard, D.R. (1991) Mechanisms of host-tick contact with special reference to *Amblyomma americanum* (Acari:Ixodidae) in beef cattle forage areas. *J. Med. Entomol.* 28 (5): 557-564.

Barnard, D.R., Mount, G.A., Haile, D.G. and Daniels, E. (1994) Integrated management strategies for *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) on pastured beef cattle. *J. Med. Entomol.* , 31: (4), 571-585.

Barre, N. (1988) Mesures agronomiques permettant une diminution des populations de la tique *Amblyomma variegatum* . *Revue Elev. Med. Vet. Pays. Trop.* , 41 (4) : 387-393.

Beesley N.W., 1982. The Ecological basis of parasite control: Ticks and Flies. *Vet. Parasitol.* 11:99-106.

Boscompte, J. and Solé, V.R. (1995) Rethinking complexity modelling spatio temporal dynamics in ecology. *TREE* 9: 361-365.

Bourne, A.S., Sutherst, R.W., Sutherland, I.D., Maywald, G.F. and Stegeman, D. A. (1988) Ecology of the cattle tick *Boophilus microplus* in subtropical Australia. III. Modelling populations on different breeds of cattle. *Aust.J.Agric.Res.*, 39 (2):309-318.

Brizuela, C.M., Ortellano C.A., Sanchez, T.I., Osorio, O. and Walker, A. R. (1996) Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay . *Vet. Parasitol.* 63 (1-2): 95-108.

Brossard, M. and Girardin, P. (1979) Pasive transfer of resistance in rabbits infested with adult *Ixodes ricinus* L. Humoral factors influence feeding and egg laying. *Experientia* 35:1395-1396.

Brown, S.J. and Askenase, P.M. (1981) Cutaneous basophil response and immune resistance of guinea pigs to ticks: Passive transfer with peritoneal exudate cells of serum. *J. immunol.*, 127:2163-216.

Carvajal, A.J. y Huchin, J.A.(1996) Calidad fisiológica de la semilla escarificada de *Macrophtillium artropurpureum* común. En: Memorias Reunión Anual de Investigación Pecuaria, Morelos 96. Cuernavaca, Mor. pp. 183.

Camino, L.M. (1980) The development of an integrated pest management System for the cattle tick, *B. microplus* (Canestrini, 1887) in Morelos State, Mexico. PHD thesis, University of Florida, Gainesville.

Camino, L. M. (1991) Manejo y modificación del hábitat en el control de las garrapatas. En: Segundo Seminario Internacional de Parasitología Animal, Garrapatas y Enfermedades que Transmiten. Morelos, México, CENAPA-SARH.pp. 66-71.

Castiñeiras, A., Jimeno, G., López, M. y Sosa, L., (1987) Efecto de *Beuveria bassiana* *Metarhizium anisopliae*(Fungi imperfecti) y *Pheidole megacephala* (Hymenoptera: formicidae) contra huevos de *Boophilus microplus* (Acarina Ixodidae) *Rev. Salud Anim.* 9:288-293.

Castellanos, J.L., Quiroz, R.H. (1985) Efecto de la infestación por garrapatas *Boophilus microplus* sobre la ganancia de peso en bovinos Aberdeen angus. En: Memorias de la VI Reunión anual de la Asociación Nacional de Parasitología Veterinaria, A. C. (AMPAVE) P. 81

Carles B. A. (1991) The non-medical prevention of livestock disease in African Rangeland ecosystems. 1991. *Prev Vet. Med.* 12(3-4): 165-173

Cook, C.J.A. (1991) Communal farmers and tick control. A field study in Zimbabwe. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 23:161-166.

Correa, G. (2001) La miseria, en el campo peor que en el porfiriato. *Revista Proceso, Semanario de Análisis Político*, No.1289, México, D.F., pp.11-19.

Cruz, V.C., García, V.Z., y Quintero, M.T. (1995) Avances en la inmunización contra las garrapatas en México. *Vet. Mex.* 26(3): 251-261.

Cruz, V.C. (1995) Caracterización inmunoquímica de proteínas de superficie de intestino de garrapatas *Boophilus microplus*. Tesis de Doctorado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Cruz, V.C., Fernández, R.M., Solano, V.J. and García, V.Z., (1999) Anti-tick effect observed in mature plants of tropical legumes *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata*. *Parasitología Al día* 23:15-18.

Cruz, V.C. y Fernández, R.M. (2000) Anti-tick repellent effect of *Andropogon gayanus* grass on plots of different ages experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. *Parasitología Al Día* 24: 88-91.

Cruz, V.C., Fernández., R.M., Solano, V.J. y Ruiz, C.E. (2000). Comportamiento agronómico de *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata* en condiciones de trópico subhúmedo . *Tec. Pecu. Mex.* 38(1): 42-49.

Daniel, W. W. (1998) Bioestadística : Base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial UTEHA, Noriega Editores.

Da Rosa, F.N.A. (1984) Antibiose e antixenose de forrageiras em larvas de *Boophilus mcroplus*, (CANESTRINI,1887). Tasis da maestria. Universidade

Federal Do Rio Grande Do Sull, Curso de Pos Gradouados Em Medicina Veterinoaria. Porto alegre, Brazil. 87 p.

Davey, B.R., Garza, J., and Thompson, D.G. (1982) Seasonal observations on the development and ovipositional capability of *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus* reared on bovines. , *J. Med. Entomol* . 19(1): 24-28.

Dawe, M.T. (1922) Elwatakala grass (*Melinis minutiflora*) as a mean for the control of tsetse fly. *J. Trop. Life*. 18(5): 69-71.

De Jesús, Z. (1934) The repellent and killing effects of gordura grass on the larvae of the cattle tick *Boophilus australis* . *Philippine J. Anim. Industr.* 1:193-207.

Delgado, T.P. (1983) Estudio del comportamiento de la garrapata *Boophilus microplus* (CANESTRINI) en los pastos *Cynodon dactylon* y *Paspalum dilatatum* bajo condiciones de campo. En : Memorias de la IV Reunión de la Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria (AMPAVE) A.C. P. 40.

Dipelou, O.O. (1984) Development of Ixodid ticks under natural conditions in Nigeria. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 16:13-20.

Dipelou, O.O., Mongi, O.A., Punyua, K.D., Latif A.A., Amoo A.O., Odhiambo R.T. (1992) Current concepts and approach to control of livestock ticks in Africa. *Discovery Innovation*.4 (2): 558-560.

Dirzo, R. (1985) Metabolitos secundarios en las plantas: ¿Atributos panglossianos o de valor adaptativo?. *Ciencia* 36, 137-145.

Donald, D.A. (1994) Parasites animal production and sustainable development. *Vet. Parasitol.* 61 (1-3): 27-47.

Doucet, A. M., Doucet, E.M., and Nienstedt, K. (1992) Diferencias inter e intraespecificas en la capacidad infectiva de poblaciones de *Heterorhabditis* y *Steirnernema* aislados en Argentina. *Nematropica* 22(2): 237-241.

Douglas, A.L., Wratten, D.S., and Gurr, M.G. (2000) Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu Rev. Entomol.* 45: 175-201.

Duke, A. (2003) *Melinis minutiflora* Beauv. http://newcrop.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Melinis_minutiflora.html

Elder, J. and Morris, R.S. (1986) The use of decision analysis to compare cattle tick control strategies under conditions of risk. *Prev. Vet. Med.* 3(6): 523-535.

Ehrlich, R.P. (1993) Science and the management of natural resources. *Ecol. Appl.* 3 (4): 558-560.

Ellis, A.G. and Midgley, J.J. (1996) A new plant animal mutualism involving a plant with sticky leaves and a resident hemipteran insect. *Oecologia*, 106 (4): pp.478-481.

Encinas, G.A., Oleaga, P.A. y Pérez S.R., (1999). Parasitología Veterinaria. Cordero del Campillo, M. y Rojo Vázquez. F.A. Edit. ed. McCraw-Hill-Interamericana pp. 420-421.

Evans, D.E. (1992) Tick infestation of Livestock and tick control in Brazil: a situation report. *Ins. Sci. Appl.* 13 (4): 629-643.

Fernández, R.M., García, V.Z. (1994) Desarrollo de las etapas de vida no parasítica de *Boophilus microplus* en dos especies de pastos en Tepoztlán, Mor.

En : Memorias XIV Congreso Panamericano De Ciencias Veterinarias (909). Acapulco, Gro. Méx. p.p.325.

Fernández, R.M. (1996). Comparación de cuatro técnicas de colecta de larvas de *Boophilus microplus* bajo condiciones de campo en infestación controlada. *Tec. Pecu. Mex.* 34 (3): 175-182.

Fernández, R.M., Cruz, V.C., Solano, V.J., García, V. Z. (1999a) Antitick effects of *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae in Morelos Mexico. *Exp. Appl. Acarol.* 23:171-175.

Fernández, R.M., Cruz, V.C., García, V.Z., Saltijeral, O.G. (1999b) Estudio de seguimiento del efecto anti-garrapata de las leguminosas tropicales *Stylosanthes humilis* (L) y *Stylosanthes hamata* (L) en plantas de un año de edad. *Tec. Pecu. Mex.* 37(3): 51-56.

Fernández, R.M., Zhioua, E., Preciado de la T, J.F. y García, V.Z. (2001) Infectividad *in vitro* de *Metarhizium anisopliae* cepa ESCI contra *Boophilus microplus*. En : Memorias del V Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria-AMPAVE, Mazatlán, México. p.34.

Fernández, R.M., Zhioua, E., García, V.Z. (2003) Patogenicidad del hongo *Metharhizium anisopliae* (Deuteromycetes) para cepas susceptible y resistente de *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE). Memorias del 34º Congreso Nacional de Entomología, Ixtápa, Gro., México pp. 349-352.

Fernández E., Arteaga, E., Pérez, M. (2001) Utilización de los nematodos entomopatógenos en el control de plagas agrícolas. <http://codagea.EDOAGS.GOB.MX/-produce/NEMA-ENT.htm>

SAGAR-CANIFARMA-FAO-IICA-INIFAP, 11-13 de Octubre, Acapulco, Gro. México, pp.67-70.

Garris, I.G., Popham, W.T. and Zimmerman, H.R. (1990) *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): oviposition, egg viability, and larval longevity in grass and wooded environments of Puerto Rico, *Environ. Entomol.* 19(1): 66-75.

Gee, G.F. (1959) The economic importance of cattle tick in Australia. *Agric. Econ. Bull.* 5:6-8.

George, E.J. (1990) A Summing-up of strategies for the control of ticks in regions of the world other than Africa. *Parasitologia.* 32:203-209.

Georghiou, G.P. and Taylor, E.Ch. (1986) Estrategies and tactics for resistance management. National Academic Press, Washington, D.C. pp. 157-169.

Gershenzon, J. (1994) Insect-Plant interactions. Editorial CRC Press, Boca Ratón Fla. Vol.V. Chapter 3: The cost of plant chemical defense against herbivory, a biochemistry perspective pp.106-123 .:

González, J.C. (1976) La garrapata como vector de enfermedades: Biología y Ecología de *B. microplus*. Publicación científica no. 316 OPS - OMS. 77-83.

Grainge, M. and Saleem, A. (1990) Handbook of plants with pest-control properties. Ed. Wiley-Resource Systems Institute Fast-West Center Honolulu, Hawaii, pp.263;368.

Grice, J.K., Payne, F.G., Karns, S.J. (1996) Enzymatic approach to waste minimization in a cattle dipping operation. *J. Agric. Food. Chem.* 44:351-357.

Guedes-Frazzona, A.P., Da Silva. I.V.J., Masuda, A., Schrank, A. and Henning, V. (2000) In vitro assesment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus* . *Vet. Parasitol.* 94, 117-125.

Hair, J.A. and Howell, D F. (1970) Lone star ticks. Their biology and control in Ozark recreation areas. *Okla. Agric. Exp. Sta. Bull.* , 8: 679.

Haile, G.D., Mount, A.G. (1991). Estrategias de control por simulación para garrapatas *Boophilus* spp. y babesiosis . En: Memorias del 2º Seminario Internacional De Parasitología Animal y Enfermedades Que transmiten,.Oaxtepec, Morelos, México. CENAPA-SARH p. 45

Harley, S.L.K., Wilkinson, R.P. (1964) A comparison of cattle tick control by conventional acaricidal treatment, planned dipping and pasture spelling. *Austr. J. Agri. Res.* 15 (5): 841-853.

Hassan, M.S., Dipeolu, O.O., Amoo, O.A. and Odhiambo, R.T. (1991) Predation on livestock ticks by chickens. *Vet. Parasitol.* 38:199-204.

Hassan, M.S., Dipeolu, O.O. and Malonza, M. M. (1994) Natural attraction of livestock ticks by leaves of the shurb *Acalypha fruticosa* . *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 26:87-91.

Hernández, A.F., Teel, D.P., Corson, S.M. and Grant, E.W. (2000) Simulation of rotational grazing to evaluate integrated pest management strategies for *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Venezuela. *Vet. Parasitol.* 92:139-149.

Herrera, S M. (1996) Efecto anti-garrapata de *Stylosanthes humilis* y *Stylosanyhes hamata* solas y combinadas con dos gramíneas forrajeras. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico Agropecuario No. 9, SEP-DGETA-SEIT, Miacatlán, Mor. p 55.

Hilborn, R. (1993) The limits of applied ecological research. *Ecol. Applic.* 3 (4): 550-554.

Hilje, L. (1994) Lecturas sobre manejo integrado de plagas. CATIE Serie Técnica, Informe Técnico No. 237. Colección Temas de Fotoprotección para extensionistas No.1 , Turrialba, Costa Rica.

Hogsette, A.J., (1999) Management of ectoparasites with biological control organisms. *Int. J. Parasitol.* 29:147-151.

Hu, R., Hyland, E.K., Mather, N.T. (1993). Occurrence and distribution in Rhode Island of *Hunterellus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae), a wasp parasitoid of *Ixodes dammini* . *J. Med Entomol.* 30(1)277-280.

Hu R., Hyland, E.K., Oliver, H.J. (1998) A review on the use of Ixodiphagus wasps (Hymenoptera: Encyrtidae) as natural enemies for the control of ticks (Acari: Ixodidae) *Syst. Appl. Acarol* 3:19-28.

Humphreys, L.R. (1980) A guide to better pastures for the tropics and subtropics. Wright Stephenson Company Press. Australia. p 96.

Jonsson, N.N., Mayer, G.D., Matschoss, L. A., Green, E. P., Ansell, J. (1998) Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. *Veterinary Parasitology* 79 (1) pp. 65-77.

Jutsum, R.A., Heaney, P.S., Perrin, M.B. and Wege, J.P. (1998) Pesticide resistance: Assessment of risk and the development and implementation of effective management strategies. *Pestic. Sci.* 54:435-446.

Kaposhi, C.K.M. (1992) The role of natural products in integrated tick management in Africa. *Ins. Sci. Appl.* 13(4): 595-598.

Kaaya, G.P. (1989) *Glossina morsitans morsitans* : Mortalities cause in adults by experimental infection with entomopathogenic fungi. *Acta Trop.* 46: 107-114.

Kaaya, G.P. (1992) Non chemical agents and factors capable of regulating tick populations in nature. *Ins. Sci. Applic.* 13(4): 587-594.

Kaaya, G.P. and Munyinyi, M. (1995) Biocontrol potential of th entomogenous fungi *Beuveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Invert. Pathol.* 66: 237-241.

Kaaya, P.G., and Hassan, S. (2000) Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Exp. Appl. Acarol.* 24:913-926.

Kilgore, W.W., Douth, L.R. (1967) Pest Control, Biological, physical, and selected chemical methods. Academic Press, N.Y., USA. pp. 267-426

Karlson, P. and Luscher, M. (1959) Pheromones a new term for a class of biological active substances. *Nature.* 183:55-56.

Kemp, D. H., Pearson, R. D., Gough, J.M. and Willadsen, P. (1989) Localization of antigens on ticks gut cells and their interaction with the host immune system *Exp. Appl. Acarol.*, 7:43-58.

Kocan, M.K., Pitherney, S.M., Blouin, F.E., Claypoo, I.L.P., Samish, M., and Glazer, I. (1998) Interaction of entomopathogenic nematodes (*Steirnermatidae*) with selected species of ixodid ticks (*Acari: Ixodidae*). *J. Med. Entomol.* 35(4): 514-520.

Leonard, K.P. (1997) There has never been a better time or a greater need for resistance management. *Pestic. Sci.* 51:387-390.

López, S.F., Fernández, R.M., Aboytes, T.R. y Canto, A.G J. (1985) Prevalencia de anaplasmosis y babesiasis y determinación de la probabilidad diaria de babesiasis en bovinos del municipio de Villa Comaltitlán, Chiapas. *Tec. Pecu. Mex.*48:92-97.

López, C.L. (1993) Exposición a plaguicidas organofosforados. *Perspectivas en Salud Pública* 18 :18-24.

Lyon, M.S., Van Drieshe, R., and Edman, D.J. (1998) Ecology of *Hunterellus hookeri* (Hymenoptera:Encyrtidae) and evaluation of its impact on *Ixodes scapularis* (Acari:Ixodidae) on Nonamesset Island in Massachusetts. *Environ. Entomol.* 27(2):463-468.

Malonza, M.M., Dipelou, O.O., Amoo, O.O., Hassan, S.M. (1992) Laboratory and field observations on anti-tick properties of the plant *Gynandropsis gynandra*. *Vet. Parasitol.* 42(1-2): 123-136.

Mahoney, D F. (1972) Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Aust. Vet. J.* 48:292-298.

Marques de Cantú, M.J. (1990) Probabilidad y estadística para ciencias químico biológicas. Ed. McGraw Hill, 1ª ed., México, D.F.

Mahoney, D.F. and Mirre, G.B. (1977) The selection of larvae of *Boophilus microplus* infected with *Babesia bovis*. *Res. Vet. Sci.* 23(1):126-127.

Mauléon, H., Barre, N. and Panoma, S. (1993) Pathogenicity of 17 isolates of entomophagous nematodes (*Steirnermatidae* and *Heterorhabditidae*) for the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius), *Boophilus microplus* (Canestrini) and *Boophilus annulatus* (Say). *Exp. Appl. Acarol.* 17:831-838.

Mauléon, H., Barre, N. and Panoma, S. (1993) Pathogenicity of 17 isolates of entomophagous nematodes (Steirnermatidae and Heterorhabditidae) for the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius), *Boophilus microplus* (Canestrini) and *Boophilus annulatus* (Say). *Exp. & Appl. Acarol.* 17:831-838.

Meyer, L.J. and Helfman, S.G. (1993) The ecological basis of sustainability. *Ecol. Appl.* 3(4): 569-571.

Mount, G.A., Haile, D.G., Davey, R.B. and Cooksey, L.M. (1991) Computer simulation of *Boophilus* cattle tick (Acari: Ixodidae) population dynamics. *J. Med. Entomol.* , 28 (2): 223-240

Mount, A.G., Haile, G.D., Barnard, R.D., and Daniels, E. (1999) Integrated management strategies for *Amblyomma americanum* (Acari:Ixodidae) in non-agricultural areas. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 827-839.

Mooney, A.H., and Sala, E.O. (1993) Science and sustainable use. *Ecol. Appl.* 3 (4): 564-566.

Muro, C.F. (2000) Substancias responsables del efecto anti-garrapata en las forrajeras *Stylosanthes humilis*, *Stylosanthes hamata* y *Melinis minutiflora*. Tesis de Maestría, SEP-SEIT-Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Ags., México.

Mwangi, N.E., Kaaya, P., Essuman, S. (1995a) Experimental infections of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* with entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, and natural infections of some ticks with bacteria and fungi. *J. Afri. Zool.* 109:151-160.

Mwangi, N.E., Essuman, S., Kaaya, P.G., Nyandat, E., Munyinyi, D. and Kimondo, G M. (1995b) Repellence of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* by the grass *Melinis minutiflora*. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 27:211-216.

Mwangi, N.E., Shawgi, N., Hassan, M., Kaaya, P. and Essuman, S.(1997) The impact of *Ixodiphagus hookeri*, a tick parasitoid, on *Amblyomma variegatum* (Acari:Ixodidae) in a field trial in Kenya. *Exp. Appl. Acarol.* 21:117-126.

Norton, A.G., Sutherst, W.R., and Maywald, F.G. (1983) A Framework For Control Methods Against The Cattle Tick, *B. microplus* In Australia. *J. Appl. Ecol.* 20: 489-505.

Nuñez, J.L., Muñoz, C.M. y Moltedo, H.L., (1982) *Boophilus microplus*. La garrapata del ganado vacuno. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. pp. 121-164.

Ortiz, E.M., Santamaria, V.M., Ortiz, N.A., Soberanes, C.N., Osorio, M.J., Franco, B.R., Martinez, I.F., Quezada, D.R., Fragoso S.H. (1995) Caracterización de la resistencia de *B. microplus* a ixodicidas en México. En: III Seminario Internacional de Parasitología Animal SAGAR-CANIFARMA-FAO-IICA-INIFAP, 11-13 de octubre, Acapulco, Gro. México, pp.58-66.

Pareja, R.M. (1992) El manejo integrado de plagas: Componente esencial de los sistemas agrícolas sostenibles. *Manejo Integrado de Plagas* 24:44-50.

Pérez, F.N.A. (2003) Evaluación de la presencia de residuos de plaguicidas y sustancias químicas de uso veterinario(sulfonamidas y nitrofuranos) en leche pasteurizada comercializada en el Distrito Federal. Tesis Doctorado en Ciencias Biológica, Universidad Autónoma Metropolitana, México, D. F. pp. 33-46.

Pegram, G.R. and Chizyuka, B.G.H. (1987) Towards an Assesment of Economic Impact of Ticks On Rural Development. Ticks and Tick-Borne Diseases. ACIAR Proceedings No. 17, Australian Centre for International Agricultural Reseach, Canberra. p.86.

Pegram, G.R., Tatchell, J.R., De Castro J.J., Chizyuka, B.G., Creek, J.M., McCosker J.P. (1993) Tick control new concepts. *Rev. Mund. Zoot.* 74-75 :1-11.

Pimentel D.D. (1979) Pesticides: Environmental and social cost . Ed. Westview, Boulder, Colorado. pp. 99-158.

Popham, T.W., Garris, G.I., Garris, G.I., Pound, J.M.(1991) Considerations when modelling alternative eradication strategies for *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) in Puerto Rico. *J. Agric.Entomol.* , 8(4): 271-289.

Prates, H.T., Oliveira, A B., Leite, R C., Craveiro, A A. (1993) Anti-tick activity and chemical composition of *Melinis minutiflora* essential oil . *Pesq. Agropec. Bras.* 28(5): 621-625.

Price W.P., (1975) Insect Ecology. Editorlal John Wiley and Sons Inc., New York. pp.29-53.

Quiroz, R.H. (1984) Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Ed. Limusa S.A. México D. F. pp. 67-92.

Quiroz, R.H. (1991) Situación actual de la problemática de las garrapatas. Memorias del segundo Seminario Internacional de Parasitología Animal. Oaxtepec, Morelos, México. P:3-18 .S.A.R.H-CONASA-INIFAP, México. D.F. pp.3-18.

Rechav, Y. (1987) Resistace of Brahman and Hereford cattle to African ticks with reference to serum gamma globulin levels and blood composition. *Exp. Appl. Acarol.* 3:219-232.

Redondo, M., Fragoso, H., Ortiz M., Montero, C., Lona, J., Medellin, J., fria R., Hernández, V., Franco, R., Machado, H., Rodriguez, M. y De La Fuente, J.

(1999) Integrated control of acaricide-resistant *Boophilus microplus* populations on grazing cattle in Mexico using vaccination with Gavac™ and amidine treatments. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 841-849.

Rijo-Camacho, E. (2001) Control de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (CANESTRINI) con hongos entomopatogenos. <http://codagea.edpags.gob.mx>

Rodriguez M.C. (1997) Manejo de la resistencia a insecticidas. Colegio de posgraduados Instituto de Fitosanidad, Montecillos, Estado. de México. pp.8-20 .

Royer, A.T., Mulder, G. P. and Cuperus, W.G. (1999) Renaming (Redefining) Integrated Pest Management: Fumble, Pass or Play?. *American Entomologist* , 45:136-139.

Samish, M. and Glazer I. (1991) Killing ticks with parasitic nematodes of insects. *J. Inv. Pathol.* 58:281-282.

Samish, M., Alekseev E. and Glazer I. (1998) The effect of soil composition on anti-tick activity of entomopathogenic nematodes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 849:402-403.

Samish, M., and Rehacek, J. (1999) Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 82-159

Sánchez, M.V. y Velásquez, E.C. (1998) Microorganismos para controlar el barrenador del cedro rojo y caoba. Folleto Técnico No. 25, División Forestal , INIFAP-SAGAR, CIR-Golfo Centro , CAE El Palmar, pp. 5-13.

Schmidtman, T.E. (1993) Ecologically Based Strategies For Controlling Ticks. For: Ecological dynamics of tick-borne zoonoses. Editor: Sonenshine, D.E. Old Dominion University. Publisher: Oxford University Press, London .

Scholl, P., Wedburg, J., Neher, N., Flashinski, R. (1990) Pest Management Principles. University of Wisconsin. College of Agricultural and Life Sciences.- USDA . pp.9-24; 85-91.

Shelton, R. D. and Karns J. (1988) Coumaphos degradation in cattle-dipping vats. *J. Agri. Food. Chem.* 36:831-834

Smith, C.N., and Cole, M.M. (1943). Studies of parasites of the American dog tick *J Econ.Entomol.* 36:212-215.

Snedecor, G.W., Cochran, W. (1977). Métodos Estadísticos. 2a ed. Ed. CECSA, Mexico, D.F.

Soberanes, C.N., Santamaría, V.M., Fragoso, S.H., García V.Z. (2002) Primer caso de resistencia al amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. *Tec. Pecu. Mex.* 40 (1):81-90.

Solis, S. (1986) Ecología de garrapatas en México. En: Seminario Internacional de Parasitología Animal . AMPAVE-SARH-CENAPA-DGSA. JIUTEPEC, Mor. pp. 250-264.

Solis, S. (1991) Epidemiología de las garrapatas *Boophilus spp.* y *Amblyomma spp.* en México. En: Segundo Seminario Internacional de Parasitología Animal: Garrapatas y Enfermedades que Transmiten.SARH-CONASA-INIFAP-IICA, Oaxtepec, Mor. Mexico pp. 19-30.

Sonenshine, D. E. (1985) Pheromones and other semiochemicals of the Acari. *Annu Rev. Entomol.* , 30:1-28.

Sonenshine, D.E., Taylor, D., and Carson, K.A. (1986) Chemically mediated behaviour in Acari. *J. Chem. Ecol.* 12:1091-1108

Stinner, R.E. (1977) Efficacy of inundative releases. *Ann. Rev. Entomol.* 22:515-531.

Sosa, E.E. y Zapata B.G. (1996) . Productividad de variedades de *Leucaena leucocephala* bajo diferentes frecuencias de corte. *Tec. Pecu. Mex.* 34(2):73-78.

Sutherst, W.R. , Wharton, H.R., and Utech, W.B.K. (1978) Guide To Studies On Tick Ecology . Division Of Entomology Technical Paper No. 1, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization-CSIRO, Canberra, Australia. 37p.

Sutherst, W.R., Norton, G.A., Barlow, N.D., Conway, G.R., Birley, M., and Comins, H.N. (1979) An Analysis of management strategies for cattle tick (*Boophilus microplus*), Control in Australia. *J. Appl. Ecol.* 16: 519-540.

Sutherst. R.W., Jones, R.J. and Schnitzerling, H.J. (1982). Tropical legumes of the genus *Stylosantjhes* immobilize and kill cattle ticks. *Nature* 295:320-321.

Sutherst, R.W., and Maywald, G.F. (1985) A computerised system for matching climates in ecology. *Agric. Ecosyt. Environ.* 13:281-99.

Sutherst, R.W. and Kerr, D.J. (1987) Loses in Livestock Productivity Caused by Ticks and Tick-borne Diseases. Ticks and Tick-Borne Diseases, ACIAR Proceedings , No .17 , Canberra . pp. 108-112.

Sutherst, R.W., Wilson, L.J., Reid, R., and Kerr, J.D. (1988) A survey of the ability of tropical legumes of the genus *Stylosanthes* to trap larvae of cattle tick, *Boophilus microplus* (Ixodidae). *Aust.J. Exp.Agric.* 28:473-479.

Tamayo, L.J., (1978) Geografía Moderna de México. 9ª edición, Ed. Trillas, México pp. 221-231.

Teal, P.E.A. and Tumlinson, J.H. (1986) Terminal steps in pheromone biosynthesis by *Heliothis virescens* and *H. zea*. *J. Chem. Ecol.* 12;353-366

Thadeu, A.M., Barros, De A., Evans, E.D.(1989). Acao de gramineas forrageiras em larvas indestantes do carrapato dos bovidos *Boophilus microplus*. *Pesq. Vet. Bras.* 9 (1/2): 17-21.

Thamsborg, M.S., Roepstorff, A. and Larsen M. (1999) Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Vet. Parasitol.* 84(2-4): 169-186.

Thompson, K.C., Roa, J.E., Romero, T.N. (1978). Antitick grasses as the basis for developing practical tropical tick control pastages. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 10: 179-182.

Thompson, A.J., Gut, J.L. and Jenkins, W.J. (1999) Pheromones for insect control. In: Biopesticides use and delivery. Eds. Hall, F.R. and Menn, J.J. Ed. Humana Press, Totowa New Jersey, pp. 385-412.

Tumlinson, H J. (1988) Contemporary frontiers in insect semiochemical research *J. Chem. Ecol.* 14(11): 2109-2130.

Utech, K B W., Wharton, R H., and Kerr, J D. (1978) Resistance to *Boophilus microplus* in different breeds of cattle. *Aust. J. Agric. Res.* 29: 885-895.

Vickery, L.M. (1987) Ecología de plantas tropicales. ed. LIMUSA, México. Ed. 1ª, pp.165-170.

Waller, P.J. (1999) International approaches to the control of integrated control of nematode parasites of livestock. *Int. J. Parasitol.* 29:155-164.

Willadsen, P. and Williams, P.G. (1976) Isolation and partial characterization of an antigen from the cattle tick , *Boophilus microplus*. *Immunochemistry*, 13:591-597.

Willadsen, P., Williams, P.G., Roberts, J.A. and Kerr, J.D. (1978) Responses of cattle to allergens from *Boophilus microplus*. *Int. J. Parasitol.*, 8:89-95.

Willadsen, P. And McKenna, R.V. (1983) Binding of antigens to tissues: The example of *Boophilus microplus* and bovine skin. *Int. J. Parasitol.*, 13: 593-598

Willadsen, P. and Kemp, D. H. (1988) Vaccination with concealed antigens for the tick control. *Parasitol. Today*, 4:196-198.

Williams C.J. (1999) Integrated control (International experiences) *Int. J. Parasitol.* 29:183-184.

Wilkinson, P.R. (1957) The spelling of pastures in cattle tick control. *Aust. J. Agric. Res.* 8: 414-423.

Wilkinson, P.R. and Wilson T.J. (1958) Survival of cattle ticks in central Queensland pastures. *Aust. J Agric. Res.* 9: 130-143.

Wilkinson, P.R. (1977) Effect of herbicidal killing of shrubs on abundance of adult *Dermacentor andersoni* (Acarina: Ixodidae) in British Columbia. *J. Med. Entomol.* 13: 713-718.

Wilkinson, P.R. (1979) Ecological aspects of pest management of ixodid ticks. *Rev. Adv. Acarol.* 2: 24-33.

Whitman, C.P. (1976). Legumes and tropical pastures. En: Memoria Seminario Internacional de Ganadería Tropical, FIRA-SARH, Acapulco, Mexico. 37-49.

Wikel, S.K., Ramachandra, R. N. and Bergman, D.R. (1992) Immunological strategies for expression of vector arthropods: Novel approaches in vector control. *Bull. Soc. Vector Ecol.* 17:10-19.

Wilson, L.J., Sutherst, R.W. and Kerr, J.D. (1989) Trapping of larvae of the cattle tick, *Boophilus microplus*, by *Stylosanthes scabra* under field grazing conditions. *Aust. J. Agric. Res.* 40:1301-1308.

Wilson, J.L. and Sutherst, W.R. (1990) Oviposition sites of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae) in *Stylosanthes* and grass pastures. *J. Aust. Entomol. Soc.* , 29: 101-105.

Woodham, C.B., González, O.A., López, L.A. y Guereña, M.R. (1983) Progresos en la erradicación de las garrapatas *Boophilus microplus* en México 1960-1968. *Rev. Mund. Zoot.* 48:18-24.

Zar, H.J. (1991) Biostatistical Analisis. Chapters 10-11. Editorial Willey and Sons, N.Y. USA.

Zhioua, E., Heyer K., Browning M., Ginsber H., Lebrun R. (1999) Pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* Variety kurstaki to *Ixodes scapularis* (Acari:Ixodidae). *J Med. Entomol.* 36:900-902.

Zhioua, E., Fernández-Ruvalcaba, M., García-Vazquez, Z., Ginsberg, S.H. (2002) Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (DEUTOROMYCETES) for controlling organosphosphorous resistant strain of *Boophilus microplus*. En: Proceedings of the 50th Annual Meeting of the Southwestern Branch of the Entomological Society of America, Guanajuato-XXXVII Congreso Nacional de Entomología , Guanajuato, Gto., México. p. 3

Zimmerman, R.H., Garris, I.G., and Beaver, S.J. (1984) Potential of *Stylosanthes* plants as a component in an integrated pest management approach to tick control. *Prev. Vet. Med.* 2:579-584.

Zimmerman, H.R. and Garris, I.G. (1985) Sampling efficiency of three dragging techniques for the collection on non parasitic *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae in Puerto Rico. *J. Econom. Entomol* 78: 627.

Zizumbo, V.D. y Colunga, G.M.P. (1993) Tecnología agrícola tradicional, conservación de recursos naturales y desarrollo sustentable. En : Cultura y manejo sustentable de los recursos naturales, 1a Ed. Edit. CIIH-UNAM-PNUMA, 43 (1): 165-2.

9. APÉNDICE

Apéndice 9.1. Promedios de larvas de *B. microplus* recuperadas de tres gramíneas forrajeras y sus gráficas de la prueba de normalidad.

CODIFICACION DE VARIABLES DEL PROYECTO Alternativas de combate Vs *B. microplus* por medio de plantas forrajeras con efecto anti-garrapata

rep = REPETICION.

est = ESTACION: 1- otoño 97,

mue = MUESTREO: 1.- a los 7 días de la infestación, 2.- a los 14, 3.- a los 21, 4.- a los 28 y 5 a los 35

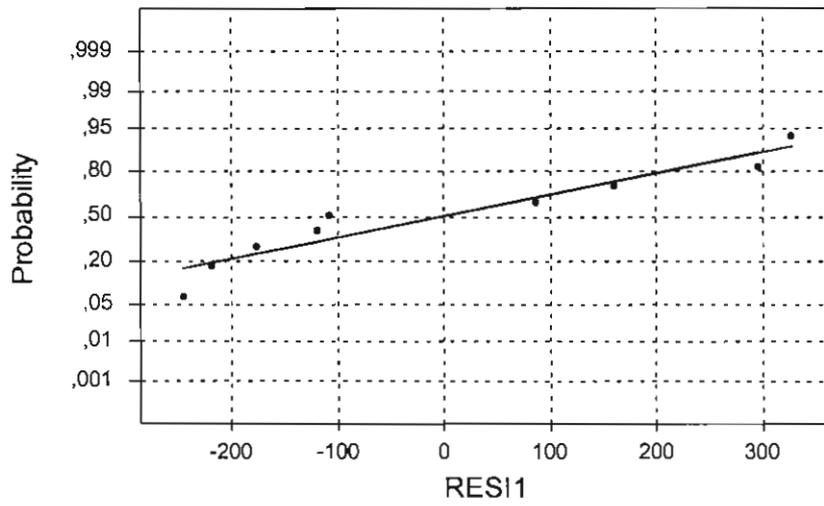
esp = ESPECIES: 1.- buffel, 2.- llanero, 3.- gordura, 4.- estrella,

| rep | FACTORES | | | larvas recup num | plant /ha num |
|-----|----------|----------|----------|------------------------|---------------------|
| | A est | B mue | C esp | | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 963 |
| 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 556 |
| 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 888 |
| 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 6 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 872 |
| 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 325 |
| 3 | 1 | 1 | 1 | 2 | 436 |
| 4 | 1 | 1 | 1 | 2 | |
| 5 | 1 | 1 | 1 | 2 | |
| 6 | 1 | 1 | 1 | 2 | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 277 |
| 2 | 1 | 1 | 1 | 3 | 219 |
| 3 | 1 | 1 | 1 | 3 | 692 |

Revisión de los supuestos para un Análisis de Varianza.

El primer supuesto revisado es el de normalidad y puede verse que tanto la variable número de larvas, como la revisión a los residuales se distribuyen según la función de distribución normal.

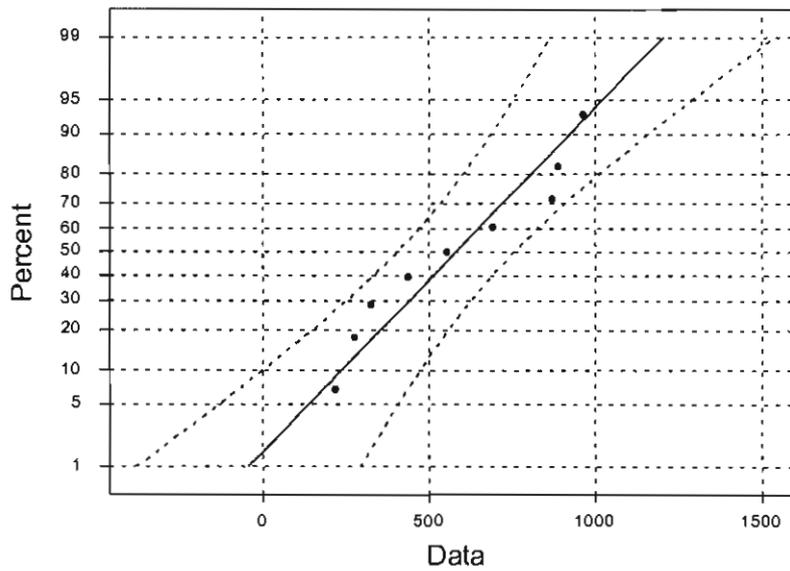
Normal Probability Plot



Average: -0,0000000
 StDev: 221,965
 N 9

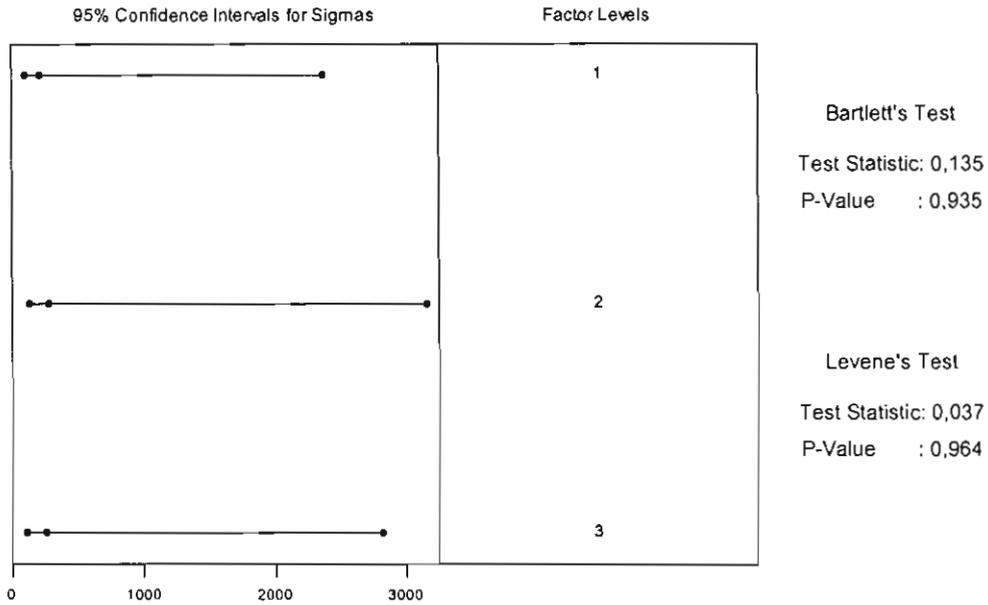
Kolmogorov-Smirnov Normality Test
 D+: 0,243 D-: 0,134 D: 0,243
 Approximate P-Value: 0,128

Normal Probability Plot for num. de larv

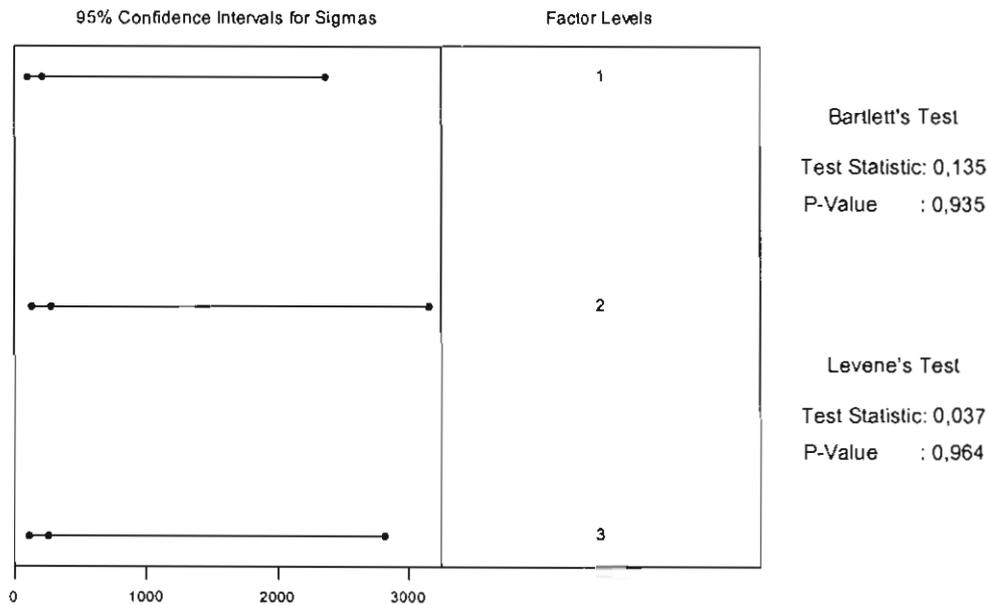


ML Estimates
 Mean 580,889
 StDev 268,291

Homogeneity of Variance Test for num. de larv

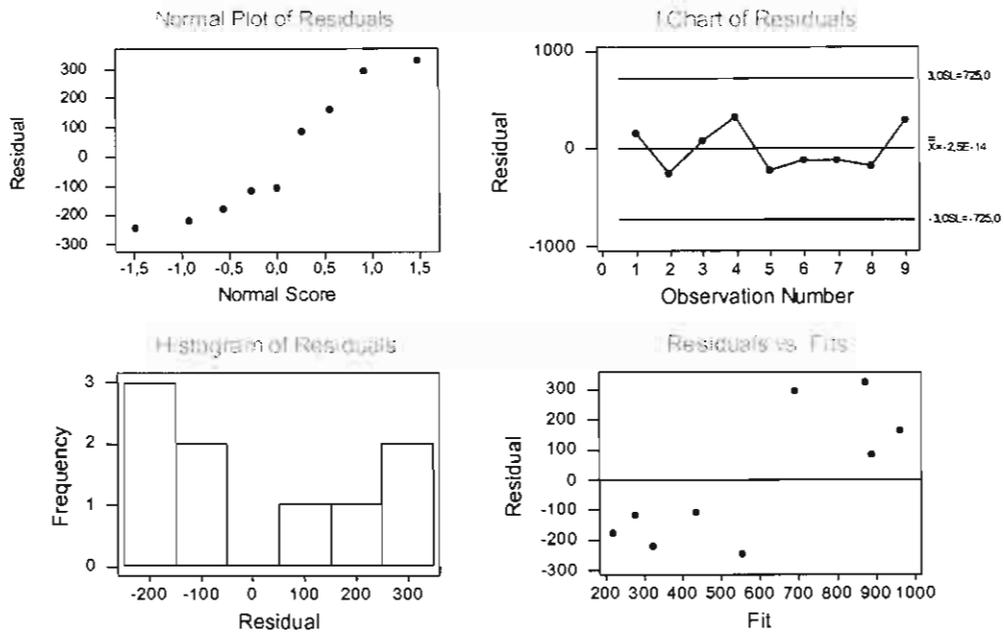


Homogeneity of Variance Test for RESI1

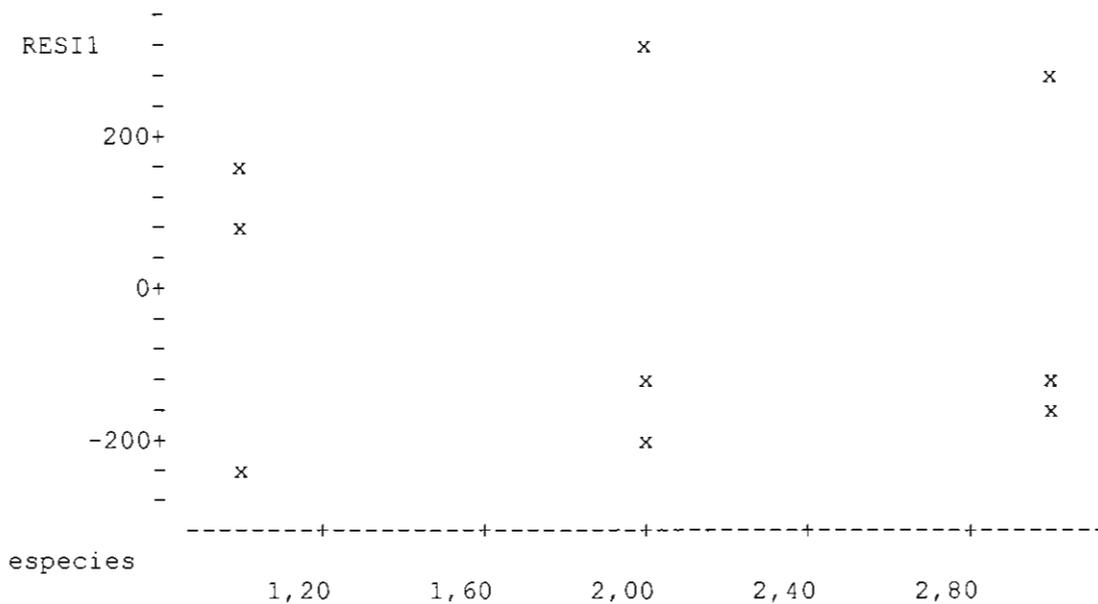


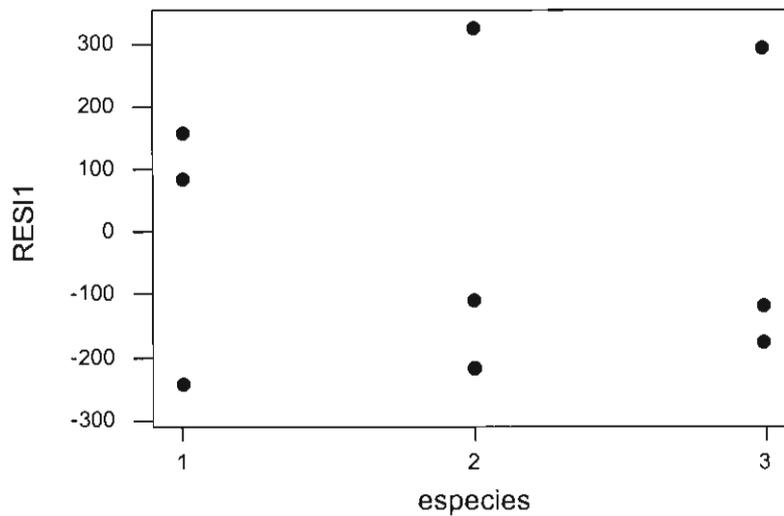
Estas dos gráficas, ilustran la verificación del supuesto de homogeneidad de varianza, el cual aplicado a los datos de la variable y a sus residuales, muestran también no significancia ($P > 0.05$) lo que quiere decir que no se rechaza la hipótesis de varianza homogénea entre las especies.

Residual Model Diagnostics



Plot





Gráfica de residuales, que muestra la carencia de patrones en la distribución de los datos, lo que confirma lo obtenido por la prueba de Bartlett y la de Levene, en el sentido de que no se rechaza la hipótesis de homogeneidad de varianza.

Los supuestos de aleatoriedad y de independencia, quedan verificados desde el momento en que se realizó el experimento, si son aleatorios la distribución del material y entre las especies se considera independencia entre ellas, por lo que no se verificaron, además, la gráfica de residuales última, muestra que las observaciones al no tener un patrón definido denota la ausencia de dependencia y la presencia de que la aleatoriedad de sus datos se confirma.

Apéndice 9.2. Descripción de las variables agronómicas de tres gramíneas forrajeras al establecimiento y al tiempo del muestreo de larvas de *B. microplus*.

| Pasto | Plantas/m ² | | Altura cm | | Cobertura % | | | | Forraje Ton/ha | | | |
|-----------------------|------------------------|-----|-----------|------|-------------|-----|-----------|-----|----------------|------|-----------|-----|
| | | | | | Aerea | | Basal | | Verde | | Seco | |
| | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE |
| <i>A. gayanus</i> | | | | | | | | | | | | |
| Establecimiento | 12 | 2.1 | 113 | 18 | 97 | 6.9 | 61 | 8.3 | 8 | 3.1 | 21 | 5 |
| Otoño 97 | 19 | 7.7 | 252 | 5 | 100 | 0 | 25 | 9.3 | 16 | 1.9 | 33 | 16 |
| Invierno | 13 | 3.3 | 119 | 20.5 | 92 | 4.2 | 18 | 3.5 | 8 | 2.1 | 18 | 6 |
| Primavera | 10 | 7.1 | 119 | 13.6 | 99 | 1 | 31 | 7.8 | 9 | 2.9 | 37 | 14 |
| Verano | 11 | 3.8 | 152 | 3.9 | 100 | 0.4 | 20 | 3.9 | 10 | 0.9 | 46 | 13 |
| Otoño 98 | 17 | 1.4 | 128 | 13.3 | 95 | 12 | 31 | 5.7 | 22.5 | 2.6 | 3.3 | 0.7 |
| <i>M. minutiflora</i> | | | | | | | | | | | | |
| Establecimiento | 6 | 1.6 | 26 | 1.7 | 44 | 2.9 | 5 | 1.3 | | | | |
| Otoño 97 | 10 | 3.9 | 37 | 3.5 | 100 | 0 | 11 | 4.3 | 31 | 8.4 | 13.5 | 3.2 |
| Invierno | 8 | 3.5 | 36 | 4.4 | 68 | 18 | 9 | 2.4 | 13.4 | 4.3 | 5.7 | 1.6 |
| Primavera | 9 | 1.5 | 35 | 6 | 87 | 14 | 26 | 15 | 15.8 | 6.2 | 5.7 | 1.8 |
| Verano | 7 | 1.9 | 38 | 9.3 | 92 | 5.9 | 14 | 2.7 | 17.5 | 6.5 | 7.2 | 2.8 |
| Otoño 98 | 6 | 1.2 | 27 | 2.6 | 96 | 8 | 14 | 3.8 | 12.8 | 1.8 | 2.1 | 1.1 |
| <i>C. ciliaris</i> | | | | | | | | | | | | |
| Establecimiento | 5 | 0.7 | 122 | 8.3 | 9.3 | 3.9 | 57 | 16 | 21.5 | 4 | 5.3 | 1 |
| Otoño 97 | 14 | 5.1 | 105 | 14.3 | 98 | 2.9 | 20 | 7.9 | 21.9 | 7.2 | 7.6 | 1.6 |
| Invierno | 11 | 3.9 | 38 | 10 | 87 | 9.8 | 17 | 7.4 | 13.1 | 4.2 | 5.5 | 0.8 |
| Primavera | 14 | 2.2 | 77 | 7.5 | 96 | 4.1 | 45 | 6.3 | 39.4 | 21.5 | 10.7 | 3.6 |
| Verano | 12 | 2.5 | 95 | 5.7 | 99 | 1 | 43 | 3.1 | 25 | 7.2 | 7.9 | 2 |
| Otoño 98 | 13 | 2.1 | 38 | 11.3 | 100 | 0 | 63 | 6.5 | 18 | 3.3 | 2.7 | 0.8 |

DE= Desviación estándar

Apéndice 9.3. Descripción de las variables agronómicas de cuatro leguminosas forrajeras al establecimiento y al tiempo del muestreo de larvas de *B. microplus*.

| Leguminosa | Plantas/m ² | | Altura cm | | Cobertura Aerea % | | Forraje ton/ha | | | |
|-------------------------|------------------------|-----|-----------|----|-------------------|----|----------------|----|-----------|----|
| | | | | | | | verde | | seco | |
| Tiempo | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE | \bar{X} | DE |
| <i>L.leucocephala</i> | | | | | | | | | | |
| Establecimiento | | | | | | | | | | |
| Otoño 97 | 3.4 | 0 | 72 | 17 | 16 | 8 | | | | |
| Invierno | 3.4 | 0 | 85 | 7 | 84 | 3 | | | | |
| Primavera | 3.4 | 0 | 158 | 26 | 97 | 4 | | | | |
| Verano | 3.4 | 0 | 157 | 9 | 99 | 2 | | | | |
| Otoño 98 | 3.2 | 2.9 | 83 | 37 | 74 | 18 | 20 | 5 | 7 | 2 |
| <i>M.artropurpureum</i> | | | | | | | | | | |
| Establecimiento | 30 | 11 | 34 | 5 | 83 | 8 | 9 | 3 | 2 | 1 |
| Otoño 97 | 60 | 21 | 22 | 2 | 100 | 0 | 26 | 3 | 6 | 1 |
| Invierno | 65 | 16 | 21 | 2 | 65 | 15 | 7 | 2 | 2 | 0 |
| Primavera | 60 | 15 | 28 | 8 | 84 | 9 | 32 | 5 | 8 | 1 |
| Verano | 30 | 16 | 27 | 9 | 63 | 21 | 6 | 3 | 3 | 1 |
| Otoño 98 | 22 | 8 | 20 | 6 | 88 | 6 | 7 | 2 | 2 | 1 |
| <i>S.humlis</i> | | | | | | | | | | |
| Establecimiento | 69 | 23 | 21 | 4 | 80 | 17 | 10 | 3 | 3 | 1 |
| Otoño 97 | 90 | 39 | 6 | 1 | 96 | 5 | 9 | 2 | 4 | 0 |
| Invierno | 8 | 6 | 2 | 1 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Primavera | 611 | 41 | 9 | 2 | 87 | 7 | 5 | 1 | 2 | 0 |
| Verano | 424 | 183 | 39 | 5 | 100 | 0 | 27 | 4 | 7 | 1 |
| Otoño 98 | 71 | 34 | 12 | 2 | 100 | 0 | 5 | 1 | 2 | 0 |
| <i>S.hamata</i> | | | | | | | | | | |
| Establecimiento | 16 | 4 | 33 | 4 | 96 | 6 | 13 | 3 | 4 | 1 |
| Otoño 97 | 19 | 9 | 29 | 2 | 100 | 1 | 19 | 6 | 7 | 2 |
| Invierno | 15 | 3 | 8 | 2 | 60 | 19 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| Primavera | 371 | 334 | 18 | 2 | 99 | 1 | 15 | 3 | 5 | 1 |
| Verano | 525 | 182 | 53 | 4 | 100 | 0 | 45 | 14 | 13 | 5 |
| Otoño | 128 | 34 | 18 | 3 | 93 | 6 | 5 | 2 | 2 | 1 |

DE= Desviación estándar

Apéndice 9.4. Resultados ANDEVA de la Fase 2 para la combinación gramíneas-leguminosa

| | a | b | c | d | e | f | g | h | i | j | k | | | | | | | | | | | | |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|------|-----|-------|-----|----|------|-----|-----|-----|------|----|
| gra-leg | Llan100 | Llan75Leu25 | Llan50Leu50 | Llan25Leu75 | Leu100 | Gor100 | Gor75Leu25 | Gor50Leu50 | Gor25Leu75 | Buffel100 | Cillona100 | | | | | | | | | | | | |
| Estación | Larvas Prom | | | | | | | | | | | | |
| A | pn-99 | 88 | 82 | 67 | 101 | 55 | 78 | 60 | 66 | 23 | 25CD | 19 | 17Cj | 8 | 26BCD | 13 | 38 | 15 | 123 | 54 | 117 | 51 | |
| B | ver-99 | 71j | 13 | 151Cgfh | 40 | 112gh | 61 | 107gh | 79 | 88CD | 39 | 18jk | 15 | 6jk | 4 | 4jk | 2 | 13jk | 9 | 177 | 82 | 159C | 30 |
| C | oto-99 | 76afgh | 22 | 48k | 22 | 75efgh | 40 | 37k | 32 | 14k | 11 | 3jk | 3 | 3jk | 1 | 1k | 1 | 5jk | 5 | 101 | 38 | 97 | 19 |
| D | inv-99 | 48k | 30 | 90efgh | 60 | 35k | 18 | 52k | 34 | 14k | 11 | 3jk | 1 | 8k | 6 | 8k | 4 | 11k | 3 | 98 | 24 | 147 | 30 |

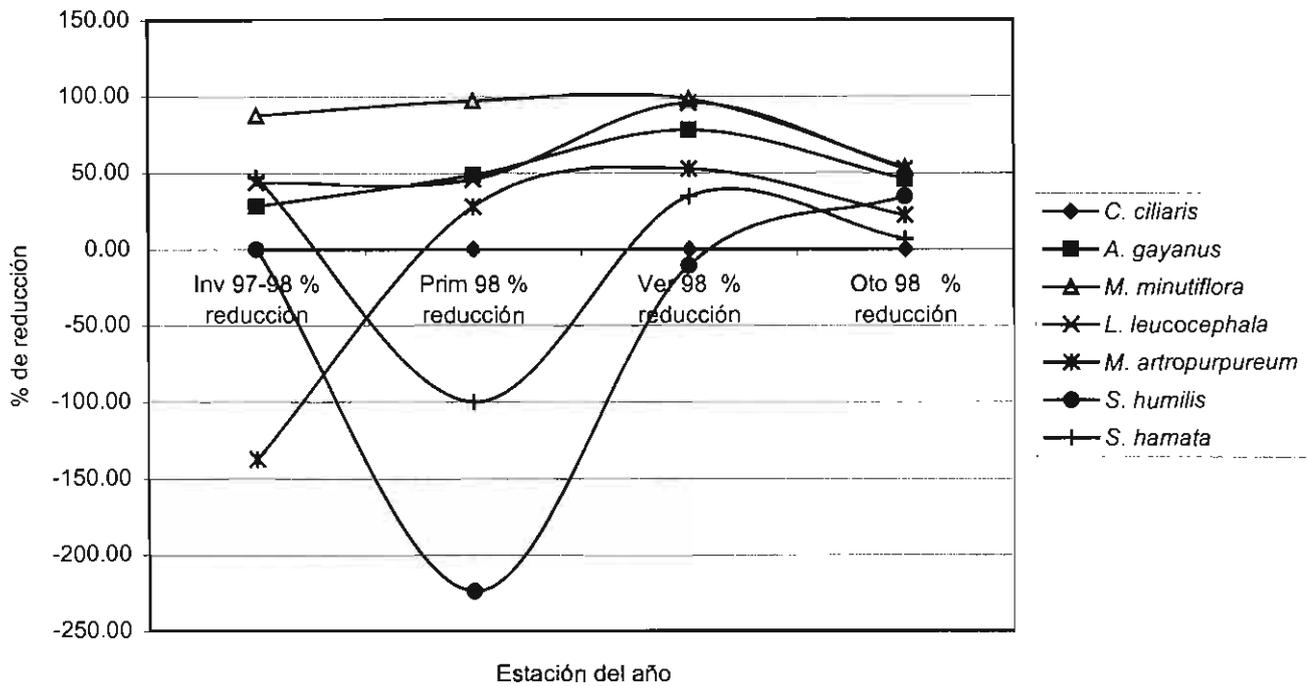
Las literales a,b,c ... indican diferencias significativas en las filas, las ausencias significan que no hay diferencia significativa
 Las literales A,B,C ... indican diferencias significativas en las columnas.

Apéndice 9.5. Resultados Kruskal-Wallis de la Fase 2 para la combinación gramíneas-leguminosa

| | a | b | c | d | e | f | g | h | i | j | k | | | | | | | | | | | | |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|----|
| gra-leg | Llan100 | Llan75Leu25 | Llan50Leu50 | Llan25Leu75 | Leu100 | Gor100 | Gor75Leu25 | Gor50Leu50 | Gor25Leu75 | Buffel100 | Cillona100 | | | | | | | | | | | | |
| Estación | Larvas Prom | | | | | | | | | | | | |
| A | pn-99 | 88 | 82 | 67 | 101 | 55 | 78 | 60 | 66 | 23 | 25 | 19 | 17Cjk | 8 | 26C | 13 | 38C | 15 | 123 | 54 | 117 | 51 | |
| B | ver-99 | 71 | 13 | 151Cgh | 40 | 112 | 61 | 107 | 79 | 88CD | 39 | 18 | 15 | 6jk | 4 | 4jk | 2 | 13k | 9 | 177 | 82 | 159C | 30 |
| C | oto-99 | 76h | 22 | 48 | 22 | 75h | 40 | 37 | 32 | 14 | 11 | 3jk | 3 | 3jk | 1 | 1k | 1 | 5k | 5 | 101 | 38 | 97 | 19 |
| D | inv-99 | 48 | 30 | 90f | 60 | 35 | 18 | 52 | 34 | 14 | 11 | 3jk | 1 | 8k | 6 | 8k | 4 | 11 | 3 | 98 | 24 | 147 | 30 |

Las literales a,b,c ... indican diferencias significativas en las filas, las ausencias significan que no hay diferencia significativa
 Las literales A,B,C ... indican diferencias significativas en las columnas.

Apéndice 9.6. Porcentajes de reducción de número de larvas de garrapata en gramíneas y leguminosas comparadas con *C. ciliaris* durante cuatro estaciones del año



Al graficar los porcentajes de reducción de gramíneas y leguminosas en conjunto para cuatro estaciones del año, tomando como testigo a *C. ciliaris* (Apéndice 9.6), se observa que dichos porcentajes toman su valor máximo alrededor del verano excepto para el caso de *S. hamata* y *S. humilis* que lo tienen en el invierno y en el verano, respectivamente. *S. hamata* y *S. humilis* también presentan un porcentaje de reducción negativo el cual indica finalmente un aumento del número de larvas de garrapata en primavera, del 100 % y 200 %, respectivamente. *M. artropurpureum* también presenta un aumento del número de larvas de garrapata en invierno del 137 %. De la gráfica también se observa que *M. minutiflora* mantiene prácticamente su porcentaje de reducción durante primavera y verano, tiene un mínimo en el otoño y empieza a aumentar en el invierno para alcanzar su máximo en el verano.

9.7.a. Porcentajes de reducción de larvas de *B. microplus* en tres gramíneas forrajeras considerando como 100% a las 5,000 larvas liberadas.

| | <i>Cenchrus ciliaris</i> | | <i>Andropogon gayanus</i> | | <i>Melinis minutiflora</i> | |
|-----------|--------------------------|------|---------------------------|------|----------------------------|------|
| Estación | Larvas Prom. | % | Larvas Prom. | % | Larvas Prom. | % |
| Otoño | 802A ^a | 83.9 | 544A ^b | 89.2 | 396A ^b | 92.0 |
| Invierno | 32B ^a | 99.3 | 23B ^a | 99.5 | 4B ^b | 99.9 |
| Primavera | 68B ^a | 98.6 | 21BC ^b | 99.6 | 2BC ^c | 99.6 |
| Verano | 648A ^a | 87 | 143BC ^b | 97.1 | 13BC ^b | 99.7 |

a, b, c: Valores con diferente literal en la misma línea son estadísticamente significativos (P < 0.05)

A, B, C: Valores con diferente literal en la misma columna son estadísticamente significativos (P < 0.05)

9.7.b. Porcentajes de reducción de larvas de *B. microplus* en dos gramíneas forrajeras considerando como 100% al promedio de larvas recuperadas en el testigo *C. ciliaris* para cada estación.

| | <i>Cenchrus ciliaris</i> | | <i>Andropogon gayanus</i> | | <i>Melinis minutiflora</i> | |
|-----------|--------------------------|--|---------------------------|------|----------------------------|------|
| Estación | Larvas Prom.(100%) | | Larvas Prom. | % | Larvas Prom. | % |
| Otoño | 802A ^a | | 544A ^b | 32.2 | 396A ^b | 50.7 |
| Invierno | 32B ^a | | 23B ^a | 28.1 | 4B ^b | 87.5 |
| Primavera | 68B ^a | | 21BC ^b | 69.2 | 2BC ^c | 97.1 |
| Verano | 648A ^a | | 143BC ^b | 77.9 | 13BC ^b | 98.0 |

a, b, c: Valores con diferente literal en la misma línea son estadísticamente significativos (P < 0.05)

A, B, C: Valores con diferente literal en la misma columna son estadísticamente significativos (P < 0.05)

Apéndice 9.8. Larvas de *B. microplus* recuperadas en cuatro leguminosas forrajeras a los 7 días posteriores a su liberación.

| Estación | <i>L.leucocephala</i> | <i>M.artropurpureum</i> | <i>S.humilis</i> | <i>S.hamata</i> |
|----------------|-----------------------|-------------------------|------------------|-----------------|
| Otoño 97 | 451A | 420 A | 60 C | 417 A |
| Invierno 97 | 18 B | 76 B | 32 C | 16 C |
| Primavera 98 | 37 B | 49 B | 220B | 137 B |
| Verano 98 | 29 B | 306 A | 716 A | 422 A |
| Total | 535 | 851 | 1028 | 992 |
| Promedio anual | 134 b | 212 ab | 257 a | 248 a |

A,B,C: Valores con diferente literal en la misma columna son diferentes(P<0.05)
a,bc: Valores con diferente literal en la misma línea son diferentes(P<0.05)

Apéndice 9.9. Resultados del análisis químico proximal de muestras de parcelas cultivadas con especies forrajeras.

| Forrajera | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gyanus</i> | <i>M. minutiflora</i> | <i>L. leucocephala</i> | <i>S. humilis</i> | <i>S. hamata</i> |
|--------------------------|--------------------|------------------|-----------------------|------------------------|-------------------|------------------|
| Determinación | | | | | | |
| Proteína cruda (N 6.25)% | 3.19 | 7.01 | 6.5 | 17.6 | 14.02 | 15.8 |
| Extracto etéreo % | 3.15 | 2.88 | 2.5 | 3.2 | 2.52 | 3.18 |
| Cenizas % | 14.76 | 9.08 | 8.0 | 19.4 | 7.73 | 7.68 |
| Fibra cruda % | 29.41 | 34.01 | 37.0 | 24.0 | 35.59 | 29.61 |
| Extracto libre de N % | 45.68 | 48.27 | 46.0 | 42.0 | 41.15 | 43.64 |
| T.N.D.% | 60.64 | 62.29 | 60.18 | 69.0 | 64.27 | 65.89 |

PARASITOLOGÍA LATINOAMERICANA

CONTINUACIÓN DEL BOLETÍN CHILENO DE PARASITOLOGIA Y DE PARASITOLOGIA AL DÍA

ARTÍCULOS ORIGINALES

- VARIACIONES BIOLÓGICAS DE *Trypanosoma cruzi* ASOCIADAS A TIPOS DE SANGRE INGERIDA POR EL VECTOR
- APROXIMACIÓN A UNA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Fasciola hepatica*
- ENCUESTA COPROPARASITOLÓGICA CANINA EN PLAZAS DE MAR DEL PLATA, ARGENTINA
- ACAO ANTHELMINTICO DE EXTRACTOS BRUTOS DE *Andira anthelmia* E *Andira fraxinifolia*
- ENTEROPARASITOSIS EN POBLACIONES INDÍGENAS Y MESTIZAS DE NAYARIT, MÉXICO
- ENTEROPARASITOS EN POBLACIONES DE SANDIA, DEPARTAMENTO DE PUNO, PERÚ
- TENIOSIS Y CISTICERCOSIS EN COMERCIANTES DE ALIMENTOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO
- EFFECTS OF BLOOD INGESTION ON THE CHORION OF EGGS OF *Lutzomyia ovallesi*
- ANIMAL BAIT EFFECT ON THE RECOVERY OF *Boophilus microplus* LARVAE FROM GRASS
- COMUNIDADES ECTOPARASITARIAS BRANQUIALES DE *Cheilodactylus variegatus*
- ADHERENCIA DE *Trichomonas muris* *IN VITRO*

COMUNICACIONES

- PRIMER REGISTRO DE *Amblyomma longirostre* EN URUGUAY
- ECTOPARASITOS DE LA PERDIZ CHILENA (*Nothoprocta perdicaria*)
- *Urotocus fusiformis* IN *Pteroptochos tanni*, A NATIVE BIRD OF PATAGONIA (ARGENTINA)
- ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA *Dermatobia hominis* NO RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL
- PRESENCIA DE *Eustrongylides tubifex* EN LA PATAGONIA ARGENTINA
- OCCURRENCE OF COCCIDIOSIS IN CANARIES (*Serinus canarius*) IN PERNAMBUCO, BRAZIL

NOTA TAXONÓMICA

- *Nuttallia brasiliensis* E *Theileria brasiliensis*, SINÓNIMAS DE *Babesia brasiliensis*



ÓRGANO OFICIAL
DE LA FEDERACIÓN
LATINOAMERICANA
DE PARASITÓLOGOS

ARTÍCULO ORIGINAL

Animal bait effect on the recovery of Boophilus microplus larvae from experimentally infested grass in Morelos, Mexico

MANUEL FERNÁNDEZ-RUVALCABA*, JESUS F. PRECIADO-DE LA TORRE*,
GLORIA CORDOBA-JUAREZ**, ZEFERINO GARCÍA-VAZQUEZ*, RODRIGO ROSARIO-CRUZ*
and JORGE SALTIERAL-OAXACA**

ABSTRACT

To quantify the influence of the animal presence on the percentage of *Boophilus microplus* larvae recovery from plots experimentally infested with this tick, it was carried out a trial in Jiutepec, Morelos, Mexico, during autumn 1999 and winter 1999-2000. For this purpose there were compared four sampling methods: human walking with chaps, bovine dressed walking, double walking flagging and double walking with baited flagging. The comparison was made on three grasses: *Andropogon gayanus* (gamba), *Cenchrus ciliaris* (buffel) and *Melinis minutiflora* (molasses). It was observed the same recovery efficiency of *B. microplus* larvae in the four sampling methods studied in the two seasons. There were no statistical differences, although, there were differences ($P < 0.05$) among the grass species. The higher number of larvae recovered was recorded in the low third of the chaps, in the head and front legs of the bovine dressed, from the buffel grass and on the ventral region and legs in the other two grasses.

Key words: *Boophilus microplus*, Larvae, field sampling, grasses, host.

INTRODUCTION

The recovery and quantification of different developing stages of the cattle tick *Boophilus microplus* has been recognized as an important topic because of several reasons related to the control of ticks among them is the possibility of correlation of the free living stages in the pastures and the parasitic stages on the bovine¹ as well to know the level of infestation of the paddocks along the seasons of the year^{2,3}. However it requires reliable and accessible sampling techniques⁴. Three basic techniques have been

used for ticks sampling from the vegetation: direct manual collection, dragging of cotton surfaces (flagging) and attractant traps with CO₂ and alive animals⁵.

The most commonly used method has been the dragging method due to its accessibility and low cost, however there is a wide world controversy about the reliability, efficiency or security of these kind of methods^{6,7}.

In a trial with *Dermacentor andersoni*, it was established that the larval population on the grass measured by dragging methods can be correlated with the parasite population on the host⁸.

* Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria, Km 11.5 Carretera Federal Cuernavaca - Cuautla, Progreso, Municipio de Jiutepec, Morelos, C.P. 62500, México A.P. No. 206 CIVAC, México. Phone: 0173-192848. FAX 01777-3-205544, E-mail: fdczm@pavet.conacyt.inifap.mx; rfdez51@yahoo.com

** Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Xochimilco. AP. 23-181 CP.04960, Coyoacan, México, D. F.

Comparisons were made among three sampling devices in Puerto Rico⁶. The authors compared the collecting efficiency of three dragging techniques for the larval stage of *B. microplus*, found that there was wide variability between techniques and they suggest the convenience of testing other experimental designs focused to diminish this variability.

The CO₂ traps are attractive traps for ticks without using animals⁹, however other authors opine that would have to consider their use, due to the little size of the larvae and the same authors suggest the requirement of different quantities of CO₂ to attract nymphs or adults of *Amblyoma americanum*^{5,10}, and suggest that it would have to consider too, their relative short distance of horizontal migration capability^{6,14}.

For *Amblyoma triguttatum* it has been observed that the attraction techniques with CO₂ are better than those flagging, but it was a sure method only for nymphs and adults not for larvae¹². In other experiment it was found that CO₂ using as attractant, was more efficient than dragging techniques, but only for host seeking stages⁸. However in another experiment it was found that CO₂ traps were very effective for the sampling of *Ixodes dammini*¹³.

Studying the field sampling of *Amblyoma hebraeum*, has been found that this specie needs high concentration of CO₂ or the presence of a bovine or ovine for the stimulation of these ticks because there was not response to the stimuli of low concentrations of CO₂, human presence or vibration produced by walking¹⁴.

In a trial about the sampling of *Amblyomma variegatum* on pastures under tropical conditions it was concluded that due to the difficult to obtain dry ice as a font of CO₂ and problems to preserve it for some time before field trials in tropical conditions it would be good involve cattle¹⁵.

Comparing techniques for *I. dammini*, determined that the flagging and walking techniques, (the former derived from the latter), could be sloped by human sampling preferences, for this reason is recommended that the same people should make comparative studies¹⁶. However walking techniques are more effective than flagging if human presence is considered risk factor for the humantick meeting, but the immature stages of this tick that seeks host at ground level in the litter, are poorly sampled by

walking techniques, resulting to be better method for *I. dammini*, the using of mice samplers when it was compared against flagging at ground level¹⁶. However, when great areas, as the case of some zones in Africa and for the sampling of a wide range of tick species, the flagging method has showed to be more accessible and reliable¹⁷.

Due to the controversy existing about the free life-stages sampling of ticks, is convenient to test different methods or modalities of a sampling technique considering the characteristics of the place, tick specie, stage, and kind of experiment. In the case of *B. microplus* which is a tick that seeks its host in the upper third of the grass mainly, there is doubt in the authors of this experiment, about the reliability of the flagging method to collect larvae in the lower parts of the grass at the sampling moment, because flagging methods are dragged almost exclusively in the upper third of the vegetative status.

To find adequate methods of sampling *B. microplus* larvae in Morelos, Mexico, it was carried out this work involving the natural host of this tick and comparing between different modalities of sampling methods with the purpose of quantifying the influence of host presence on the percentage of *B. microplus* larvae recovery from experimentally infested plots with three grass species at the sampling moment.

MATERIAL AND METHODS

Eighteen experimental plots of 35 m² were used; Three species of grasses were seeded: *Cenchrus ciliaris* (buffel grass), *Andropogon gayanus* (gamba grass) and *Melinis minutiflora* (molasses grass), with five repetitions each specie. They were established in an area of the Ejido Progreso, at the municipality of Jiutepec, Morelos, Mexico located at 18°53' latitude north, 99°09' longitude west, altitude of 1350 over the sea level. The climate is tropical sub humid, annual average temperature of 22° C, rainfall of 800 - 1100 mm. The soil is vertical kind, clayey, black in colour, regular stony, moderate permeability and with irrigation.

The seeding was realized in summer 1997 in a previously prepared ground, dividing the plots of 35 m² in five transects of 1 m wide x 5 m long and 0.5 m of separation between transects. There were used 12 kg/Ha of comercial seed of buffel and gamba grass seeded on four furrows (20 cm

between them) by transect and with 4 ton/Ha of vegetative material of molasses grass¹⁸. Shrubs removing, fertilization and maintenance cuttings were made handy. The watering was made regularly during the establishment of the grasses and later only one watering by season was allowed. The transects (repetitions) were arranged under a totally random blocks experimental design with five repetitions per treatment. Previously to the larvae releasing was made a grass cutting and then were released 5,000 *B. microplus* larvae per repetition of a susceptible strain to the organophosphate and free of hemoparasites which were reproduced by infesting a Holstein male bovine, of approximately 200 kg. with (1 g of egg) approximately 20,000 *B. microplus* larvae and it was confined in isolation.

The treatments were the sampling techniques: T1.- Chaps, which consisted in a Human walking with sampling chaps, T2.-Dressed bovine, was a bovine walking with sampling dress, T3.- flagging and T4.- flagging with baited flannel. These techniques were carried out on the grasses buffel (*C. ciliaris*), gamba (*A. gayanus*) and molasses (*M. minutiflora*), the sampling time for all the techniques was one minute on each repetition.

In the treatment 1 (chaps), the sampling dress was one flannel of 1 m² for each leg of the person who performed the sampling¹⁶. In the treatment 2 the bovine was dressed with flannel excepting the tail, eyes and lips. In treatment 3 the sampling device consisted in 1 m² flannel fastened from one extreme by a wooded rule⁹. In treatment 4 the flannels used for sampling were previously rubbed on a bovine, to impregnate it of the bovine's odour.

In treatment 1 and 2 the walking were performed on a plot of 5 x 1 m. In treatments 3 and 4, the flag was only sweep on the vegetative stratus, because the person who holds the device, walks along an adjacent path free of vegetation; all the walking were of 1 minute in duration. Larvae identification and counting were made with the aid of a stereoscopic microscope, sectioning the chaps in five sampling height ranges (of 20 cm), and by corporal areas of the bovine skin.

The data obtained were captured in an Excel work-sheet and analysed by Andeva and average comparison, by minimal significance difference

under a factorial arrangement 3 x 4 with five repetitions by season¹⁹ (factor a: species, factor b: sampling technique).

It was recorded in autumn 1999 the number of recovered larvae by flagging in the three grass species during eight consecutive samplings with five repetitions each one and the data obtained were analysed by a factorial arrangement 3 x 8¹⁹.

RESULTS

On the autumn, the buffel grass (*C. ciliaris*) showed higher larvae recovery averages with both techniques, flagging and baited flagging: 82 and 98 respectively, there was statistical difference ($p < 0.05$) whit that obtained by the other two techniques 61 by chaps and 44 by dressed bovine, but these values are statistically similar with that found in *A. gayanus* on autumn and 51, 57 and 69 with baited flannel, dressed bovine and chaps respectively.

It was observed the same behaviour about the larvae recovery in the four sampling techniques studied: In *M. minutiflora* in the two seasons it was found between 0.3 - 8 larvae; in *A. gayanus* on winter 17- 35 larvae, without statistical differences (Table 1), however, between the averages of *A. gayanus* on autumn with 26 larvae obtained with flagging and with the averages obtained from *C. ciliaris*, that obtained the greatest averages ($p < 0.05$) by flagging and flagging with baited flannel on autumn, 82-98 larvae, and winter, 34 - 50 larvae, and by dressed bovine with flannel, the larval recovery was lesser, 44 on autumn and 14 on winter.

It was found too, a significant statistical difference by specie effect between *M. minutiflora* and *A. gayanus* and *C. ciliaris* (Table 1). The location of larvae was higher in number, but without statistical difference, in the lower sections of the chaps, in head and anterior extremities of the dressed bovine (sampling dressing) for buffel grass and in ventral part and extremities of the bovine for the other two grasses (Table 2).

The results of the experiment of consecutive weekly samplings on autumn 2000 had statistical differences between species and between samplings. Table 3 showing differences in the seasons averages of the recovered larvae.

Table 1. *Boophilus microplus* larval recovered averages by four sampling techniques from three foraging grasses in Autumn 1999

| Sampling technique | foraging grasses | | |
|---|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
| Human with chaps | 61 ± 24 ^{bc} | 69 ± 33 ^{abc} | 4 ± 3.2 ^c |
| Bovine with sampling vestiment | 44 ± 18 ^{cd} | 57 ± 28 ^{bcd} | 8 ± 2.6 ^e |
| Double walking flagging | 82 ± 45 ^{ab} | 26 ± 19 ^{de} | 3 ± 3.5 ^e |
| Baited flannel (with double walking flagging) | 98 ± 19 ^a | 51 ± 31 ^{bcd} | 3 ± 4.4 ^e |

^{a, b, c, d, e} Values with different literal are different (P < .05).

Table 2. *Boophilus microplus* larval recovery averages by four sampling techniques from three foraging grasses in Winter 99-2000

| Sampling technique | foraging grasses | | |
|---|-----------------------|------------------------|------------------------|
| | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
| Human with chaps | 22 ± 17 ^{cd} | 17 ± 8 ^{cd} | 2.6 ± 2.2 ^d |
| Bovine with sampling vestiment | 14 ± 30 ^{cd} | 25 ± 50 ^{abc} | 1.4 ± 2.8 ^d |
| Double walking flagging | 34 ± 33 ^{ab} | 33 ± 12 ^{ab} | 3.0 ± 3.2 ^d |
| Baited flannel (with double walking flagging) | 50 ± 25 ^a | 35 ± 13 ^{ab} | 0.4 ± 0.6 ^d |

^{a, b, c, d, e} Values with different literal are different (P < .05).

Table 3. Number and location of *Boophilus microplus* larvae recovered by chaps and bovine with sampling dressing techniques from three foraging grasses on autumn 1999

| Chaps Specie and | foraging grasses | | |
|-----------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
| Height (cm) | | | |
| 0 - 20 | 52 | 54 | 52 |
| 20 - 40 | 21 | 15 | 1.6 |
| 40 - 60 | 24 | 22 | 2 |
| 60 - 80 | 11 | 31 | 0.2 |
| 80 - 100 | 4 | 1 | 0 |
| Total | 1 | 0 | 0 |
| Dressed Bovine | 61 | 69 | 4 |
| | foraging grasses | | |
| | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
| Head | 59 | 6 | 0 |
| Anterior extremities | 20 | 15 | 1 |
| Ventral Part | 9 | 22 | 3 |
| Posterior extremities | 8 | 11 | 2 |
| Dorsal part | 2 | 2 | 0 |
| Total | 98 | 56 | 6 |

Table 4. Number of *Boophilus microplus* larvae recovered from three foraging grasses by flagging in eight samplings (autumn 2000)

| Sampling date | <i>C. ciliaris</i> | <i>A. gayanus</i> | <i>M. minutiflora</i> |
|---------------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| October 24 | 865 ^a | 551 ^{bc} | 45 ^e |
| November 7 | 461 ^c | 89 ^e | 22 ^c |
| November 16 | 709 ^{ab} | 180 ^{de} | 7 ^c |
| November 23 | 460 ^c | 571 ^{bc} | 17 ^e |
| November 29 | 533 ^{bc} | 363 ^{cd} | 14 ^e |
| December 5 | 389 ^{cd} | 100 ^e | 5 ^e |
| December 12 | 11 ^e | 24 ^e | 3 ^e |
| December 19 | 55 ^e | 39 ^e | 4 ^e |
| Mean | 435 ^a | 240 ^B | 15 ^C |

^{a, b, c, d, e} Values with different literal are different (P < 0.05). A, B, C: Values with different literal are different (P < 0.05).

Table 5. Climatic values under field conditions for the study period

| | Mean Temperature | Relative humidity |
|------------------|------------------|-------------------|
| Autumn 1999 | 24.5 | 63 |
| Winter 1999-2000 | 18.6 | 32 |

DISCUSSION

The information obtained in this work coincides with that reported by several authors^{3,6,8,9,11,16,20}, about the reliability in the larvae recovery of several sampling techniques; due to generally the response depends of multiple factors as age of ticks, climatic conditions, vegetative stratus, natural resistance of the sampling animal, preferences of the person who make the sampling among others. In this work, it was minimised the natural resistance of the host covering totally the animal surface, although we suggest that the CO₂ and the bovine's odour were blocked too, because of the values obtained with dressed bovine were lesser than that obtained by flagging with baited flannel which had the odour pheromone from the bovine due to the strong friction on a bovine before they were used and that for the bovine had not this characteristic. The climatic influence was corroborated comparing autumn and winter (the best and the worst season).

RESUMEN

Para cuantificar la influencia de la presencia animal en la recuperación de larvas de pastos infestados experimentalmente, se realizó un ensayo en otoño 1999 e invierno 1999-2000. Para ello se compararon 4 formas de muestreo y 3 tipos de pastos. No hubo diferencias en la recuperación de larvas entre las 4 formas, pero sí, entre los tipos de pastos ($p < 0,05$).

REFERENCES

- 1.- BARNARD D R. *Amblyomma americanum*: Comparison of populations of ticks free living stages on pastures and parasitic on cattle. Ann Entomol Soc 1981; 74: 507.
- 2.- FALCO R. C., FISH D. The comparison of methods for sampling the deer tick, *Ixodes dammini*, in a Lyme disease endemic area. Exp Appl Acarol 1992; 14: 165-73.
- 3.- FAO. El control de las garrapatas y de las enfermedades que transmiten. 1987; Vol I Roma, pp. 138-77.
- 4.- SUTHERST W R, WHARTON H R, UTECH W. P K. Guide to studies on tick ecology. Division of Entomology. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australia, Technical Paper 1978; 14: 35-49.
- 5.- KOCH H G. MCNEW W R. Sampling of lone star ticks: Dry ice quantify and capture success. Ann Am Soc Entomol 1982; 75: 579-82.
- 6.- ZIMMERMAN H R, GARRIS I G. Sampling Efficiency of three dragging techniques for the collection of non parasitic *Boophilus microplus* (Acarida: Ixodidae) larvae in Puerto Rico. J Econom Entomol 1985; 78: 627-31.
- 7.- DANIELS J T, FALCO R. C., FISH D. Estimating population and drag sampling efficiency for the black-legged tick (Acarida: Ixodidae). J Med Entomol 2000; 37: 357-63.
- 8.- WILKINSON R P, GREGSON D J. Comparison of sampling methods for recording the numbers of rocky mountain wood ticks (*Dermacentor andersonii*) on cattle and range vegetation during control experiments. Acarologia 1985; 26: 131-9.
- 9.- CORNET P J, DEGALLIER N, HERVE P J. Description of a sledge for tick sampling (Acarida: Ixodidae). Acarologia 1984; 25: 17-9.
- 10.- KOCH H G, MCNEW W R. Comparative catches of field populations of *I. ricinus* and its use. Ann Am Soc Entomol 1981; 74: 498-500.
- 11.- GODDARD J. Ecological studies of *Ixodes scopularis* (Acarida: Ixodidae) in central Mississippi. Lateral movement of adult ticks. J Med Entomol 1993; 30: 824-6.
- 12.- GUGLIEMONE A A, MOREHOUSE E D, WOLF G. Attraction to carbon dioxide of unfed stages of *Amblyomma trigutatum* under field conditions. Acarologia 1985; 26: 123-9.
- 13.- FALCO R C, DURLAND F. The use of carbon dioxide tick traps for sampling *Ixodes dammini* Acarology 1989; 25: 29-33.
- 14.- NORVAL R A, YUNKER C E, BUTLER J F. Field sampling of unfed adults of *Amblyomma hebraeum* Koch. Exp Appl Acarol 1987; 3: 21, 3-7.
- 15.- BARRE N, GARRIS I G, LORVELEC O. Field sampling of the tick *Amblyomma variegatum* (Acarida: Ixodidae) on pastures in Guadeloupe; attraction of CO₂ and or tick pheromones and conditions of use. Exp Appl Acarol Feb; 1997; 21: 95-108.
- 16.- GINSBERG H S, EWING C O. Comparison of flagging, walking, trapping, and collecting from hosts as sampling methods for northern deer ticks, *Ixodes dammini*, and lone-star ticks, *Amblyomma americanum* (Acarida: Ixodidae). Exp Appl Acarol Sep; 1989; 7: 313-22.
- 17.- SPICKEIT A M, HORAK I G, BRAACK L E O, VAN ARK H. Drag sampling of free-living ixodid ticks in the Kruger National Park. Onderstepoort J Vet Res 1991; 58: 27-32.
- 18.- HUMPHREYS L R. A Guide to better pastures for the tropics. Wright Stephenson Co., Sidney, Australia. 1980.
- 19.- PAGANO M, GAUVREAU K. Principles of Biostatistics p 145. 172 Duxbury Press. U.S.A 1993.
- 20.- FERNÁNDEZ-RUVALCABA M. Comparación de cuatro técnicas de colecta de larvas de *Boophilus microplus* bajo condiciones de campo en infestación controlada. Tec Pec México 1996; 34: 175-81.

Acknowledgements: This work was performed as part of the project "Ecological strategies for the control of the cattle tick *Boophilus microplus* in Mexico", partially funded by SAGAR-CONACYT PROJECT K0083-9702.