



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO (*Metarhizium
anisopliae*) EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE GARRAPATAS
Rhipicephalus (Boophilus) microplus EN BOVINOS DEL
MUNICIPIO DE ARTEAGA, MICHOACÁN**

TESIS QUE PRESENTA

JOSÉ JAVIER FRANCO SAUCEDA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán. Enero del 2016



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO (*Metarhizium anisopliae*) EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE GARRAPATAS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* EN BOVINOS DEL MUNICIPIO DE ARTEAGA, MICHOACÁN

TESIS QUE PRESENTA:

JOSÉ JAVIER FRANCO SAUCEDA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESORES:

Dra. ERNESTINA GUTIÉRREZ VÁZQUEZ

Dra. MARGARITA VARGAS SANDOVAL

Morelia, Michoacán. Enero del 2016

AGRADECIMIENTO

Doy gracias a dios y mis padres por permitirme vivir y poder haberme permitido terminar mi carrera de Médico Veterinario Zootecnista.

A toda mi familia y mi novia que siempre me brindo su apoyo en todo momento, y creer en mí y por estar apoyándome física y moralmente en mi formación, por esto y más doy gracias.

Agradezco al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales por el préstamo de laboratorio y las 4 UPP donde se realizó el estudio. De la misma manera agradecer a todas aquellas personas que apoyaron en el laboratorio y campo para realizar el estudio a M.C. Elisa y M.C. Ana Celestina, mis compañeros tesistas Cecilia, Ricardo, Agustín, Baldemar.

A MIS ASESORES

Dra. Ernestina Gutiérrez Vázquez

Dra. Margarita Vargas Sandoval

A quienes con el más merecido respeto y admiración, de una manera muy especial, les agradezco por brindarme su amistad, tiempo y conocimientos, paciencia e interés, por su valiosa colaboración para culminar esta investigación. Muchas Gracias.

Al personal que labora en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestal en especial a la Dra. Ernestina Gutiérrez Vázquez por su apoyo y dedicación al Trabajo en laboratorio y campo.

A todos los catedráticos que contribuyen en mi formación profesional, la admiración y respeto de siempre.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Santos Franco Ponce
Clara Saucedá López

A quienes debo todo:

Por haberme dado la vida.
Por apoyarme en todas mis decisiones.
Porque siempre los amare y llevare en mí.
Por ser mí guía y apoyo.

A quienes han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme.

A quienes la ilusión de su vida ha sido convertirme en persona de provecho.

A quienes nunca podré pagar todos sus desvelos ni aun con las riquezas más grandes del mundo.

Por esto y más muchas. Gracias.

A MI NOVIA

Argelia Arellano Valencia

Por su amor, cariño, confianza y apoyo incondicional que me daba que nunca me dejo solo siempre estaba a mi lado cuando más la necesitaba y es una gran motivación para cumplir todas mis metas y cada día ser mejor persona, gracias por todo ese apoyo.

A MIS HERMANOS

Víctor Manuel
Jorge Luis
Jonathan

Por su amor, cariño, confianza, comprensión y por haberme apoyado en todo lo que necesite; y por ser los mejores amigos. Gracias.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Taxonomía	3
1.2 Distribución geográfica de la garrapata <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> en México	4
1.3 Morfología de la garrapata	6
1.4 Importancia económica de las garrapatas en el ganado bovino.....	8
1.5 Hábitos	9
1.6 Ciclo biológico de la garrapata <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	10
1.6.1 Fase no parasítica	11
1.6.2 Fase Parasítica	12
1.7 Métodos de control de la garrapata.....	14
1.7.1 Control químico	14
1.7.2 Control no químico	15
1.7.2.1 Selección de hospederos resistentes	15
1.7.2.2 Introducción de depredadores naturales	16
1.7.2.3 La rotación, descanso y quema de praderas.....	16
1.7.2.4 La composición y tipo de vegetación.....	16
1.7.2.5 Control biológico.....	17
1.8 Hongo entomopatógeno (<i>Metarhizium anisopliae</i>)	19
1.8.1 Acción del hongo entomopatógeno <i>Metharizium anisopliae</i>	20
1.8.2 Ambiente – Hongo Entomopatógeno	23
1.8.3 Factores que afectan el estado fisiológico de los conidios	24
1.9 OBJETIVO.....	25
2. MATERIAL Y MÉTODOS	26
2. 1 Reproducción del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i> Ma 198	26
2. 2 Cuantificación de conidios.....	26
2. 3 Descripción de la zona de estudio.....	27
2. 3. 1 Localización.....	27
2. 3. 2 Clima	27
2. 3. 3 Suelo	27

2. 3. 4 Estructura y manejo del hato	28
2. 3. 5 Aplicación del tratamiento	28
2. 3. 6 Análisis estadístico	28
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4. CONCLUSIÓN	37
5. BIBLIOGRAFIA	38

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la garrapata <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	3
Figura 1. Distribución geográfica de la garrapata <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> en México (SENASICA, 2015).	5
Figura 2. Morfología de la garrapata hembra <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> . Se muestran las partes que componen la estructura de la garrapata vistas tanto dorsal como ventral.	7
Figura 3. Ciclo biológico de la garrapata <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> , incluyendo los estadios dentro del hospedero y fuera del mismo (Tomado de Bazán, 2002).	11
Figura 4. Ubicación de los ranchos experimentados en el municipio de Arteaga, Michoacán (Tomado de INEGI, 2009).	27
Cuadro 2. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con <i>M. anisopliae</i> y el grupo testigo en el rancho las Ollas.	29
Figura 5. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado.	29
Figura 6. Promedio de garrapatas de los conteos semanales en el Rancho Las Ollas, en el grupo tratado con <i>M. anisopliae</i> y en el grupo testigo.	30
Cuadro 3. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con <i>M. anisopliae</i> y el grupo testigo en el rancho La Soledad.	30
Figura 7. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado.	31
Cuadro 4. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con <i>M. anisopliae</i> y el grupo testigo en el rancho la Parota de las Ollas.	32
Figura 9. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado.	32

Figura 10. Promedio de garrapatas de los conteos semanales en el Rancho La Parota de las Ollas, en el grupo tratado con <i>M. anisopliae</i> y el grupo testigo.	33
Cuadro 5. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con <i>M. anisopliae</i> y el grupo testigo en el rancho Puerto de la Mina.....	33
Figura 11. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado.	34
Figura 12. Promedio de garrapatas de los conteos semanales Rancho el Puerto de la Mina, en el grupo tratado con <i>M. anisopliae</i> y el grupo testigo.....	34

EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO (*Metarhizium anisopliae*) EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE GARRAPATAS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* EN BOVINOS DEL MUNICIPIO DE ARTEAGA, MICHOACÁN

Franco, S. J. J; Gutiérrez, V. E; Vargas, S.M

Tesista. FMVZ. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia de la cepa *Metarhizium anisopliae* Ma 198 sobre la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* del ganado bovino del municipio de Arteaga, Michoacán, por medio de baños de aspersión. El estudio se realizó en cuatro unidades de producción pecuaria ubicadas en diferentes puntos del municipio de Arteaga, Michoacán. Se formaron dos grupos de bovinos en cada unidad de producción. El grupo control de la unidad de producción de La Soledad inició con un promedio de 54 garrapatas adultas y juveniles contabilizando ambos lados de los bovinos, La Parota de Las Ollas con promedio de 109 garrapatas adultas y juveniles, Las Ollas con promedio de 40 garrapatas adultas y juveniles y El Puerto de La Mina con un promedio de 41 garrapatas adultas y juveniles, fueron asperjados con la cepa *M. anisopliae* a una concentración de 1×10^8 conidios/ml. A partir de la primera aplicación del tratamiento hasta el último conteo los animales del grupo tratado presentaron una disminución en el número de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* adultas y fases juveniles (98.2% de eficacia en las 4 unidades de producción). Estos resultados demuestran que el tratamiento repetido con la cepa de *M. anisopliae* puede ser empleado como una alternativa para el control biológico de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el ganado bovino del municipio de Arteaga, Michoacán.

Palabra clave: Control biológico, garrapatas, *M. anisopliae*, bovinos, conidios.

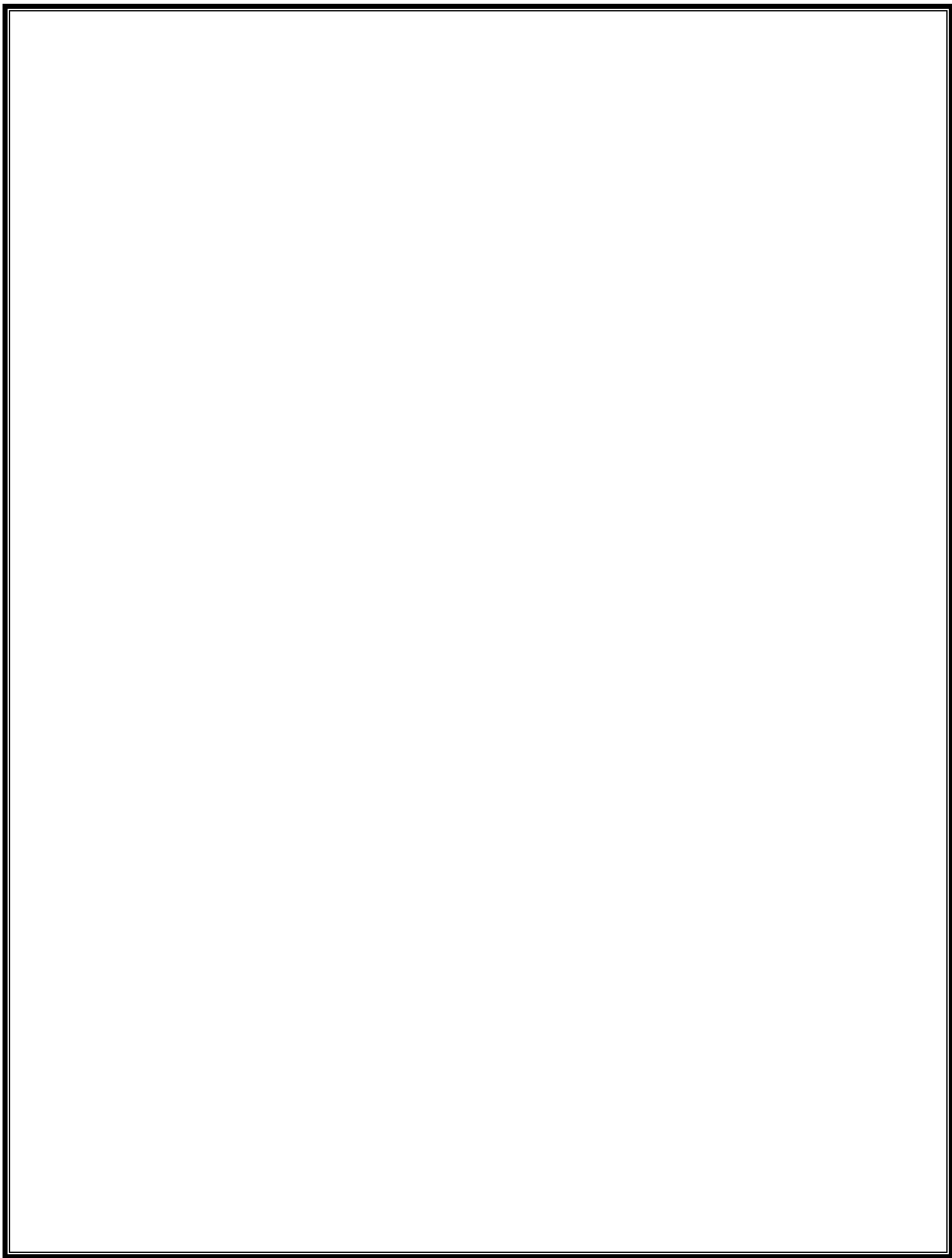
EVALUATION entomopathogenic fungus (*Metarhizium anisopliae*) IN THE BIOLOGICAL CONTROL OF TICKS *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus CATTLE IN THE MUNICIPALITY OF Arteaga, Michoacán.

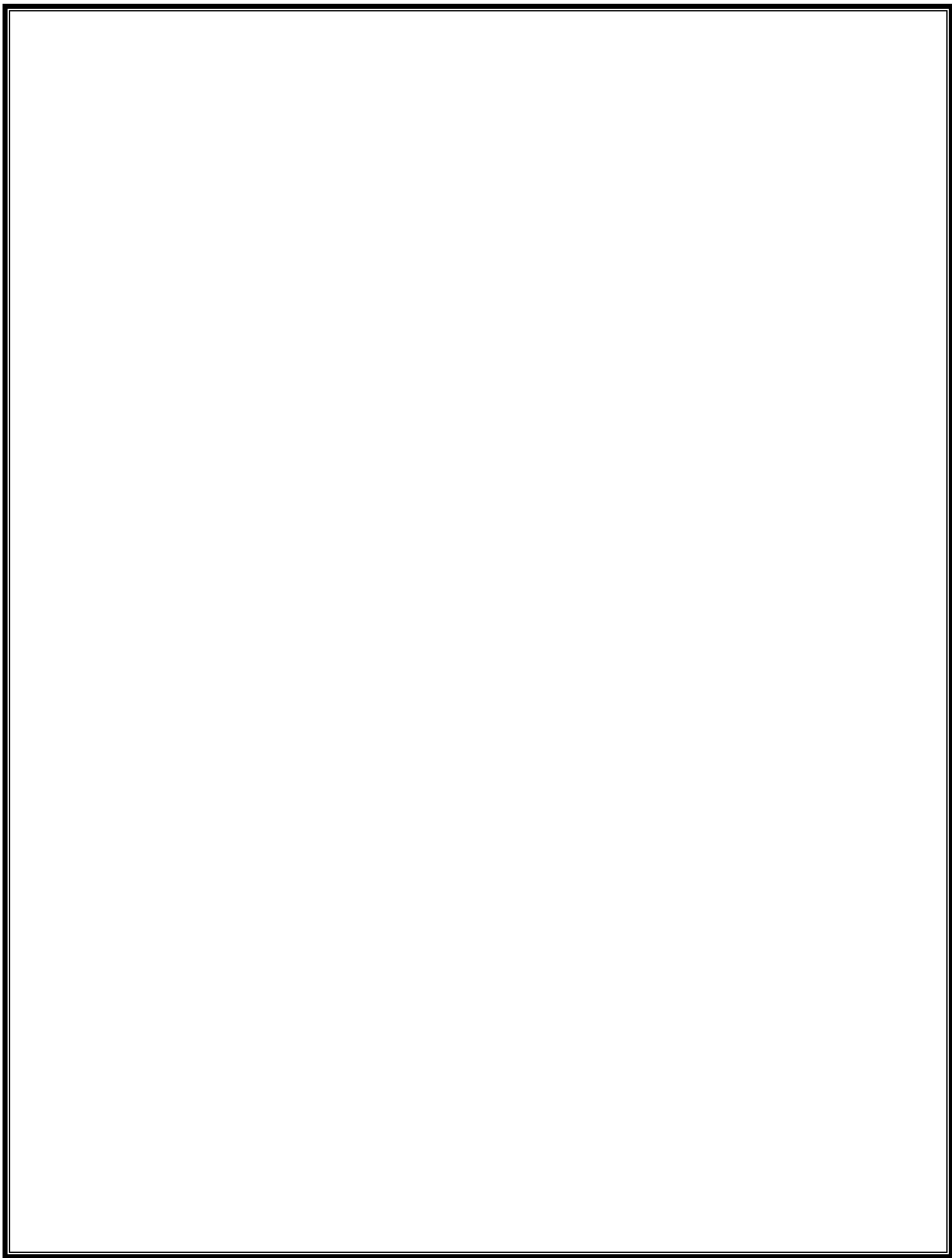
Franco, S. J. J; Gutiérrez, V. E; Vargas, S.M
Tesista. FMVZ. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

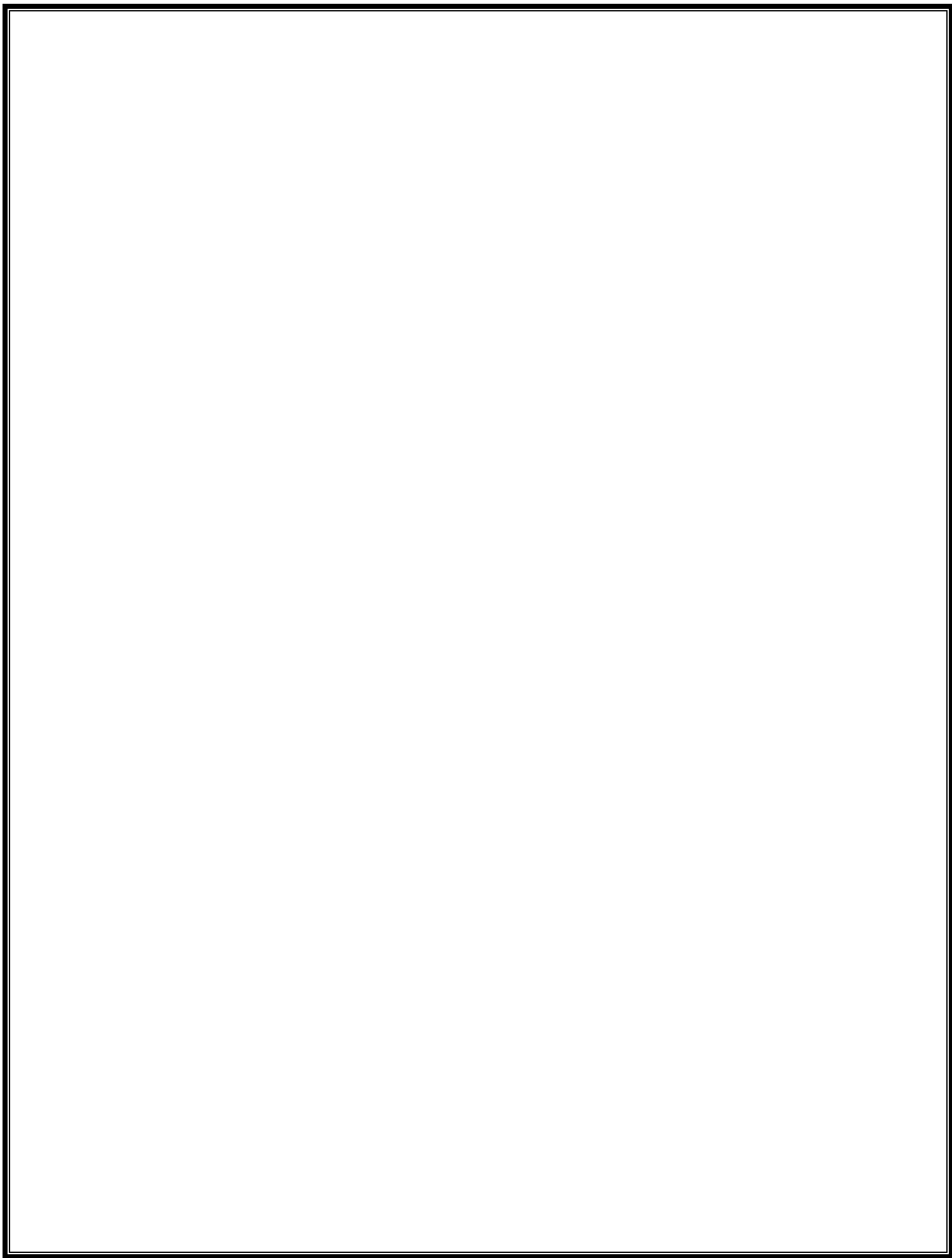
Abstract

The aim of this study was to evaluate the efficacy of *Metarhizium anisopliae* strain Ma 198 on the *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* cattle in the municipality of Arteaga, Michoacán tick by spraying bathrooms. The study was conducted on four animal production units located in different parts of the municipality of Arteaga, Michoacán. Both groups of animals were formed in each production unit. The control group of the production unit of La Soledad began with an average of 54 adult and juvenile ticks counting both sides of cattle La Parota pots with an average of 109 adult and juvenile ticks, pots averaging 40 adult ticks and youth and the port of La Mina with an average of 41 adult and juvenile ticks, were sprayed with *M. anisopliae* strain at a concentration of 1×10^8 conidia / ml. From the first application of treatment to the last count animals treated group showed a decrease in the number of ticks *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* adult and juvenile stages (98.2% efficiency in the 4 production units). These results demonstrate that repeated treatment with *M. anisopliae* strain can be used as an alternative for the biological control of ticks *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in cattle in the municipality of Arteaga, Michoacán.

Keyword: Biological Control, ticks, *M. anisopliae*, cattle, conidia







1. INTRODUCCIÓN

La ganadería bovina es la principal fuente de ingresos de alrededor de 200 millones de familias de pequeños productores en Asia, África y América Latina, es la principal fuente de subsistencia para al menos 20 millones de familias. En estos sistemas, los principales problemas que se enfrentan son una creciente degradación de los pastos y su consecuente pérdida de productividad, la deforestación, una creciente dependencia de insumos externos, tecnología y material genético, la amenaza del cambio climático, alta incidencia de enfermedades y deficiencias de organización y comercialización (FAO, 2014). En el mundo se reporta una población bovina de 1,399 millones de cabezas, en América una población de 488 millones de cabezas en 2004 (FAO, 2004). El estado de Michoacán registra 1 702, 229 cabezas de bovinos en 2015, de éstas, el municipio de Arteaga registra 53,551 (SINIIGA, 2015).

La producción bovina se encuentra limitada por problemas de parasitosis y enfermedades. Las garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* constituyen el ectoparásito más importante de la ganadería mundial producen el mayor problema en la ganadería bovina de las regiones tropicales y subtropicales, donde sus climas son favorables para la supervivencia de las mismas (Jonsson, 1997).

La garrapata es hematófaga y los daños que ocasiona en los animales infestados están determinados por diversos factores como: la succión de sangre, de la acción tóxica por la secreción de las glándulas salivales y de la transmisión de las numerosas enfermedades (Ocádiz, 1995), conviene señalar, que varias especies de estos ácaros requieren de uno, dos y hasta más hospederos, para completar su ciclo de vida relativamente corto (Garrís, 1991).

El impacto económico se debe al daño causado a las pieles por acción de las picaduras, pérdida de sangre, efectos tóxicos, reducción en la producción de leche y carne, en la producción de becerros y el incremento en los costos de control,

además de los agentes etiológicos que transmiten como: virus, bacterias, rickettsias y protozoos (Ojeda-Chi *et al.*, 2011).

El control de garrapatas se basa principalmente en el uso de ixodicidas; sin embargo, su uso irracional ha propiciado la aparición de garrapatas resistentes a las principales familias de ixodicidas (Rodríguez *et al.*, 2007). Por la demanda de alimentos libres de residuos químicos y por el cuidado del ambiente se sugiere la utilización de sistemas alternativos de control, entre los que se pueden contar el empleo de nematodos (Hill, 1998), vacunas (Jonsson *et al.*, 2000), bacterias (Hassanain *et al.*, 1997), aceites esenciales (Prates *et al.*, 1998) y hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae* (López *et al.*, 2009). El hongo *Metarhizium anisopliae* causa mortalidad en garrapatas adultas y disminuye su fecundidad (Kaaya y Hassan, 2000). En Colombia utilizaron *M. anisopliae* en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en laboratorio y campo obteniendo un resultado de (90 a 96%) en disminución reproductiva de la ovoposición y en campo un 75% de reducción en la infestación de bovinos en campo (López *et al.*, 2009).

En Chile utilizaron la cepa *Metarhizium anisopliae* teniendo como resultado en la mortalidad de (92 al 100%) en teleoginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Broglio-Micheletti *et al.*, 2012). En México la cepa *Metarhizium anisopliae* ha demostrado ser eficaz para el control de fases adultas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en condiciones de campo sobre bovinos 40-91.2% de eficacia (Alonso-Díaz *et al.*, 2007). En Michoacán bajo condiciones *in vitro* la cepa *Metarhizium anisopliae* obtuvo un 80% de efectividad sobre garrapatas adultas *A. cajennense* y 100% en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Valdez., 2014). Bajo condiciones de campo obtuvo un 95 a 100% de efectividad en huevos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y 97.5% de efectividad en garrapatas juveniles y adultas (Valdez., 2014).

1.1 Taxonomía

Las garrapatas son ácaros cosmopolitas, por su gran tamaño al menos en estado adulto resultan observables a simple vista. Según la clasificación más reciente, las garrapatas pertenecen a la subclase Acari, del superorden Parasitiformes dentro del orden Ixodida (Lindquist *et al.*, 2009). El orden Ixodidae está formado por tres superfamilias: Argasidae (193 especies “garrapatas blandas”), Ixodidae (702 especies “garrapatas duras”) y Nuttalliellidae (monotípico) (Barandika., 2010; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011). En México, de las garrapatas duras se registraron 52 taxones válidos, desde entonces se han adicionado 23, haciendo un total de 75 especies incluidas en 5 géneros (Vargas *et al.*, 2007; Guzmán-Cornejo *et al.*, 2007; Guzmán-Cornejo y Robbins, 2010).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

NIVEL	UBICACIÓN
Reino	Animal
Phylum	Arthropoda
Subphylum	Chelicerata
Clase	Arachnida
Subclase	Acari
Superorden	Parasitiformes
Orden	Ixodida
Superfamilia	Ixodoidea
Familia	<i>Nuttalliellidae</i>
	<i>Argasidae</i>
	<i>Ixodidae</i>
Género	<i>Rhipicephalus</i>
Subgénero	<i>Boophilus</i>
Especie	<i>microplus</i>

(Krantz y Walter, 2009)

1.2 Distribución geográfica de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México

El conocimiento sobre la garrapata en nuestro país data desde antes de la época de la colonia. Los mayas utilizaban el vocablo “peche” para designarlas. Mientras que los pobladores de Chiapas las llamaban “zitp” y los Purépechas en Michoacán, la señalan como “turicata” (Rodríguez, 2005).

En México se han registrado 82 especies de garrapatas tanto en animales silvestres como domésticos siendo *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* la que mayor impacto tiene en la ganadería debido a su amplia distribución en regiones tropicales y subtropicales, a los daños económicos (disminución de los parámetros productivos de los animales y los costos de control), a los problemas de resistencia a ixodicidas, y a las enfermedades que trasmite: *Babesia bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma marginale*. Sin embargo, las especies de mayor importancia para el ganado bovino en México son *B. microplus* y *A. cajennense* (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006, Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

El microclima influye directamente en la reproducción y supervivencia de las garrapatas, y de este depende directamente el género de garrapata presente en una región. La distribución geográfica de las garrapatas en México (Figura 1), obedece a factores ambientales, entre los que destacan la humedad relativa, la temperatura, y la vegetación, que son determinantes en la distribución de las especies (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

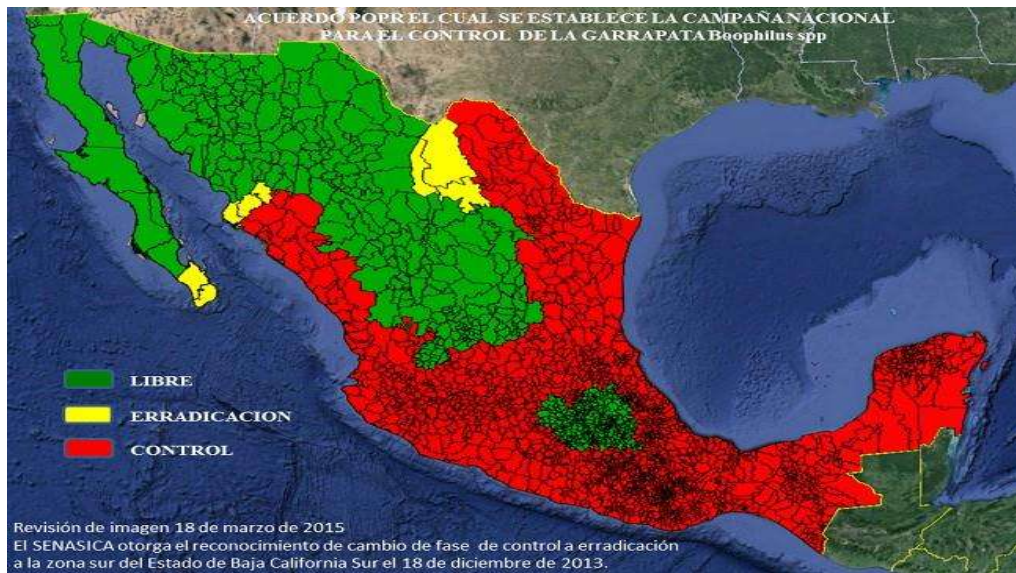


Figura 1. Distribución geográfica de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México (SENASICA, 2015).

Otros factores que intervienen en la distribución son la altitud, presencia y abundancia de hospederos y las prácticas de control o erradicación que el hombre ejerce sobre las poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* presenta en el país un área de distribución, que abarca zonas tropicales, templadas y áridas. (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

La familia de los ixódidos adquirió adaptaciones ecológicas y biológicas que les permitieron pasar a explotar hospedadores en hábitats abiertos. Para estas especies la entrada en contacto con los hospedadores es su mayor problema, pues para que se produzca el contacto, necesita que pase un animal por el lugar concreto en el que se encuentran; de no producirse ese paso, los parásitos mueren en un corto plazo al estar directamente expuestos a los riesgos del ambiente. El hombre favoreció este contacto, mediante el mantenimiento de un número elevado de animales en pequeños espacios. Por lo tanto, las garrapatas que tenían como hospedadores herbívoros silvestres, fueron beneficiadas pues los rumiantes domésticos sustituyeron con ventaja a los silvestres originales, tanto

por su número como por la regularidad de su permanencia siempre en sus mismos campos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

1.3 Morfología de la garrapata

Las garrapatas presentan el cuerpo en forma de saco, globoso o aplanado, esto depende de que los ejemplares estén alimentados o en ayunas. El tamaño corporal varía (de 2 a 8 mm hasta 1 a 2 cm) según el estado fisiológico. Perciben temperatura, humedad, olor y vibraciones, entre otros estímulos. Estos ácaros presentan dos partes diferenciales visibles: el tronco globoso y extremidades articuladas. La parte anterior, no es una cabeza propiamente dicha, ya que el cuerpo de la garrapata es una sola masa; tiene un conjunto de pies móviles que forman el gnathosoma y una base que mide 0.4 cm de largo por 0.9 mm de ancho; por encima de este, se observan dos depresiones llamadas áreas porosas, de las cuales sobresalen dos ganchos denominados quelíceros que ayudan a romper la piel del hospedero (Hoskins, 1991).

Enseguida, aparecen las extremidades con seis artejos: coxa, trocánter, fémur, tibia, metatarso y tarso. Es necesario señalar que los adultos y las ninfas poseen estigmas y se sitúan en el último par de coxas, mientras que las larvas carecen de ellas; además, presentan dimorfismo sexual, el macho es de menor tamaño que la hembra. Cada extremidad mide en promedio, de 10 a 12 mm en las hembras y de 3 a 4 mm en los machos. La parte posterior del ácaro se denomina propodosoma (Cupp, 1991).

La garrapata de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* presenta espina caudal por el dorso, que puede observarse ventralmente. La coxa I, presenta dos espolones en forma de triángulo; el interno es más ancho y largo que el externo. Las coxas II y III, presentan dos espolones de borde semiredondo y una escotadura, de donde se origina una espina hacia el extremo interno. Las placas accesorias son agudas en su borde posterior y dejan visible la espina caudal. Se puede señalar que entre la hembra y el macho existe diferencia en la coxa I, ya que la hembra, es casi tan

larga como ancha y los espolones son redondos. Por otra parte, la coxa IV puede poseer un pequeño espolón o carecer de él (Figura 2) (Schleske, 2011).

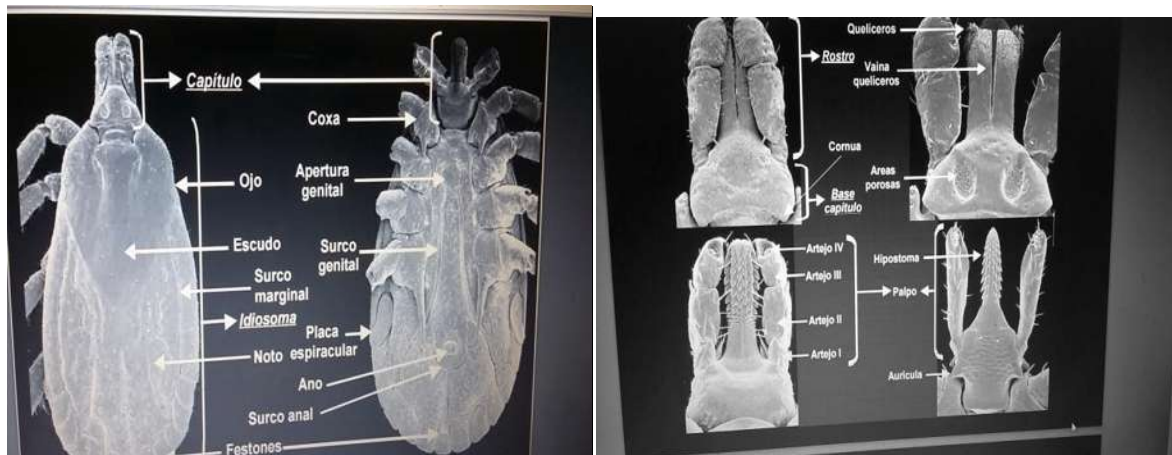


Figura 2. Morfología de la garrapata hembra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Se muestran las partes que componen la estructura de la garrapata vistas tanto dorsal como ventral.

La relevancia de las garrapatas reside en la diversidad de daños que provocan (pérdida de peso, daño en las pieles). La garrapata es un parásito externo que se alimenta de sangre, que ocasiona múltiples daños en los animales infestados, tales como, anemia, pérdida de peso, disminución de la producción de leche, disminución en la ganancia de peso y problemas reproductivos (Cordero del Campillo *et al*, 1999).

La garrapata infesta a todos los animales vertebrados de sangre caliente y fría excepto a los peces; habita en suelos húmedos y cálidos. De sus fases de desarrollo, solo una vez succiona sangre en mayor cantidad (estadio adulto) para posteriormente retirarse a lugares protegidos del sol como es el suelo (González, 2006).

Se considera que una garrapata puede llegar a succionar 0.5 a 2 ml de sangre durante el período de infestación en su ciclo de vida (Quiroz, 2005). Se ha calculado que por cada animal infestado se pierde entre 25 a 60 kg de peso vivo al año; la mortalidad de bovinos con infestaciones mayores de 78 a 103 garrapatas

durante un período de 4 a 6 semanas se calcula de 0.4 a 0.6 % (Castellanos, 1993).

Los daños a los hospedadores se traducen en una caída en el rendimiento de los animales:

a) Destrucción tisular con formación de un absceso y la inflamación de los tejidos en los alrededores de los puntos de fijación. Las consecuencias de la inflamación dependen del lugar afectado: dolor, cojera, trastornos visuales y auditivos, parálisis facial y de los párpados son solo algunas citadas en bovinos. Pérdida de pelo por rascado y la infección por bacterias y larvas de mosca.

b) Parálisis y acciones tóxicas causadas por algunos componentes salivales.

c) Pérdida de sangre: cada hembra puede expoliar hasta 2 ml de sangre, lo que explica bajo índice de hematocrito, los linfocitos y eosinófilos aumentan, los neutrófilos disminuyen y se inhibe la síntesis proteica; anemias agudas.

d) Transmisiones de enfermedades: las garrapatas actúan como vectores de virus, *rickettsias*, bacterias, protozoos y helmintos por mencionar algunos agentes de transmisión (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

1.4 Importancia económica de las garrapatas en el ganado bovino

La garrapata *B. microplus* ha sido la especie principal bajo control en las campañas realizadas en México, debido a su importancia económica y sanitaria. Las garrapatas a través de su acción directa o del efecto indirecto sobre la producción animal, causa mayores pérdidas a la ganadería bovina (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Las garrapatas tienen un efecto nocivo directo sobre la ganancia de peso de los animales. En el ganado de engorda cada garrapata adulta repleta de sangre ha demostrado reducir la ganancia de peso diaria en 0.600 gramos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

La FAO (2014) menciona que las pérdidas económicas atribuidas a *B. microplus* por disminución en la ganancia de peso se han estimado en 7.3 dólares/animal/año. Asimismo, las garrapatas producen bajas en la fertilidad, mayor tiempo en la engorda y dificultan la importación de razas mejoradas para incrementar la calidad genética en áreas infestadas. En México las enfermedades que transmiten producen pérdidas a la ganadería bovina de aproximadamente 48 millones de dólares anuales.

1.5 Hábitos

Los factores ambientales que influyen en la distribución y supervivencia de la garrapata es el tipo de clima y microclima. Las garrapatas pueden vivir desde el nivel del mar hasta los 2, 600 msnm y con fluctuaciones de lluvia de 400 a 2800 mm anuales. En las zonas tropicales, con lluvias regulares, alta humedad (mínimo de 60%) y clima cálido (15 y 35°C), se dan las condiciones óptimas para el desarrollo de varias generaciones de garrapatas por año, de modo que la plaga se hace sentir constantemente, se reporta que las larvas de *Boophilus* spp sobreviven hasta 43 días con 20°C y 84% de humedad relativa; pero los daños inician cuando la humedad es menor del 63% (Quiroz, 2005).

Normalmente las larvas suben a las plantas de los pastizales para facilitar el acceso a los hospederos, moviéndose horizontalmente hasta 8 metros de su sitio original. Este movimiento es debido a que sus órganos sensoriales perciben bióxido de carbono y feromonas de los animales hospederos, hacia los cuales pueden provocar dicho desplazamiento y ataque, en regiones subtropicales caracterizadas por temporadas de lluvias y sequías. En zonas de clima moderado el desarrollo de las diferentes fases se inhibe considerablemente en invierno. Sin embargo se dan casos de hipobiosis (interrupción temporal del desarrollo de un parásito) de modo que el ciclo evolutivo completo puede durar de uno a dos años con tipos de vegetación de pastizales y arbustos densos (Hugh-Jones, 1991; Quiroz, 2005).

Las secreciones de las glándulas salivales son importantes en la transmisión de agentes infecciosos de varios tipos de patógenos, ya que pueden transmitirse de las garrapatas al hospedero a través de la saliva. Estas secreciones ingresan a los fluidos de los tejidos del hospedero, donde se provoca la eliminación de agua y electrolitos. El agente infeccioso se encuentra en la saliva de la garrapata y se inyecta sobre el hospedero después de la fijación en la piel (Bazán, 2002).

Una vez que la hembra adulta completa su ciclo, pone sus huevos en sitios húmedos, frescos y libres de la radiación solar, de preferencia en la parte baja de la vegetación predominante, con ella asegura una eclosión alta. Una vez, que emergen las larvas, durante el día se protegen contra la desecación del sol, cuyo refugio es la sombra de los pastizales o de otros vegetales, incluso debajo del suelo (Bazán, 2002).

La temperatura disminuye el umbral de la postura de huevos en un rango que va de 15°C a 37°C. La supervivencia de las hembras sin comer depende de la temperatura y edad fisiológica. Las garrapatas adultas son más susceptibles a las altas temperaturas que las jóvenes, ya que la cutícula en las adultas es más permeable. Por su parte, la temperatura modula el índice del estado de letargo y los efectos de muda (Bittencourt, 2000).

1.6 Ciclo biológico de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

El ciclo biológico de la garrapata ocurre entre el hospedero, la vegetación y el suelo de un sitio específico, comprende cuatro estados biológicos: el de huevo (incubación de 17 a 21 días), larva (7 a 10 días), ninfa (5 a 6 días) y adulto (1 a 3 días), (Figura 3); de una fase a otro se lleva a cabo el proceso de desprendimiento del exoesqueleto (Bazán, 2002).

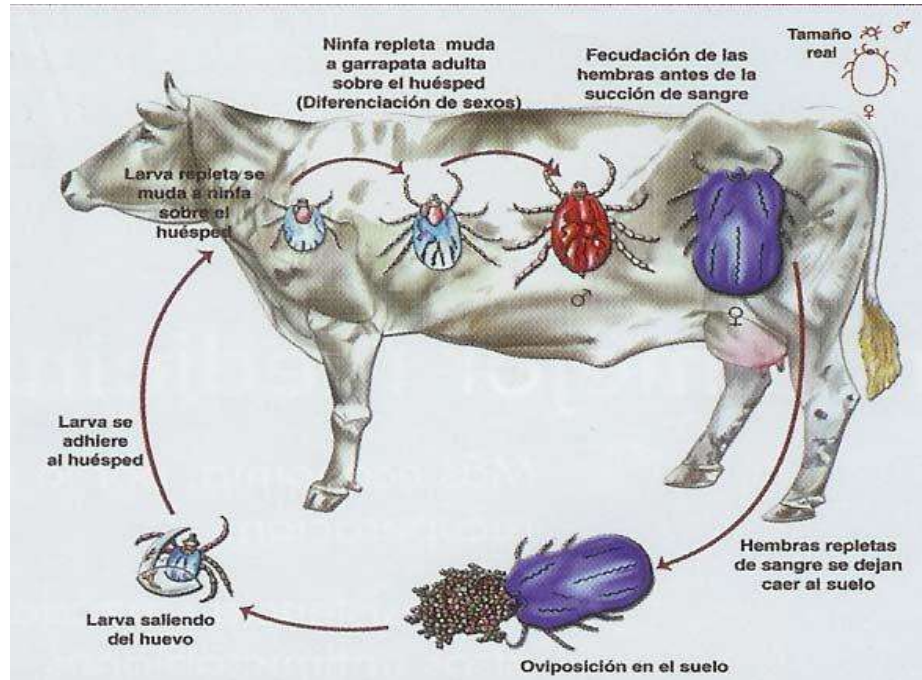


Figura 3. Ciclo biológico de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, incluyendo los estadios dentro del hospedero y fuera del mismo (Tomado de Bazán, 2002).

1.6.1 Fase no parasítica

La garrapata comienza cuando la hembra repleta de sangre se desprende del hospedero y cae al suelo, durante esta etapa suceden seis eventos distintos: preoviposición, oviposición, postoviposición, incubación, eclosión y larva. (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011)

Preoviposición. Es la etapa en que la hembra repleta se desprende y cae al suelo, se mueve en busca de un lugar protegido y con sombra para poner huevos.

Oviposición. Es el período que comienza desde la puesta del primer huevo hasta el último por la hembra repleta, los factores ambientales tienen influencia definitiva sobre la duración de este período.

Postoviposición. Es el período desde la puesta del último huevo hasta la muerte de la hembra adulta después de haber realizado la función de dejar descendencia.

Incubación. Es el período que abarca desde que los huevecillos han sido depositados en el ambiente hasta su eclosión. La evolución del embrión está influenciada por el ambiente principalmente por la temperatura y la humedad.

Eclosión. Es el periodo donde las larvas salen del huevo. La eclosión puede ser alterada por la radiación solar en condiciones de campo, la cual puede destruir todos los huevos.

Larva. La larva de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es de aproximadamente 0.50 mm de largo y 0.40 mm de ancho, tiene forma ligeramente oval y cuenta con tres pares de patas, es de color ámbar. Después de eclosionado la larva se sube por la hierba hasta alcanzar las ramas superiores con el objetivo de subir a un hospedero cuando este pase o se encuentre cerca (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

El período de preoviposición puede durar entre 3 a 10 días, el período de oviposición de 8 a 22 días, la incubación puede durar entre 23 y 42 días y la supervivencia de las larvas sin alimentarse puede durar hasta 186 días dependiendo de los diferentes climas y altitudes (Bazán, 2002). Las garrapatas han desarrollado estrategias que facilitan la supervivencia en el medio ambiente mientras permanecen a la espera de un hospedador. Son capaces de conservar el agua corporal, producen una sustancia higroscópica capaz de absorber humedad y han desarrollado la capacidad de ahorrar energía tras una característica denominada diapausa, que se define como un estado de baja actividad metabólica (Barandika, 2010).

1.6.2 Fase Parasítica

El tiempo que dura la fase parasítica de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es relativamente constante y dura de 18 a 22 días, durante su estancia, se alimenta de la sangre del huésped, llevando a cabo sus diferentes procesos de muda o cambio de fases siendo las tres principales: larva, ninfa y adulto. La etapa parásita comienza cuando la larva sube a un hospedero susceptible, estas son estimuladas fuertemente por el bióxido de carbono. Una vez sobre el hospedero,

las larvas se fijan en zonas protegidas estratégicas donde se puedan proteger de la radiación solar incluso de su hospedador (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

- ✓ Larva. Sus características morfológicas más importantes son: tres pares de patas y una dentadura en doble fila en el hipostoma. Una vez que la larva se sube al hospedero se desplaza libremente por el cuerpo del animal hasta alcanzar su sitio adecuado para adherirse, perforando la piel con los quelíceros, fija el hipostoma y comienza a alimentarse. Una vez repleta la larva mide aproximadamente 1.0 mm de largo, conforme pasa el tiempo la muda se aproxima, el tamaño se incrementa hasta alcanzar 2.0 mm de largo (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).
- ✓ Ninfa. Durante esta etapa ocurren cambios morfológicos más significativos: aparece un par de patas, completando cuatro pares en total; una doble fila de dientes (3/3) en el hipostoma. Se pueden apreciar espiráculos en ambos lados del cuerpo detrás del cuarto par de patas. La ninfa es el producto de la primera muda de la larva repleta; tiene forma oval y de color gris oscuro, mide aproximadamente 2.5 mm de largo y cerca de 4 mm al final de la base. Al final de la etapa se puede notar el dimorfismo sexual, ya que las hembras son más grandes y de color claro en relación con los machos. Generalmente la primera ninfa aparece después del sexto día post-infección y ya para el noveno día, la mayoría pueden ser observadas (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).
- ✓ Adulto. Los cambios morfológicos más sobresalientes de esta etapa son los cuatro pares de patas y una doble fila de dientes (4/4) en el hipostoma. Cuando el tegumento de las ninfas repletas más pequeñas y oscuras se abre longitudinalmente, emergen los machos, los cuales miden un largo total de 2.0 a 2.5 mm. Sus ocho patas son fuertes y de gran movilidad; ventralmente, se observa el orificio genital a nivel del segundo par de patas; en el tercio posterior del cuerpo se puede apreciar el ano y el nefrostoma. El macho se alimenta de varios sitios deambulando por la piel hasta alcanzar a una hembra para posesionarse vientre con vientre, uniéndose su

orificio genital que es ventral con el de ella que también es ventral y dar lugar a una hembra fertilizada (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

- ✓ Hembra. Las ninfas repletas de mayor tamaño generalmente el 50% se transforman en hembras, tienen forma oval aplanada, de color café claro, con ocho patas largas y fuertes; ventralmente el orificio genital aparece a nivel del segundo par de patas. Las hembras inician a alimentarse hasta que se fertilizan, su crecimiento es lento, incrementa su tamaño de 4.0 a 6.0 mm y espera la cópula para posteriormente alcanzar el estadio final de hembra repleta. Su forma es ovoide, grisácea y puede llegar a medir entre 7.0-13.0 mm de longitud y 4.0-8.0 mm de ancho (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

La gran mayoría de hembras repletas se desprenden alrededor del día 23 post-infección. Por lo general se ha observado que el desprendimiento ocurre en las mañanas y también que algunas sufren ciertas modificaciones morfológicas, sin afectar el porcentaje normal de oviposición. La hembra repleta deposita de 2000 a 5000 huevos que darán lugar a una nueva generación de larvas que infestan nuevamente (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

La fase de parasitismo es poco influenciada por las condiciones climáticas, contrario a lo que ocurre en la fase no parasitaria que ésta, si se ve perjudicada por los factores del medio ambiente. En condiciones de alta humedad relativa y temperatura entre 24 a 28°C, una hembra repleta de sangre puede transformar entre el 50 al 60% de su peso corporal en huevos, con una tasa de eclosión de 85 a 95% (García, 2011).

1.7 Métodos de control de la garrapata

1.7.1 Control químico

Los químicos disponibles, que se utilizan para el tratamiento de ectoparásitos de importancia en Medicina Veterinaria, son sistémicos, todos los ixodicidas son neurotóxicos, y ejercen su efecto sobre el sistema nervioso de los ectoparásitos. Los métodos tradicionales del tratamiento ixodicida, para el control de garrapatas

requieren de formulaciones que se diluyan en agua y se apliquen por aspersión o inmersión en los animales (NOM-EM-004-ZOO/1994). Además se incluyen los métodos de derrame (pour-on), inyectables, aretes impregnados con ixodicidas y feromonas (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

Entre los principales ixodicidas que se utilizan para el control de garrapatas se encuentra los organoclorados, fenilpirazoles, reguladores del crecimiento y los endectocidas denominadas lactonas macrocíclicas. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos ha provocado la selección de poblaciones de garrapatas resistentes (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

La tendencia es buscar alternativas que permitan mantener el control de las garrapatas y se basa principalmente en el uso de ixodicidas; sin embargo, su uso irracional ha propiciado la aparición de garrapatas resistentes a las principales familias de ixodicidas, organoclorados, organofosforados, piretroides y amidinas, (NOM-EM-004-ZOO/1994, Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006).

1.7.2 Control no químico

Dentro de los principales métodos de control no químico de *R. microplus* se encuentran:

1.7.2.1 Selección de hospederos resistentes

Las razas *Bos indicus* son más resistentes a las garrapatas que las razas *B. taurus*. Jonsson (2006) menciona que en bovinos *B. indicus* presenta del 10 al 20 % menos garrapatas que el ganado *B. taurus*. La resistencia a las garrapatas varía en relación al sexo, edad, estado de gestación y lactación y temporada del año.

El uso de ganado resistente a las garrapatas se puede lograr por la selección de animales que presenten menos garrapatas, y su posterior cruzamiento con otros animales con la misma característica, así como introducir sangre cebú en el hato donde predomina otra raza. En cruza de ganado *B. indicus* la heredabilidad del número de garrapatas *R. microplus* es alta ($h^2 = 0.34$), el total de la proporción de la variación genotípica se debe al efecto aditivo de los genes (Rodríguez, 2005).

1.7.2.2 Introducción de depredadores naturales

En México y en América Latina existen algunas garzas y pájaros que son depredadores naturales de garrapatas. También existen algunas especies de hormigas con efecto depredador en la población de garrapatas (Ojeda-Chi *et al.*, 2011).

1.7.2.3 La rotación, descanso y quema de praderas

El sistema de rotación se basa en descansos obligados de las praderas con la finalidad de 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, el tiempo de descanso para reducir el número de larvas presentes de las praderas debe ser de 45-60 días. En Venezuela el empleo de la modelación por computadora permitió predecir que al emplear una rotación de praderas de 36 días de descanso en época de secas y 24 días en épocas lluvias permite una reducción sustancial de las infestaciones de garrapata (FAO, 2004). El fuego afecta directamente a las garrapatas por la exposición que sufren a las altas temperaturas los estadios de larvas, las hembras adultas y los huevos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014). Indirectamente tiene un efecto por la destrucción de la capa de vegetación que le sirve de protección a las garrapatas (FAO, 2004). Sin embargo, en California, EUA se realizó un estudio para evaluar el efecto del fuego sobre las poblaciones de garrapatas; los autores concluyeron que a pesar de las quemas prescritas en los hábitats no se traduce en una disminución de la abundancia de adultos ixódidos sobre la vegetación y al parecer no afecta a las garrapatas e ixódidas que se refugian en suelo (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

1.7.2.4 La composición y tipo de vegetación

Tiene un efecto directo en la sobrevivencia de las garrapatas repletas, huevos y larvas. Las praderas con alta vegetación y arbustos proporcionan a las garrapatas un hábitat ideal para su desarrollo. Existen leguminosas (*Stylosanthes*) con capacidad para atrapar larvas, mediante pelos y secreciones glandulares viscosas presentes en sus hojas y que tienen la capacidad de inmovilizar entre un 12-27 % de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

En México, se ha evaluado el efecto de las gramíneas forrajeras: *Melinis minutiflora* y *Andropogon gayanus*, las cuales poseen la capacidad de repeler, atrapar u obstaculizar a las garrapatas que buscan hospedero; siendo la primera más eficaz para su control; este tipo de plantas, cultivadas en potreros estratégicamente utilizados, puede reducir el riesgo del encuentro garrapata-bovinos y así contribuir a disminuir el uso de ixodicidas (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

1.7.2.5 Control biológico

El término control biológico fue usado por primera vez por Smith en 1919, para referirse al uso de enemigos naturales en el control de insectos plaga. Su alcance se ha extendido con el tiempo, a tal grado que ahora se presentan problemas para definirlo adecuadamente, en particular, porque el término implica aspectos académicos y aplicados (Eilenberg *et al.*, 2001).

El control biológico se define como el uso consciente de organismos vivos para reducir las poblaciones de organismo plagas o patógenos. Se consideran agentes de biocontrol a: depredadores, parásitos, patógenos, competidores de las plagas, feromonas naturales y plantas resistentes. El uso de control biológico se va incrementando debido a que ha aumentado la conciencia sobre la seguridad medio ambiental y salud humana, pero además, debido al incremento del costo del control químico y al aumento de la resistencia de las garrapatas a los ixodicidas (Ojeda- Chi *et al.*, 2011).

Los agentes biológicos que potencialmente pueden ser usados para el control de garrapatas incluye a los hongos entomopatógenos por ejemplo: *Metarhizium* spp, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* (Ojeda- Chi *et al.*, 2011).

Los hongos entomopatógenos poseen extrema importancia en el control de ectoparásitos; virtualmente todos los ectoparásitos son susceptibles a las

enfermedades fungosas y existen aproximadamente 700 especies de hongos entomopatógenos. Dentro de los más importantes en el control de la garrapata son: *Metarhizium spp*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*.

Los hongos que han sido evaluados para el control de garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* son: *L. lecanii*, *C. bassiana* y *M. anisopliae*, los cuales han demostrado tener potencialidad para el control de distintas fases de desarrollo de la garrapata (huevo, larva, ninfa y adulto), (Ojeda- Chi *et al*, 2011).

En los últimos cuatro años se han desarrollado unos 171 micopesticidas, alrededor del mundo, de los cuales únicamente tres productos contienen *M. anisopliae* para el control de garrapatas (Fernandez, *et al.*, 2012). En México las cepas *M. anisopliae* y *B. bassiana* han demostrado altas eficacias para el control del *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a nivel de campo (larvas en pasto y garrapatas adultas en bovinos) (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

Ventajas: El control biológico posee muchas ventajas, poco o ningún efecto nocivo colateral, elimina sustancialmente el uso de insecticidas, no provoca intoxicación y evita plagas secundarias, del mismo modo la relación costo beneficio es favorable (Barrera, 2007).

Éxito: El éxito en el control biológico es difícil de medir; sin embargo, desde el punto de vista ecológico, alguna clase de éxito se presenta cuando una especie introducida se establece por sí misma (Hokkanen, 1985).

Riesgo: Frecuentemente se declara que la introducción de agentes de control biológico es ambientalmente segura y sin riesgos. Sin embargo, existen evidencias que indican que esta aseveración no es del todo cierta. Aunque este tema no es nuevo, los debates sobre los riesgos del control biológico continúa con mayor intensidad (Louda *et al.*, 2003).

1.8 Hongo entomopatógeno (*Metarhizium anisopliae*)

Hasta hace apenas unos años el género *Metarhizium* pertenecía taxonómicamente a la clase: *Hiphomycetes*, familia: *Moniliace*, genero: *Metarhizium* y especie: *anisopliae*. Esta especie es un hongo entomopatógeno verdadero anamorfo y facultativo, aislado por primera vez en 1879 del escarabajo *Anisopliae austriaca*. Sugiere su uso por primera vez como agente microbiano para el control de insectos (Ojeda- Chi et al, 2011).

La clasificación taxonómica del género *Metarhizium anisopliae* ha sufrido cambios de acuerdo a varios autores. Las especies de este género, con base a sus características morfológicas y reconoce dos especies: *M. anisopliae* y *M. flavovoride* (Ojeda- Chi et al, 2011).

M. anisopliae ataca más de 200 especies de insectos y ácaros de diversos géneros y garrapatas de la especie, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y *A. cajennense*. *M. anisopliae* presenta la habilidad de crecer en forma saprofita, facilidad de diseminación de los conidios, capacidad de sobrevivencia en el suelo y reproducción asexual. Requiere una temperatura óptima de 25 a 30 °C y humedad relativa del 70%. Los límites térmicos para la germinación de los conidios y de las hifas de *M. anisopliae* se encuentra alrededor de 37 a 40 °C respectivamente con una humedad por debajo del 53% se reduce la viabilidad de los conidios (Ojeda- Chi et al, 2011).

Los hongos entomopatógenos han sido aplicados por diferentes métodos (inyección, inhalación, aspersión, exposición ocular, termal y alimenticia) en animales vertebrados tales como: aves, ratas, ratones, conejos y reptiles. No se han observado signos patológicos y toxicológicos hasta la fecha, no obstante lo anterior, los entomopatógenos raramente han sido aislados de humanos u otros animales; sin embargo, pocos casos de micosis en humanos y animales han sido reportados (Muir et al., 1998; Revankar et al., 1999). Las exposiciones crónicas y la inhalación a altas cantidades de conidias, durante la producción masiva y la

aplicación de hongos imperfectos para el control biológico, puede guiar a la sensibilidad que desencadena alergias (Revankar *et al.*, 1999).

1.8.1 Acción del hongo entomopatógeno *Metharizium anisopliae*

La unidad infectiva de todos los hongos entomopatógeno *M. anisopliae* es una espora, usualmente un conidio, el desarrollo de micosis está dividido en las siguientes fases:

- A) Adherencia de la espora con el hospedero: Los conidios se adhieren a la superficie del insecto 24 horas después de la infección, iniciando el hongo el proceso patogénico (Ojeda-Chi *et al.*, 2011).
- B) Germinación de la espora: este proceso depende de las condiciones del medio ambiente si son óptimas la temperatura y humedad (27 ± 2 °C, HR 90 ± 5 %) y en menor grado las condiciones de luz y nutricionales, esta espora germina y da origen a un tubo germinativo que penetra directamente a la cutícula o produce unas células apresoras que le dan una característica de mayor adherencia sobre el integumento del insecto (Khachatourians, 1996; Pucheta *et al.*, 2006).
- C) Penetración del integumento: la penetración de la cutícula del insecto por conidias germinadas ocurre como resultado de una combinación entre la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica por el tubo germinal, donde normalmente crecen en forma de levaduras llamadas cuerpos hifales o blastosporas, se produce un tubo germinativo y un apresorio, éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto, la penetración depende de las propiedades de la cutícula, grosor, esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales, por medio de la combinación de procesos físicos y enzimáticos, *M. anisopliae* tiene la capacidad de sintetizar enzimas hidrolíticas tales como proteasas, lipasas, amilasas y quitinasas, proceso que ocurre 48 horas post infección. (Pucheta *et al.*, 2006).

- D) Penetración: a través de cuerpos abiertos los hongos pueden infectar insectos a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas de un insecto, la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espora puede germinar rápido en este ambiente, los fluidos digestivos pueden destruir la espora o la hifa germinativa, la digestión de estructuras fúngicas puede causar la muerte por toxicidad más que por micosis. En condiciones secas los hongos pueden permanecer en latencia dentro del cuerpo de su hospedero por periodos largos de tiempo y bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad se estimula y germina para salir al exterior y producir conidias (Pucheta *et al.*, 2006; Téllez-Jurado *et al.*, 2009).
- E) Replicación en el hemocele: a las 96 horas post infección, convierten el crecimiento micelial en una fase de levadura o sea crecimiento por gemación, se producen toxinas y enzimas, aunque algunos hongos aparentemente no poseen toxinas, matan el insecto al consumir todos los nutrientes o por física destrucción, las toxinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos, pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido (Giménez-Peccia *et al.*, 2002; Moraes *et al.*, 2003). Si la disponibilidad de agua es alta los hongos emergen al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros insectos; si las condiciones no son favorables, queda dentro del cadáver del insecto, donde puede sobrevivir por algunos meses (Pucheta *et al.*, 2006).
- F) Dispersión de las esporas: puede ser un proceso activo o pasivo y depende de las características de la espora y el esporangio, cada conidia puede adherirse o pasar de un invertebrado a otro por dispersión (Smith *et al.*, 2000; Pucheta *et al.*, 2006).
- G) Muerte: esta se debe a las micotoxinas, cambios patológicos en el hemocele, acción histolítica y bloqueo mecánico del aparato digestivo, secundario al crecimiento de las hifas (Ojeda-Chi *et al.*, 2011).

H) Emergencia: se produce después de la muerte del insecto y cuando las condiciones de humedad relativa son adecuadas. La emergencia del micelio se realiza a través del tegumento, crece en la superficie y esporula después de 48 a 60 horas de la muerte del hospedero (Ojeda-Chi *et al*, 2011).

Se ha demostrado que *M. anisopliae* no causa efectos colaterales en los animales de sangre caliente ni al medio ambiente; se han realizado estudios en los que se demuestra que solo exhiben toxicidad en células de insectos y no en células humanas, bacterias o protozoarios. También es importante mencionar que en condiciones de campo *M. anisopliae* afecta específicamente a sus huéspedes blancos, reduciendo la posibilidad de afectar a otros organismos presentes en el campo (Ojeda-Chi *et al*, 2011).

Los hongos entomopatógenos en algunas de sus especies, pueden matar al hospedero mediante la acción tóxica, más que por la invasión del mismo a través del cuerpo del insecto, estas sustancias son metabolitos secundarios considerados como compuestos tóxicos a insectos; cuando los hongos patógenos logran el total reconocimiento de su hospedero, estos germinan y penetran la cutícula del insecto, para alcanzar el hemocele, sufren el ataque de las defensas por parte del hospedero, una del tipo químico, donde la unidad infectiva se ve deteriorada por una reacción de oxidación por los compuestos fenólicos que da como resultado la formación de una capa melanizada alrededor de los sitios de infección y otra de tipo mecánico (Pucheta *et al.*, 2006).

El efecto de las toxinas en la hemolinfa de los insectos, es la reducción de los movimientos de los componentes de la misma lo que impide una rápida formación de granulosis y permite la multiplicación del hongo dentro del hemocele (caso típico para las destruxinas), la parálisis al insecto pueden ser causadas por las citocalcinas. Los hongos entomopatógenos poseen la capacidad de sintetizar toxinas que son utilizadas en el ciclo de las relaciones patógeno-hospedero; las

toxinas (destruxinas, demetildestruxina y protodextruxina) son de suma importancia ya que se pueden sintetizar productos químicos de baja toxicidad y de elevada acción insecticida, acariciada y nematocida. Es posible también seleccionar aislamientos de hongos entomopatógenos altamente toxicogénicos que se encuentran en forma natural o bien ser mejoradas genéticamente con relación a ese aspecto (Pucheta *et al.*, 2006).

1.8.2 Ambiente – Hongo Entomopatógeno

Los factores ambientales cumplen una función esencial en la iniciación y desarrollo o en la prevención y supresión de las epizootias naturales afectando las condiciones fisiológicas del hospedante, su densidad y distribución espacial y temporal. Ellos forman un complejo de factores que interactúan entre si y entre los otros componentes del ambiente, siendo los más estudiados la temperatura y humedad relativa (Hajek, 1997; Pucheta *et al.*, 2006).

- ✓ Temperatura: la temperatura puede afectar la estabilidad de los patógenos en el almacenamiento, durante las aplicaciones en el campo y en su ocurrencia natural en el agroecosistema. Como el hongo entomopatógeno no posee condiciones biológicas para defenderse de las graves variaciones de temperatura, este factor puede ser, muchas veces, limitante para varios microorganismos. De modo general, la baja favorable de temperatura para los diferentes grupos de entomopatógenos varía entre 20 y 30 °C. Sin embargo, existe una temperatura ideal para cada patógeno y para cada fase del ciclo de las relaciones entre este y los hospedantes. La temperatura es uno de los factores abióticos más importantes para el hongo entomopatógeno, ya que puede afectar la germinación de las esporas, el desenvolvimiento y penetración del tubo germinativo y la colonización y reproducción. Las exigencias térmicas de los hongos son variables en función de la especie, cepa y fase del desarrollo. El desarrollo de la enfermedad fúngica en los insectos puede ser perjudicado por temperaturas superiores a 30°C (Hajek, 1997; Pucheta *et al.*, 2006).

- ✓ Humedad relativa y precipitación: es un factor de gran importancia, tanto para el hospedante como para el patógeno. Ella es necesaria para las diferentes fases del ciclo de las relaciones entre ambos organismos. Así ella actúa sobre la germinación, penetración y es indispensable para la reproducción del hongo entomopatógeno. Por otro lado, mientras que la temperatura afecta la velocidad del proceso de la enfermedad, la falta de humedad adecuada puede perjudicar a una epizootia. En relación con los hongos, se ha observado que a medida que la humedad relativa disminuye, puede aumentar la temperatura media letal para los conidios. En general varios patógenos no toleran humedades elevadas durante la fase de almacenamiento. La forma y el momento de liberación de los inóculos al medio puede jugar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad a campo, y es influenciado por factores climáticos como la humedad relativa y la luz (Pucheta *et al.*, 2006).
- ✓ Radiación solar: la sensibilidad de los patógenos a la radiación ultravioleta puede variar en función de la especie y cepa del patógeno. Los estudios indican que los hongos entomopatógenos presentan gran sensibilidad a la radiación solar (Pucheta *et al.*, 2006).

1.8.3 Factores que afectan el estado fisiológico de los conidios

La edad es uno de los factores que afectan a los conidios, ya que mientras más jóvenes sean existe una mayor germinación en comparación con los conidios antiguos. El agua favorece la germinación inicial de los conidios. La rehidratación de los conidios es vital en las primeras 48 horas ya que, en condiciones de estrés, se produce poco manitol y los conidios ya no pueden tolerar altas temperaturas (Ojeda-Chi *et al.*, 2011).

El efecto y crecimiento de los conidios cuando se aplican en condiciones de campo, lo limitan los factores medioambientales que favorecen la pérdida de humedad, limitando su crecimiento y efecto. Por lo anterior se utiliza aceite vegetal como adhesivo entre los conidios y la cutícula de los artrópodos, para reducir la

evaporación de agua e incrementar la viabilidad de los primeros (Ojeda-Chi *et al*, 2011).

1.9 OBJETIVO

El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia de la cepa *Metarhizium anisopliae* Ma 198 sobre la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* del ganado bovino del municipio de Arteaga, Michoacán, por medio de baños de aspersión.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2. 1 Reproducción del hongo *Metarhizium anisopliae* Ma 198

El cultivo del hongo se realizó en el laboratorio del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. La cepa Ma198 de hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* se encuentra depositada en la Colección de Hongos Entomopatógenos de la Universidad de Colima.

Los hongos fueron cultivados en agar dextrosa Sabouraud (SDA), con 1% de extracto de levadura y con 500 ppm de cloranfenicol, incubados en 25°C y 70% de humedad relativa durante tres semanas (Ramírez, *et al.*, 2012) y los conidios fueron extraídos para obtener una concentración de 1×10^8 conidios/ml, la cual se diluyó en 0.1% de Tween 80 y se agitaron durante 3 minutos.

En la reproducción de los hongos se utilizaron bolsas de poli papel con 250g de arroz entero previamente lavado y tratado con 500 ppm de cloranfenicol, se esterilizó en autoclave durante 15 minutos. Se inoculó cada bolsa con 10 ml de suspensión con conidios, y se incubaron a una temperatura de 25°C y 70% de humedad relativa durante 21 días (Ramírez, *et al.*, 2012).

Para la recolección de los conidios se utilizó tierra de diatomea, la cual se agregó a cada bolsa para separar las esporas del arroz, la separación se hizo mediante dos recipientes grandes y en medio se colocó un cedazo el cual permitió el paso de las esporas únicamente, una vez colectadas las esporas se almacenaron en refrigeración hasta su uso.

2. 2 Cuantificación de conidios

Los conidios se colectaron en una dilución de agua destilada estéril y Tween 80, se cuantificaron en una cámara de Neubauer y mediante la dilución se logró la concentración de 1×10^8 conidios/ml, misma que se utilizó para asperjar a los bovinos.

2. 3 Descripción de la zona de estudio

2. 3. 1 Localización

El estudio se realizó en el Rancho Las Ollas, La Soledad, La Parota de Las Ollas y El Puerto de La Mina, situadas en el municipio de Arteaga, Michoacán (figura 4), ubicado en las coordenadas 18° 21' latitud norte y 102° 17' longitud oeste; a una altura de 820 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2009).



Figura 4. Ubicación de los ranchos experimentados en el municipio de Arteaga, Michoacán (Tomado de INEGI, 2009).

2. 3. 2 Clima

Arteaga es un municipio con clima tropical con lluvia en verano y seco, sin cambio térmico invernal bien definido. La temperatura media anual es de 26°C, con máxima de 34°C y mínima de 16.4 °C. El régimen de lluvias se registra entre los meses de junio a octubre, con una precipitación media de los 546.5 milímetros (INEGI, 2009).

2. 3. 3 Suelo

Corresponden principalmente a los del tipo castaño de pradera, café grisáceo y amarillo. Su uso es primordialmente ganadero y en menor escala forestal y agrícola (INEGI, 2009).

2. 3. 4 Estructura y manejo del hato

El hato la Soledad está compuesto por un total de 46 bovinos, las Ollas 36 bovinos, La Parota de Las Ollas 40 bovinos y el Puerto de la Mina 22 bovinos, las razas que predominan son: Simmental, Suizo, Charolais y Brahmán. Los ranchos manejan un sistema de explotación extensivo, la alimentación del ganado es basada en el consumo directo de pastos nativos y mejorados como guinea, llanero y estrella africana. En cada hato los animales se dividieron en dos grupos homogéneos, en uno se utilizó la cepa Ma198 mediante baños de aspersión y el otro sirvió como testigo utilizando el Inex-A aplicado en baños de aspersión.

2. 3. 5 Aplicación del tratamiento

Cada hato se dividió en dos grupos, en uno se aplicó el hongo Ma198 y el segundo fue el grupo testigo. Antes de aplicar los tratamientos los animales se encerraron e inmovilizaron, luego fue seleccionado el lado derecho de cada animal del hato, para cuantificar el número de garrapatas visibles con distinción de estadios, desde la cabeza hasta la cola y la cara interna de la cola. Los conteos se repetían cada 8 días, durante 6 veces consecutivos. Los tratamientos se aplicaron con bombas de aspersión después de las 5 de la tarde a una temperatura ambiental de 24°C en promedio. Los grupos con el tratamiento se asperjaron con la suspensión de conidias de hongo *Metarhizium anisopliae* a una concentración de 1×10^8 conidias/ml. Se utilizaron 10 g de esporas para 20 litros de agua y 20 ml de Inex-A. Al grupo testigo se le aplicó 1 ml de Inex-A por cada litro de agua. El baño se realizó a favor del viento en contra de la dirección del pelo.

2. 3. 6 Análisis estadístico

Las garrapatas adultas y juveniles del grupo tratado con la cepa Ma198 y testigo fueron contabilizados y comparadas usando el modelo Lsmeans para ver las diferencias a través de los conteos entre grupos (SAS). Se consideró un nivel de significancia de $P > 0.05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Rancho Las Ollas, la carga inicial fue de 40 vs 28 garrapatas juveniles y adultas promedio por animal para los tratamientos con hongos y testigo respectivamente. En la tercera aplicación, en los bovinos tratados con la cepa *M. anisopliae* se le registró una carga de 0 garrapatas (Figura 5) y al grupo testigo una carga de 25 garrapatas en promedio por animal, finalizado el tratamiento la cepa *M. anisopliae* tuvo una eficacia del 99.9 % en el rancho (Cuadro 2).

Cuadro 2. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y el grupo testigo en el rancho las Ollas.

Grupo Tratamiento			Grupo Testigo		
Baño	Conteo	Promedio	Baño	Conteo	Promedio
1	1 y 2	40	1	1 y 2	28
2	3 y 4	10	2	3 y 4	26
3	5 y 6	0	3	5 y 6	25



Figura 5. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado



Figura 6. Promedio de garrapatas de los conteos semanales en el Rancho Las Ollas, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y en el grupo testigo.

En el Rancho La Soledad, la carga inicial fue de 54 vs 77 garrapatas adultas y juveniles promedio por animal para los tratamientos con hongo y testigo respectivamente. En la tercera aplicación, en los bovinos tratados con *M. anisopliae* se le registró una carga de 3 garrapatas adultas y juveniles (Figura 7), al grupo testigo una carga de 68 garrapatas adultas y juveniles en promedio por animal, finalizado el tratamiento la cepa *M. anisopliae* tuvo una eficacia de 98.4% en el rancho (Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y el grupo testigo en el rancho La Soledad.

Grupo Tratamiento			Grupo Testigo		
Baño	Conteo	Promedio	Baño	Conteo	Promedio
1	1 y 2	54	1	1 y 2	77
2	3 y 4	7	2	3 y 4	81
3	5 y 6	3	3	5 y 6	68



Figura 7. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado.

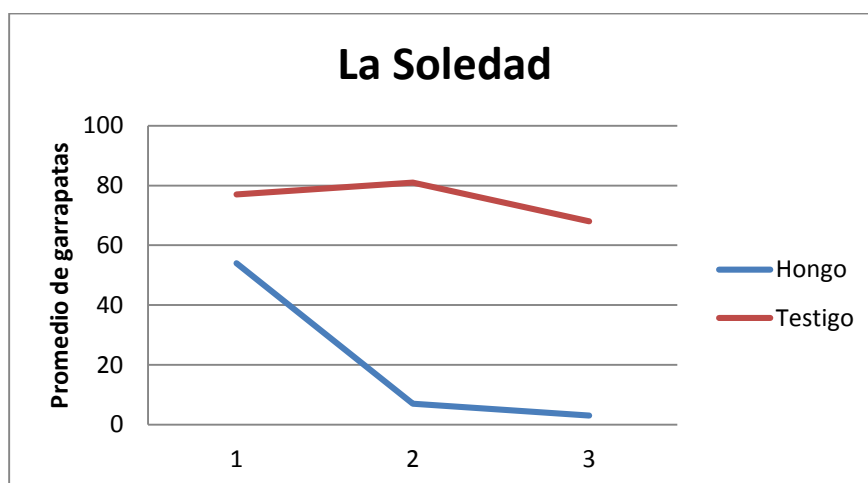


Figura 8. Promedio de garrapatas de los conteos semanales en el rancho La Soledad, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y el grupo testigo.

En el Rancho La Parota de Las Ollas, la carga inicial fue de 109 vs 81 garrapatas adultas y juveniles promedio por animal para los tratamientos con hongos y testigo respectivamente. En la tercera aplicación, en los bovinos tratados con *M. anisopliae* se le registró una carga de 3 garrapatas adultas y juveniles (Figura 9), al grupo testigo una carga de 68 garrapatas adultas y juveniles en promedio por

animal, finalizado el tratamiento la cepa *M. anisopliae* tuvo una eficacia de 98.9% en el rancho (Cuadro 4).

Cuadro 4. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y el grupo testigo en el rancho la Parota de las Ollas.

Grupo Tratamiento			Grupo Testigo		
Baño	Conteo	Promedio	Baño	Conteo	Promedio
1	1 y 2	109	1	1 y 2	81
2	3 y 4	35	2	3 y 4	69
3	5 y 6	3	3	5 y 6	68



Figura 9. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado.

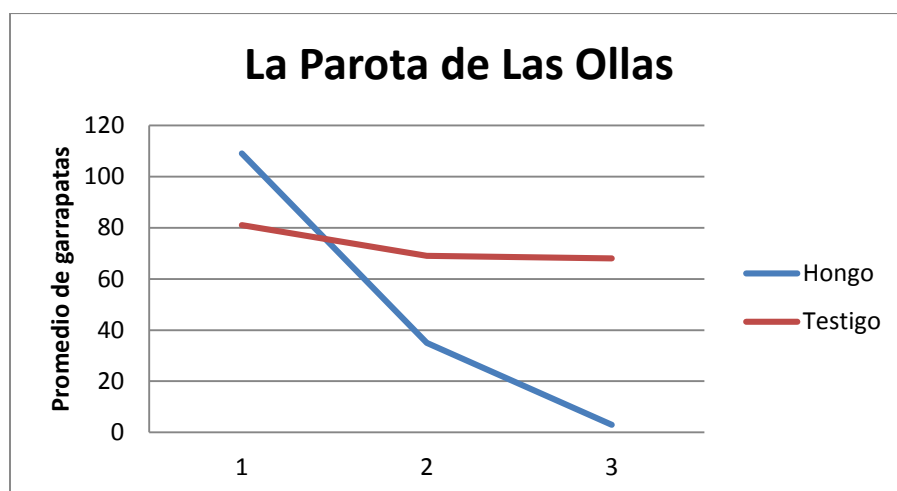


Figura 10. Promedio de garrapatas de los conteos semanales en el Rancho La Parota de las Ollas, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y el grupo testigo.

En el Rancho Puerto de la Mina, la carga inicial fue de 41 vs 63 garrapatas adultas y juveniles promedio por animal para los tratamientos con hongos y testigo respectivamente. En la tercera aplicación, en los bovinos tratados con *M. anisopliae* se le registro una carga de 3 garrapatas adultas y juveniles (figura 11), al grupo testigo una carga de 53 garrapatas adultas y juveniles en promedio por animal, finalizado el tratamiento la cepa *M. anisopliae* tuvo una eficacia de 98.6% en el rancho (cuadro 5).

Cuadro 5. Promedio de garrapatas de los conteos semanales, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y el grupo testigo en el rancho Puerto de la Mina.

Grupo Tratamiento			Grupo Testigo		
Baño	Conteo	Promedio	Baño	Conteo	Promedio
1	1 y 2	41	1	1 y 2	63
2	3 y 4	5	2	3 y 4	54
3	5 y 6	3	3	5 y 6	53

Figura 11. Número de garrapatas iniciando el tratamiento y finalizado.

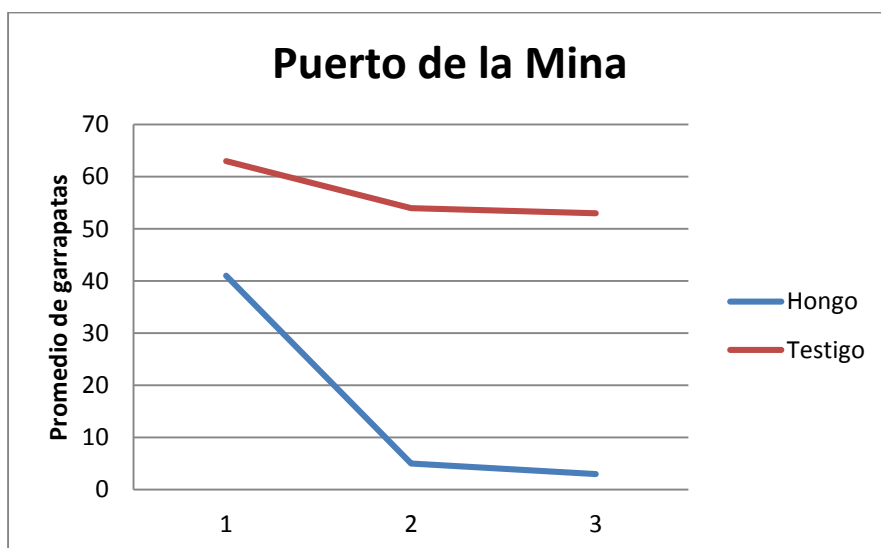


Figura 12. Promedio de garrapatas de los conteos semanales Rancho el Puerto de la Mina, en el grupo tratado con *M. anisopliae* y el grupo testigo.

El promedio general de garrapatas en los cuatro ranchos experimentados del municipio de Arteaga Michoacán fue de 61 garrapatas al inicio y 2 al final lo que nos indica una eficacia significativa del hongo *M. anisopliae* del 98.2%.

El trabajo realizado en campo en Arteaga, a los 7 días post-aplicación de la cepa Ma198 en el cual se obtuvo una eficacia del 90% sobre garrapatas adultas y juveniles en concentración de 1×10^8 conidios por ml, mientras que en el grupo testigo hubo una reducción del 10%, Frazzon (2000), menciona que la cepa *M. anisopliae* es capaz de matar hasta el 100% de hembras adultas repletas a las dosis de 1×10^8 y 1×10^9 conidios por ml, aplicado por aspersión en los primeros tres días a la concentración más alta, a la concentración de 1×10^8 conidios por ml, el 100% se alcanza hasta los ocho días.

En Arteaga, Michoacán se observaron valores satisfactoriamente a los 38 días post-aplicación en el Rancho Las Ollas se obtuvo una eficacia del 99.9% empleando el hongo *M. anisopliae* sobre la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, en este rancho se observa que en la tercera aplicación del hongo no hubo presencia de garrapatas probablemente haya influenciado la raza de los bovinos y factores ambientales como la humedad y temperatura, probablemente las garrapatas en este rancho presentaron mayor susceptibilidad al hongo (imagen 5), los autores Fernandez y Bittencourt (2008), mencionan que la patogenicidad de *M. anisopliae* sobre la garrapata está influenciada por factores ambientales como la temperatura, humedad y radiación solar, en el animal temperatura de la piel y las secreciones de la piel, los cuales influyen en el nivel de infección del hongos que realiza la función de penetrar y germinar en la garrapata. En el Rancho La Soledad se obtuvo una eficacia de 98.4%, La Parota de Las Ollas fue de 98.6% de eficacia y el Puerto de La Mina 98.6% de eficacia en el control de garrapatas juveniles y adultas, en el grupo testigo se observaron pocas muertes debido a que el Inex-A se fija en el cuerpo y así tapa los poros (espiráculos) por donde entra el aire de las garrapatas y este tratamiento se realizó para que ambos grupos tuvieran la misma familiaridad y probablemente en los conteos algunas garrapatas

adultas se bajaron a ovipositar, con estos resultados se muestra que empleando el hongo *M. anisopliae* para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se obtiene una eficacia del 98.2% en promedio entre los 4 ranchos, estos resultados obtenidos en Arteaga son similar a los de Valdez (2014), quién demostró bajo condiciones de campo que la cepa Ma198 mostro un resultado de 97.5% de eficacia en garrapatas adultas y juveniles del género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en los municipios de Queréndaro, Indaparapeo y Tzitzio, Michoacán.

Rodriguez-Alcozer (2014), en un estudio reciente realizado en Yucatán utilizaron la cepa Ma34 bajo condiciones de campo similares a las que se realizaron en este trabajo, obteniendo una eficacia significativa que va de 30.9 a 87.7 % en garrapatas juveniles y adultas del género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, en Veracruz Alonso-Díaz (2007), realizo el mismo estudio obtuvo eficacia de 40 a 90% aplicando el hongo *M. anisopliae* cepa Ma34 en baños de aspersión sobre bovinos infestados en campo con garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y en Colombia López (2009), aplicando *M. anisopliae* cepa 137 observo una disminución del 75% en la infestación de garrapatas en los animales a las dos semanas de haber iniciado el tratamiento.

4. CONCLUSIÓN

- ✓ La cepa Ma 198 *Metarhizium anisopliae* resulto efectiva para el control biológico de garrapatas adultas y juveniles del género *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*.
- ✓ La cepa Ma 198 *Metarhizium anisopliae* puede ser una alternativa en el control de la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* para evitar el uso continuo de productos químicos y reducir los costos por tratamientos.

5. BIBLIOGRAFIA

Alonso-Díaz, M.A.; García, L.; Galindo-Velasco, E.; Lezama-Gutiérrez, R.; Angel-Sahagún, C.A.; Rodríguez-Vivas, R.I. y Fragoso-Sánchez, H. 2007. Evaluación de *Metarhiziumanisopliae* (Hyphomycetes) para el control de *Boophilusmicroplus*(Acari: Ixodidae) en el ganado infestado naturalmente en el trópico mexicano.

Veterinariaparasitología.[Enlínea]Availableat:<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401707001811> [consulta: 20 mayo 2015].

Barandika, I. J. F. 2010. Las garrapatas exófilas como vectores de agentes zoonóticos: estudio sobre abundancia y actividad de las garrapatas en la vegetación, e investigación de la presencia de agentes patógenos en garrapatas y micromamíferos. (Tesis doctoral). Universidad de León. Facultad de Veterinaria. España.

Barrera, J. F. 2007. Introducción, filosofía y alcance del control biológico. Ed. Teoría y aplicación del control biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. México.P. 1-18.

Bazán, T.M. 2002. Efecto de *Metarhiziumanisopliae*(Deuteromycotina: Hyphomycetes) en el control biológico de *Boophilusmicroplus*canestrini (Acari: Ixodidae) en el ganado bovino estabulado. (Tesis Maestría). Universidad de Colima. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Tecomán, Colima.

Bittencourt, V.R.E.P. 2000. Trials to control south american ticks with entomopathogenic fungi. *Annals of the New York Academy of Sciences*.(916): 555-558.

Broglio-Micheletti, S.M.F; De Souza, L.A; Valente, E.C.N; De Araujo, M.J.C; Díaz, N.S y Gómez, T. M. L. 2012. Evaluación de hongos entomopatógenos como

agentes de control biológico para *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Canestrini)* (*Acarí: Ixodidae*). *Idesia*. 30 (1): p. 93-99.

Castellanos, H.J.L. 1993. Importancia sanitaria y económica de las garrapatas. En: Programa de acreditación de MVZ: Campaña contra la garrapata. Normas y Procedimientos. SARH, CNMVZM, México, D.F.p.36-45.

CONASA, 2008. Plan estratégico de la campaña nacional contra la garrapata *Boophilus*spp. EN MÉXICO. www.conasamexico.org.mx/conasaplanestratgarrap. [Consultado: 25 de mayo 2015].

Cordero del Campillo, M.; Rojo, V.F.A.; Quiroz, R.H.; Martínez, F.A.R.; Sánchez, A.C.; Navarrete, L.I. y Díez B.P. 1999. Parasitología Veterinaria. Edit. Mc Graw Hill. Interamericana.p.420-460.

Cupp, E.W. 1991. Biology of ticks. *Veterinary Clinics of North America*. 21 (1):1-26.

Eilenberg, J. Hajek y Lomer, C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*. 46: p. 387-400.

FAO. 2004. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Población bovina mundial. [En línea] Available at: <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/eeb/pobo.htm> [consulta: 3 de julio 2015].

FAO. 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. [En línea] Available at: <http://www.fao.org/americas/perspectivas/es/> [consulta: 25 de junio 2015].

Fernandez, K. K. E. y Bittencourt, R. E. P. V. 2008. Entomopathogenic fungi against South American ticks species. *Experimental of Applied Acarology*. 46: 71-93.

Fernandez, K. K. E.; Bittencourt, R. E. P. V y Roberts, D. W. 2012. Perspectivas sobre el potencial de los hongos entomopatógenos en el control biológico de las garrapatas. *Parasitología Experimental*. 130 (3): p. 300-305.

Frazzon, A.P.G.; Vaz, I.D.; Masuda, A.; Schrank, A. y Vainstein, M.H. 2000. In vitro assessment of *Metarhiziumanisopliae* isolates to control the cattle ticks *Boophilusmicroplus*. *VeterinaryParasitology*. 94 (1-2): 117-125.

García, P. J. L. 2011. Evaluación de las propiedades acaricidas de *Pipercrassinervium* Kunth. *Piperaequale* (Piperaceae) sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. Colombia.

Garrís, G.I. 1991. Control of Ticks. [En Línea] Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561691500176> [consulta: 16 Agosto del 2015].

Giménez-Peccia, M. P.; Bogo, M. P.; Santi, L.; Morales, K. C.; Correa, T. C.; Vainstein, H.M. y Schrank, A. 2002. Characterization of mycoviruses and analices of chitinase secretion in the biocontrol fungus *Metarhiziumanisopliae*. *CurrentMicrobiología*. 45: p. 334-339.

González, G.J.J. 2006. Evaluación de técnicas para determinar el grado de infestación de garrapatas en potreros del municipio de Tiquicheo de La región de tierra caliente Michoacán. (Tesis Licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Morelia, Michoacán.

Guzmán-Cornejo, C. y Robbins, R.G. 2010. The genus *Ixodes* (Acari: Ixodidae) in Mexico: adult identification keys, diagnoses, hosts, and distribution. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 81: p. 289-298.

Guzmán-Cornejo, C.; Robbins R.G. y Pérez T.M. 2007. The *Ixodes* (Acari: Ixodidae) of Mexico: paratite-host and host-parasite checklists. *Zootaxa*. 1553:43-58.

Hajek, A.E. 1997. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. *Advances in Microbial Ecology*. 15.

Hoskins, J.D. 1991. Ixodid and argasid ticks: Keys to their Identification. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 21(1): p. 185-197.

Hassanain, M.; El-Garby, M.; Abdel-Ghaffar, F.; El-Sharaby, A. y Abdel-Meged, K.1997. Biological control studies of soft and hard ticks in Egypt. The effect of *Bacillus thuringiensis* varieties of soft and hard tick (*Ixodidae*). Pub-Med.gob. [En línea] Available At: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9089714> [consulta: 3 de marzo 2015].

Hokkanen, H.M. T. 1985. El éxito en el control biológico clásico. Critical Reviews in Plant Sciences. 3 (1).

Hill, E. 1998. Entomopathogenic nematodes as control agents of development stages of the black legged tick: *Ixodes scapularis*. Diario de parasitología. [En línea] Available at: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/3284660?uid=3738664&uid=2&uid=4&sid=21104307252141> [consulta: 3 de agosto 2015].

Hugh-Jones, M. 1991. The remote recognition of tick habitats. Journal. Agric. Entomologia. 8 (4): p. 309-315.

INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Arteaga, Michoacán de Ocampo.

Jonsson, N.N. 1997. Control of cattle ticks (*Boophilus microplus*) on Queensland dairy farms. Australian Veterinary Journal. 75 (11): p. 802-807.

Jonsson, N. N.; Matschoss, A.; Pepper, P.; Green, P.; Albrecht, M.; Hungerford, J.; Ansell, J. 2000. Evaluation of tickGARD Plus; a novel vaccine against *Boophilus microplus*; in lactating Holstein-Friesian cows. Pub-Med.gob. [En línea] Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10714465> [Consulta: 4 de marzo 2015].

Jonsson N. N. 2006. Control of cattle ticks (*Boophilus microplus*) on Queensland dairy farms. Australian Veterinary Journal. 75:802-807.

Kaaya, G.P. y Hassan S. 2000. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. Experimental and Applied Acarology. [En línea] Available at: http://www.nhm.ac.uk/hosted_sites/acarology/saas/elibrary/pdf000200/a000169.pdf [consulta: 4 de julio 2015].

Khachatourians, G. G. 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. In Howard DH, Miller JD. The Mycota. 6.

Krantz, G. W. y E. D. Walter. 2009. A manual of acarology. Texas Tech University Press.

Lindquist, E. E.; Krantz, G.W. y Walter D.E. 2009. Classification. En: A Manual of Acarology. 3rd ed. Texas Tech University Press, Lubbock, TX, USA. P 807.

López, E.; López G. y Orduz S. 2009. Control de la garrapata *Boophilus microplus* con *Metarhizium anisopliae*, estudios de laboratorio y campo. Revista Colombiana de Entomología. 35 (1) 42-46.

Louda, S. M.; Pemberton, M T. y Follet, P. A. 2003. Nontarget effects the Achilles heel of biological control retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. Revista de Entomología. 48:365-396.

Moraes, C.K.; Schrank A. y Vainstein, M.H. 2003. Regulation of extracellular chitinase and proteases in the entomopathogen and acaricide *Metarhizium anisopliae*. Current Microbiol. 46 (3): 205-210.

Muir, D.; Mertin, P.; Kendall, K. y Malik, R. 1998. Invasive hyphomycotic rhinitis in a cat due to *Metarhizium anisopliae*. Medical Mycology. 36.

NOM-EM-004-ZOO/1994. Norma Oficial Mexicana de Emergencia. 05-19-95. Campaña Nacional contra la garrapata *Bhoophilus* spp. www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp.

Ocádiz G.T. 1995. Epidemiología en los Animales Domésticos para el Control de Enfermedades. (2ª ed) Ed. Trillas. México, D.F. p. 178-182.

Ojeda- Chi,M.M; Rodríguez, V.R.I; Galindo, V.E; Lezama, G.R; Cruz, V.R. 2011. Control de *Rhipicephalusmicroplus*(Acari: *Ixodidae*) mediante el uso de hongo entomopatógeno *Metarhiziumanisopliae*(Hypocreales: *Clavicipitaceae*). Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. 2 (2).

Pucheta, D. M.; Flores, M. A.; Rodríguez, N. S. y De la Torre, M. 2006. Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos. Interciencia. 31 (12): p. 856-859.

Prates, H.; Leite, B.R.; Craveiro, C.A. y Oliveira, D.A. 1998. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilusmicroplus*). Revista de la Sociedad Química de Brasil. 9 (2).

Quiroz, R.H. 2005. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Ed. Limusa. Mexico, D.F. p. 757-767.

Revankar, S. G.; Sutton, D. A.; Sanchez, S.; Rao. J.; Zervos, M.; Dashti, F. y Rinald, M. G. 1999. *Metarhiziumanisopliae* as a cause of sinusitis in immunocompetent hosts. Journal of Clinical Microbiology. 37 (1): p. 195-198.

Ramírez, M.A.; Lezama, G.R.; Rebolledo, M.G.; Rebolledo, D.O. 2012. Uso de hongos entomopatógenos *Metarhiziumanisopliae*. Seminario de Investigación I. Universidad de Colima, Facultad De Ciencias Biológicas Y Agropecuarias. Octubre 2012.

Rodríguez-Alcocer, U. J.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Ojeda, C. M. M.; Galindo-Velasco, E. y Lezama-Gutiérrez, R. L. 2014. Eficacia de la mezcla de dos cepas de *Metarhiziumanisopliae*(Deuteromycotina: Hyphomycetes) para el control de *Rhipicephalusmicroplus* en infestaciones naturales en bovinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 17: 223-229.

Rodríguez, L.S. 2005. Productos químicos utilizados en el control de la garrapata *Boophilus*spp. (Tesis de Licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Morelia, Michoacán.

Rodríguez-Vivas,R.I.; Basto, E.G.; Fragoso, S.H.; Garcia, V.Z.S.; Rosado, A.A. y Rosario, C.R. 2006. Manual técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino. Parasitología Veterinaria. 1: p. 8-10.

Rodríguez-Vivas, R.I.; Rivas, A.L.; Chowell, G.; Fragoso, S.H.; Rosario, C.R. y García, Z. 2007. Spatial distribution of acaricide profiles (*Boophilusmicroplus*strains susceptible or resistant to acaricides) in southeastern Mexico. Pub-Med.gob. [En línea] Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17349747> [Consulta: 4 de septiembre 2015].

Rodríguez-Vivas, R. I.; Ojeda-Chi. M. M.; Pérez, C. L. C. y Rosado, A. J. A. 2011. Epidemiología y control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México. Capítulo 33. En: Epidemiología en enfermedades parasitarias en animales domésticos. México. pp. 477-504.

Rodríguez-Vivas, R.I.; Rosado, A.J.A.; Ojeda-Chi, M.M.; Pérez, C.L.C.; Trinidad, M.I. y Bolio, G. M.E. 2014. Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina.1 (3): p. 1-15.

SINIIGA, 2015. Sistema Nacional de Identificación Individual de Ganado. Estadística Pecuaria. [En línea] Available at: <http://www.pgn.org.mx/index.php/estadistica-pecuaria> [consulta: 4 de marzo 2015].

Schleske, M.C.I. 2011. Prevalencia de unidades de producción con garrapatas *Rhipicephalus (boophilus) microplus* resistentes a amidinas y factores de riesgo asociados a su presentación en la región centro del estado de Veracruz. (Tesis Maestría). Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria Y zootecnia. Veracruz, Veracruz.

Smith, K. E.; Wall, R. y French, N.P. 2000. The use of entomopathogenic fungi for the control of parasitic mites, *Psoroptesspp.* Veterinary. Parasitology. 92 (2):97-105.

Téllez-Jurado, A.; Cruz, R. M.G.; Mercado, F. Y.; Asaff, T. A. y Arana-Cuenca, A. 2009. Mecanismo de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. Revista Mexicana de Micología. 30.

Valdez, M.E. 2014. Evaluación de la eficacia de *Metarhiziumanisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* en huevos y adultos de garrapatas en la región de tierra caliente, Michoacán. (Tesis de Maestría). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Morelia, Michoacán.

Vargas, M.; Gordillo-Pérez, G.; Solórzano, F.; Rivera, A.; Polaco, O. J.; Muñoz, O. y Torres, J. 2007. Evidencias de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas del Noreste de México. Entomología Mexicana. 6(2):830-835.

