

Evaluación estacional de la recuperación de larvas de *Boophilus microplus* en cuatro leguminosas forrajeras en parcelas experimentalmente infestadas

Seasonal assessment of *Boophilus microplus* larvae recovery in four forage legumes in experimental infested plots

Manuel Fernández-Ruvalcaba^a, Jesús Francisco Preciado-De la Torre^b, Zeferino García-Vázquez^b, Carlos Cruz Vazquez^c, Jorge Saltijeral-Oaxaca^a

RESUMEN

El objetivo fue determinar el número de larvas de *Boophilus microplus* recuperadas en parcelas cultivadas con *Leucaena leucocephala*, *Macroptilium artropurpureum*, *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata* experimentalmente infestadas con larvas activas (durante cinco estaciones), en condiciones de subtropico subhúmedo. El experimento se realizó en el municipio de Jiutepec, Morelos, México. Se formaron 24 parcelas de 35 m², con una separación entre ellas de 1 m. Cada parcela se subdividió en cinco subparcelas de 5 x 1 m de ancho con pasillos de 0.5 m de ancho entre cada subparcela. Cada subparcela fue infestada con 5,000 larvas de *B. microplus* en cada estación; el muestreo de larvas se realizó por medio de la técnica de bandera a los 7, 14 y 21 días posteriores a la infestación en cada estación. Los datos se analizaron por varianza multivariado. El número de larvas recuperadas en cada una de las cuatro especies fue diferente ($F=4.92$; $gl\ 3,300$; $P=0.002$), observándose que en *S. hamata* se obtuvo un promedio mayor de recuperación de larvas (280.28 ± 375.21) y con *L. leucocephala* el promedio de larvas recuperado fue menor (85.31 ± 205.42). Durante las cinco estaciones estudiadas también se encontró una diferencia significativa entre los promedios de larvas recuperadas ($F=144.55$; $gl\ 4.300$; $P=0.0001$). Se concluye que el efecto anti-garrapata se observó en las cuatro leguminosas estudiadas, y que dos nuevas leguminosas no publicadas en la literatura, muestran este efecto, el cual se manifestó durante las cinco estaciones.

PALABRAS CLAVE: Efecto anti-garrapata, Leguminosas, *Boophilus microplus*.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the number of *Boophilus microplus* larvae recovered from plots planted with *Leucaena leucocephala*, *Macroptilium artropurpureum*, *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* experimentally infested with larvae during five seasons in a subtropic, subhumid climate. The experiment was carried out in the Municipality of Jiutepec, Morelos, Mexico. The experimental area consisted of 24 plots of 35 m² each, with a 1 m pathway between each plot. Each plot was subdivided in five subplots 5 m long and 1 m wide each with a 0.5 m pathway between each subplot. Each subplot was infested with 5,000 larvae for five seasons. Dragging flag larvae sampling was carried out in each experimentally infested subplot in each season at 7, 14 and 21 d after larvae infestation. Data were analyzed statistically through the MANOVA method. The number of recovered larvae showed statistically significant differences between the four legume species ($F=4.92$; $df\ 3,300$; $P=0.002$); the higher mean larvae recovery was in *S. hamata* (280.28 ± 375.21) and the lower was in *L. leucocephala* (85.31 ± 205.42). Statistically significant differences were also found between the five seasons studied for average larval recovery ($F=144.55$; $df\ 4.300$; $P=0.0001$). As a conclusion, an anti-tick effect was observed during the five seasons in the four legumes studied and also that two of them have not been reported before in literature.

KEY WORDS: Anti-tick effect, Legumes, *Boophilus microplus*.

Recibido el 15 de agosto de 2001 y aceptado para su publicación el 31 de marzo de 2003.

a Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco. AP 23-181. Coyoacán 04960. México, DF. rfdez51@yahoo.com. Correspondencia al primer autor.

b Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias Parasitología Veterinaria. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (INIFAP).

c Instituto Tecnológico Agropecuario de Aguascalientes.

La garrapata *Boophilus microplus* es un ácaro ixodido, ectoparásito hematófago del ganado bovino, que produce en el animal pérdidas en su productividad, en regiones tropicales y subtropicales⁽¹⁾; transmite enfermedades como la babesiosis y la anaplasmosis, y es entrada para otras infecciones⁽²⁾. El ganado bovino europeo presenta una mayor susceptibilidad a las infestaciones por garrapatas y a las enfermedades transmitidas por ellas^(3,4).

El control de la garrapata *B. microplus* en el ganado se realiza a través del tratamiento con compuestos químicos de diferentes familias de ixodicidas a nivel mundial⁽⁵⁾. La presión selectiva ejercida sobre las garrapatas debido a los tratamientos con ixodicidas favorece la presentación del fenómeno de resistencia, por lo que se hace necesario contar con nuevas alternativas de control no químico y con un enfoque ecológico integral⁽⁴⁾.

Se ha mencionado que algunas especies de leguminosas forrajeras del género *Stylosanthes* spp⁽⁶⁾ y gramíneas como *Melinis minutiflora*^(7,8,9), *Andropogon gayanus*^(7,10) y *Brachiaria brizantha*⁽⁷⁾ han demostrado tener un efecto anti-garrapata. Los estudios con algunas de estas especies han sido realizados en condiciones de laboratorio o invernadero, o han sido observaciones de la carga parasitaria de garrapatas sobre bovinos pastando en praderas con algunas de estas especies de leguminosas forrajeras, pero careciéndose de información acerca de las condiciones naturales^(8,10). Este tipo de plantas podrían ser una de las alternativas de combate en un programa de manejo integrado de la plaga (MIP), al ser utilizadas como pasturas anti-garrapata, especialmente contra la fase larvaria de *B. microplus* en el pastizal^(1,10,11,12). Las pasturas actuarían como una barrera del tropismo ascendente de las larvas en la vegetación, lo cual es crucial en la etapa de búsqueda del hospedero bovino, ocasionando la disminución del número de larvas que logran infestar al bovino, y por lo tanto la disminución poblacional de este ácaro en el pastizal^(6,13).

Debido a su potencial forrajero, las leguminosas pueden ser incluidas en un sistema de pastoreo⁽¹⁴⁾, utilizando algunas de las especies más promisorias y adaptables al lugar de interés, con lo que se reduciría la población de *B. microplus* en el pastizal^(15,16,17).

The ixodid tick *Boophilus microplus* is a bovine haematophagous ectoparasite which reduces cattle productivity in the tropics and subtropics⁽¹⁾ and transmits diseases as babesiosis and anaplasmosis and is a point of entry for other infections⁽²⁾. European bovines are more susceptible to tick infestation and to diseases transmitted by them^(3,4).

Tick control in cattle is carried out worldwide through chemical treatments with several families of ixodicides⁽⁵⁾. Resistance to these ixodicides is originated by selective pressure on ticks by these chemical compounds, so new non-chemical control alternatives and with an integrated approach should be developed⁽⁴⁾.

Some forage legume species of the Genera *Stylosanthes* and some grasses like *Melinis minutiflora*^(7,8,9), *Andropogon gayanus*^(7,10) and *Brachiaria brizantha*⁽⁷⁾ have been mentioned as possessing anti-tick effect. Studies in some of these species have been carried out in laboratory and greenhouse conditions or observations of tick infested bovine cattle grazing some of these forage legume species, but no information of their behaviour in natural conditions is available^(8,10). This type of plants could be one of the alternatives for tick control in an integrated pest management (IPM) program, if used in grasslands as anti-tick pastures, especially during *B. microplus*' larval stage^(1,10,11,12). These pastures could act as a barrier for the larvae's upward tropism, which is crucial in the phase of finding a bovine host, reducing the number of parasites capable of infestation and thus diminishing tick population in grasslands^(6,13).

Due to their forage potential, legumes could be introduced in a grazing system⁽¹⁴⁾, especially those most promising and adapted to a locality, producing a decreased in *B. microplus* population in a pasture^(15,16,17). If tick control strategies through a rational and programmed use of anti-tick pastures could be implemented, ixodicide optimization and a reduction of its use could be achieved^(18,19).

The possible anti-tick effect on the number of potentially infested *B. microplus* larvae present at a given time in pastures planted with diverse legume

Si se implementan estrategias para el combate de *B. microplus* a través del uso racional y programado de los pastizales anti-garrapata, se obtendría una disminución y optimización del uso de ixodicidas^(18,19).

No ha sido estudiado el posible efecto antigarrapata del número de larvas de *B. microplus* potencialmente infestantes que puedan estar presentes en un momento dado en pastizales cultivados con diferentes especies de leguminosas forrajeras⁽²⁰⁾. Por lo que es importante evaluar el efecto de las diferentes plantas leguminosas sobre la población de larvas en un pastizal infestado.

El objetivo del estudio fue determinar el número de larvas de *B. microplus* recuperadas en parcelas cultivadas con cuatro leguminosas forrajeras experimentalmente infestadas, durante cinco estaciones, en condiciones de subtrópico subhúmedo.

El experimento de campo se realizó en un terreno de cultivo adyacente al Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Jiutepec, Morelos, México, ubicado a 18° 53' N y 99° 09' W, a 1,350 msnm, con clima de subtrópico subhúmedo Awo; la precipitación pluvial anual es entre 800 y 1,100 mm, con una máxima precipitación de junio a septiembre, y la mínima de diciembre a mayo. La temperatura media anual es de 20.7 °C⁽²¹⁾.

El terreno se preparó para la siembra de pastos y se delimitó el área por medio de estacas; se formaron 24 parcelas de 35 m², con una separación entre cada una de 1 m. Cada parcela se subdividió en cinco subparcelas de 5 x 1 m con pasillos de 0.5 m de ancho entre cada subparcela. Para la siembra, en todas las subparcelas se hicieron tres surcos de 5 cm de profundidad, con una distancia de 25 cm entre surcos, empleando un patrón de referencia metálico.

Las especies de leguminosas utilizadas fueron: *Leucaena leucocephala*, *Macroptilium atropurpureum*, *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata*; estas dos últimas se usaron como testigos, ya que previamente se ha demostrado su efecto anti-garrapata⁽²²⁾. La siembra se realizó en el verano de 1997 con un diseño completamente al azar con seis repeticiones,

species has not been studied⁽²⁰⁾. Due to this fact, assessment of the effect of these plants on larvae population in an infested pasture is important.

The objective of the present study was to determine the number of *B. microplus* larvae recovery in pastures planted with four legume species and experimentally infested, during five seasons in the humid subtropics.

The field experiment was carried in land adjoining the CENID PAVET INIFAP in Jiutepec, Morelos, Mexico (18° 53' N, 99° 09' W, 1,350 m above sea level, 800 to 1,100 mm annual rainfall, 20.7 °C average annual temperature), with a dry period from December to May and an Awo subhumid subtropical climate⁽²¹⁾.

The area was delimited with pegs and 24 plots of 35 m² each with a 1 m pathway between each plot. Each plot was subdivided into five subplots of 5 x 1 m each, with a 0.5 m pathway between each subplot. All subplots were sown in three 5 cm deep furrows and at 25 cm between furrows with the aid of a metal guide.

The following legume species were planted, *Leucaena leucocephala*, *Macroptilium atropurpureum*, *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata*. The last two were used as control because their anti-tick effect has been already reported⁽²²⁾. Sowing was carried out in the summer of 1997 in a completely randomized design with six replications with an equivalent of 12 kg/ha of commercial seed⁽¹⁴⁾ for all the species. Pastures were irrigated in the dry season and weeds were controlled manually. A forage cutting was performed at the end of each season.

An ixodicide susceptible and hemoparasite free *B. microplus* strain was used. To obtain larvae, a 180 kg Holstein male was infested with 20,000 larvae, 15 d-old and kept in isolation. Twenty one days post infection, ingurgitated females were collected, placed in Petri dishes and incubated at 28 °C and 80 % relative humidity to allow for oviposition. After eggs collected and weighted in 250 mg lots (\pm 5,000 larvae), placed in 5 ml glass vials with cotton stoppers and incubated until hatching, 15 day-old larvae were used throughout the experiment.

utilizando una densidad equivalente a 12 kg de semilla comercial por hectárea⁽¹⁴⁾ para todas las especies. Los cultivos se mantuvieron con apoyo de riego durante la estación seca, y la maleza se controló manualmente, realizándose un corte de forraje al final de cada estación.

La cepa de garrapata *B. microplus* utilizada fue susceptible a los ixodicidas y libre de hemoparásitos. Para la obtención de larvas se infestó con 20,000 larvas de 15 días de edad, a un bovino macho Holstein, de 180 kg de peso, el cual se mantuvo en aislamiento en las instalaciones del CENID-PAVET del INIFAP. Después de 21 días posteriores a la infestación, se colectaron las hembras ingurgitadas, se depositaron en cajas de Petri, y se incubaron a 28 °C con humedad relativa del 80 % para permitir la ovoposición. Posteriormente se colectaron los huevos y se pesaron en cantidad de 250 mg (aproximadamente 5,000 larvas), se colocaron en viales de vidrio de 5 ml con tapón de algodón, y se incubaron hasta su eclosión. Las larvas obtenidas se utilizaron cuando alcanzaron una edad de 15 días.

Las parcelas fueron infestadas liberando las 5,000 larvas de *B. microplus* por subparcela en cada estación; la infestación fue lineal, colocando un vial con las larvas infestantes en el centro del transecto, de donde se desplazó hacia los extremos para ayudar a la salida de las larvas del vial, y asegurar su distribución lo más homogéneamente posible⁽²³⁾.

El muestreo de larvas en las leguminosas se realizó a los 7, 14 y 21 días posteriores a la infestación, en las estaciones de otoño (1997 y 1998), invierno (1997), primavera (1998) y verano (1998), por medio de la técnica de bandera^(18,23,25). Cada una de las muestras se identificó por especie, fecha y número de subparcela, con el objeto de contar las larvas activas infestantes. Previo a cada muestreo se realizó la determinación de la altura (cm) de las leguminosas con la ayuda de una regla.

El conteo de larvas de garrapatas *B. microplus* de las franelas (bandera) se efectuó en el laboratorio con la ayuda de un microscopio estereoscópico; considerando como larva infestante, aquella que se adhirió a la superficie de la franela.

Each subplots were infested with 5,000 *B. microplus* larvae each season. Infestation was linear, placing a vial containing infestant larvae at the center of the transect, and displacing it to the borders for larvae release and even distribution⁽²³⁾.

Dragging flag larvae sampling was carried out at 7, 14 and 21 d post-infection, in the fall (1997 and 1998), winter (1997), spring (1998) and summer (1998)^(18,23,25). Each sample was identified by species, date and subplot for infestant active larvae count. Previous to each sampling, pasture height (cm) was determined by means of a ruler.

B. microplus larvae count in flags was carried out in the laboratory with the aid of stereoscopic microscope, taking into consideration as active infestant larvae those adhered to the flag's surface. Climate data was obtained from a meteorological station adjacent to the experiment. Data were analyzed through multivariate variance, legume species, and seasons acting as fixed effect variables and plant height as a covariate.

Results found in this study show that in the fall and summer a higher number of active larvae are present (Table 1). In general, in the tropics and subtropics *B. microplus* larvae population increases when relative humidity surpasses 80 %, a condition more common in summer and autumn^(26,27). This is due to a combined effect of temperature and relative humidity

Cuadro 1. Promedio de larvas *Boophilus microplus* recuperadas de todas las leguminosas estudiadas durante cinco estaciones de 1997-1998 de parcelas experimentalmente infestadas

Table 1. *B. microplus* larvae mean recovery in four legumes during five seasons in 1997-1998 from experimentally infested plots

Season	Mean (SD)	95% CI
Fall '97	196.15 (224.46)	190.93 – 201.37
Winter '97	16.72 (23.12)	15.59 – 17.85
Spring '98	43.47 (73.52)	41.45 – 45.49
Summer '98	195.57 (218.82)	192.08 – 199.06
Fall '98	606.78 (356.64)	602.33 – 611.23

SD= standard deviation, CI= confidence interval.

Los datos climatológicos de precipitación pluvial, temperatura y humedad relativa fueron obtenidos de una estación meteorológica adyacente al área experimental.

Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza multivariado, utilizando como variables de efecto fijo las especies de leguminosas, las estaciones, y como covariable la altura de las plantas.

Los resultados encontrados en este estudio muestran que durante las estaciones de otoño y verano existe un mayor número de larvas activas (Cuadro 1). En general en el trópico y el subtrópico se ha encontrado que las poblaciones de larvas de la garrapata *B. microplus* se incrementan durante las estaciones con una alta humedad relativa superior al 80 %, que corresponde a las estaciones de verano y otoño^(26,27). Esto es debido a un efecto combinado de la humedad relativa y la temperatura conocido como evapotranspiración⁽²⁸⁾, que produce un microclima muy favorable para el desarrollo de la fase no parásita de *B. microplus*⁽¹¹⁾.

Los promedios mensuales más altos de temperatura se tuvieron en la primavera (Figura 1), de humedad en verano (Figura 2), y de precipitación pluvial en otoño (Figura 3), lo cual correspondió con el mayor promedio de larvas recuperadas en las cuatro leguminosas estudiadas. Durante la primavera se

known as evapotranspiration⁽²⁸⁾, which generates a microclimate most favorable for development of the non-parasitic stage of *B. microplus*⁽¹¹⁾.

The higher average temperatures were observed in spring (Figure 1), the higher relative humidity in summer (Figure 2) and the higher rainfall in the fall (Figure 3), which correspond with the higher larvae average count in the four legumes studied. In spring a high temperature/low relative humidity condition was present which is unfavorable for *B.*

Figura 1. Temperaturas mínima, máxima y media 1997-1998 en Jiutepec, Morelos

Figure 1. High, low and average temperatures 1997-1998. Jiutepec, Morelos

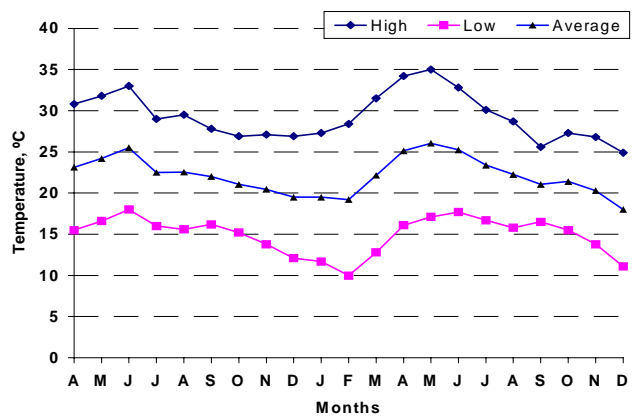


Figura 2. Humedad relativa durante 1997-1998 en Jiutepec, Morelos

Figure 2. Relative humidity 1997-1998. Jiutepec, Morelos

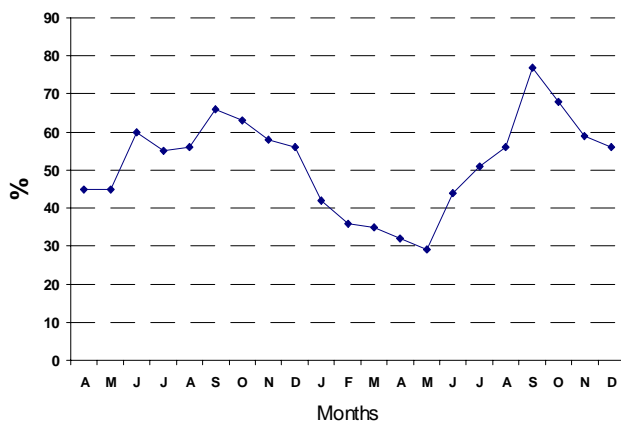
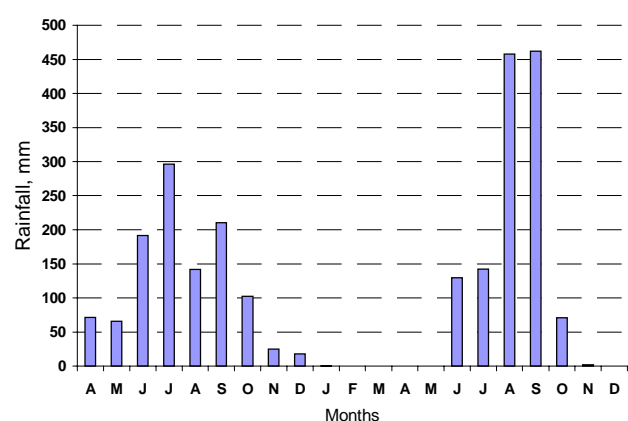


Figura 3. Precipitación pluvial 1997-1998 en Jiutepec, Morelos

Figure 3. Rainfall 1997-1998. Jiutepec, Morelos



presentó una combinación de temperatura elevada con baja humedad, lo cual fue desfavorable a la actividad de las larvas de *B. microplus* en la vegetación, al igual que las bajas temperaturas del invierno.

El número de larvas recuperadas en cada especie fue diferente ($F=4.92$; $gl\ 3,300$; $P=0.0001$), observándose que en *S. hamata* se obtuvo el mayor promedio de recuperación de larvas (280.28 ± 375.21) y en *L. leucocephala* el menor (85.31 ± 205.42) (Cuadro 2). La diferencia en el número de larvas recuperadas se puede deber a los diferentes mecanismos anti-garrapata de las leguminosas estudiadas⁽²⁹⁾ y a su adaptabilidad al subtropical subhúmedo^(30,22). Su efecto se debe a que secretan una sustancia pegajosa que inhibe el movimiento de tropismo positivo a la luz de las larvas en la vegetación, y por lo tanto la larva no puede encontrarse con su hospedero; sin embargo este efecto no fue perdurable, manifestándose sólo en las plantas jóvenes, conforme a lo observado en estudios previos^(28,29). Esta capacidad de secretar sustancias conocidas como metabolitos secundarios, la presentan ciertas plantas como una defensa ambiental^(28,31). Se ha mencionado que la morfología de la planta podría también afectar el comportamiento del tropismo ascendente de las larvas de las garrapatas⁽³²⁾. El mecanismo anti-garrapata de las leguminosas *M. atropurpureum* y *L. leucocephala* no ha sido publicado; por lo tanto sería importante investigar su mecanismo de acción anti-garrapata, así como evaluar su posible uso como una alternativa de combate en contra de las larvas en potreros infestados.

Si se comparan los promedios totales de larvas recuperadas entre *L. leucocephala* y *M. atropurpureum* durante las cinco estaciones, se observa que *L. leucocephala* presentó el menor promedio de larvas recuperadas y *M. atropurpureum* tuvo un efecto similar a los dos *Stylosanthes* (Cuadro 2).

La interacción observada en el modelo entre especies y estación, se puede explicar debido a que los factores climatológicos tienen un efecto en la sobrevivencia y actividad de las larvas, ya que la temperatura y la humedad son los factores más importantes para la sobrevivencia larval⁽¹¹⁾. En el Cuadro 2 se observa que existe una diferencia en

microplus larvae activity in vegetation, the same as low winter temperatures.

The number of larvae recovered from each legume species was different ($F=4.92$, $df\ 3,300$; $P=0.0001$), in *S. hamata* the higher average (280.28 ± 375.21) was obtained and in *L. leucocephala* the lower (85.31 ± 205.42) (Table 2). This difference in larvae recovered could be owing to anti-tick mechanisms in the legumes studied⁽²⁹⁾ and to their capacity to adapt to subtropical subhumid conditions^(30,32). This effect is due to a secretion of a sticky substance which inhibits the light positive tropism of larvae, therefore reducing its possibility of finding a suitable host. However, this effect was not lasting, being present only in young plants in accordance with previous studies^(28,29). This capacity shown by certain plants to secrete secondary metabolites constitutes an environmental defense^(28,31). Plant morphology has also been mentioned as affecting tick larvae upward tropism⁽³²⁾. *M. atropurpureum* and *L. leucocephala* anti-tick mechanisms have not been published, therefore, research on this issue as well as an assessment of its possible use as an alternative tick control method in infested paddocks is important.

If total larvae collected averages in *M. atropurpureum* and *L. leucocephala* for the five seasons studied were compared, a higher average would be found for *L. leucocephala* and *M. atropurpureum*

Cuadro 2. Promedio de larvas *Boophilus microplus* recuperadas en cuatro especies de leguminosas durante cinco estaciones (1997-1998) en parcelas experimentalmente infestadas

Table 2. *B. microplus* larvae mean recovery in four legumes during five seasons in 1997-1998 from experimentally infested plots

Species	Mean (SD)	95% CI
<i>M. atropurpureum</i>	255.03 (330.92) ^a	250.99 – 259.07
<i>S. humilis</i>	230.05 (261.77) ^a	226.4 – 233.65
<i>S. hamata</i>	280.28 (375.21) ^a	275.98 – 284.58
<i>L. leucocephala</i>	85.31 (205.42) ^b	82.07 – 88.55

SD = standard deviation; CI = confidence interval.

^{ab} Different literals show significant differences ($P<0.05$).

los promedios de larvas recuperadas en los dos otoños estudiados; esto obedece a que en el otoño de 1998, hubo un aumento en los valores de humedad relativa provocados por la presencia de un huracán como se puede apreciar en las Figuras 2 y 3, lo que favoreció las condiciones para las larvas de *B. microplus*. Es importante considerar que en este estudio se utilizaron al inicio plantas jóvenes que posteriormente maduraron, realizando las observaciones del efecto anti-garrapata durante las cinco estaciones en las mismas plantas, y que la edad de las plantas podría tener un efecto adverso en la recuperación de las larvas en los *Stylosanthes* lo cual no se controló en este estudio.

El promedio de larvas recuperadas durante los muestreos con respecto a las 5,000 larvas liberadas en cada infestación, se explica porque al momento del muestreo la franela atrapa solamente a las larvas activas que se encuentran en la parte superior del estrato vegetativo en actitud de acecho del hospedero, y las restantes permanecen en las partes inferiores de la planta o el suelo, y cuya vitalidad y energía disminuye gradualmente con la edad de las larvas, por lo cual el número de larvas recuperadas disminuyó en cada uno de los muestreos posteriores. Esto se ha podido observar en estudios previos en condiciones controladas⁽³³⁾.

Se concluye que las mayores recuperaciones larvárias correspondieron con la mayor humedad relativa en el lugar, que a nivel campo se traduce en mayores densidades poblacionales de larvas durante las estaciones de verano y otoño. El efecto anti-garrapata fue observado en las cuatro leguminosas estudiadas y que dos de ellas (*L. leucocephala* y *M. atropurpureum*) no habían sido mencionadas en la literatura, y que su efecto anti-garrapata perduró durante las cinco estaciones aquí probadas, haciéndose necesario estudiar los mecanismos anti-garrapata de estas dos nuevas especies.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte del proyecto K0083-P9702 que fue parcialmente financiado por el fondo SAGAR-CONACYT. Se agradece a la Dra.

showed a behavior similar to that of both *Stylosanthes* (Table 2).

The interaction observed in this model between species and season could be explained owing to the fact that climate factors affect larvae survival and activity, because temperature and moisture are the more important factors for larvae survival⁽¹¹⁾. In Table 2 a difference in larvae recovered in both autumns studied can be appreciated, in 1998 relative humidity showed high values owing to a hurricane as can be seen in Figures 2 and 3 which favored *B. microplus* larvae development. It should be of importance to take notice that in this study young plants that later matured were used. Observations on anti-tick effect were performed for five seasons in the same plant stand, and plant age could have an adverse effect on larvae recovery which was not taken into account in this study.

Larvae mean recovery in samplings in respect of the 5,000 larvae release in each infestation could be explained because at the moment the sampling is carried out, the flag catches only those active larvae await for their hosts at the higher vegetation stratum, the rest lying in the lower level or in the soil surface and whose vitality and energy decreases with age, owing to which recovered larvae numbers dropped in each subsequent sampling. This effect was also observed in previous studies carried out under controlled conditions⁽³³⁾.

It can be concluded that the greater mean larvae recovery corresponded to the higher relative humidity, which in field conditions matches higher larvae population densities in the fall and summer. An anti-tick effect was observed in the four legume species studied and also that two of them, *M. atropurpureum* and *L. leucocephala* had not been reported before. The anti-tick effect lasted for the five seasons studied, but the anti-tick mechanism of these two species should be studied.

ACKNOWLEDGMENTS

To SAGAR-CONACYT for partially funding this project (K0083-P9702). To Dr. Graciela Tapia-

Graciela Tapia Pérez de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de México, por asesoría estadística.

Pérez of UNAM's School of Veterinary Medicine for her contribution to the statistical analysis of the present study.

End of english version

LITERATURA CITADA

- Pegram GR, Chizyuka GH. Towards an assessment of economic impact of ticks on rural development. Proceedings of ticks and tick-borne diseases. Aust Cent Agric Res (ACIAR) 1987;17:104-107.
- Sutherst RW, Kerr DJ. Losses in livestock productivity caused by ticks and tick-borne diseases. Ticks and tick-borne diseases. ACIAR Proc. Canberra 1987;17:108-112.
- Utech BW, Wharton RH, Kerr JD. Resistance to *Boophilus microplus* in different breeds of cattle. Aust J Agri Res 1978;29:885-895.
- Frish EJ. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. Int J Parasitol 1999;29:57-71.
- George EJ. Summing-up of strategies for the control of ticks in regions of the world other than Africa. Parasitología 1990;32:203-209.
- Sutherst RW, Jones J, Schnitzerling HJ. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. Nature 1982;295:320-321.
- Thadeu AM, Barros De A, Evans ED. Acao de gramíneas forrageiras em larvas infestantes do carrapato dos bovidos *Boophilus microplus*. Pesqu Vet Bras 1989;9(1/2):17-21.
- Thompson KC, Roa JE, Romero TN. Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control pastures. Trop Anim Hlth Prod 1978;10:179-182.
- Mwangi NE, Essuman S, Kaaya PG, Nyandat E, Munyinyi D, Kimondo GM. Repellence of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* by the grass *Melinis minutiflora*. Trop Anim Hlth Prod 1995;27:211-216.
- Brizuela CM, Ortellano CA, Sanchez TI, Walker AR. Formulation of an integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay. Vet Parasitol 1996;63(1-2):95-108.
- Camino LM. The development of an integrated pest management system for the cattle tick *Boophilus microplus* in Morelos State, Mexico [PhD thesis]. University of Florida; 1980.
- Kaaya GP. Status and recent advances in tick management. Insect Sci Appl 1992;13(4):587-594.
- Barnard DR. 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 1986;79:122-127.
- Skerman PJ, Cameron DG. Leguminosas forrajeras tropicales. Roma, Italia. FAO. 1991:422-477.
- Aycardi E, Benavides E, Garcia O, Mateus G, Henao F, Zuluaga A. *Boophilus microplus* tick burdens on grazing cattle in Colombia. Trop Anim Hlth Prod 1984;16:78-84.
- Norton AG, Sutherst WR, Maywald FG. A framework for control methods against the cattle tick *Boophilus microplus* in Australia. J Appl Ecol 1983;20:489-505.
- Wilson JL, Sutherst WR. Oviposition sites of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae) in *Stylosanthes* and grass pastures. J Aust Entomol Soc 1990;29:101-105.
- Pegram GR, Tatchell JR, De Castro JJ, Chizyuka BG, MacCosker JP. Tick control new concepts. Rev Mund Zoot 1993;(74-75):1-11.
- Wilkinson PR. Ecological aspects of pest management of ixodid ticks. Adv Acarol 1979;II:25-33.
- Grainge M, Saleem A. Handbook of plants with pest-control properties. 1ª ed. New York: Wiley; 1990:263-278.
- Ornelas RF, Ambriz CR, Bustamante OJ. Delimitación y definición de agrohabitats del estado de Morelos. SAGAR-Campo Experimental Zacatepec, Folleto Técnico, INIFAP. 1995;8:5-15.
- Fernández RM, Cruz VC, Solano VJ, García VZ. Anti-tick effects of *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae in Morelos, Mexico. Exp Appl Acarol 1999;23:171-175.
- Fernández RM. Comparación de cuatro técnicas de colecta de larvas de *Boophilus microplus* bajo condiciones de campo en infestación controlada. Téc Pecu Méx 1996;34(3):175-180.
- Sutherst RW, Wharton HR, Utech WPK. Guide to studies on tick ecology. Division of Entomology, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australia. Technical paper No.14 1978:35-49.
- Wilkinson PR, Gregson DJ. Comparison of sampling methods for recording the numbers of Rocky mountain wood ticks (*Dermacentor andersoni*) on cattle and range vegetation during control experiments. Acarología 1985;25:2-131.
- Solis S. Epidemiología de las garrapatas *Boophilus* spp. y *Amblyomma* spp. en México. En: Segundo seminario internacional de parasitología animal: Garrapatas y enfermedades que transmiten. 1991:19-30.
- Davey BR, Garza J, Thompson DG. Seasonal observations on the development and ovipositional capability of *B. annulatus* and *B. microplus* reared on bovines. J Med Entomol 1982;19(1):24-28.
- Vickery LM. Ecología de plantas tropicales. 1ª ed. México: Limusa; 1987.
- Fernández RM, Cruz VC, García VZ, Saltigeral OJ. Estudio de seguimiento del efecto anti-garrapata de las leguminosas tropicales *Stylosanthes humilis* (L.) y *Stylosanthes hamata* (L.) de un año de edad. Téc Pecu Méx 1999;37(3):51-56.
- Cruz VC, Fernández RM, Solano VJ, Ruiz CE. Comportamiento agronómico de *Stylosanthes humilis* y *Stylosanthes hamata* en condiciones de trópico subhúmedo. Téc Pecu Méx 2000;38(1):43-49.
- Harborne BJ. Chemical signals in the ecosystem. Ann Bot 1987;60(Suppl 4):39-57.
- Fernández RM, García VZ. Desarrollo de las etapas de vida no parasítica de *Boophilus microplus* en dos especies de pastos en Tepoztlán Mor. En: Memorias del XIV congreso panamericano de ciencias veterinarias. Acapulco, Gro. México 1994:186.
- Fernández RM, Molotla PD, Cordova JGP, Preciado TJF. Distribución de larvas de *Boophilus microplus* en cuatro gramíneas y una leguminosa en condiciones de laboratorio [resumen]. Memorias de la XXXVII reunión de investigación pecuaria. Chiapas, México. 2001:308.