



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

COMPLEJO REGIONAL CENTRO, SEDE LOS REYES DE
JUÁREZ
INGENIERÍA EN AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA

Efecto de *Metarhizium anisopliae* (MaV25) sobre el control simultáneo de *Rhipicephalus microplus* y *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente en el trópico de México

DANIEL ROBERTO MORGADO RAMÍREZ

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN INGENIERÍA AGRONÓMICA Y ZOOTECNIA

Los Reyes de Juárez, Puebla, Puebla, octubre
2021

La presente tesis titulada: **Efecto de *Metarhizium anisopliae* (MaV25) sobre el control simultáneo de *Rhipicephalus microplus* y *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente en el trópico de México**, realizada por el alumno: **Daniel Roberto Morgado Ramírez** ha sido revisada y aprobada por el siguiente Consejo Particular, para obtener el título de:

LICENCIADO EN INGENIERÍA AGRONÓMICA Y ZOOTECNIA

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR INTERNO

D.C. JENNIFER PÉREZ MARTÍNEZ

DIRECTOR EXTERNO

D.C AGUSTÍN FERNÁNDEZ SALAS

ASESOR:

D.C. MIGUEL ÁNGEL ALONSO DÍAZ

Los Reyes de Juárez, Puebla, octubre 2021

AGRADECIMIENTO

Quisiera comenzar expresando mi gratitud al D.C. Agustín Fernández Salas quien es el principal responsable de la realización de este trabajo, siendo mi asesor y un gran amigo, sin su ayuda probablemente jamás se habría llegado a este punto.

Al CEIEGT de la FMVZ-UNAM y a su director el D.C. Miguel Ángel Alonzo Diaz por abrirnos las puertas de la institución y facilitar todo lo que fue necesario para esta investigación.

A la D.C. Jennifer Pérez Martínez por su ayuda y guía para la culminación de este trabajo.

Muchas gracias a todos.

DEDICATORIA

A mis padres por su amor, trabajo y apoyo incondicional durante todos estos años y durante mi formación académica, son la base indiscutible de todo lo que he podido lograr y lo seguirán siendo durante toda mi vida.

A los doctores que me han apoyado y han hecho que este trabajo se realice con éxito, nuevamente gracias por compartir sus conocimientos.

CONTENIDO

INDICE

I	INDICE DE FIGURAS	VII
II	INDICE DE CUADROS	VIII
III	RESUMEN	IX
IV	ABSTRAC.....	X
V	INTRODUCCIÓN.....	11
VI	REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
6.1	Importancia de la ganadería bovina.....	13
6.2	Garrapatas	13
6.2.1	Garrapatas en México y su distribución	14
6.3	<i>Rhipicephalus microplus</i> y su ciclo biológico.....	15
6.4	Importancia económica de <i>Rhipicephalus microplus</i>	17
6.5	Moscas.....	17
6.6	<i>Hematobia irritans</i>	17
6.6.1	Hábitos alimenticios de <i>H. irritans</i>	18
6.6.2	Ciclo de vida de <i>H. irritans</i>	18
6.6.3	Impacto económico de <i>H. irritans</i>	19
6.7	Métodos para el control de garrapatas y moscas.....	19
6.8	Resistencia química de los ectoparásitos	20
6.9	Control alternativo	21
6.10	Hongos entomopatógenos	21
6.11	<i>Metarhizium anisopliae</i>	22
6.11.1	Mecanismo de acción de <i>M. anisopliae</i>	23
6.12	Antecedentes en el control de garrapatas y moscas	24
VII	HIPÓTESIS.....	27
VIII	OBJETIVO GENERAL	27
8.1	Objetivos Específicos	27
IX	MATERIAL Y MÉTODOS	27
9.1	Área de Estudio	27
9.2	Obtención de la cepa MaV25	28
9.3	Producción de conidias y preparación del inóculo.....	28
9.4	Animales y diseño experimental.....	29
9.5	Conteo de ectoparásitos.....	30

9.6	Análisis estadístico	30
X	RESULTADOS.....	31
XI	DISCUSIÓN.....	34
XII	CONCLUSIONES.....	37
XIII	LITERATURA CITADA	38

I INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>R. microplus</i> y otras garrapatas en México.	15
Figura 2. Ciclo biológico de <i>R. microplus</i>.....	16
Figura 3. Etapas de infección y mecanismos de acción de <i>Metarhizium anisopliae</i> sobre garrapatas.	24
Figura 4 Comportamiento de los diferentes tratamientos (MaV25, Bayticol^{M.R.} y control), durante las cinco aplicaciones realizadas para el control de <i>Rhipicephalus microplus</i>.....	32
Figura 5. Comportamiento de los diferentes tratamientos (MaV25, Bayticol 3% y control), durante las cinco aplicaciones realizadas para el control de <i>Haematobia irritans</i>.....	34

II INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Primeros informes de casos de resistencia de <i>Rhipicephalus microplus</i> a los acaricidas y lactonas macrocíclicas.	20
Cuadro 2. Primeros informes de casos de resistencia de <i>Haematobia irritans</i> a los mosquicidas químicos.	21
Cuadro 3. Estudios in vitro y a nivel de campo del efecto de hongos entomopatógenos sobre el control de <i>R. microplus</i>	25
Cuadro 4. Estudios in vitro y a nivel de campo del efecto de hongos entomopatógenos sobre el control de <i>H. irritans</i>	26
Cuadro 5. Efectividad de <i>Metarhizium anisopliae</i> cepa MaV25 y Bayticol ^{M.R.} sobre el control de <i>Rhipicephalus microplus</i>	31
Cuadro 6. Efectividad de <i>Metarhizium anisopliae</i> cepa MaV25 y Bayticol ^{M.R.} sobre el control de la mosca <i>Haematobia irritans</i>	33

III RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (cepa MaV25) para el control simultáneo de la garrapata *Rhipicephalus microplus* y la mosca *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente. MaV25 fue aislada originalmente de suelos de unidades de producción bovina y está depositada en la colección micológica del Laboratorio de Sanidad Animal del CEIEGT-FMVZ-UNAM. Se utilizaron 30 vacas F1 (Holstein x Cebú) que se dividieron en tres grupos experimentales de 10 animales cada uno. La finalidad zootécnica de las vacas es la producción de leche, sin embargo, estas se encontraban en periodo seco, en pastoreo y sin tratamiento contra ectoparásitos por tres meses. Los grupos fueron balanceados de acuerdo al peso y las cargas de garrapatas. Un grupo fue tratado con una solución de MaV25 en agua y Tween 80 al 0.1% a una concentración de 1×10^8 conidias/mL. Otro grupo se trató con una Flumetrina al 3% (control positivo). El tercer grupo se trató solo con agua y Tween 80 al 0.1% (control negativo). La aplicación de los tratamientos se realizó por aspersión manual (5 L por animal) los días 0, 15, 30, 45 y 60 por la tarde entre 6 y 7 pm. Para evaluar la eficacia de los tratamientos se realizó el conteo de ectoparásitos cada semana durante 10 semanas. Se contabilizaron las garrapatas de más de 4.5 mm presentes en el lado izquierdo de cada animal y se obtuvo el total de acuerdo a la técnica descrita por Wharton y Utech (1970). El conteo de las moscas se realizó los mismos días post-tratamiento, pero a las 7 am en el potrero, siguiendo el método descrito por Guglielmone (1997). MaV25 tuvo un comportamiento variable durante el experimento, mostro una eficacia de hasta 83% para el caso de garrapatas y de hasta 26.5% para mosca, sin embargo, solo hubo efecto significativo ($p < 0.05$) para garrapatas. Después de cada aplicación, las cargas de garrapatas disminuyeron, observándose mejor después de la segunda dosis.

IV ABSTRAC

The objective of this work was to evaluate the efficacy of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (strain MaV25) for the simultaneous control of the tick *Rhipicephalus microplus* and the fly *Haematobia irritans* in naturally infested cattle. MaV25 was originally isolated from soils of bovine production units and is deposited in the mycological collection of the Animal Health Laboratory of CEIEGT-FMVZ-UNAM. 30 F1 cows (Holstein x Zebu) were used that were divided into three experimental groups of 10 animals each. The zootechnical purpose of the cows is the production of milk, however, these were in the dry period, grazing and without treatment against ectoparasites for three months. The groups were balanced according to weight and tick loads. One group was treated with a solution of MaV25 in water and 0.1% Tween 80 at a concentration of 1×10^8 conidia / mL. Another group was treated with a 3% flumethrin (positive control). The third group was treated only with water and 0.1% Tween 80 (negative control). The application of the treatments was carried out by manual spraying (5 L per animal) on days 0, 15, 30, 45 and 60 in the afternoon between 6 and 7 pm. To evaluate the efficacy of the treatments, the ectoparasite count was performed every week for 10 weeks. Ticks larger than 4.5 mm present on the left side of each animal were counted and the total was obtained according to the technique described by Wharton and Utech (1970). The flies were counted on the same days post-treatment, but at 7 am in the pasture, following the method described by Guglielmone (1997). MaV25 had a variable behavior during the experiment, it showed an efficacy of up to 83% for the case of ticks and up to 26.5% for flies, however, there was only a significant effect ($p < 0.05$) for ticks. After each application, tick loads decreased, being better observed after the second dose

V INTRODUCCIÓN

La zootecnia de bovinos es una actividad de fundamental importancia en el crecimiento económico de todos los países, debido a que constituye una fuente constante de alimentos de origen animal para la población mundial. El principal objetivo de esta actividad es la obtención de productos de origen animal, estableciendo sus pilares fundamentales de desarrollo en la reproducción, genética, alimentación, manejo y sanidad animal (Wadsworth, 1997). Entre los principales problemas sanitarios que enfrentan los bovinos de las regiones tropicales y subtropicales de México, se encuentran las infestaciones por ectoparásitos, dentro de las cuales destacan las causadas por la garrapata *Rhipicephalus microplus* y la mosca del cuerno *Haematobia irritans* (Rodríguez *et al.*, 2014; Galindo *et al.*, 2015). Ambos ectoparásitos ocasionan grandes pérdidas económicas debido, principalmente, a la disminución de los parámetros productivos y reproductivos, a la potencial transmisión de enfermedades como babesiosis y anaplasmosis, al estrés, y a los gastos que se generan para su control (Ojeda-Chi *et al.*, 2011; Rodríguez *et al.*, 2017). El principal método para su control ha sido el uso de antiparasitarios químicos, donde destacan los piretroides sintéticos, organofosforados, amidinas (solo contra garrapatas) lactonas macrocíclicas, fenilpirazolonas y reguladores del crecimiento (Rodríguez *et al.*, 2011; Torres y Almazán, 2011). Como consecuencia de su uso prolongado e irracional a través del tiempo, estos productos químicos se han vuelto, en varios grados, ineficaces, debido a la generación de resistencia y multiresistencia en las poblaciones de *R. microplus* (Rodríguez *et al.*, 2012). Para el caso de *H. irritans*, en México se ha reportado resistencia a piretroides (Cantú y García, 2009) y organofosforados en varios estados (Taboada *et al.*, 2013). Debido a la extensa y alarmante presentación de resistencia de estos ectoparásitos a casi todas las familias químicas usadas para su control, se ha intensificado la búsqueda de métodos alternativos de control, entre los que destacan el uso de razas de bovinos con resistencia genética a infestaciones, manejo de pastizales, vacunas y microorganismos acaricidas (Rodríguez *et al.*, 2014). Entre estos últimos destacan

los hongos entomopatógenos (HE), los cuales se han reportado como una alternativa promisoriosa y eficaz, siendo *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de los más evaluados (Rodríguez *et al.*, 2014; Alonso y Fernández, 2021). El hongo *M. anisopliae* ha demostrado gran efecto patogénico sobre diferentes estadios de *R. microplus* (huevos, larvas, ninfas y adultas) (Alonso *et al.*, 2007; Fernández *et al.*, 2017, 2018, 2019). En un estudio previo, la cepa MaV25 mostró una elevada eficacia mico-acaricida contra *R. microplus* (>90%) a los 16 d-post-tratamiento en laboratorio (Fernández *et al.*, 2017) y fue la mejor cepa contra garrapatas *A. mixtum* (Jiménez *et al.*, 2015). Además, la cepa mostró tolerancia a la radiación UV-A, medida mediante el crecimiento de colonias (Lozano, 2015). Aún se desconoce la eficacia de esta cepa contra *R. microplus* a nivel de campo y contra *H. irritans* en cualquier nivel. La actividad garrapaticida que poseen los HE es dependiente de factores ambientales como humedad relativa, temperatura y rayos ultravioletas. Se ha propuesto y estudiado que la tolerancia a estos factores está influenciada por el lugar de procedencia de las cepas de HE, la cual sería mediada por la capacidad de adaptación evolutiva (Fernández *et al.*, 2017; 2020). La cepa MaV25 al ser nativa de suelo ganadero de zona tropical, podría presentar una buena tolerancia a estos factores a nivel de campo y aumentar su eficacia en el control de ectoparásitos. Por esta razón es necesario realizar estudios *in vivo* para evaluar el efecto acaricida de la cepa MaV25 en bovinos infestados naturalmente con *R. microplus* y *H. irritans*. Esta información es necesaria para establecer protocolos de biocontrol simultáneo de estos ectoparásitos en condiciones de campo.

VI REVISIÓN DE LITERATURA

6.1 Importancia de la ganadería bovina

La ganadería bovina es considerada una actividad multifuncional que genera alimentos e ingresos y constituye una red de seguridad alimentaria esencial en tiempos de crisis. El ganado bovino aporta un 40% del valor de la producción agropecuaria mundial y sostiene los medios de vida y la seguridad alimentaria de casi 1 300 millones de personas (FAO, 2018). En el caso de México, se cuenta con un inventario nacional de 35 224 960 cabezas de ganado, de las cuales 32 661 138 se destinan a la producción de carne, posicionando al país en el séptimo productor a nivel mundial y con 2 563 822 destinadas a la producción de leche, colocando al país en el diecisieteavo lugar mundial (SIAP, 2019; FAO, 2019).

El estado de Veracruz cuenta con el mayor número de bovinos a nivel nacional con 4 325 138 cabezas de ganado (SIAP, 2019) donde el sistema de doble propósito (carne y leche) es la principal actividad zootécnica. Este estado es el mayor productor de carne y el sexto en producción láctea a nivel nacional (SIAP, 2019). La principal forma de alimentación de los bovinos es a través de pastoreo directo en extensos pastizales, lo que abarata los costos de producción en cuanto a alimentación del ganado. Sin embargo, esta actividad presenta algunas características sanitarias negativas para los animales, como la frecuente exposición a enfermedades, donde el 80% son de tipo parasitarias (Fernández *et al.*, 2017).

6.2 Garrapatas

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados de la clase Arachnida pertenecientes al orden Ixodida, que consta de tres familias: Ixodidae, Argasidae y Nuttalliellidae. Las primeras son denominadas comúnmente como garrapatas duras y las segundas garrapatas blandas. En la familia Nuttalliellidae únicamente se encuentra la especie *Nuttalliella namaqua*, la cual se considera una rama biológica de ambas familias (Estrada, 2015). Se conocen alrededor de 600 especies de garrapatas Ixodidae distribuidas en 12 géneros y alrededor de 190 especies de *Argasidae* en cuatro géneros (Guglielmone *et al.*, 2010). La mayoría de las

garrapatas de importancia veterinaria pertenecen a la familia Ixodidae, las cuales infestan principalmente al ganado bovino, a los ciervos y a los búfalos, aunque se pueden encontrar en otras especies como caballos, cabras, ovejas, asnos, perros, cerdos y algunos mamíferos silvestres (CFSPH, 2007). Su ciclo biológico se clasifica de acuerdo al número de animales que utilizan para completar su sobrevivencia (Cordero *et al.*, 2001; Holdsworth *et al.*, 2006), encontrándose:

- a) Garrapatas de tres hospedadores, donde las fases de larva, ninfa y adultos se alimentan de distintos animales.
- b) Garrapatas de dos hospedadores, donde las larvas y ninfas se alimentan en un hospedador, mientras las adultas se alimentan de otro hospedador diferente.
- c) Garrapatas de un hospedador, donde las tres fases parasitarias se desarrollan en el mismo hospedador.

Además, las infestaciones por garrapatas aumentan la probabilidad de transmisión de enfermedades como babesiosis (causada por los protozoarios *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*) y anaplasmosis bovina (causada por la rickettsia *Anaplasma marginale*) (Rodríguez *et al.*, 2011).

6.2.1 Garrapatas en México y su distribución

México cuenta con un registro de 82 especies de garrapatas presentes tanto en animales silvestres como domésticos, donde *Rhipicephalus microplus*, *R. annulatus* y *Amblyomma mixtum*, son las de mayor importancia en la ganadería bovina (Higa *et al.*, 2020; Martínez *et al.*, 2019). *R. microplus* destaca debido a la gran distribución que tiene a lo largo del territorio nacional (Rodríguez *et al.*, 2014). Se considera que 1 425 000 ha (53% del territorio nacional) están infestadas por *R. microplus*, incluso algunas zonas templadas y áridas. Los estados de Sonora, Tlaxcala, Aguascalientes, Baja California y Chihuahua (con excepción de los municipios de Morelos y Guadalupe y Calvo) y el Norte de Baja California Sur, están clasificados como libres de esta garrapata. En proceso de erradicación se encuentran los municipios de Los Cabos y la parte sur de La Paz en BCS; los municipios de Ahome, El Fuerte y Choix en el norte de Sinaloa, en el margen derecho del río El Fuerte y

los municipios de la zona desértica del estado de Coahuila: Cuatro Ciénegas, Ocampo y Sierra Mojada. El resto del país comparte regiones en control y zonas libres naturales de *R. microplus* (SENASICA, 2015). *Amblyomma mixtum* comparte distribución con *R. microplus* y *R. annulatus* se ha establecido en el norte del país, ya que tolera condiciones climáticas diferentes a las otras garrapatas (Figura 1).

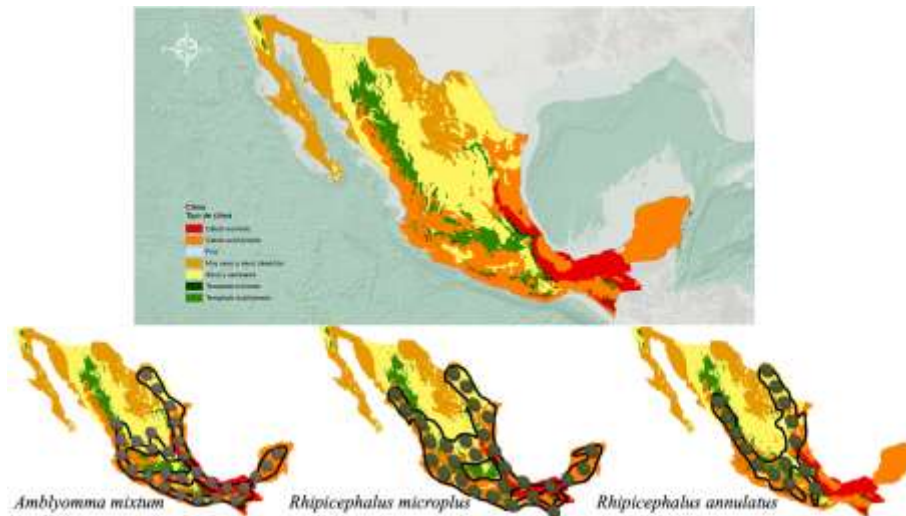


Figura 1. Distribución de *R. microplus* y otras garrapatas en México.

6.3 *Rhipicephalus microplus* y su ciclo biológico

Esta garrapata pertenece a la familia ixodidae (garrapatas duras) y es un hematófago obligado que afecta principalmente al ganado bovino.

Requiere de un solo huésped para poder desarrollar su ciclo de vida y presenta dos fases dentro de su ciclo: parasítica y no parasítica (de vida libre) (Figura 2). La primera da inicio cuando la larva encuentra al hospedador desde las partes altas de la vegetación y se sujeta del animal. Sobre el hospedador, la larva busca protegerse de los rayos solares para poder fijarse, principalmente en zonas del cuerpo donde la piel tiende a ser más delgada como vientre, axila, parte interna del brazo y pierna, ubre, escroto e ingle, aunque también puede localizarse en cuello, hombro y papada. Esta fase parasítica consta de 3 estadios: larva, que morfológicamente se caracteriza por poseer tres pares de patas, perfora la piel con sus quelíceros para poder fijar su hipostoma con el cual se alimenta de sangre llegando a medir hasta 2

mm de longitud. Posteriormente ocurre la muda de tegumento para convertirse en ninfa. En esta etapa ocurren importantes cambios morfológicos, aparecen cuatro pares de patas y una doble fila de dientes en el hipostoma, al finalizar la fase llega a medir hasta 4 mm y se puede notar el dimorfismo sexual, ya que las hembras son más grandes y de color claro en relación con los machos (Rodríguez *et al.*, 2011). Después ocurre la última muda a adultas, donde se aparean hembras y machos. Las hembras adultas y fecundadas se alimentan rápidamente y se convierten en teleóginas, las cuales miden de 4.5 mm hasta 13 mm de longitud, posteriormente se desprenden por las mañanas, finalizando la fase parasítica del ciclo de la garrapata. Esta fase tiene una duración de 18 a 22 d, dependiendo de las condiciones ambientales.

En la fase no parasítica, las teleóginas desprendidas llegan al suelo e inician su paso por seis etapas: preoviposición, oviposición, postoviposición, incubación, eclosión y larva de vida libre (Rodríguez *et al.*, 2005). Las hembras ovipositarán en promedio de 2 500 a 3 500 huevos, los cuales alcanzan un promedio de eclosión mayor al 80% (Rodríguez *et al.*, 2006). Una vez que las larvas están en la vegetación, utilizan sus órganos sensoriales de Haller para detectar olores, dióxido de carbono, luz, corrientes de aire, humedad y calor, lo que indica la presencia de un potencial hospedador (Polanco y Ríos, 2016).

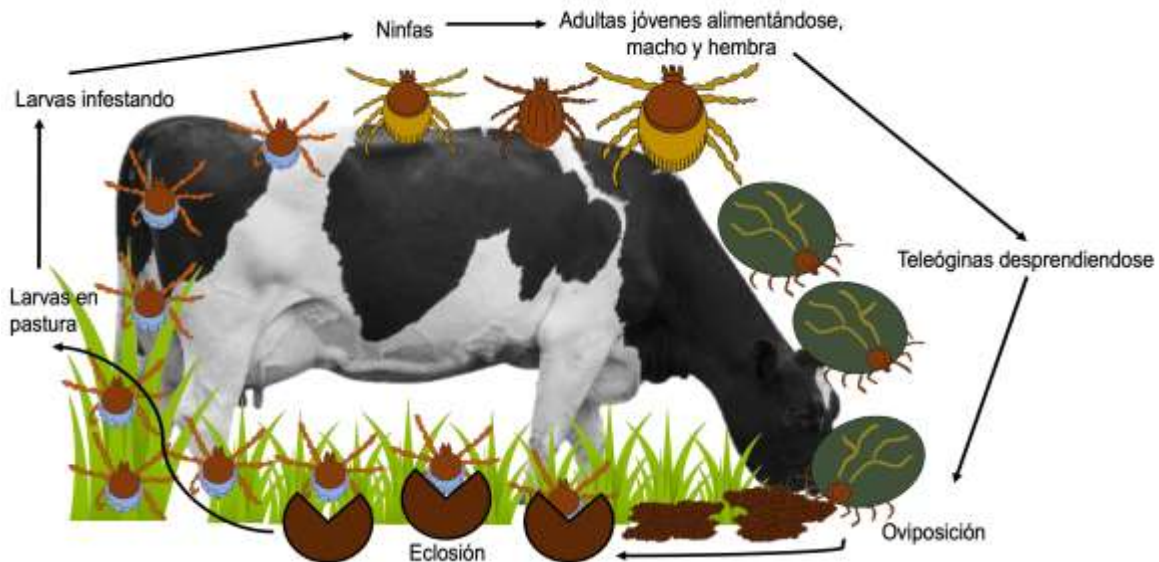


Figura 2. Ciclo biológico de *R. microplus* (Alonso y Fernández, 2021).

6.4 Importancia económica de *Rhipicephalus microplus*

R. microplus tiene un gran impacto económico ya que provoca daños directos e indirectos en el ganado bovino (Ojeda-Chi *et al.*, 2011). Causa pérdidas a la ganadería bovina mundial por 2.5 billones de dólares anuales en la zonas tropicales y subtropicales, y en México las pérdidas ascienden a 573.61 millones de dólares (Rodríguez *et al.*, 2017). Las infestaciones por garrapatas disminuyen el consumo de alimento hasta en un 65% en comparación con animales no parasitados (Jonsson, 2006; Rodríguez *et al.*, 2011). Además, esta garrapata es el vector de *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, las cuales son responsables de importantes pérdidas económicas en la industria ganadera (Rodríguez *et al.*, 2018). En México se han registrado pérdidas anuales por anaplasmosis y babesiosis bovina en alrededor de 48 millones de dólares (Vega, 1991).

6.5 Moscas

Las moscas son insectos dipteros que pueden alimentarse de materia en descomposición, secreciones corporales de los animales y de la sangre de estos. Estas formas de alimentarse impactan negativamente la producción animal a través del estrés que causan, las pérdidas de sangre y la potencial transmisión de patógenos causantes de enfermedades. Las moscas más importantes en la ganadería bovina son *Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans*, ambas hematófagas, aunque resalta la primera por su severidad.

6.6 *Haematobia irritans*

Haematobia irritans es un ectoparásito hematófago obligado del ganado bovino, puede llegar a parasitar otras especies como cabras, equinos, perros, ovinos y rara vez al humano. Se introdujo al continente americano entre 1884 y 1886 a través del transporte de ganado procedente de Europa. Es conocida como la mosca del cuerno por su localización preferencial alrededor de la base del cuerno del ganado, en América también se denomina como la mosca de la paleta, por localizarse en las

regiones de la espalda y el dorso (Fuentes *et al.*, 2016). Pertenece a la clase Insecta, orden Díptera y a la familia Muscidae, morfológicamente se caracteriza por tener una longitud de 3 a 5 mm, presenta una coloración gris plateada, el tórax negro con cuatro bandas longitudinales y sus partes bucales poseen un labio relativamente robusto y los palpos son tan largos como la probosis, la cual es aguda y endurecida apropiada para succionar sangre (Chiu y Chiu, 1996; Torres y Almazán, 2011).

6.6.1 Hábitos alimenticios de *H. irritans*

Su alimentación es intermitente, que va de 24 a 38 veces al día con una duración de 10 a 20 min cada vez, estimándose una pérdida de sangre por día de 14.3 mg (Chiu y Chiu, 1996). Aunque son parásitos obligados, *H. irritans* puede durar sin alimentarse entre 18 y 26 h. Esta mosca permanece sobre el ganado y solo lo abandona para pasar a otro cuando es espantada con la cola o para depositar los huevos en el estiércol fresco (Torres y Almazán, 2011).

6.6.2 Ciclo de vida de *H. irritans*

El ciclo biológico de *H. irritans* tiene una duración de 10 a 14 d si las condiciones climáticas como temperatura y humedad son las adecuadas; de no ser así, su desarrollo se prolonga debido a que en las etapas de huevo, larva y pupa se presenta el estado de diapausa, el cual es un periodo de inactividad, detención del desarrollo y una disminución del metabolismo (Fitzpatrick y Kaufman, 2011). Las hembras ovipositan en el estiércol de los bovinos, los huevos son de color pardo rojizo y requieren una temperatura de 24 a 26 °C y una humedad entre 60 a 80% para su incubación; después de 24 a 48 h eclosionan y emergen las larvas. Estas se entierran en el estiércol y se alimentan de él, su desarrollo termina entre cinco y ocho días (Quiroz, 2005). La pupación se desarrolla dentro del estiércol o debajo del suelo, estas son de color café, tienen una longitud de 3 a 4 mm y de dos a cuatro días después de la pupación estarán listos los adultos para emerger. Las hembras comienzan a ovipositar nueve días después de su eclosión, solo si ya se han

alimentado de sangre. La oviposición se realiza en el estiércol en grupos de 25 a 50 moscas y cada una deposita entre 20 a 40 huevos; sin embargo, cada una es capaz de producir entre 400 a 800 huevos en las siete semanas que corresponde al periodo de longevidad de cada mosca (Torres, 2013).

6.6.3 Impacto económico de *H. irritans*

La presencia de la mosca del cuerno tiene un impacto directo sobre el estado de salud de los animales parasitados, ya que puede transmitir algunas enfermedades como anaplasmosis, tripanosomiasis, tularemia y algunas bacterias como *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Bartonella spp* y *Staphylococcus aureus* (Zapata *et al.*, 2017). Además, ha sido implicada en algunos casos de dermatitis con lesiones atrésicas en el tejido glandular mamario de bovinos, las cuales cedieron al controlar la población de *H. irritans* (Torres y Almazán, 2011). Las infestaciones por moscas provocan que los bovinos bajen su consumo de alimento e interrumpan el tiempo de pastoreo, lo cual afecta la conversión alimenticia, repercute en su reproducción y se obtienen menos becerros al año (De Rouen *et al.*, 2003). En México se ha estimado un impacto económico en ganado de carne con pérdidas hasta de 231 665 430 dólares (Rodríguez *et al.*, 2017). También se ha calculado que la infestación de 100 moscas en el ganado afecta los parámetros fisiológicos y que con 200 moscas se pierden 520 mL de leche por día y 28 g de peso vivo por animal por día (Torres *et al.*, 2011).

6.7 Métodos para el control de garrapatas y moscas

En las regiones donde estos ectoparásitos están presentes, el principal método de control es mediante el uso de productos químicos, sin embargo, algunas otras metodologías como la rotación de pasturas, modificaciones ambientales y estrategias de control biológico también son consideradas (Alonso *et al.*, 2006; Fuentes *et al.*, 2018). El uso de razas de bovinos resistentes es un método de control importante en algunos países (Robbertse *et al.*, 2017; Guglielmone *et al.*, 2000). Algunas vacunas son una realidad y otras están en prueba y son consideradas como métodos de control promisorios (Lagunes y Bautista, 2019; Breijo *et al.*, 2017)

6.8 Resistencia química de los ectoparásitos

El mal manejo de los productos químicos ha propiciado la aparición de poblaciones de ectoparásitos resistentes a la mayoría de las familias químicas usadas para su control. 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 la mayoría de los integrantes de dicha población (Woodham *et al.*, 1983; Nari y Hansen, 1999). La falta de producción de nuevas fórmulas químicas, inadecuadas técnicas de aplicación de los tratamientos contra ectoparásitos y la carencia de capacitación a productores, ha generado que en la ganadería exista una gran problemática económica debido a la resistencia de los ectoparásitos a los productos químicos empleados para su control, principalmente garrapatas *R. microplus* y moscas *H. irritans* (Fernández *et al.*, 2012; Kunz *et al.*, 1995).

Las investigaciones realizadas a lo largo de tiempo han permitido poner de manifiesto la amplia resistencia que existe a los productos químicos por parte de *Rhipicephalus microplus* (Cuadro 1) y de *Haematobia irritans* (Cuadro 2).

Cuadro 1. Primeros informes de casos de resistencia de *Rhipicephalus microplus* a los acaricidas y lactonas macrocíclicas (Rodríguez- *et al.*, 2012).

Químicos (Año de introducción)	Primeros reportes de resistencia
Arsénicos (1893)	Australia, 1936; Argentina, 1936; Brasil, 1948; Columbia, 1948; Uruguay, 1953; Venezuela, 1966.
DDT (1946)	Argentina, 1953; Brasil, 1953; Australia 1953; Venezuela, 1966.
Organofosforados y carbamatos (1944)	Australia, 1963; Argentina, 1964; Brasil, 1963; Colombia, 1967; Venezuela, 1967; 1979; Uruguay, 1983; México, 1986.
Formamidinas (1975)	Australia, 1978; Brasil, 1989; México, 1994; Venezuela; 1995; Colombia, 1997; Argentina, 2000.
Piretroides (1977)	Australia, 1981; Brasil, 1995; Colombia, 2000.
Lactonas Macrocíclicas	Brazil, 2001; México, 2010.

(1981)

Cuadro 2. Primeros informes de casos de resistencia de *Haematobia irritans* a los mosquicidas químicos.

Químicos (Año de introducción para el control de moscas)	Primeros reportes de resistencia
DDT (1946)	Estados Unidos, 1959 (Burns <i>et al.</i> , 1959).
Organofosforados y carbamatos (1960s)	Estados Unidos, 1962 (Burns y Wilson, 1963).
Piretroides (1980s)	Estados Unidos, 1983 (Sheppard, 1983).

6.9 Control alternativo

Como se mencionó previamente, en México existen varios métodos no químicos que se han empleado con éxito para el control de ectoparásitos. Sin embargo, se ha sugerido que el método más promisorio para reducir las poblaciones de parásitos, es a través de esquemas de control integrado. Este control consiste en aplicar sistemáticamente dos o más métodos de control que los afecten negativamente, lo que disminuye así, las aplicaciones de químicos y reduce los riesgos sobre la salud humana y ambiental (García, 2017).

6.10 Hongos entomopatógenos

Debido a la diseminada y compleja resistencia que presentan estos ectoparásitos, se han buscado y propuesto diversos métodos alternativos para su control. Un método estudiado ha sido el uso de hongos entomopatógenos, los cuales causan enfermedades en diferentes tipos de artrópodos (insectos y ácaros) de forma natural. Existen más de 700 especies reunidas en 100 géneros y se encuentran en diversos hábitats acuáticos y terrestres (Fernández, 2012).

Los hongos entomopatógenos pertenecen a la división Eumycota que consta de cinco subdivisiones: Mastigomycotina forman zoosporas, oosporas y presentan

estado perfecto, Zygomycotina no presentan zoosporas, presentan estado perfecto y forman zigosporas, Ascomycotina presentan estado perfecto y forman ascosporas, Basidiomycotina presentan estado perfecto forman basidiosporas y Deuteromycotina estos no presentan estado perfecto ni zoosporas y forman conidias (Cañedo y Ames, 2004). Entre los principales hongos entomopatógenos que se han evaluado contra artrópodos plaga se encuentran los del género *Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*, debido a que poseen un gran potencial como biocontroladores.

Las principales ventajas que tiene el uso de hongos entomopatógenos como alternativa de control son:

- Son específicos a nivel de familia o especies muy relacionadas y las cepas, pueden ser específicas a nivel de especie.
- Con las condiciones ambientales adecuadas, se reproduce y establece de forma continua en los ecosistemas donde se introduce, volviéndose persistente de la especie a la que afecta y con esto se vuelven innecesarias nuevas aplicaciones.
- Se pueden aplicar mezclas de hongos entomopatógenos con dosis sub letales de insecticidas para lograr efectos sinérgicos superiores.
- No contaminan el medioambiente ni tienen la capacidad de afectar al humano o especies de animales superiores.
- Cuando no provocan la muerte directa en las especies que afecta, se presentan efectos secundarios alterando el desarrollo normal del ciclo de vida del insecto (Fernández *et al.*, 2012).

Por otro lado, los hongos pueden presentar algunas desventajas como: gran susceptibilidad a las condiciones climáticas (temperaturas extremas, desecación y luz ultravioleta), su almacenamiento es muy exigente para que no pierda su patogenicidad y no matan a los artrópodos instantáneamente, ya que alcanzan un buen nivel de control entre una y tres semanas después de la aplicación (Cañedo y Ames, 2004).

6.11 *Metarhizium anisopliae*

Metarhizium anisopliae es el HE más utilizado como bioinsecticida en la agricultura y ha tenido muy buenos resultados como control biológico de ectoparásitos (garrapatas y moscas). Este hongo fue aislado por primera vez en 1879 del escarabajo *Anisoplia austriaca herbst* por Metchnikoff (Ferron, 1978). Se encuentra naturalmente habitando el suelo, sedimentos y materia orgánica en descomposición (Zimmerman, 2007). Se ha reportado que es efectivo para el control de más de 200 especies de insectos y ácaros, incluyendo garrapatas y moscas (Ojeda-Chi *et al.*, 2011). Se caracteriza por presentar conidias cilíndricas, las cuales cuando son jóvenes tienen una coloración blanca y conforme maduran toman una coloración verde-café hasta alcanzar un tono verde oscuro (Fernández, 2012). Para su desarrollo óptimo, la mayoría de las cepas de *M. anisopliae* necesitan una temperatura de 25-30°C y una humedad relativa del 100% (Ferron, 1978).

6.11.1 Mecanismo de acción de *M. anisopliae*

Este hongo infecta a los huéspedes susceptibles a través de la penetración directa de la cutícula. Para fines descriptivos, el proceso de infección se divide en seis etapas que son: adhesión de esporas, penetración, invasión, colonización, muerte y emergencia de estructuras del hongo sobre la epicutícula (Figura 3) (Ojeda-Chi *et al.*, 2011). Brevemente, los conidios se adhieren a la cutícula del insecto y 24 h después de la infección da inicio el proceso patogénico. Este proceso inicia con la germinación y formación posterior de tubos germinativos que invaden la cutícula, se desarrollan los apresorios, los cuales penetran la superficie de la cutícula (Cañedo y Ames, 2004). La penetración estará limitada a factores como: tipo de cutícula y grosor, presencia de sustancias antifúngicas como defensa inmunológica y condiciones nutricionales del hospedero artrópodo (Charnley, 1984). El mecanismo de acción químico de *M. anisopliae* consiste en efectos enzimáticos 48 horas post infección, principalmente por proteasas, aminopeptidasas, lipasas, esterases y N-acetil-glucosamidasa (quitinasas). Estas enzimas causan la degradación de la cutícula del insecto, lo que facilita la penetración física del tubo germinativo y la digestión del integumento sigue con una secuencia lipasa-proteasa-quitinasa que debilita la cutícula (Tanada y Kaaya, 1993). 96 h post infección, las hifas colonizan

el huésped y el hongo se disemina vía hemolinfa y produce blastosporas y cuerpos filamentosos de hifas que invaden el sistema inmune del hospedero y se multiplican rápidamente en los tejidos. Además, producen dos familias de toxinas; las destruxinas y las citocalasinas, las cuales inhiben el sistema inmunológico del artrópodo, causan su muerte y generan efectos sobre la fecundidad y viabilidad de los huevos ovipositados (Schrank y Henning, 2010). La colonización de los órganos del artrópodo ocurre alrededor del quinto día post infección, siendo los órganos reproductivos y digestivos de los más afectados. La muerte ocurre debido a la acción de las micotoxinas, a los cambios patológicos en el hemocele, a la acción histolítica y al bloqueo mecánico del aparato digestivo (secundario al crecimiento de las hifas) (Ojeda-Chi *et al.*, 2011). Después de la muerte del insecto y cuando las condiciones de humedad relativa son adecuadas, ocurre la emergencia del micelio a través del tegumento, éste crece en la superficie y esporula después de 48 a 60 h de la muerte del hospedero (Gillespie y Claydon, 1989).

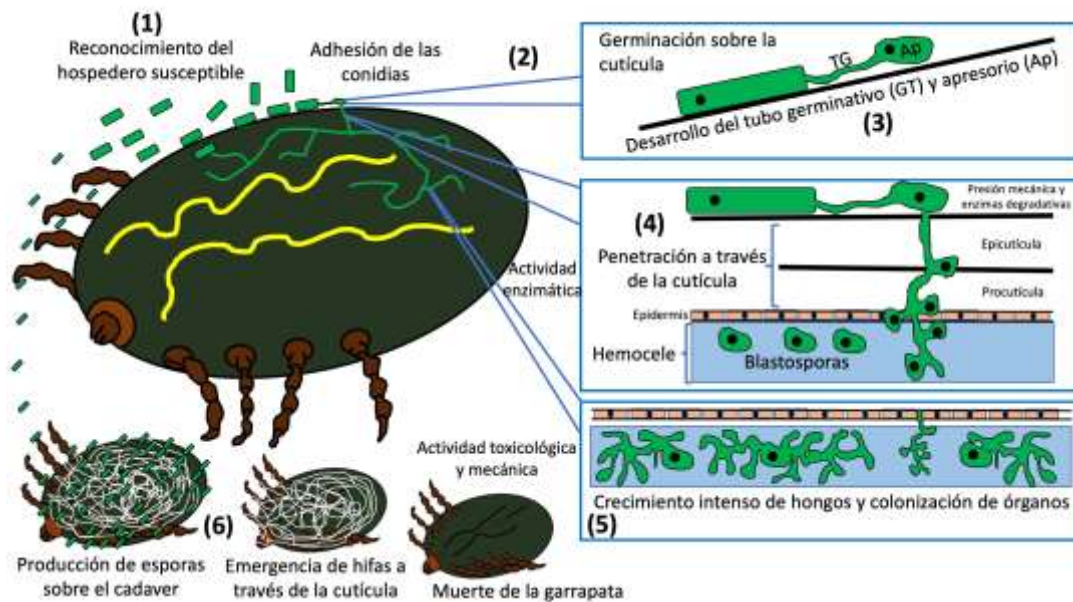


Figura 3. Etapas de infección y mecanismos de acción de *Metarhizium anisopliae* sobre garrapatas (Alonso y Fernández, 2021).

6.12 Antecedentes en el control de garrapatas y moscas

El hongo entomopatógeno *M. anisopliae* se ha investigado ampliamente en el control de garrapatas y moscas, a nivel de laboratorio, como a nivel de campo (Cuadro 3 y 4).

Cuadro 3. Estudios in vitro y a nivel de campo del efecto de hongos entomopatógenos sobre el control de *R. microplus*.

Autor	Hongos Entomopatógenos	Nivel de estudio	Eficacia (%)
Alonso <i>et al.</i> , 2007	<i>M. anisopliae</i> Ma 34	Campo	40.0 – 91.2
Sahagun <i>et al.</i> , 2010	<i>M. anisopliae</i>	In vitro	93 – 100
Bazan, 2002	<i>M. anisopliae</i> Ma 18	Campo	Sin diferencia significativa Entre grupo testigo y el hongo.
Camargo <i>et al.</i> , 2012	<i>M. anisopliae</i> Ma 959	In vitro	93.69
Camargo <i>et al.</i> , 2014	<i>M. anisopliae</i> (producto comercial) Metarril®SP Organic	Campo	19.20 - 67.39
Camargo <i>et al.</i> , 2016	<i>M. anisopliae</i> (producto comercial) Metarril®SP Organic	Campo	8,53 - 90,53
Fernández <i>et al.</i> , 2017	<i>M. anisopliae</i> MaV 25	In vitro	> 90
Fernández <i>et al.</i> , 2010	<i>M. anisopliae</i>	In vitro	90 % control potencial reproductivo
Leemon <i>et al.</i> , 2008	<i>M. anisopliae</i> ARIM10 Y ARIM16	In vitro Campo	100 3-37
López <i>et al.</i> , 2009	<i>M. anisopliae</i> (137 bm)	Campo	75
Ojeda Chi <i>et al.</i> , 2010	<i>M. anisopliae</i> Ma14 y Ma34.	In vitro	100
Rodríguez <i>et al.</i> , 2014	<i>M. anisopliae</i> mezcla Ma14 + Ma34	Campo	30.9 – 87.7

Sánchez <i>et al.</i> , 2010	<i>M. anisopliae</i> Ma14 y Ma34.	Campo	51.3 y 77.4 respectivamente.
Webster <i>et al.</i> , 2015	<i>M. anisopliae</i> y	Campo	56.3 y 97.9 respectivamente.

Cuadro 4. Estudios in vitro y a nivel de campo del efecto de hongos entomopatógenos sobre el control de *H. irritans*.

Autor	Hongos Entomopatógenos	Nivel de estudio	Eficacia (%)
Sahagún <i>et al.</i> , 2005	<i>M. anisopliae</i>	In vitro	Mortalidad de adultos > 90
Cruz <i>et al.</i> , 2017	<i>M. anisopliae</i> (cepa Ma134)	Campo	68.6
Galindo <i>et al.</i> , 2015	<i>M. anisopliae</i>	Campo	94 – 100
Lohmeyer y Miller, 2006	<i>M. anisopliae</i> (cepa ESCI)	In vitro	73
Mochi <i>et al.</i> , 2009	<i>M. anisopliae</i> (cepa E9)	Campo	Se observó 22.9 moscas/vaca tratada a comparación de 43 moscas en animales no tratados.
Mochi <i>et al.</i> , 2010	<i>M. anisopliae</i> (cepa E9)	In vitro	100 Mortalidad larval.

Estos estudios han demostrado la capacidad de algunas cepas de hongos para el control de estos ectoparásitos, lo que confirma que estos agentes biológicos pueden ser promisorios como alternativa para su control. El uso de microorganismos como agentes de control biológico de garrapatas y moscas debe ser investigado y ampliado, debido a la alarmante resistencia que existe en la actualidad (Fernández, 2012).

VII HIPÓTESIS

La cepa MaV25 aplicada mediante baños de aspersión, disminuirá simultáneamente las infestaciones de *Rhipicephalus microplus* y *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente en el trópico de México.

VIII OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de *Metarhizium anisopliae* (cepa MaV25) para el control simultáneo de *Rhipicephalus microplus* y *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente en el trópico de México.

8.1 Objetivos Específicos

- Evaluar la eficacia de *Metarhizium anisopliae* (Mav25) para el control de *Rhipicephalus microplus* en bovinos infestados naturalmente en el trópico de México.
- Evaluar el efecto de *Metarhizium anisopliae* (Mav25) en el control de la mosca *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente en el trópico de México.

IX MATERIAL Y MÉTODOS

9.1 Área de Estudio

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Se localiza en el Km 5.5 de la carretera federal Tlapacoyan-Martínez de la Torre, en el Municipio de Tlapacoyan, Veracruz. Está situado a 24° 04' latitud norte, 97° 03' longitud oeste, a una altitud de 110.9 msnm. El clima de esta zona es cálido húmedo Af (m) W" (e)

con una temperatura media anual de 23.4 °C, 85 % de humedad relativa y precipitación pluvial de 1990 mm (INEGI, 2008).

9.2 Obtención de la cepa MaV25

Se utilizó la cepa MaV25 del hongo entomopatógeno *M. anisopliae*, la cual se obtuvo de la colección micológica del Laboratorio de Sanidad Animal del CEIEGT-FMVZ-UNAM. Esta cepa pertenece al grupo de hongos entomopatógenos aislados de suelos de unidades de producción bovina en Veracruz, México, durante el año 2013 (Fernández *et al.*, 2020). La zona de aislamiento se caracteriza por presentar elevada prevalencia de garrapatas *R. microplus* y *A. mixtum*, así como de la mosca *H. irritans*.

Previo al inicio del experimento en campo, se evaluó la viabilidad de las conidias mediante la inoculación de 100 µl de una suspensión de conidias con una concentración de 1×10^8 conidias/mL en Agar Dextrosa Sabouraud. Se incubó a 28 °C durante 48 h y posteriormente se evaluó la germinación mediante el conteo de colonias (Lacey *et al.*, 1994). La germinación excedió el 98%.

9.3 Producción de conidias y preparación del inóculo

MaV25 fue sembrada en cajas de Petri con 20 mL de Agar Dextrosa Sabouraud (ADS) adicionado con 1% de extracto de levadura y 500 ppm de cloranfenicol (Cañedo y Ames, 2004). Las cajas inoculadas fueron incubadas a 28 ± 1 °C y 80 % a 90 % de humedad relativa (HR) durante 21 d en una estufa de cultivo. Después, las conidias se cosecharon por raspado y lavado de la superficie del medio de cultivo con 20 mL de agua destilada estéril que se vertió en tubos Falcon de 50 mL. La suspensión se homogenizó con ayuda de un agitador vórtex (Genie 2 Si®), y se filtró a través de un tamiz con poros de 8 µm con el objetivo de obtener una suspensión limpia de conidias (Lacey *et al.*, 1994).

El número de conidias se ajustó a 1×10^8 conidias/ml con la ayuda de una cámara hemocitométrica de NeuBauer. Se utilizó agua destilada estéril, Tween 80 para preparar las concentraciones del hongo.

9.4 Animales y diseño experimental

Se utilizaron 30 vacas F1 (Holstein x Cebú) en periodo seco, con edades de 3 a 8 años y 450 kg de peso promedio. La alimentación de los animales se basó en libre pastoreo en potreros con pasto estrella africano (*Cynodon nlemfuensis*) y gramas nativas (*Axonopus* spp. y *Paspalum* spp.), complementadas con sales minerales y agua *ad libitum*. Los animales no recibieron tratamientos con ixodicidas o con insecticidas para el control de garrapatas o moscas al menos noventa días antes del experimento ni durante el experimento. Al día 0 se evaluaron las cargas de ectoparásitos y los animales fueron distribuidos y balanceados homogéneamente en tres grupos experimentales. Se le dio prioridad a la carga de garrapatas para la formación de los grupos, por consecuencia, la carga de moscas quedó desbalanceada al inicio del experimento. Cada grupo consistió en 10 animales cada uno: grupo testigo, grupo testigo positivo y el grupo tratado con la cepa MaV25. Todos los animales se identificaron mediante aretes con la numeración interna del centro, y para diferenciar a los animales de cada grupo, se les colocó un cordón de diferente color en el cuello. Cada animal se consideró una repetición de su respectivo tratamiento.

Los animales del grupo testigo fueron asperjados con agua más Tween 80 al 0.1% (1 mL de Tween / 1 L de agua) usando una mochila de aspersion con una boquilla de tipo cónica y una presión de aproximadamente 40 lb/in².

Los animales del grupo testigo positivo fueron asperjados con el producto comercial Bayticol®; una Flumetrina al 3%, empleando 1 mL de producto comercial por cada litro de agua (30 ppm).

Los animales del grupo tratado fueron bañados con una dilución de la cepa MaV25 en agua a una concentración de 1×10^8 conidias/mL más Tween 80 al 0.1%.

Los tratamientos fueron aplicados los días 0, 15, 30, 45 y 60 por la tarde entre 6 y 7 p.m.

9.5 Conteo de ectoparásitos

Los conteos de moscas se realizaron mediante la toma de una fotografía (Cámara Nikon® D5600) entre 7 y 8 am en potrero, del lado derecho del animal se cubrieron las regiones de la cabeza, el cuello, la espalda, costado y las extremidades del animal. El conteo se multiplicó por dos para obtener una estimación de la cantidad total de moscas (Guglielmone *et al.*, 1997).

Posteriormente, las vacas se trasladaron a una manga de manejo donde se realizó el conteo de garrapatas repletas de 4.5 a 8.0 mm de longitud de un solo lado del animal. (Holdsworth *et al.*, 2006). El conteo se realizó cada 7 d (cada semana) hasta el día 60 (semana 10), entre 8 y 9:30 am. El total de garrapatas repletas por animal se obtuvo multiplicando la cantidad de garrapatas contadas por dos (Wharton y Utech, 1970).

Durante la aplicación del tratamiento con el hongo y en los recuentos se inspeccionó completamente el ganado en busca de alguna reacción adversa por los tratamientos.

9.6 Análisis estadístico

Los conteos de ambos ectoparásitos se analizaron mediante estadística descriptiva para cada tratamiento. La efectividad de MaV25 y del Bayticol^{M.R.} sobre el control de *Rhipicephalus microplus* se determinó mediante a siguiente fórmula:

$$\frac{\# \text{ garrapatas grupo control} - \# \text{ de garrapatas en tratamiento}}{\# \text{ garrapatas grupo control}} \times 100$$

Los resultados de cargas de garrapatas entre los tres tratamientos se analizaron mediante la prueba de Kruskal Wallis (STATGRAPHICS Centurion XVI II). Se consideró un valor de $P < 0.05$ para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

X RESULTADOS

MaV25 demostró una eficacia variable contra *R. microplus* durante el tiempo del estudio (Cuadro 5; Figura 4). La eficacia registrada fue de 5.1% hasta 83.3%. Lo que resalta la efectividad de este hongo para disminuir las poblaciones de *R. microplus* al día 1, 28, 35, 49 y 63, donde, a excepción del día 28, el efecto garrapaticida fue estadísticamente significativo ($P < 0.05$) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efectividad de *Metarhizium anisopliae* cepa MaV25 y Bayticol^{M.R.} sobre el control de *Rhipicephalus microplus*.

Aplicación	Día	Nº de garrapatas			Efectividad%	
		MaV25	Bayticol	Control	MaV25	Bayticol ^{M.R.}
1	0	1320 ^a	1316 ^a	1318 ^a	No aplica	
	1	1108 ^a	1284 ^{ab}	1448 ^b	23.5	11.3
	7	250 ^a	208 ^a	202 ^a	0	0
	14	130 ^a	52 ^a	44 ^a	0	0
2	Día 15					
	21	50 ^a	18 ^b	56 ^a	10.8	67.9
	28	8 ^a	12 ^a	12 ^a	33.3	0
3	Día 30					
	35	2 ^a	4 ^a	12 ^b	83.3	66.7
	42	74 ^a	92 ^a	78 ^a	5.1	0
4	Día 45					
	49	398 ^a	702 ^b	726 ^b	45.2	3.3
	56	70 ^a	66 ^a	86 ^a	18.6	23.3
5	Día 60					
	63	26 ^a	48 ^b	36 ^b	27.8	0
	70	20 ^a	46 ^b	12 ^a	0	0

Letras diferentes entre columnas en la misma fila son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$)

Después de la primera aplicación, MaV25 disminuyó la carga de garrapatas al siguiente día de forma significativa. Después, el efecto garrapaticida no se presentó hasta después de la segunda aplicación de hongo, manteniéndose una efectividad desde el día 21 (semana 3) hasta el día 63 (semana 9) (Figura 4).

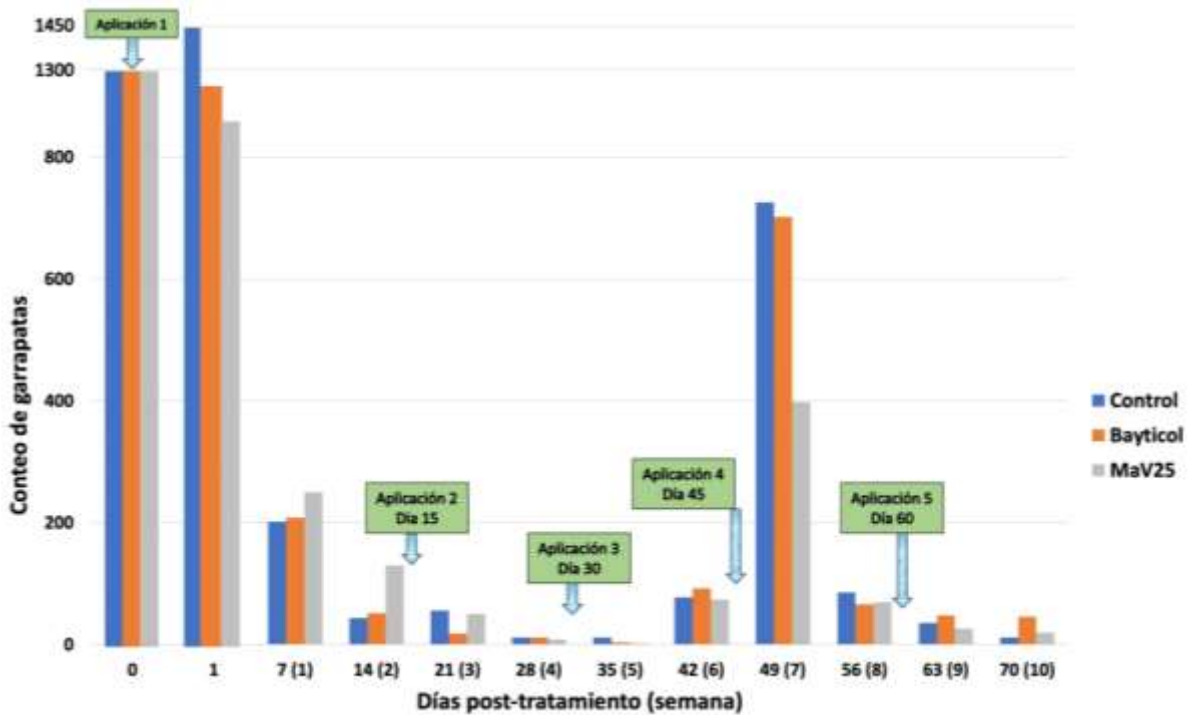


Figura 4. Comportamiento de los diferentes tratamientos (MaV25, Bayticol ^{M.R.} y control), durante las cinco aplicaciones realizadas para el control de *Rhipicephalus microplus*

En el caso del control de moscas *Haematobia irritans*, MaV25 mostró una eficacia de 1.1% hasta 26.5%. Sin embargo, solo resalta el control entre grupos el día 35, donde la población de esta mosca disminuyó en 26.5% (Cuadro 6). En las primeras dos aplicaciones de MaV25 (hasta la quinta semana) no se observó ningún efecto mosquicida. El producto comercial a base de flumetrina al 3% no presentó ninguna efectividad a lo largo del experimento (Cuadro 6).

Cuadro 6. Efectividad de *Metarhizium anisopliae* cepa MaV25 y Bayticol^{M.R.} sobre el control de la mosca *Haematobia irritans*.

Aplicación	Día	Nº de moscas			Efectividad%	
		MaV25	Bayticol	Control	MaV25	Bayticol ^{M.R.}
1	0	1802	1634	580	No aplica	
	1	826	732	696	0	0
	7	1056	624	650	0	4
	14	1720	1790	1614	0	0
2	Día 15					
	21	1528	1666	1394	0	0
	28	900	1232	818	0	0
3	Día 30					
	35	850	1690	1156	26.5	0
	42	1636	1814	1798	9	0
4	Día 45					
	49	922	1166	1110	16.9	0
	56	2002	2338	2024	1.1	0
5	Día 60					
	63	1258	1344	1426	11.8	5.8
	70	874	1266	956	8.6	0

Después de la primera aplicación, MaV25 disminuyó la carga de moscas *H. irritans* durante la primera semana de acuerdo a la carga de moscas con la que inició. El grupo control inició con cargas de moscas bajas, las cuales fueron subiendo conforme pasaban los días hasta ser superiores al grupo tratado con MaV25 (a partir de la tercera aplicación). Después de cada aplicación de MaV25, las cargas de moscas disminuían intragrupalmente (Figura 5).

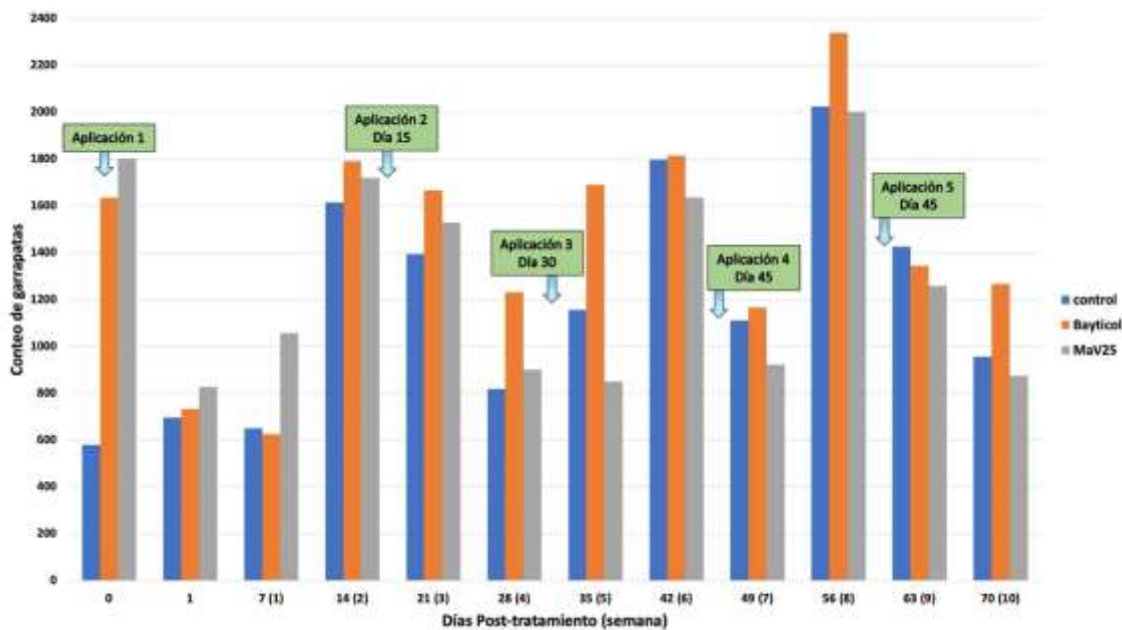


Figura 5. Comportamiento de los diferentes tratamientos (MaV25, Bayticol 3% y control), durante las cinco aplicaciones realizadas para el control de *Haematobia irritans*.

XI DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* cepa MaV25 para el control simultáneo de *Rhipicephalus microplus* y *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente en el trópico de México. Estudios previos demostraron la efectividad de MaV25 para el control de *R. microplus* a nivel de laboratorio (Fernández *et al.*, 2017). Por otro lado, se demostró la tolerancia de MaV25 a la radiación UV-A, medida mediante la metodología del crecimiento de colonias expuesta a rayos UV (Lozano, 2015). Sin embargo, la eficacia sobre *R. microplus* a nivel de campo no había sido evaluada, misma situación para la mosca del cuerno *H. irritans*.

En algunos días, sobre todo después de las aplicaciones, MaV25 mostró ser efectivo significativamente para controlar a *R. microplus*. La efectividad contra garrapatas mostrada por MaV25 es superior a la reportada por Bazan (2002), quien reportó baja eficacia para controlar a *R. microplus* con la cepa Ma18 de *M.*

anisopliae en bovinos estabulados, el cual utilizo la misma concentración. Incluso algunos estudios han reportado una eficacia nula de algunas cepas de *M. anisopliae* para controlar garrapatas en condiciones naturales (Leemon *et al.*, 2008; Amaro *et al.*, 2011). Sin embargo, otras cepas de este género de hongo como Ma34 y 137bm, han mostrado un buen efecto biocontrolador de hasta 70% y 75%, respectivamente, sobre *R. microplus* a nivel de campo (Alonso *et al.*, 2007). Sánchez *et al.* (2010) evaluó la eficacia de las cepas Ma14 de *M. anisopliae* sobre *R. microplus* y reportó una eficacia de 51.3%, lo que coincide con el presente estudio. En algunos otros estudios se ha evaluado el efecto sinérgico de dos cepas de *M. anisopliae* contra infestaciones naturales de *R. microplus*, y se han obtenido porcentajes de control de hasta 87.7% (Rodríguez *et al.*, 2014). La diferencia observada con algunos resultados entre diferentes estudios se debe a que la virulencia de los hongos entomopatógenos puede variar dependiendo de la especie de hongo utilizada, y el origen de estas especies, aunque sea la misma (Bernardo *et al.*, 2018). Así pues, se ha mencionado que algunas cepas de HE del mismo género y especie pero que provengan de diferentes áreas, pueden presentar diferentes grados de virulencia contra garrapatas, destacando variaciones en: formación de estructuras infecciosas, adhesión a la cutícula, evasión del sistema inmune de las garrapatas y diferente producción de toxinas y enzimas (Perinotto *et al.*, 2012). La identificación de cepas de HE que tengan la capacidad de disminuir la variación de estas características bajo diversas circunstancias biológicas o ambientales, ha sido el principal objetivo de diversas investigaciones alrededor del mundo. Debido a esto, se han realizado combinaciones de cepas de HE para mejorar eficacia, adiciones de componentes que mejoren la nutrición de las cepas de HE y la combinación de estos hongos con acaricidas químicos para evaluar efecto garrapaticida y compatibilidad. Estas últimas han mostrado resultados interesantes, por ejemplo, Webster *et al.* (2015) reportaron eficacias del tratamiento con acaricidas (cipermetrina + clorpirifos), *M. anisopliae* y una combinación de estos de 71.1%, 56.3% y 97.9% respectivamente.

Es importante destacar que los animales tratados con el producto comercial (Bayticol) a base de flumetrina al 3%, se mantuvieron con cargas de garrapatas *R.*

microplus más altas que el grupo tratado con *M. anisopliae*. Este hallazgo puede deberse a la amplia y diseminada resistencia que ha mostrado esta garrapata a los químicos utilizados para su control en México (Fernández *et al.*, 2012). Sería interesante realizar evaluaciones de resistencia en esta población de garrapatas y posteriormente aplicar HE y Bayticol simultáneamente en los animales para determinar el efecto aditivo de control que proporcionarían los hongos sobre garrapatas resistentes.

Se ha mencionado en diversos estudios que los HE son susceptibles a las condiciones ambientales, donde resaltan la temperatura extrema, humedad y, sobretodo, rayos UV (das Chagas *et al.*, 2020; Polar *et al.*, 2005). En los estudios de aplicación de HE contra garrapatas en condiciones naturales, es importante usar cepas con tolerancia a estos factores. La cepa MaV25 ha demostrado, en estudios anteriores, ser tolerante a los rayos UV, los cuales no afectan su germinación ni efecto acaricida (Lozano, 2015). Esta característica puede ser el factor de que, en la aplicación directamente en el cuerpo de los animales, esta cepa haya demostrado efectividad para controlar a *R. microplus*.

En el caso del control de *H. irritans*, no se encontró diferencia significativa entre los diferentes tratamientos aplicados, sin embargo, después de la tercera aplicación, se alcanzó un 26.5% de efectividad contra esta mosca. Las investigaciones para evaluar la eficacia de *M. anisopliae* sobre el control de *H. irritans* a nivel de campo, no son abundantes como en el caso de las garrapatas. Algunas cepas han sido seleccionadas después de estudios *in vitro* para evaluarse a nivel de campo, las cuales han mostrado resultados prometedores. En este respecto, en Colima, Galindo *et al.* (2015) evaluaron el efecto de las cepas Ma2, Ma6, Ma10, Ma14 y Ma34 de *M. anisopliae* a una concentración de 1×10^8 , encontrando una reducción de las infestaciones del 94 a 100%. Así mismo, en Aguascalientes, Cruz *et al.* (2017) encontraron que la cepa Ma134 de *M. anisopliae* tenía una efectividad del 68.6% contra infestaciones naturales de *H. irritans*.

Por otro lado, algunas otras formas de aplicación de HE han sido evaluadas contra moscas; como, por ejemplo, la administración de esporas por vía oral (Mochi *et al.*, 2009). Estos estudios mencionan una disminución de la presencia de larvas

nueve días post-tratamiento al utilizar la cepa E9 de *M. anisopliae*, posteriormente se observó la disminución de moscas en los animales. El control de moscas al usar HE puede ser diferente si se compara con el control de garrapatas, principalmente porque al aplicar HE en el cuerpo de los bovinos, las moscas al sentir la solución se alejan del animal, lo que disminuye el contacto entre hongo y mosca. Los hongos al necesitar el contacto con el organismo blanco, pueden verse afectados por esta característica en moscas del ganado bovino. Por otro lado, la baja eficacia que se presentó en el presente estudio, también puede deberse a que los animales del grupo tratado con MaV25 iniciaron con cargas mucho más altas en comparación con las cargas del grupo control (Figura 5). Este factor puede significar un sesgo en la efectividad de los HE, principalmente en los primeros días post-tratamiento, situación que se presentó en este experimento.

Es interesante evaluar diversas alternativas para mejorar el efecto mosquicida de MaV25. Por ejemplo, sinergismos con acaricidas, combinaciones de cepas de HE, otras vías de aplicación como la oral o el uso de protectores solares en la formulación para extender la viabilidad de las esporas aplicadas y afectar las moscas que regresen al animal después de las aplicaciones.

XII CONCLUSIONES

En bovinos *Metarhizium anisopliae* cepa Mav25 disminuyó la carga de garrapatas *Rhipicephalus microplus* (83%) de forma significativa, mientras que en el control de mosca *Haematobia irritans* este hongo no tuvo efecto mosquicida.

Se sugiere realizar nuevos estudios aumentando las dosis de MaV25, en otra época del año y con una carga mayor de garrapatas, así como probar otros productos de uso en la agricultura para una mejor adherencia de los conidios a la cutícula de los artrópodos y evaluar la eficacia de la cepa MaV25 para el caso de la mosca con periodos de aplicación más cortos y probar otras vías de administración.

XIIILITERATURA CITADA

- Alonso Díaz, M.A. y Fernández Salas, A. (2021). Entomopathogenic Fungi for Tick Control in Cattle Livestock From Mexico. *Frontiers in Fungal Biology*, 2:657694.
doi: 10.3389/ffunb.2021.657694
- Alonso Díaz, M.A., García, L., Galindo Velasco, E., Lezama Gutierrez, R., Angel Sagun, C.A., Rodríguez Vivas, R.I. y Fragoso Sanchez, H. (2007). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 147(3-4),336-340.
- Alonso Diaz, M.A., Rodríguez Vivas, R.I., Fragoso Sánchez, H. y Rosario Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Archivos de Medicina Veterinaria* 38(2), 115-113.
- Ángel Sahagún, C.A., Lezama Gutiérrez, R., Molina Ochoa, J., Galindo Velasco, E., López Edwards, M., Rebolledo Domínguez, O., Cruz Vázquez, C., Reyes Velásquez, W.P. y Skoda, S.R., Foster, J. (2005). Susceptibility of biological stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to ento-mopathogenic fungi (Hyphomycetes). *Journal of Insect Science*, 50(5), 1–8.
- Ángel Sahagún, C.A., Lezama Gutiérrez, R., Molina Ochoa, J., Pescador Rubio, A., Skoda, S.R., Cruz Vázquez, C., Lorenzoni, A.G., Galindo Velasco, E., Fragoso Sánchez H. y Foster J.E. (2010). Virulence of Mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon *Rhipicephalus = Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae and the efficacy of conidia formulations to reduce larval tick density under field conditions. *Veterinary Parasitology*, 170(3), 278-286.
- Bazan Tene, M. (2002). Efecto de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en el control biológico de *Boophilus microplus* Canestrini

(Acari: ixodidae) en ganado bovino estabulado. (Tesis de maestría). Universidad de Colima, Tecomán, Colima.

- Bernardo, C.C., Barreto, L.P., E Silva, C.D.S., Luz, C., Arruda, W., y Fernández, É.K., (2018). Conidia and blastospores of *Metarhizium* spp. and *Beauveria bassiana* sl: their development during the infection process and virulence against the tick *Rhipicephalus microplus*. *Ticks Tick Borne Diseases*, 9(5), 1334-1342.
- Breijo, M., Rocha, S., Ures, X., Pastro, L., Alonzo, P., Fernández, C., y Meikle, A. (2017). Evaluation of hematobin as a vaccine candidate to control *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) loads in cattle. *Journal of economic entomology*, 110(3), 1390-1393.
- Burns, E.C. y Wilson, B.H. (1963). Field resistance of horn flies to the organic phosphate insecticide Ronnel. *Journal of economic entomology*, 56(5), 718.
- Camargo, M.G., Marciano, A.F., Sá, F.A., Perinotto, W.M.S., Quinelato, S., Gôlo, P.S., Angelo, I.C., Prata, M.C.A. y Bittencourt, R.E.P. (2014). Commercial formulations of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* in a pen study. *Veterinary Parasitology*, 205(2), 271-276.
- Camargo, M.G., Golo, P.S., Angeli, I.C., Perinotto, W.M.S., Sá, F.A., Quinelato, S. y Bittencourt, V.R.E.P. (2012). Effect of oil-based formulations of acaripathogenic fungi to control *Rhipicephalus microplus* ticks under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 188(2), 140-147.
- Camargo, M.G., Nogueira, M.R.S., Marciano, A.F., Perinotto, W.M.S., Coutinho-Rodrigues, C.J.B., Scott, F.B., Angelo, I.C., Prata, M.C.A., y

- Bittencourt, V.R.E.P (2016). *Metarhizium anisopliae* for controlling *Rhipicephalus microplus* ticks under field conditions. *Veterinary Parasitology*, 223,38-42.
- Cantú Covarrubias, A. y García Vázquez, Z. (2009). Mosca del cuerno *Haematobia irritans* un factor negativo en la producción de bovinos de carne. Editores: INIFAP. Folleto para productores, 12,1-38.
 - Cañedo, V. y Ames T. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. Centro internacional de la Papa, Lima, Perú.
 - CFSPH. (2007). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The Center Food Security & Public Health, IOWA STATE UNIVERSITY, college of veterinary Medicine,1, 1-3.
 - Chranley, A.K. (1984). Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. In *Invertebrate-microbial interactions*, Cambridge University Press, 229-270.
 - Chiu, A.D. y Chiu, A.L. (1996). Biología y comportamiento de las moscas *Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans*. *Tópico Parasitol Animal*, 3, 98-114.
 - Cordero, M., Rojo, F.A., Martínez, A.R., Sánchez, M.C., Hernández, S., Navarrete, I., Diez, P., Quiroz, H. y Carvalho, M. (2001). *Parasitología Veterinaria*. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
 - Cruz Vázquez, C., Carvajal Márquez, J., Lezama Gutiérrez, R., Vitela Mendoza, I. y Ángel Sahagún, C.A. (2017). Efficacy of *Metarhizium anisopliae* in the control of the horn fly, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), under natural infestation conditions. *Veterinaria México*, 4(2), 1-10.

- das Chagas Bernardo, C., Pereira Junior, R. A., Luz, C., Mascarin, G. y Kamp Fernández, É. K. (2020). Differential susceptibility of blastospores and aerial conidia of entomopathogenic fungi to heat and UV-B stresses. *Fungal Biology*, 124(8), 714-722.
- De Rouen, S.M., Foil, L.D. y MacKay, A.J. (2003). Effect of horn fly (*Haematobia irritans*) control on growth and reproduction of beef heifers. *Journal of economic entomology*, 96(5), 1612-1616.
- Estrada Peña, A. (2015). Orden Ixodida: Las [garrapatas.IDE@-SEA](#), 13, 1-15.
- FAO. (2018). *Producción Animal*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación. Recuperado el 20 de febrero del 2019, de <http://www.fao.org/animal-production/es/>
- Fernández Ruvalcaba, M., Berlanga Padilla, A.M., Cruz Vázquez, C. y Hernández Velázquez, V.M. (2010). Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la inhibición de oviposición, eclosión y potencial reproductivo en una cepa triple resistente de garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (canestrini)* (Acari: Ixodidae). *Entomotrópica: Revista internacional para el estudio de la entomología tropical*, 25(3), 109-115.
- Fernández Ruvalcaba, M. (2012). Microorganismos con posible aplicación como agentes de control biológico de ectoparásitos de interés en el sector pecuario. CENID- *Parasitología Veterinaria-INIFAP*. Jiutepec, Morelos, México.
- Fernández Salas, A., Alonso Morales, R.A. y Alonso Díaz, M. Á. (2020). Distribution of entomopathogenic fungi in soils of cattle farms and

factors associated with their presence in the Mexican tropics. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(3), 1-12.

- Fernández Salas, A., Alonso Diaz, M.A. y Alonso Morales, R.A. (2019). Effect of entomopathogenic native fungi from paddock soils against *Rhipicephalus microplus* larvae with different toxicological behaviors to acaricides. *Experimental Parasitology*, 204(1), 107729
DOI:[10.1016/j.exppara.2019.107729](https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107729)
- Fernández Salas, A., Alonso Díaz, M. Á., Alonso Morales, R.A., Lezama Gutiérrez, R. y Cervantes Chávez, J.A. (2018). Phylogenetic relationships and acaricidal effects of *Beauveria bassiana* obtained from cattle farm soils against *Rhipicephalus microplus*. *The Journal of parasitology*, 104(3), 275-282.
- Fernández Salas, A., Alonso Díaz, M.A., Alonso Morales, R.A., Lezama Gutiérrez, R., Rodríguez Rodríguez, J. C. y Cervantes Chávez, J.A. (2017). Acaricidal activity of *Metarhizium anisopliae* isolated from paddocks in the Mexican tropics against two populations of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Medical and veterinary entomology*, 31(1), 36-43.
- Fernández Salas A., Rodríguez Vivas, R.I., Alonzo Diaz, M.A. (2012). Resistance of *Rhipicephalus microplus* to Amitraz and Cypermethrin in Tropical Cattle Farms in Veracruz, México. *Journal of Parasitology*, 98(5), 1010-1014.
- Fernández Salas, A., Alonso Díaz, M.A., Alonso Morales, R.A., Lezama Gutiérrez, R., Rodríguez Rodríguez, J.C. y Cervantes Chávez, J.C. (2017). Acaricidal activity of *Metarhizium anisopliae* isolated from paddocks in the Mexican Tropics against two populations of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Medical and Veterinary entomology*, 31(1), 36-43.

- Ferron, P. (1978). Biological control of insect pest by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23, 409-442.
- F.I.R.A. (2017). *Panorama Agroalimentario*. (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura). Recuperado el 5 de mayo del 2019. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200639/Panorama Agroalimentario Carne de bovino 2017__1_.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200639/Panorama_Agroalimentario_Carne_de_bovino_2017__1_.pdf)
- Fitzpatrick, D. y Kaufman, P.E. (2020). *Horn Fly Haematobia irritans irritans (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Muscidae)*. University of Florida IFAS extensión.
- Fuentes Castillo, A., Hernández Rodríguez, Y., Quintana Torrente, D., Rodríguez Fernández, R. y Méndez Mellor, L. (2018). Estrategia de lucha contra la mosca *Haematobia irritans* y la garrapata *Rhipicephalus microplus* con el uso de Effipro Bovis en un rebaño bovino. *Revista de Salud Animal*, 40(3), 1-6.
- Fuentes Castillo, A., Hernández Rodríguez, Y., Quintana Torrente, D., Rodríguez Fernández, R. y Méndez Mellor, L. (2016). Dinámica poblacional de la mosca *Haematobia irritans* (Linnaeus 1758) (Diptera: Muscidae) en Cuba. *Revista de Salud Animal*, 38(3), 137-141.
- Galindo Velasco, E., Lezama Gutiérrez, R., Cruz Vázquez, C., Pescador Rubio, A., Ángel Sahagún, C.D., Ojeda Chi, M.M., Rodríguez Vivas, R.I. y Contreras Lara, D. (2015). Efficacy of entomopathogenic fungus (Ascomycetes: Hypocreales) against adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) under stable conditions in the Mexican dry tropics. *Veterinary Parasitology*, 209(3), 173-178.

- Gillespie, T.A. y Claydon, N. (1989). The use of entomopathogenic fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pesticide Management Science*, 27(2), 203-215.
- Guglielmone, A.A., Anziani, O.S., Mangold, A.J., Giogi, R.E., Volpogni, M.M. y Flores, S.G. (1997). Seasonal variation of *Haematobia irritans* (Diptera:Muscidae) in recently infested region of central Argentina. *Bulletin of Entomological Research*, 87(1), 55-59.
- Guglielmone, A.A., Curto, E., Anziani, O.S. y Mangold, A.J. (2000). Cattle breed-variation in infestation by the horn fly *Haematobia irritans*. *Medical and Veterinary Entomology*, 14(3), 272-276.
- Guglielmone, A.A., Robbins, R.G., Apanaskevich, D.A., Petney, T.N., Estrada Peña, A., Horak, I.G., Shao, R. y Barker, S.C. (2010). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, 2528, 1-28.
- Souza Higa, L.O., Barradas Piña, F T., Silva Rodríguez, V., Valerio García, M., Romero Salas, D., Jonh Miller, R., Perez de Leon, A., Cavalcante Barro, J. y Andreotti, R. (2020). Evidence of acaricide resistance in different life stages of *Amblyomma mixtum* and *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) collected from the same farm in the state of Veracruz, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, 174,104837.
- Holdsworth, P.A., Kemp, D., Green, P., Peter, R.J., De Bruin, C., Jonsson, N.N., Lentoja, T., Rehbein, S. y Vercruyssen, J. (2006). World association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminants. *Veterinary Parasitology*, 136(1), 29-43.

- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) (2014). *Agricultura, Ganadería y pesca*. Recuperado el 5 de mayo del 2019, de <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/agropecuarias/ena/ena2014/doc/minimonografia/prodbovena14.pdf>
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Información (INEGI) (2008). *Anuria Estadístico del Estado de Veracruz*. INEGI, Aguascalientes.
- Jiménez Ruíz, M. (2015). *Efecto acaricida in vitro de hongos entomopatógenos nativos de Veracruz, México, contra larvas de garrapata Amblyomma cajennense (Acari: Ixodidae)*. (Tesis de doctorado). Oaxaca: Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca.
- Kutz, S., Jenkins, E., Veitch, A., Ducrocq, J., Polley, L. y Elkin, B. (2009). The Arctic as a model for anticipating, preventing, and mitigating climate change impacts on host–parasite interactions. *Veterinary Parasitology*, 163(3), 217-228.
- Jonsson, N.N. (2006). The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Veterinary Parasitology*, 137(2), 1-10.
- Lacey, L.A., Martins, A. y Riberiro, C. (1994). The pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for adults of the Japanese beetle, *popilia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *European Journal of Entomology*, 91(3), 313-319.

- Lagunes Quintanilla, R. E. y Bautista-Garfias, C. R. (2019). El control inmunológico: Una alternativa contra garrapatas del ganado bovino. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 7(1), 1-15.
- Leemon, D., Turner, D. y Jonsson, N. (2008). Pen studies on the control of cattle tick *Rhipicephalus microplus* with *Metarhizium anisopliae* (Sorokin). *Veterinary Parasitology*, 156(4), 248–260.
- Lohmeyer, K.H. y Miller, J.A., (2006). Pathogenicity of three formulations of entomopathogenic fungi for control of adult *Haematobia irritans* (Diptera-Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(6), 1943-1947.
- 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.
- Lozano Velázquez, M.L. (2015). *Efecto de la exposición a radiación ultravioleta sobre la germinación y el crecimiento de colonias de Hongos entomopatogenos aislados de unidades de producción bovina en el trópico mexicano*. (Tesis). Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México,D.F.
- Martínez, I. F., De Labra, V.G. y Osorio, M.J. (2019). “*Toxicological response of different genera and species of ixodide ticks collected in Mexico.*” (*Memorias del XI Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria*). Monterrey, 139–145.
- Alves Mochi, D., Monteiro, A.C., Machado Ribeiro, A.C. y Yoshida, L., (2010). Efficacy of entomopathogenic fungi in the control of eggs and larvae of the horn fly *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *Veterinary Parasitology*, 167(1), 62-66.

- Alves Mochi, D., Monteiro, A.C., Detogni Simi, L. y Moraes Sampaio, A.A. (2009). Susceptibility of adult and larvae stages of the horn fly *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* under field conditions. *Veterinary Parasitology*, 166(2), 136-143.
- Moncada González, A.C., Villar Argáiz, D., Chaparro Gutierrez, J.J., Angulo Arizala D. y Mahecha Ledesma, M. (2015). Aproximación al uso de hongos entomopatógenos y vacunas para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 198(3), 55-71.
- Monty Jr, D.E. y Garbareno, M.S. (1978). Behavioural and physiologic responses of Holstein-Friesian cows to high environmental temperatures and artificial cooling in Arizona. *American Journal of Veterinary Research*, 39(5), 877-882.
- Ojeda Chi, M.M., Rodríguez Vivas, R.I., Galindo Velasco, E., Lezama Gutierrez, R. y Cruz Vázquez, C. (2011). Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitales). *Revista Mexicana de Ciencias pecuarias*, 2(2), 177-192.
- Perinotto, W.M.S., Angelo, I.C., Golo, P.S., Quinelato, S., Camargo, M.G., Sá, F.A. y Bittencourt, V.R.E.P. (2012). Susceptibility of different populations of ticks to entomopathogenic fungi. *Experimental Parasitology*, 130(3), 257–260.
- Polanco Echeverry, D.N. y Ríos Osorio, L.A. (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 17(1), 81-95.

- Polar, P., Kairo, M.T., Peterkin, D., Moore, D., Pegram, R. y John, S.A. (2005). Assessment of fungal isolates for development of a myco-acaricide for cattle tick control. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 5(3), 276-284.
- Quiroz Romero, H. (2005). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos*. Limusa, México, D.F. 704-705.
- Robbertse, L., Richards, S.A. y Maritz Olivier, C. (2017). Bovine immune factors underlying tick resistance: Integration and future directions. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 522.
- Rodríguez Alcocer, U.J., Rodríguez Vivas, R.I., Ojeda Chi, M.M., Galindo Velasco, E. y Lezama Gutiérrez, R. (2014). Eficacia de la mezcla de dos Cepas de *Metarhizium anisopliae* (*Deuteromycotina: Hyphomycetes*) para el control de *Rhipicephalus microplus* en infestaciones naturales en bovinos. *Tropical and subtropical Agroecosystems*, 17,223-229.
- Rodríguez Vivas, R.I., Quiñones, A.F. y Fragoso, S.H. (2005). *Epidemiología y control de la garrapata Boophilus en México. En: Enfermedades de importancia económica en producción animal*. México D.F. 571-592.
- Rodríguez Vivas, R.I., Alonso Díaz, M.A., Rodríguez Arevalo, F., Fragoso Sánchez, H., Santamaria, V.M. y Rosario-Cruz, R. (2006). Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the state of Yucatan, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 136(3),335-342.
- Rodríguez Vivas, R.I., Ojeda Chi, M.M., Prez Cogollo, L.C. y Rosado-Aguilar, J.A. (2011). *Epidemiología y control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en México. En: Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales*

domésticos. Editores: Quiroz, H.R., Figueroa, J.A.C., Ibarra, F.V. y López, M.E.A. AMPAVE, 33,477-504.

- Rodríguez Vivas, R.I., Hodgkinson, J.E y Trees, A.J. (2012). Resistencia a los acaricidas en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: situación actual y mecanismos de resistencia. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 3(1),9-24.
- Rodríguez Vivas, R.I., Rosado Aguilar J.A., Ojeda Chi, M.M., Pérez Cogollo, L.C., Trinidad Martínez, I. y Bolio González, M.E. (2014). Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 1(3), 295-308.
- Rodríguez Vivas, R.I., Grisi, L., Pérez de León, A.A., Silva Villela, H., Torres Acosta, J.F.J., Fragoso Sánchez, H., Romero Salas, D., Rosario Cruz, R., Saldierna F. y García Carrasco, D. (2017). Potential economic impact assessment for cattle parasites in México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(1), 61-74.
- Sánchez Rivera, G.A. (2010). *Efecto in vivo de dos cepas de hongos entomopatógenos sobre el control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus en bovinos infestados naturalmente en el trópico húmedo*. (Tesis). Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca.
- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria) (2015). *Campaña nacional para el control de la garrapata R.* Revisado el 20 de febrero del 2019, de <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campana-nacional-para-el-control-de-la-garrapata-boophilus-spp>

- Schranck, A. y Henning, M. (2010). *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, 56(7), 1267-1274.
- Sheppard, D.C. (1983) Fenvalerate and flucythrinate resistance in horn fly population. *Journal of Agricultural Entomology*, 1, 305-310.
- Burns, E. C., McCraine S.E. y Woody, D.W. (1959). Ronnel and Co-Ral for horn fly control on cable type back rubbers. *Journal of Economic Entomology*, 52(4), 648-650.
- SIAP (Servicio de Información Alimentaria y Pesquera) (2019). Resumen Nacional. Revisado el 5 de mayo del 2019, de http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceEdo.jsp
- Silva, A.M., Alencar, M.M., Regitano, L.C.A. y Oliveira, M.C.S. (2010). Infestação natural de fêmeas bovinas de corte por ectoparasitas na região sudeste do Brasil. *Rev Soc Bras Zoot*, 39(7), 1477-1482.
- Taboada Romero, L.Y., Olivare Pérez, J., Gutiérrez Segura, I., Valencia Almazán, M.T., Rojas Hernández, S. y Córdova izquierdo, A. (2013). Diagnóstico de la resistencia de *Haematobia irritans* (DIPTERA: MUSCIDAE) a Cipermetrina y Coumafos en ranchos bovinos de tierra caliente, Guerrero, México. *Revista Científica*, 23(4),283-286.
- Torres, L. y Almazán, C. (2011). *Epidemiología de la infestación por moscas Haematobia irritans*. En: *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos*. Editores: Quiroz, H.R., Figueroa, J.A.C., Ibarra, F.V. y López, M.E.A. AMPAVE, 30, 437-449.
- Torres, L., Almazán, C., Ayllón, N., Galindo, R.C., Rosario Cruz, R., Quiroz Romero, H. y De la Fuente, J. (2011). Functional genomics of the horn fly, *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758). *BMC Genomics*, 12(1), 1.

- Torres Rodríguez, M.L. (2013). *Identificación de genes implicados en la sobrevivencia y reproducción de Haematobia irritans, mediante bioinformática e ARN*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico, D.F.
- Utech, K.B. y Wharton, R.H. (1978). Breeding Australian Illawarra Shorthorn cattle for resistance to *Boophilus microplus* Factors affecting resistance. *Australian Veterinary Journal*, 29, 411-422.
- Vega, M.C. (1991). *Actualidad e importancia de las enfermedades del ganado causadas por hemoparásitos*. Segundo Seminario Internacional de Parasitología Animal. Garrapatas y enfermedades que transmiten. Morelos, México.144-150.
- WADSWORTH, J. (1997). “*Análisis de sistemas de producción animal: las bases conceptuales*”. FAO. Roma
- Webster, A., Reck, J., Santi, L., Souza, U.A., Dall’Agnol, B., Klafke, G.M., Beys-da-Silva, W.O., Martins, J.R. y Schrank, A. (2015). Integrated control of an acaricide-resistant strain of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* by applying *Metarhizium anisopliae* associated with cypermethrin and chlorpyrifos under field conditions. *Veterinary Parasitology*, 207(3), 302-308.
- Wharton, R.H., Utech, K.B.W., (1970). The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Canestkini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. *Australian Journal Entomology*, 9, 171–182.

- Woodham, C.B.O.A., González, L.A., López, M.R. (1983). Progresos en la erradicación de las garrapatas *Bophilus* en México 1960-1980. *Rev Mund Zoot*, 48, 18-24.

- Zapata Salas, R., Cardona Zuluaga, E.A., Reyes Vélez, J., Triana Chávez, O., Peña García, V.H., Ríos Osorio, L.A., Barahona Rosales, R. y Polancy Echeverry D. (2017). Tripanosomiasis bovina en ganadería lechera de trópico alto: primer informe de *Haematobia irritans* como principal vector de *T. vivax* y *T. evansi* en Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 33, 21-34.

- Zimmerman, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci Techn*, 17(9), 879-920.