

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

***EFFECTO DEL TAMAÑO DEL REFUGIO, MIGRACIÓN Y  
VACUNA CONTRA LA GARRAPATA  
“Rhipicephalus (Boophilus) microplus“  
EN LA APARICIÓN DE LA RESISTENCIA A PESTICIDAS.***

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA  
**SOLIS TENORIO JOSUE ABRAHAM**

Asesor  
DRA. TAPIA PEREZ GRACIELA GUADALUPE

México, D. F.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIA

En muy en especial quiero dedicar este trabajo a muchas personas que definieron mi rumbo, la primera de ellas es mi madre, la cual con sus consejos, ayuda de cómo elaborar mis trabajos escolares, encaminarme en como tengo que tomar mis propias decisiones, puedo decir que este también es su trabajo, esta tesis que no es más que un logro, el cual no hubiera hecho sin ella.

A mi abuela, que con sus cuidados formo los cimientos del hombre que ahora soy.

A mi hermano mayor Alejandro, que el cual ha cuidado a mi familia y a mí desde el cielo, gracias por haber estado a nuestro lado nunca te olvidaremos, siempre estás en nuestros corazones.

A mis hermanos Ameleth y Benjamín, los cuales me debieron haber cuidado por ser mayores que yo, y que si no me olvidaban en un lugar me dejaban en otro, pero no se les hizo sigo aquí, y por ese motivo les he demostrado día con día, que los logros no se hacen solos, los hacemos como una familia, fuerte y unida que a pesar de todos los obstáculos, enfermedades, hemos salido adelante.

A mi padre Jorge que me enseñó que los errores no debemos de cometerlos 2 veces, y que gracias a que el ya los cometió yo no debo de seguir sus pasos, si no los míos propios, para no culpar a nadie de mis fracasos por tomar malas decisiones.

A mis 3 mejores amigos, les dedico una parte de este logro, porque aun siendo como soy ¿, me han aceptado tal cual soy, me han apoyado y nunca me han dejado solo en los momentos que mas los he necesitado, y por mas obstáculos que estén entre nosotros y nuestras vidas, los mejores momentos de diversión, los he pasado a su lado. Y como dice el escritor británico William Shakespeare:

“Los amigos que tienes y cuya amistad ya has puesto a prueba,  
engánchalos a tu alma con ganchos de acero”.

Y por ultimo y no menos especial por serlo a mi Dra, Chela Tapia, que a su lado he aprendido muchas cosas nuevas, y que trabajando duro y con dedicación pudimos lograr este logro juntos, no en el tiempo planeado pero realizado esta y que sin sus consejos y orientaciones, hubiera truncado mi carrera y no sabría donde estar en este momento, asi como dice el pintor, escultor e inventor italiano.

“Así como el hierro se oxida por falta de uso,  
también la inactividad destruye el intelecto”.

Y para mí que he aprendido que todos los sueños y objetivos que uno se proponga en la vida, nos llevan a “cada día más cerca de ser el mejor”. JS

## AGRADECIMIENTO

A la primera persona que le agradezco este logro es a mi madre Rosalía, curadora de museos, pedagoga, madre y padre, fundadora de sueños y realidades, la cual me enseñó que el trabajo se disfruta, no se obliga, que después de esta gran lucha contra la enfermedad podemos decir que nuestras vidas, están llenas de alegrías y de emociones, pero que juntos como familia hemos demostrado que todas las barreras las atravesamos juntos. Le agradezco por enseñarme los valores como; humano, amigo, tío, primo, etc... La importancia de ser bueno en tu trabajo y por lo más importante en darme la vida y en cuidarla. Fomentarme el espíritu creativo, emprendedor, idealista y líder en mí, te agradezco madre, por ser la persona que más amo en este mundo.

Le agradezco a la Dra. Graciela, la cual me enseñó la disciplina de la estadística, me formó como profesor, me aconsejó en los momentos difíciles, me alentó a ser mejor y que nunca me diera por vencido, me hizo reflexionar en que el estudio no se termina en la escuela, que hay que trabajar duro para no demostrar más que así mismos podremos llegar a ser mejores cada día, me impulsó y me dio oportunidad de enseñar mis conocimientos, de forma que las demás personas entendieran lo que yo quería expresar y lo más importante me enseñó que nadie es mejor o peor todos somos iguales e importantes en esta vida.

Para la Dra. Frida que me enseñó que hay metas difíciles y obstáculos casi imposibles de poder llegar, los cuales con trabajo, dedicación, esfuerzo, empeño y estudio, logre para poder llegar a ser un buen estudiante y profesor.

A todos mis profesores que me enseñaron que la dedicación, a una sola materia es un esfuerzo incomparable hacia todas las demás actividades y el hecho de que uno tome sus propias decisiones, es por que ya comprendió que los consejos de las demás personas solo son palabras que no encaminan hacia nuestro mejor futuro, si no al cual a ellos les gustaría ir.

Como dice el político y pensador Mahatma Gandhi

“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo  
y no en el resultado.  
Un esfuerzo total es una victoria completa”

## INDICE

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
INDICE.....	IV
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCION.....	3
CICLO BIOLÓGICO.....	4
ANTECEDENTES.....	5
CONTROL DE GARRAPATAS.....	7
RESISTENCIA.....	9
DESARROLLO DE LA RESISTENCIA A PESTICIDAS.....	10
CONTROL DE LA RESISTENCIA A PESTICIDAS.....	12
ESTRATEGIA DOSIS ALTA REFUGIO.....	13

HIPOTESIS.....	15
OBJETIVOS.....	15
MATERIAL Y METODOS.....	16
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN.....	23
CONCLUCIOENS.....	27
REFERENCIAS.....	28
CUADROS Y FIGURAS	
CUADRO 1.....	17
CUADRO 2.....	22
FIGURA 1.....	4
FIGURA 2.....	18
FIGURA 3.....	21

## RESUMEN

**SOLIS TENORIO JOSUE ABRAHAM**

### **EFFECTO DEL TAMAÑO DEL REFUGIO, MIGRACIÓN Y VACUNA CONTRA LA GARRAPATA**

**“*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*”**

**EN LA APARICIÓN DE LA RESISTENCIA A PESTICIDAS.**

Bajo la dirección de: DRA. GRACIELA G. TAPIA PEREZ.

En el manejo de parásitos, el tiempo que retarda la resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a los pesticidas, es un factor que se investigará en presencia de poblaciones susceptibles (refugios) para mejorar la producción. Esta estrategia permite asegurar que la dominancia efectiva de todos los alelos resistentes se aproxime a cero. El objetivo del presente trabajo, fue establecer una condición óptima entre el porcentaje de refugio y migración, con o sin vacunación anti-garrapatas, para retardar lo más posible la aparición de resistencia, mediante un modelo de simulación. Se utilizó el modelo adaptado (Ives y Andow) por Tapia, desarrollado en el programa MATLAB 7.0® con una población dividida en dos subpoblaciones de animales. El modelo permite advertir cuando los huevecillos eclosionan y en que proporción encontramos a las hembras y machos. Las simulaciones se llevaron a cabo con los siguientes niveles (%) de migración 5, 10, 20, 30, 40 y 50 y refugio 5, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 40 y 50. Con o sin vacuna. Se contó el número de generaciones hasta que la frecuencia del alelo R, llegó a 0.5 en el hábitat tratado. Se obtuvo una diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) en los promedios por generaciones, entre los grupos con y sin vacuna ( $36.12 \pm 67.5$  vs.  $556.05 \pm 330.84$  respectivamente). Los mejores resultados se obtuvieron con 5% de migración, llegando hasta un retraso de 981 generaciones con un 50% de refugio, haciendo posible retardar el proceso de resistencia de las garrapatas, a pesticidas mediante la estrategia -dosis alta refugio, sin vacunar a los bovinos.

## ABSTRACT

### EFFECT OF THE SIZE OF REFUGE, IMMIGRATION AND VACCINE

#### AGAINST TICKS

#### *"Rhipicephalus (Boophilus) microplus"*

#### THE APPEARANCE

#### OF RESISTANCE TO PESTICIDES

In the management of pests, the delay time resistance *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, to pesticides is a factor to pay attention to in the presence of susceptible populations (refugees) if production is to be improved. This strategy ensures that the effective dominance of resistance alleles is close to zero. The aim of this study was to establish an optimal percentage of refuge and migration, with or without vaccination ticks, to delay as much as possible the emergence of resistance, using a simulation model. We used the adapted model (Ives and Andow) by Tapia, the program developed in MATLAB ® 7.0 with a population divided into two subpopulations of animals. The model to notice enables when the eggs hatch and what proportion of males and females. The simulations were carried out with the following levels (%) migration 5, 10, 20, 30, 40 and 50 and refuge 5, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 40 and 50. With or without the vaccine. We counted the number of generations until the frequency of allele R, reached 0.5 in treated habitat. There was a significant difference ( $p < 0,001$ ) on average for generations among the vaccine groups with and without ( $36.12 \pm 67.5$  vs.  $556.05 \pm 330.84$  respectively). The best results were obtained with 5% of migration, a delay of up to 981 generations with a 50% refuge, making it possible to slow down the process of resistance of ticks to pesticides by high-dose refuge strategy, to unvaccinated cattle.

## INTRODUCCION

En los países tropicales y subtropicales, uno de los principales problemas económicos en la ganadería bovina son las garrapatas y las enfermedades que éstas transmiten. Por su importancia económica y sanitaria la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es el género principal bajo control y erradicación en la campaña realizada en México. La estrategia más utilizada para controlar las garrapatas consiste en romper el ciclo de esta a través de la aplicación de tratamientos con pesticidas, sobre el cuerpo de los animales infestados a intervalos específicos determinados por la región ecológica, especies a las que se van a combatir y eficacia residual del pesticida. (1)

La disponibilidad futura de nuevos productos químicos activos para ser utilizados contra los ectoparásitos y endoparásitos, no sólo se encuentra comprometida por el progresivo aumento de los casos de resistencia y los crecientes costos de investigación, desarrollo y validación, sino también una cierta falta de conocimiento y competencia para el descubrimiento de nuevas drogas, (2) por lo cual un objetivo importante en el manejo de parásitos es retardar la aparición de la resistencia del parásito a los pesticidas de modo que esto reditué en beneficio de la producción.

## CICLO BIOLÓGICO DE LA GARRAPATA *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS*.

Fase no parasitaria: Inicia cuando la garrapata adulta hembra ingurgitada se desprende del bovino y busca un lugar oscuro y fresco. La hembra pone de 2,800-3,000 huevos. Los huevos son incubados para transformarse en larvas que migren posteriormente a la vegetación en busca de un hospedero susceptible. Esta fase puede durar de 35-90 días dependiendo de las condiciones ambientales (3).

Fase parasitaria: inicia cuando la larva se sube a su hospedero y se alimenta de su sangre. Durante esta fase la larva muda para transformarse en su etapa de ninfa. Esta muda para transformarse en adulto donde se diferencia de sexo. Existe la cópula entre estos dos y la hembra queda grávida. En 12-24 horas la hembra queda repleta de sangre y se desprende de su hospedero para continuar con la fase parasitaria tiene un tiempo de 19-21 días (3).

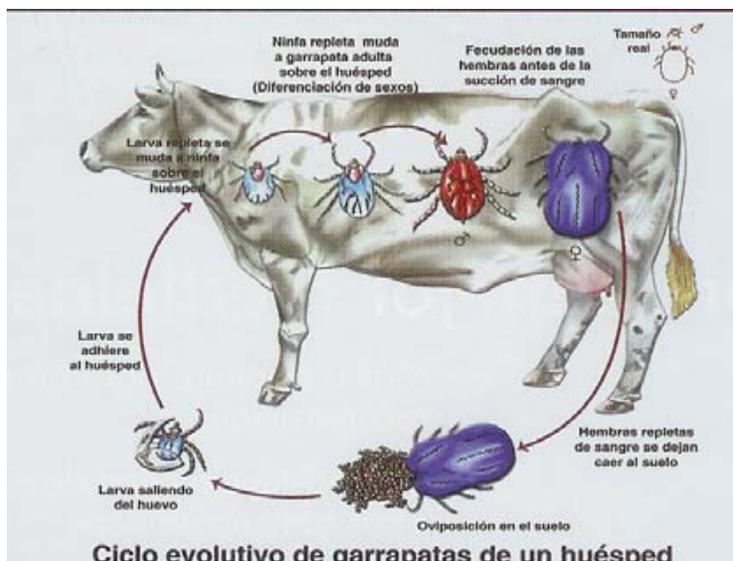


FIGURA 1. Ciclo biológico de la garrapata *Rhipicephalus (boophilus) microplus*.

## ANTECEDENTES

## PÉRDIDAS CAUSADAS POR GARRRAPATAS.

A nivel mundial las garrapatas del género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se encuentran distribuidas principalmente en zonas tropicales y subtropicales. Esta especie de garrapata ocupa el 53% del territorio nacional. Se le atribuye gran importancia por su amplia distribución, principalmente en zonas de trópico bajo. (3)

Las garrapatas ocasionan bajos rendimientos bioecológicos en los sistemas de producción bovina. La acción directa de la garrapata con su hospedador produce daño en las pieles, anemias, baja condición física. Alteraciones reproductivas, decrementos en la producción, mortalidad en los animales y altos costos para el control. La acción indirecta es producida por las enfermedades que las garrapatas transmiten (4). En México, la garrapata del género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* transmiten al ganado bovino tres agentes infecciosos importantes: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* (3).

El efecto directo de las garrapatas en la producción es la pérdida de sangre, los efectos de toxinas, así como el daño directo en la piel causada por la picadura y los abscesos que se desarrollan en esos sitios, los cuales repercuten en pérdidas considerables en el valor de las pieles. En el caso de las vacas productoras de leche, estos abscesos generalmente están involucrados en el daño y la pérdida de uno ó más cuartos de la glándula mamaria, que genera la consecuencia de la pérdida en la producción láctea (5).

Una garrapata succiona de 0.5 a 3 ml de sangre durante su vida parasitaria si sumamos las garrapatas en cada vaca veremos la cantidad de sangre que nunca

pasa por la ubre para la producción de leche. (6) estimando así que por una hembra repleta de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se pierden 8.9 ml de leche. (7,)

La irritación causada por la picadura tiene un efecto depresivo sobre la producción de carne, reduciendo la ganancia de peso de 0.28 a 0.8 Kg. por garrapata por año en animales en crecimiento (4). En el ganado de engorda, cada teleogina (garrapata adulta ingurgitada) ha demostrado reducir la ganancia de peso diaria en 0.6g, del cual el 65% se atribuye a la inapetencia inducida por la infestación. En México y Australia se ha estimado que las pérdidas de peso vivo ocasionadas por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* son de 40 a 60 Kg al año en zonas enzoóticas. (1, 8)

CONTROL DE GARRAPATAS.

El control químico tradicional de las garrapatas, mediante tratamiento con pesticidas al ganado infestado a tiempos regulares, ha traído como consecuencia una quimio resistencia y a su vez una modificación en las estrategias del control, hacia una combinación de medidas medicas y agronómicas (9).

El método más eficaz para el control de garrapatas ha sido el uso de químicos, los cuales se aplican sobre el cuerpo del hospedero a intervalos determinados.

Las familias de productos químicos e inmunógenos (vacunas) que se utilizan actualmente para el control de las garrapatas en México son:

- Organofosforados
- Piretroides
- Amidinas
- Inhibidores del desarrollo
- Fenilpirazolonas
- Endectocidas
- Inmunógenos como el antígeno “Bm86”

Control no químico: Son las acciones ejercidas para controlar garrapatas sin el uso de productos químicos y entre los principales se encuentran:

- Resistencia del hospedero: Las razas Bos indicus (Brahman, Indobrasil, Gyr etc...) estas son mas resistentes a infestaciones graves de garrapatas, y esta baja de resistencia se manifiesta por un reducido ingurgitamiento de la teleogina, disminución de la ovoposición, baja o nula viabilidad de los huevos, muerte de ninfas etc...
- Control biológico: Utilizando enemigos naturales de las garrapatas como los hongos (*Metarhizium* sp, *Beauveria* sp), bacterias (*Cedecea lapagei*), ácaros (*Anystis baccarum*) nematodos y hormigas (*Pheidole megacephala*) que afectan a las garrapatas en su fase libre.
- Manejo: Existen varias prácticas de manejo que afectan negativamente a las poblaciones de garrapatas, tales como: descanso de praderas, efecto del fuego, barbecho y el corte, etc. (3)

## RESISTENCIA

. La resistencia se define como la capacidad adquirida por individuos de una población parásita que les permite sobrevivir a dosis de químicos que generalmente son letales para una población normal (10, 11). La resistencia cruzada (RC) es el mecanismo que utilizan especies de insectos resistentes para sobrevivir a la exposición de insecticidas relacionados químicamente, usando un patrón de detoxificación genérico (12). La resistencia múltiple (RM) es la utilización de varios mecanismos hacia la acción de varias clases de pesticidas no relacionados químicamente (12).

El uso frecuente de pesticidas ha provocado la selección de poblaciones de garrapatas resistentes (13, 14). El principal problema que enfrentan los entomólogos es la resistencia a químicos, debido a la presencia de RC y RM entre plagas de insectos, es la disminución progresiva de pesticidas efectivos y elevado costo del desarrollo de nuevos pesticidas. (12).

Existe un patrón de desarrollo exponencial entre el descubrimiento de nuevos pesticidas y el desarrollo de especies resistentes a estos nuevos productos, que se caracteriza por ocurrir a través de los años, en menor período de tiempo: para DT (dicloro difenil dicloroetano) la resistencia se presentó 6.3 años después de salir al mercado, lindano 5 años, organofosforados (OF) 4 años, carbamatos 2.5 años y piretroides sintéticos (PS) 2 años (12). Con base en la investigación sobre la resistencia, se han puesto en claro importantes aspectos sobre la bioquímica y evolución de artrópodos en poblaciones expuestas a presión de selección química (15).

## DESARROLLO DE LA RESISTENCIA A PESTICIDAS.

El desarrollo de resistencia es un proceso evolutivo que aparece por selección genética (16). Diversas especies de insectos han logrado sobrevivir de manera natural a condiciones adversas, mediante un proceso de adaptación gradual para mantener el orden en los ecosistemas (15). Cuando un pesticida es utilizado intensivamente, ocasiona una fuerte presión de selección que elimina los individuos susceptibles y el pesticida se convierte en el agente de selección más importante. (15).

Contrastando con la lenta evolución de la resistencia a sustancias tóxicas producidas por plantas en la naturaleza, el desarrollo de resistencia a los pesticidas sintéticos ha sido extremadamente rápido, posiblemente porque los insectos pueden utilizar mecanismos desarrollados en defensa contra compuestos aleloquímicos o patógenos de la planta (15). La velocidad con que se desarrolla la resistencia en una población depende principalmente de la frecuencia inicial de los genes que confieren resistencia, la intensidad de selección, el grado de dominancia del gen y la relativa capacidad del genotipo (17.). En general, la frecuencia de genes que confieren resistencia es muy baja en poblaciones que no han estado bajo presión de selección. (18).

El desarrollo de la resistencia se divide en tres fases:

*Fase de establecimiento.* Es cuando surge el alelo resistente en una población, habitualmente este proceso se efectúa por mutaciones naturales y en forma independiente a la presión de selección.

*Fase de desarrollo.* Produce un aumento del número de individuos resistentes y ocurre por la tasa de sobrevivencia preferencial sobre los individuos susceptibles después del uso de productos químicos. En este proceso pueden seguirse dos modos de selección:

a) Rápida, ocurre cuando el gene que confiere resistencia es dominante o parcialmente dominante y permite la selección de heterocigotos.

b) Lenta, cuando los alelos son recesivos o son inefectivos en forma aislada.

*Fase de emergencia.* Ocurre por una elevada tasa de presión de selección, es una fase corta y el alelo resistente es lo suficientemente común en la población para manifestar una reducción de la efectividad del pesticida. (18)

## CONTROL DE LA RESISTENCIA A PESTICIDAS.

Un objetivo importante en el manejo de parásitos es retardar la aparición de la resistencia del parásito a los pesticidas de modo que esto redunde en beneficio de la producción. Se han utilizado métodos como la rotación de pesticidas (19) y vacunas (20) para retardar la resistencia. Los modelos de resistencia a plaguicidas pueden ser herramientas útiles para trabajar en torno a esos objetivos (21).

Con un modelo estocástico basado en la distribución de Weibull se evaluaron los efectos del número de aplicaciones de pesticidas, el intervalo entre ellas y su efectividad residual (.22).

El efecto de un reservorio de parásitos el cual fue estudiado con un modelo determinístico en una población susceptible en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, bajo tratamiento con pesticida, así como el papel de la inmunidad natural o adquirida del ganado a este parásito, pero este modelo no consideró la resistencia al pesticida en la población al inicio (23). Más recientemente, se evaluó con un modelo determinístico el efecto de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. En la dinámica de población de Texas EUA, además de probar el manejo del ganado con rotación y sin rotación de potreros (19). En *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, aun no se ha establecido el tiempo en que se desarrolla la resistencia a un pesticida, en presencia de poblaciones susceptibles (refugio).

## ESTRATEGIA DOSIS ALTA REFUGIO.

Esta estrategia consiste en exponer una parte de la población de garrapatas a una concentración alta de pesticidas, mientras se mantiene otra parte de la población donde no se trata con pesticida (refugio). Si estas poblaciones están a una distancia cercana, se espera que las garrapatas susceptibles (SS) que sobreviven en los huéspedes no tratados se aparean con los resistentes (RR) sobrevivientes de los huéspedes tratados, de forma que las crías heterocigóticas (SR) y (RS) al ser tratada con una dosis alta de pesticida no sobreviven

Esta estrategia cuenta con tres puntos esenciales (24).

1. Los genes de resistencia deben ser tan raros que más bien provenga de los individuos heterocigóticos (un individuo heterocigótico SR y RS solo tiene una copia del gen de resistencia).
2. Los genes de resistencia deben de ser recesivos en presencia de dosis altas del acaricidas (dominancia efectiva) (25). La supervivencia de los SR y RS es baja.
3. Los adultos se aparean aleatoriamente, de forma que se obtiene una gran cantidad de heterocigóticos SR y RS.

La meta de la esta estrategia dosis alta refugio es asegurar que la dominancia efectiva de todos los alelos resistentes se aproxime a cero. Si el pesticida no elimina a los heterocigóticos, estos individuos serán más numerosos en la población, aumentando la tasa de evolución de la resistencia. Bajo estas

circunstancias, los heterocigóticos se convierten en una gran fuerza para el retardo del desarrollo de la resistencia (26).

EL MODELO. (Figura 2). Cuando las hembras repletas caen, ovopositan indistintamente, y al eclosionar las larvas machos y hembras pueden migrar a ambos hábitats de acuerdo con su proporción. En lo animales tratados existe una selección y una supervivencia dependiente del genotipo, mientras que en los animales no tratados la supervivencia es la misma además de no existir selección, aunque pueda darse un tipo de inmunidad natural o por vacunas que no produce selección, pero disminuye la tasa de supervivencia (27).

## HIPOTESIS

A medida que aumenta la migración y el porcentaje de refugio (susceptibles) sin presencia de la vacuna, el número de generaciones que tarda en presentarse la resistencia a pesticidas aumenta.

## OBJETIVOS

- a) Se determina mediante un modelo de simulación el establecimiento de la condición óptima entre el porcentaje de refugio y migración con o sin presencia de vacunación, para retardar lo más posible la aparición de resistencia.
- b) Definir el número de generaciones que tarde la resistencia en aparecer, al cambiar los niveles de porcentajes de refugio, con o sin vacuna.
- c) Fijar el número de generaciones que tarda la resistencia en aparecer.

## MATERIAL Y METODOS

Se corrieron 132 simulaciones, con el modelo adaptado Ives y Andow (26) de simulación de resistencia de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a pesticidas modificado por Tapia (27), con una población dividida en dos subpoblaciones (habitats), donde una de ellas no se ha expuesto a los pesticidas (refugio), mientras que la otra se ha tratado con pesticidas.

Para probar este modelo se utilizaron las condiciones expuestas en el cuadro 2, el modelo de simulación para el método dosis alta-refugio se desarrolló con el programa MATLAB 7.0® (28).

El modelo se analizo con un porcentaje de garrapatas en refugio (no tratados)

(Q) = 5%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20%, 30%, 40% y 50% y distintos porcentajes de migración preoviposición ( $r_{ih} = r_{im}$  para toda  $i$ ) ( $r_{ih}, r_{im}$ : proporción de hembras y machos que se dispersan de las áreas natales tratadas y no tratadas respectivamente): 5%, 10%, 20%, 30%, 40% y 50%.

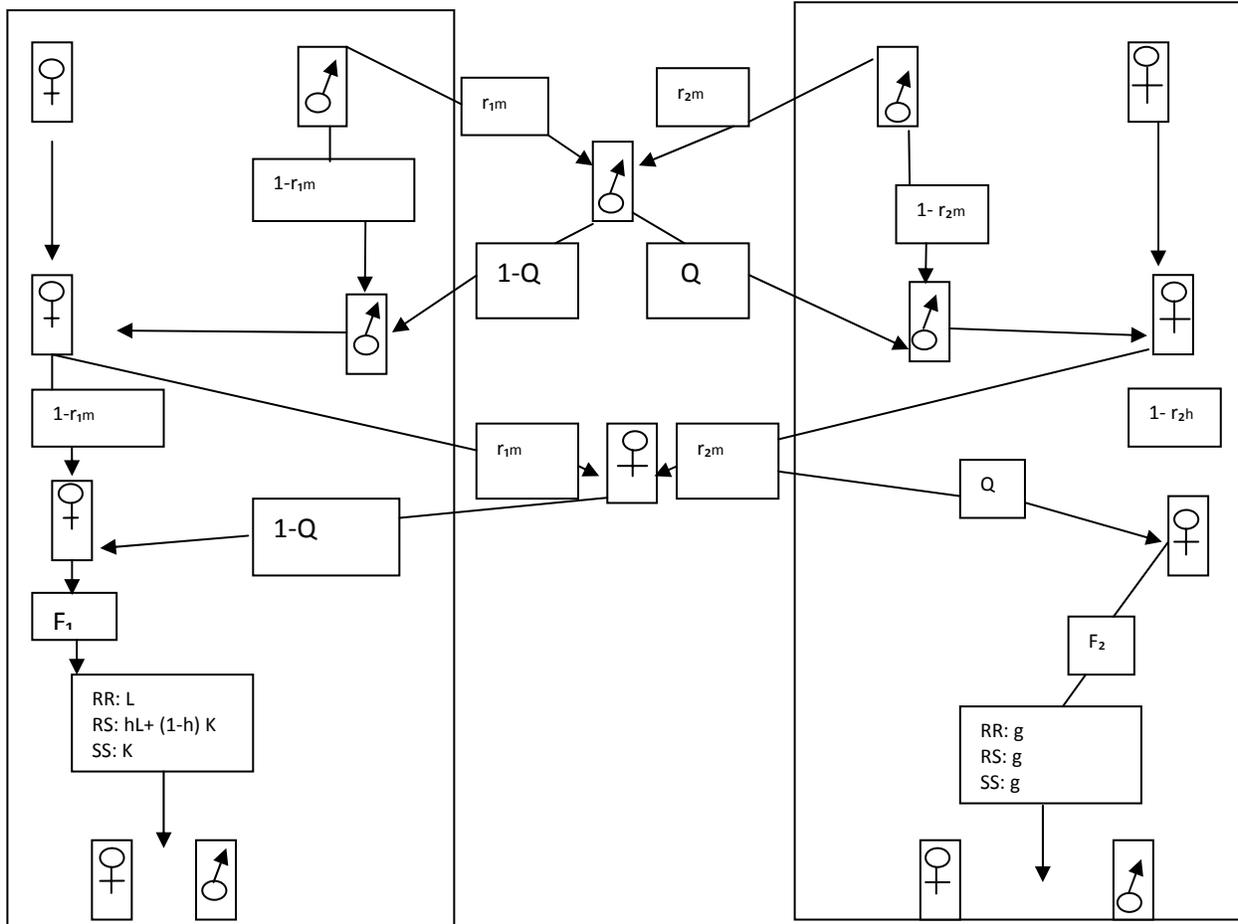
En el modelo adaptado Ives y Andow (26), modificado por Tapia (27.), se pudo observar que la primera situación (sin vacuna), la supervivencia de las garrapatas susceptibles fue de un 95%, mientras que en la segunda situación, la cual se utilizo una vacuna de 80% de eficacia, la supervivencia de los susceptibles fue de 20%.

Se contó el número de generaciones hasta que la frecuencia del alelo R (de resistencia) llegó a 0.5 (resistencia) (29, 26) en el hábitat tratado (1-Q).

Para simular el modelo dosis alta refugio se utilizó el programa computacional MATLAB 7.0® (26) con el cual se utilizaron los parámetros descritos en el Cuadro1.

CUADRO 1 Condiciones iniciales utilizadas para probar el modelo de Dosis alta refugio en garrapatas <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	
Frecuencia inicial del alelo R	$P_i(t) = .001$ (30)
Densidad e los hábitats tratados y no tratados.	1.25 ha/cabeza (unidad animal) (21)
Numero de larvas en fase parasitaria totales/ha	400 000 (21)
Distribución de sexos de larva en fase parasitaria	50:50 (31)
Supervivencia de garrapatas en animales no tratados con acaricida con vacuna (80% eficiencia)	$g = 0.2$ (21)
Supervivencia de garrapatas en animales no tratados con acaricida sin vacunar (5% mortalidad)	$g = 0.95$
Proporción de migración	$r_{im} = r_{hm}$ para toda $i$ (26)
Fecundidad de las hembras	$F_1 = F_2 = 50\%$ (21)
Supervivencia de garrapatas tratadas con una dosis alta.	$L = 0.9198$ (28)
Dominancia efectiva.	$h = 0.1$ (31, 28)

Figura 2 Modelo para evolución de resistencia en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* con estrategia dosis - alta refugio.



Una proporción del ganado no se trata con pesticidas ( $Q$ ), son los llamados "refugio". Una proporción de machos  $r_{1m}$  y  $r_{2m}$  y hembras  $r_{1h}$  y  $r_{2h}$  migran desde sus hábitats originales, estas larvas en estado parasitario se redistribuyen entre los animales tratados y no tratados en proporción a la cantidad de animales en cada grupo. Mudan en adultos y se aparean aleatoriamente en sus hábitats, de las hembras repletas, una fracción  $r_{1h}$  proviene de los animales tratados y otra  $r_{2h}$  proviene de los no tratados se dispersan y se redistribuyen para ovipositar en proporción a los hábitats. Las hembras producen huevos de acuerdo con su fecundidad  $F_1$  y  $F_2$ , estos eclosionan y las larvas que suben a los animales que son tratados con acaricida sobreviven de acuerdo con su genotipo, los homocigóticos resistentes tienen una supervivencia  $L$ , los homocigóticos susceptibles  $SS$  de  $k$ , y los heterocigóticos  $RS$  tiene una supervivencia de  $hL + (1-h)k$ , donde  $h$  es la expresión de dominancia de la resistencia. Las larvas de todos los genotipos en los animales no tratados tienen la misma supervivencia  $g$ .

El análisis estadístico para el número de generaciones que tarda la resistencia en presentarse en los grupos de garrapatas con y sin vacuna por medio de U de Mann-Whitney con el paquete estadístico SPSS®13.

## RESULTADOS

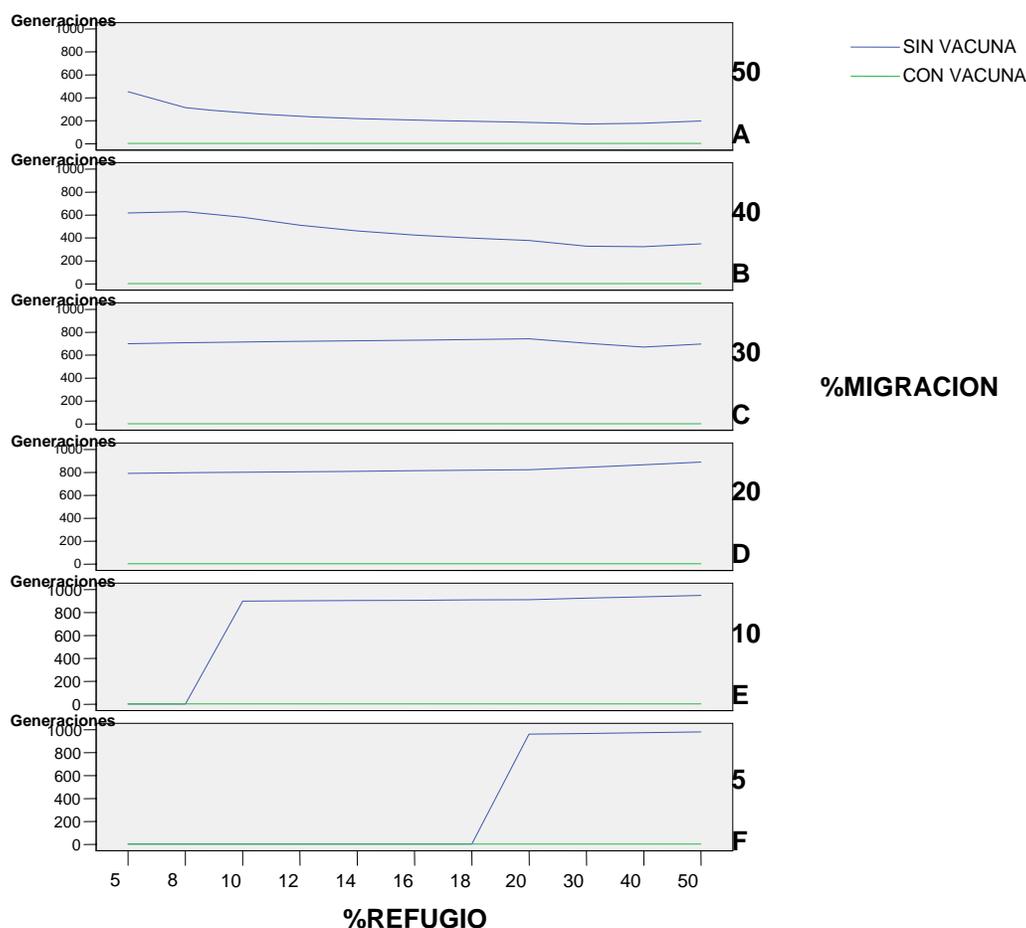
Se obtuvo un retardo en la resistencia a pesticidas de 146 a 981 generaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aplicando el método dosis alta dosis-refugio, cuando no se aplica vacuna garrapaticida con un modelo de simulación desarrollado por Ives y Andow (26), modificado por Tapia (28.).

En la Figura 3 se presentan los resultados del número de generaciones que tarda en presentarse la resistencia tanto en el grupo de simulaciones con vacuna como sin vacuna en cada uno de los porcentajes de migración y refugio. El número máximo de generaciones logrado fue de 981 con 50% de refugio (garrapatas susceptibles) y 5% de migración (f). Las poblaciones a las que no se aplicó vacuna garrapaticida requirieron en general mayor número de generaciones para alcanzar la resistencia, sobre todo con el 20% de migración (d), mientras que al migrar el 40 o 50% de las garrapatas se reduce este número (a, b). En general, se observa que al aplicarse una vacuna con 80% de eficacia, se alcanza la resistencia en mucho menor número de generaciones (a, b, c, d, e y f).

El grupo sin vacunar mostró una mayor dispersión del número de generaciones requeridas para que la frecuencia del alelo R (resistencia) en el hábitat tratado (1-Q) ascienda de 0.001 a 0.5 que el grupo vacunado (Figura 3).

El análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas ( $P = 0.001$ ) entre los dos grupos analizados para el número de generaciones (cuadro 2 b), La media de los rangos del grupo con vacuna tuvieron una diferencia de 52 generaciones con respecto a la de los rangos del grupo sin vacunar (Cuadro 2 a).

Figura 3. Resultados de las simulaciones del método de control dosis alta-refugio, con distintos porcentajes de migración y refugio\*\* (susceptibles) en el número de generaciones\* que tarda la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en desarrollar resistencia a los pesticidas, con y sin vacuna garrapaticida.



\* El número de generaciones requeridas para que la frecuencia del alelo R (resistencia) en el hábitat tratado (1-Q) ascienda de 0.001 a 0.5

\*\* Las simulaciones se corrieron con la misma proporción de migración de machos y hembras.

Los valores utilizados en el modelo fueron: dominancia efectiva (h)=0.1, supervivencia de los resistentes en la dosis alta (L)=0.9198, supervivencia de los susceptibles en la dosis alta (k)=0.0001, frecuencia inicial del alelo R ( $p_1=p_2=0.001$ ), número de larvas en fase parasitaria totales (X)= 350 000 ( $x_1= (1-Q)X$ ;  $x_2= QX$  (Anexo 1), fecundidad de las hembras ( $F_1 = F_2 = 50\%$ ). Para la población donde se aplicó vacuna con 80% de eficacia la supervivencia de los no tratados (g)=0.2 cuando no fueron vacunados se asume una mortalidad del 5% por lo que g=0.95.

Cuadro 2 Prueba de Mann-Whitney para el número de generaciones requeridas para que la frecuencia del alelo R (resistencia) en el hábitat tratado (1-Q) ascienda de 0.001 a 0.5 para las simulaciones del método dosis alta-refugio aplicado en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

VACUNA	N	MEDIA DE LOS RANGOS	MEDIA ± DESVIACION ESTANDAR
GENERACIONES SIN VACUNA	66	92.65	556.04 ± 330.8 <sup>A</sup>
CON VACUNA	66	40.35	36.12 ± 67.52 <sup>B</sup>
TOTAL	132		

Literales distintas (A, B) denotan diferencia altamente significativa ( $P < .001$ ) con la prueba de U-Man Witney.

## DISCUSIÓN

Los resultados de las simulaciones con el modelo descrito en la Figura 1, indican que con la estrategia dosis alta-refugio se retrasó hasta 981 generaciones la aparición de la resistencia con 10% de animales en refugio y una migración del 10%, hasta llegar a 981 generaciones con el 50% de refugio y 5% migración (Figura 1). Por el contrario, al agregarse a esta estrategia la aplicación de una vacuna con 80% de efectividad en los animales no tratados con pesticidas (refugio), la resistencia se desarrolló en pocas generaciones (Figura 1), debido a la disminución en la producción de individuos susceptibles (32).

Las simulaciones sugieren que si la resistencia es recesiva y el apareamiento es aleatorio, los refugios podrían retrasar la adaptación de la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* los pesticidas; estos resultados coinciden con simulaciones hechas por otros autores (33, 34). Se piensa que estrategia dosis alta-refugio retrasa la evolución de la resistencia a pesticidas debido a que los refugios proveen una fuente de parásitos susceptibles que se aparean con los resistentes de tal forma que su descendencia heterocigótica RS y SR será eliminada con una dosis alta del pesticida, en un trabajo previo, se mostró que *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* muestra este comportamiento, es decir que la resistencia a piretroides es recesiva a dosis altas, mientras que es dominante a dosis bajas (28). Ives y Andow (26) exponen que uno de los procesos de esta estrategia es la disminución de la selección a favor de los fenotipos resistentes además de la reducción en la intensidad de selección para la resistencia.

Las simulaciones en este estudio muestran que un aumento en la migración de 30 a 40% con casi todos los porcentajes de refugio se acelera la evolución de la resistencia bajando de 700 a 400 generaciones para llevar la frecuencia del alelo R de .001 a .5 y aún más, bajaría a 200 generaciones si se aumenta la migración a un 50% con 50% de refugio.

Existen evidencias experimentales en otras plagas, que sostienen las conclusiones hechas aquí con simulaciones matemáticas (35). En el 2001 el US EPA (United Status Environmental Protection Agency) determinó que la estrategia alta dosis-refugio podría ser la base para el manejo de la resistencia de insectos a la proteína insecticida expresada por plantas transgénicas, al retrasar el desarrollo de la resistencia a esta proteína. Esta estrategia ha sido desde entonces la base para el manejo de la resistencia a insecticidas en plantas como maíz y algodón (36,).

Lo más importante de la estrategia es la migración de las garrapatas en refugio, de hecho, en una población donde los no tratados (susceptibles) no migran, la resistencia desarrolla rápidamente (Ver Figura 1), igual sucede cuando la migración es del 50% (37). En este estudio, las simulaciones muestran un óptimo retraso de la evolución de la resistencia con 10% refugio y 10% de migración (Ver Figura 1). En 1996 el Plan aprobado por US EPA requería que los granjeros tuvieran un 4% de refugio en los campos de algodón (38), sin embargo Secchi, et al (39) sugieren que el porcentaje de refugio óptimo dependerá de la dinámica de la población, se requerirá menor porcentaje de refugio cuando recién se introduzca el pesticida, y mayor porcentaje cuando la resistencia comience a emerger.

Es decir, en vez de utilizar siempre un mismo porcentaje de refugio, éste será dinámico dependiendo de la evolución de la resistencia en determinada población de parásitos.

La supervivencia de los individuos heterocigotos (SR y RS) impactan fuertemente en la dinámica precoz de la evolución de la resistencia, debido a que los alelos de resistencia RR son muy raros en las poblaciones que no se han expuesto a pesticida, (40) tanto los individuos susceptibles (SS) como los heterocigotos (SR y RS) son fácilmente eliminados por los pesticidas cuando el alelo R es recesivo, pero si el pesticida no elimina a los heterocigotos, estos individuos serán más numerosos en la población, incrementando la tasa de evolución de la resistencia (41), en este caso sucedería cuando la dosis del pesticida es baja. Esto se vio reflejado en las simulaciones con el 5 y el 8% de refugio (con 10% de migración), pero más importante con la aplicación de una vacuna con 80% de eficacia (Figura 1), esta estrategia eliminaría tanto individuos susceptibles como resistentes a pesticidas (20), lo cual tendría como resultado un número muy bajo de individuos heterocigóticos. Las garrapatas resistentes producen 30% menos huevos que las garrapatas susceptibles indicando que la adquisición de resistencia es una desventaja con respecto a las susceptibles en presencia de la vacuna. (42). Bajando así el número de individuos heterocigóticos los cuales son importantes para esta estrategia.

Algunos autores (43, 44) han sugerido que una parte de la población no tratada podría fungir como refugios para retrasar la evolución de la resistencia, sin embargo, en el caso de la garrapata del ganado, habría que hacer una cuidadosa

evaluación económica, para establecer el costo de no tratar con pesticidas a una parte de la población, con el beneficio de retrasar la resistencia y por ende mantener por largo tiempo funcionando ese pesticida.

Existe un costo implícito asociado con no tratar una parte de la población, por ello se trataría de mantener el mínimo porcentaje posible en refugio (45). Si este costo es mayor que cambiar cuantas veces sea necesario el pesticida, por la resistencia presentada en la población, la estrategia no tendría ningún sentido, sin embargo, la existencia de poblaciones resistentes a casi todos los pesticidas, como sucede en ciertas zonas de México (46, 47, 48) justifica el intento de establecer esta estrategia en dichas zonas.

Se recomienda hacer un ensayo en campo, para poder validar los resultados de las simulaciones de este trabajo.

## CONCLUSIONES

Los resultados que se encontraron en este trabajo confirman que el efecto de introducir una estrategia dosis alta-refugio podría retrasar la evolución de la resistencia de *Rhipicephalus Boophilus microplus* a los pesticidas por varios años.

Para aplicar esta estrategia es muy importante mantener una migración de las garrapatas en refugio de entre 20 y 50% y una migración entre 10 y 30%.

La estrategia dosis alta-refugio es incompatible con la estrategia de vacunación, debido a que se requiere un número alto de individuos heterocigóticos y susceptibles para su funcionamiento, que la esta estrategia de vacuna no sostiene.

## BIBLIOGRAFIA

1. Rodriguez V, Ivan R. Enfermedades de importancia económica en producción animal. 2002. 571-592.
2. Dirección General de Servicios Ganaderos (homepage on the internet) Uruguay. Consideraciones sobre el manejo de la resistencia y control integrado de la garrapata *Boophilus microplus*. Available from: <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/InformacionTecnica/Garrapata/RevisionManejodeResistenciayCIG.pdf>
3. CONACYT-SAGARPA. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas en el sureste de México. México (Yuc): CONACYT-SAGARPA -2002-c01-1754, 2005.
4. Mc Cosker P J. Global aspects of the management and control of tick of veterinary importance. In: j.g. Rodriguez. Recent advances in acarology. 1979. Vol.ii. Academic press.
5. Taylor M A. Recent developments in ectoparasiticide. 2001vet 161: 253-68
6. Jonsson N N, Mayer D G, Matschss A I, Gree P E, Ansell J. Production effects of cattle tick (*boophilus microplus*) infestation of high yielding dair cows. Vett parasitol 1998. 78, 1:65-77.
7. Nolan J, Wilson J. Green P E, Bird P E. Synthetic pyrethroid resistance in field samples in the cattle tick. Aust vet j 1989; 66; 179-182.
8. Koop G A J. Impacto economico de las enfermedades parasitarias en la producción de leche en centro america. Available from: <http://www.agrilacteos-ganatec.com/portal/documents/documents/2008-04/5736/1660/3.pdf>
9. Hoy M. Multitactic Resistance management: an approach that is long overdue? Fl entomol 1995; 78 (3): 443-451.
10. Woodham C B, González O A, López I A, Guereña M R. Progresos en la erradicación de las garrapatas *Boophilus* en México 1960-1980. Rev mund zoot. 1983; 48, 18-24.
11. Nari A, Hansen H J. Resistencia de los ectoparásitos y endoparásitos: soluciones actuales y futuras. 67ª sesión general 1999. Organización internacional de epizootias. París, Francia.
12. Metcalf R L. Insect resistance to insecticides. pesticide. 1989. Sci 26, 333-358.

13. Kunz s E, Kemp D H .Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. 1994. Review scientific technology. Oie 13, 1249-1286.
14. Kemp D H, Thulner F, Gale K, Nari A, Sabatini G A. Acaricide resistance in the cattle ticks *Boophilus microplus* and *Boophilus decoloratus*. Report to the animal health services.1998. Fao. Pp. 1-32.
15. Rosario C R, Hernández O R. Evolución química de la resistencia a acaricidas. Memorias del curso-taller, diagnóstico de resistencia a ixodicidas en garrapatas *Boophilus microplus*. 2001 Jiutepec, Morelos, México. Pp. 23-30.
16. Lee D, Park Y, Brown M T , Adams M E. Altered properties of neuronal sodium channels associated with genetic resistance to pyrethroids. *Mol pharmacol* 1999;55, 581-593.
17. Stone B F. The genetics of resistance by ticks to acaricides. *Aust vet j* 1972; 48: 345-50.
18. Fragoso S H, Soberanes C N. Control de la resistencia a los ixodicidas a la luz de los conocimientos actuales. Memorias de XXV congreso nacional de buiatria. 2001 Veracruz, Veracruz, México. Asociación mexicana de Médicos especialistas en bovinos, a.c. Pp. 40-48.
19. Rcc Supplement to : bt corn and european corn borer: long term success through resistance management, ncr-602, 1998, Aviable from: url: <http://www.agrobios.com/docroor/articles/01-298a.pdf>
20. Jittapalong S, Jansawan W, Gingkaen A, Barriga O, Stich Roger. Protection of dairy cows immunized with tick tissues against natural *Boophilus microplus* infestations in thailand. 2004; ann. N.y. Acad. Sci. 1026: 1-9
21. Beugnet F, Chalvet M K; Sabatier p. Use of mathematical model to study the control measures of the cattle tick *Boophilus microplus* population new celadonia. *Vet Parasitol* 1998;77 227-288.
22. Corson M S, Teel P D y Grant W E. Influence of acaricide resistance on cattle-fever tick (*Boophilus* spp) Infestations in semi-arid thornshrublands: A simulation approach. *Exp appl acarol* 2001; 25. 171-184
23. Labarta V, Rodríguez M, Penichet M, Leonart R, Lorenzo L L, De la fuente J. Simulations of control strategies for the cattle tick *Boophilus microplus* employing vaccination with a recombinant bm86 antigen preparation. *Vet parasitol* 1996; 63:131-160.

24. Boueguet D, Genissel A, Reynolds A, Bumgarner I, Moar W. Selection and genetic analysis of a *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) strain with high levels of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *J Econ entomol* 1995;88: 1545-59.
25. Gould F. Sustainability of transgenic insecticidal: Integrating pest genetics and ecology. *Annu rev Entomol* 1998.;43: 701-726.
26. Ives A R and Andow D A. Evolution of resistance to Bt crops: directional selection in structured environments. 2002. *Ecol. Lett.* 5: 792-801
27. Tapia P G. Un modelo para predecir el tiempo que tarda para desarrollarse la resistencia de las garrapatas *Boophilus microplus* a los acaricidas. (tesis de doctorado), México DF. UNAM. 2004.
28. Tapia P G, García V Z, Montaldo V H, George J. Inheritance of resistance to flumethrin in the Mexican Aldama strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Exp appl acarol* 2003; 31: 135-149.
29. Carpio M A. Source S. Dynamics between transgenic and non-transgenic habitats and their role in the evolution of resistance. *J Econ entomol.* 2001; 94(3): 698-705.
30. Georghiou P y Taylor C. Factors influencing the evolution of resistance. In. *Pesticide resistance: strategies and tactics for management.* National academy press, Washington, D,C.1986
31. Storer N P, Peck S L, Gould F, Vanduyn J W and Kennedy G G. Sensitivity analysis of a spatially-explicit stochastic simulation model of the evolution of resistance in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera:Noctuidae) to Bt transgenic corn and cotton. *J econ entomol* 2001; 96:173-187.
32. Gould F. Sustainability of transgenic insecticidal: Integrating pest genetics and ecology. *Annu rev Entomol* 1998.;43: 701-726.
33. Curtis C F. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. *Bull. Entomol.* 1985. res. 75: 259-265
34. Curtis C F, Hill N and Kasim S H. Are there effective resistance management strategies for vectors of human disease? 1993. *Biol. J. Linn. Soc.* 48: 3-18.
35. Liu Y, Tabashnik B. Experimental evidence that refuges delay insect adaptation to *Bacillus thuringiensis* *proc r soc lond b* 1997; 264: 605-610.

36. Kurtz R, Mccaffery A, O'reill D. Insect resistance management for syngenta's vipcot. Transgenic cotton. *Journal of invertebrate pathology*:2007; 227–230.
37. Gould F. Testing bt refuge strategies in the field. *Nature biotechnology* 2000; 18: 266-267.
38. Environmental Protection Agency (EPA) 'The Environmental Protection Agency's white paper on Bt plant-pesticide resistance management. EPA. Washington D.C. 1998
39. Secchi S, Hurley M, Hellmich R. Managing european corn borer resistance to bt corn with dynamic refuges. 2001 Oct. Available from: Url: <http://www.card.iastate.edu>
- 40 Andow D A, Alstad D N. The f2 screen for rare resistance alleles. *J econ Entomol* 1998.; 91: 572-578.
41. Bourguet D, Genissel A, Raymond M. Insecticide resistance and dominance levels. *J Econ entomol* 2000; 93, 6: 1588-1595.
42. Davey R B, George J E, and Miller R J. Comparison of the reproductive biology between acaricide-resistant and acaricide-susceptible *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). 2006. *Veterinary Parasitology*. 139: 211–220.
43. Tabashnik B E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu Rev Entomol* 1994; 39: 47-79.
44. Alstad D N, Andow D A. Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. *Science* 1995.; 268: 1894-1896.
45. Hyde J, Marshall M, Preckel P, Craig L, Edwards R. The economics of within-field bt corn refuges. *Agbioforum*;2000: volume 3number 1, 63-6.8.
46. Rodriguez V R I, Alonso D M A, Rodríguez A F, Fragoso S H, Santamaría V M, Rosario C R. 2005. Prevalence and potential risk factors for organophosphates and pyrethroids resistance in *boophilus microplus* ticks in cattle ranches from the state of Yucatan, Mexico. *Vet. Parasitol.* In press.
47. Santamaria V M, Soberanes C N, Otiz N A, Osorio M Jm, Martinez I F, Franco B R, Fragoso S H, Delabra V G, Quezada D R, Giles H I, Ortiz m. Análisis de la situación actual mediante el monitoreo de susceptibilidad a ixodicidas en *Boophilus microplus* de 1993 a 1999 y medidas preventivas para retardar la resistencia al amitraz en México. IV Seminario internacional de parasitología

animal; 1999 Oct 20-22; Puerto Vallarta, Jalisco, México: CONSAG, INIFAP, INFARVET, IICA, AMPAVE Y FILASA.

48, García B A. Situación actual de la campaña nacional contra la garrapata en México. IV Seminario internacional de parasitología animal; 1999 Oct 20-22; Puerto Vallarta, Jalisco, México: CONSAG, INIFAP, INFARVET, IICA, AMPAVE Y FILASA.

