

EFICACIA DE *Metarhizium anisopliae* EN GARRAPATAS *Rhipicephalus microplus* EN INDAPARAPEO Y TZITZIO, MICHOACÁN

Elisa Valdez-Martínez¹, Ernestina Gutiérrez-Vázquez¹, Margarita Vargas-Sandoval², Roberto Lezama-Gutiérrez³, Aureliano Juárez-Caratachea¹ y Guillermo Salas-Razo¹. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo-¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Carretera Morelia-Zinapécuaro km9.5, Tarímbaro, Michoacán, CP 58880, México. mvzelivaldez@hotmail.com. ²Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Paseo Lázaro Cárdenas esq. Berlín s/n, Col. Viveros, Uruapan, Michoacán CP 60170, México. vargasmarga@hotmail.com.; ³Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Apartado postal No.36, Tecomán, Colima CP 28100, México. rlezama@uacol.mx.

RESUMEN: La garrapata *Rhipicephalus microplus* (Canestrini) produce el mayor problema global de ectoparásitos en la ganadería bovina de las regiones tropicales y subtropicales. Se evaluó la eficacia de la cepa de *Metarhizium anisopliae* Mesch. Sor. (Ma198) en el control de garrapatas adultas (*R. microplus*) en ganado bovino de razas cebú, brahmán, criollo y suizo. El tratamiento se aplicó en 2 hatos de ganado infectado naturalmente con garrapatas en las localidades de Indaparapeo y Tzitzio del estado de Michoacán. Los animales fueron tratados por baños de aspersión con Ma198 a una concentración de 1×10^8 conidias/ml cada 15 días por 6 veces realizando conteo de garrapatas en 2 hatos con 12 bovinos cada uno. Los resultados *in vivo* demostraron una disminución en la población de garrapatas. Estos resultados demuestran que Ma198 se puede emplear como alternativa para control biológico en infestaciones de adultos de *R. microplus* en ganado bovino del estado de Michoacán.

Palabras clave: Control biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Rhipicephalus microplus*.

Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* on ticks *Rhipicephalus microplus* from Indaparapeo and Tzitzio, Michoacan

ABSTRACT: The tick *Rhipicephalus microplus* (Canestrini) produces the largest global problem of ectoparasites in the cattle of the tropical and subtropical regions. Evaluated the effectiveness of the strain of *Metarhizium anisopliae* Metsch. Sor. (Ma198) in the control of adult tick (*R. microplus*) in breeds of beef cattle cebu, brahman, creole and swiss. The treatment was applied in 2 cattle herds naturally infected with ticks in the localities of Indaparapeo and Tzitzio the state of Michoacan. The animals were treated by baths of spraying with Ma198 to a concentration of 1×10^8 conidia/ml every 15 days by 6 times doing tick count in 2 herds with 12 cattle each one. The results *in vivo* showed a decrease in the tick population. These results demonstrate that Ma198 can be used as an alternative to biological control infestations in adults of *R. microplus* in cattle of the state of Michoacán.

Key words: biological control, *Metarhizium anisopliae*, *Rhipicephalus microplus*.

Introducción

El control de garrapata 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-Vivas *et al.*, 2006, 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 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. (López *et al.*, 2009). Se tiene reportado que estos hongos causan mortalidad en garrapatas adultas, a la vez que disminuyen su fecundidad (Kaaya y Hassan, 2000; Benjamín *et al.*, 2002; Da Costa *et al.*, 2002). En Colombia utilizaron *M. anisopliae* en *Rhipicephalus microplus* (Canestrini) en laboratorio y campo, reportando de

90 a 96% en disminución reproductiva de ovoposición y en campo un 75% de reducción en la infestación de reses en campo (López *et al.*, 2009). En Chile, Broglio-Micheletti *et al.* (2012) utilizaron *M. anisopliae* (mortalidad de 92 a 100%) y *B. bassiana* (de 44 a 100%) en teleoginas de *R. microplus*. La patogenicidad de *Paecilomyces fumosoroseus* autor y su uso potencial como biocontrolador está documentado (Osborne y Landa, 1992; Pozo y Rodríguez, 2003; Chan *et al.*, 2010). En México la cepa Ma34 de *M. anisopliae* ha demostrado ser eficaz para el control de fases adultas de *R. microplus* en condiciones de laboratorio (100% de eficacia, Ojeda-Chi *et al.*, 2010) y de campo sobre bovinos (40-90% de eficacia, Alonso-Díaz *et al.*, 2007). La cepa Ma14 y la mezcla de Ma14+Ma34 han demostrado tener mejor eficacia en condiciones *in vitro* e *in vivo* (larvas en pasto) (Ojeda-Chi *et al.*, 2010). Por tal motivo, el objetivo del presente estudio es evaluar la eficacia de la cepa Ma198 de *M. anisopliae* para el control de *R. microplus* en ganado bovino.

Materiales y Método

Área-unidades de estudio. El estudio se realizó en 2 hatos con bovinos de doble propósito con animales de todas las edades en cada hato, El Capire, pertenecientes a la tenencia de Tafetan, municipio de Tzitzio, con una temperatura promedio de 30°C (19°35'50" N y 100°55'21" W); La Arpita perteneciente al municipio de Indaparapeo, con una temperatura promedio de 24°C (19°47'38" N y 100°58'20" W). Las razas que se utilizaron suizo, brahman, cebú y criollo. Para determinar las unidades que fueron sometidas a tratamiento tuvieron como requerimiento tener su cuerpo con evidente infestación de garrapatas. Los materiales fueron: hielera, bolsas de gel congeladas, contador, HE, cámara fotográfica, hojas de registros, tiras reactivas de pH, tween 80, agua, cubre bocas, guantes, mochilas de aspersión y lazos.

Cepa *M. anisopliae* y condiciones de cultivo. Los hongos entomopatógenos que se utilizaron en esta investigación están depositados en la Colección de Hongos Entomopatógenos de la DES Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Colima. Los hongos fueron cultivados en agar dextrosa (SDA) Sabouraud (Moorhouse *et al.*, 1993) con 500 ppm de cloranfenicol (Sneh, 1991), incubados en 25°C y 70% HR por 3 semanas 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 min. La cuantificación de conidios de esta suspensión se realizó en una cámara de Neubauer.

Aplicación de *M. anisopliae*. La cepa Ma198, se roció a los animales siempre a favor del viento, en contra de la dirección del pelo y después de las cinco de la tarde. Se han evaluaron los animales contando el número de garrapatas que tienen en el cuerpo, realizando este conteo de todo el lado izquierdo en un plano medial con ayuda de un contador, tomando registros cada 15 días (Polar *et al.*, 2005). Los resultados del conteo de garrapatas hasta el momento obtenidos se sometieron a análisis estadístico de diagrama de dispersión con una función cuadrática o también llamada de segundo grado $Y = Ax^2 + Bx + C$ con el paquete estadístico Statistix (Statistix, 1998).

Resultados y Discusión

Los resultados sugieren que la cepa Ma198 fue eficaz en la disminución de las poblaciones de *R. microplus*, donde variaron dichas poblaciones en cada municipio.

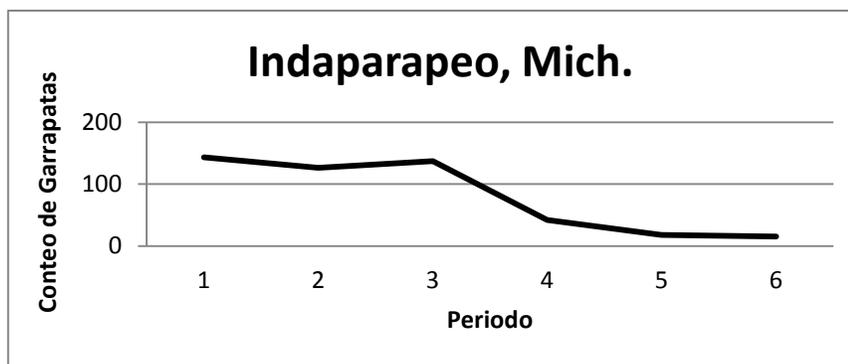


Figura 1. Representación del conteo de garrapatas durante 6 periodos cada 15 días en el ejido de la Arpita municipio de Indaparapeo, Michoacán.

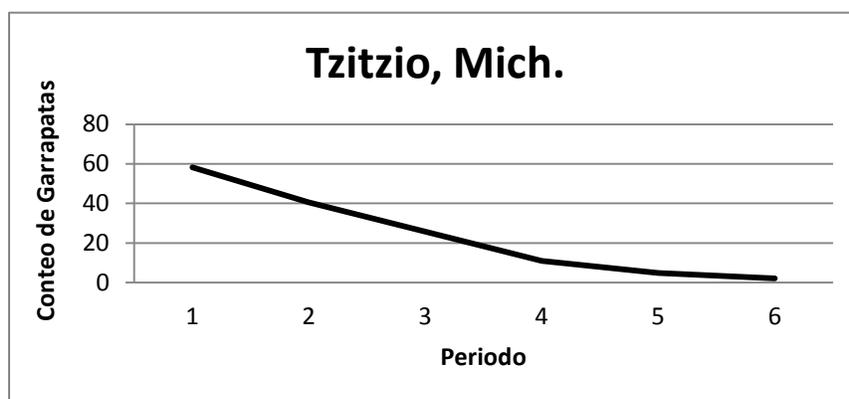


Figura 2. Representación del conteo de garrapatas durante 6 periodos cada 15 días en el ejido el Capire tenencia Tafetán municipio de Tzitzio, Michoacán.

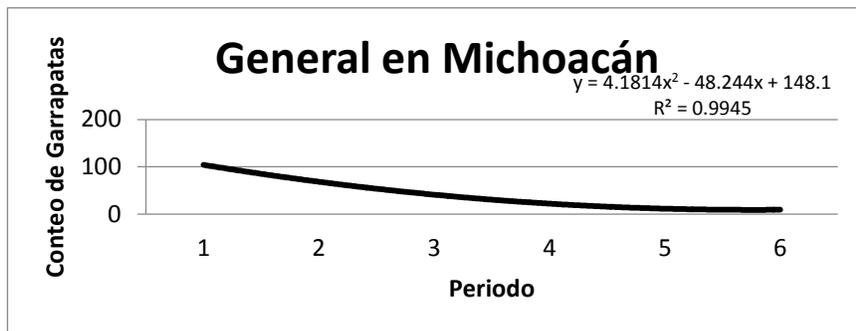


Figura 3.- Representación del modelo estadístico en recta decreciente de un polinomio de grado dos específico del conteo de garrapatas sometidas a tratamiento con Ma198 correspondientes a los municipios de Indaparapeo y Tzitzio del estado de Michoacán.

El ganado en el estado de Michoacán demuestra una decreciente población de garrapata *R. microplus* que han sido sometidas a la aplicación de Ma198 similar en infestaciones naturales, para el control de *R. microplus* (Castro *et al.*, 1997; Polar *et al.*, 2005; Alonso-Díaz *et al.*, 2007) con *M. anisopliae* que registran (40-91%) de eficacia; en donde, Alonso-Díaz *et al.*, 2007 reportó reducción de población de garrapata a partir de la segunda aplicación del tratamiento. En ciertas condiciones la

patogenicidad de *M. anisopliae* está influenciada por factores macroclimáticos (temperatura, humedad y radiación solar) como microclimáticos explica como intervienen estos factores (temperatura de la piel, química de las secreciones de la piel microflora) los cuales influyen en el nivel de infección de los hongos entomopatógenos (germinación y penetración) (Fernandes *et al.*, 2012). El tratamiento con Ma198 es eficaz para el control de garrapatas *R. microplus* en ganado bovino con problemas de infestación en praderas abiertas, en algunos municipios de Michoacán. Es necesario hacer estudios más profundos en control biológico con garrapata. ¿Existe periodo de reinfestación?, ¿cuánto dura?

Agradecimientos

A Dr. Roberto Lezama y equipo de trabajo del Laboratorio de Control Biológico No. 1 de Patología de Insectos y Ácaros de la DES (Dependencia de Educación Superior) Ciencias Agropecuarias, de la Universidad de Colima. Al laboratorio de fitopatología de la Facultad de agrobiología “Presidente Juárez”. A los proyectos: “Predicción de zonas de riesgo para la adquisición de la Enfermedad de Lyme en la República Mexicana y Genotipificación de *Borrelia burgdorferi* prevalente en el vector, los reservorios y los pacientes”. CONACyT 87868, desde 2008 a la fecha. “Tres hongos entomopatógenos y mezcla de ellos para el combate de las garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Acari: Ixodida”. Aprobado y financiado por el Consejo de la Investigación Científica de la UMSNH como parte del Programa de Investigación 2011. Productores de ganado bovino de Estrategia Pecuaria 2012-2013 y a petición del Distrito de Desarrollo Rural 092 Morelia (SAGARPA).

Literatura Citada

- Alonso-Díaz, M. A., García, L., Galindo-Velasco, E., Lezama-Gutiérrez, R., Angel-Sahagún, C. A., Rodríguez-Vivas, R. I. y H. Fragoso-Sánchez. 2007. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Vet. Parasitol.* 147: 336–340.
- Benjamín, M., Zhioua, E. y R. Ostfeld. 2002. Laboratory and field evaluation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) for controlling questing adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 5: 723-728.
- Broglio-Micheletti, S. M. F., de Souza L. A., Valente, E. C. N., de Araújo, M. J. C., Dias, N. da Silva y M. L. Gómez-Torres. 2012. Evaluation of entomopathogenic fungi as biological control agents *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *IDESIA (Chile)*. 30(1): 93-99.
- Castro, A. B. A., Bittencourt, V. R. E. P., Deamon, E., E. D. C. Viegas. 1997. Eficacia do fungo *Metarhizium anisopliae* aobreo carrapatao *Boophilus microplus* em teste de estabulao. *Rev Univ Rural Ser Cienc Vida.* 19:73-82.
- Chan, C. W., Ruiz, S. E., Cristóbal, A. J., Pérez, G. A., Munguía. R. R. y R. J. Lara. 2010. Desarrollo *in vitro* de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces fumosoroseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. *Rev. Agro.* 5: 587-597.
- Da Costa, G., Sarquis, M., De Moraes, A. y V. R. E. P. Bittencourt. 2002. Isolation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* from *Boophilus microplus* tick (Canestrini, 1887); in Rio de Janeiro State, Brazil. *Mycopathol.* 4: 207-209.
- Fernandes, E. K. K., Bittencourt, V. R. E. P., D. W. Roberts. 2012. Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Exp Parasitol.* 130: 300-305.

- Hassan, M., M. El-Garby, F. Abdel-Ghaffar, A. El-Sharaby y K. Abdel-Meged. 1997. Biological control studies of soft and hard ticks in Egypt. The effect of *Bacillus thuringiensis* varieties of soft and hard tick (Ixodidae). Parasitol Res. 3:209-213.
- Hill, E. 1998. Entomopathogenic nematodes as control agents of development stages of the black legged tick: *Ixodes scapularis*. J. Parasitol. 6:1124-1127.
- Jonsson, N. N., A. Matschoss, P. Pepper, P. Green, M. Albrecht, J. Hungerford y J. Ansell 2000. Evaluation of tickGARD Plus; a novel vaccine against *Boophilus microplus*; in lactating Holstein-Friesian cows. Vet Parasitol. 3: 275-285.
- Kaaya, G. P. y S. Hassan 2000. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. Exp Appl Acarol. 12: 913-926.
- López, E., G. López y S. Orduz. 2009. Control of the cattle tick *Boophilus microplus* with *Metarhizium anisopliae*, laboratory and field studies. Rev. Col. Entomol. 1: 42-46.
- Moorhouse, E. R., Gillespie, A. T. y A. K. Charnley. 1993. Selection of virulent and persistent *Metarhizium anisopliae* isolates to control black vine weevil (*Otiorynchus sulcatus*) larvae on glasshouse begonia. J Invertebr Pathol. 62:47-52.
- Ojeda-Chi, M. M., Rodríguez-Vivas, R. I., Galindo-Velasco, E. y R. Lezama-Gutiérrez. 2010. Laboratory and field evaluation *Metarhizium anisoplae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in Mexican tropics. Vet Parasitol. 170: 348-354.
- Osborne LS, Landa L 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. Florida Entomologist. 75: 456-471.
- Polar, P., Aquino, de Muro, M., Kairo, M., Moore, D., Pegram, R., John, S.A. y C. Roach-Benn. 2005. Thermal characteristics of *Metarhizium anisopliae* isolates important for the development of biological pesticides for the control of cattle ticks. Vet Parasitol. 134:159-167.
- Pozo, N. M. y A. D. Rodríguez. 2003. Alternativa para el manejo de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en tomate orgánico en Uruguay. Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas España. 2: 211-218.
- Prates, H., Leite, B. R., Craveiro, C. A. y D. A. Oliveira. 1998. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). J Braz Chemic Socie 2: 193-197.
- Rodríguez-Vivas, R. I., M. A. Alonso-Díaz, F. Rodríguez-Arevalo, H. Frago-Sánchez, V. M. Santamaria y R. Rosario-Cruz 2006. Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the state of Yucatan, México. Vet Parasitol. 136:335-442.
- Rodríguez-Vivas, R. I., A. L. Rivas, G. Chowell, S. H. Frago, C. R. Rosario y Z. Garcia 2007. Spatial distribution of acaricide profiles (*Boophilus microplus* strains susceptible or resistant to acaricides) in southeastern Mexico. Vet Parasitol. 146:158-169.
- Sneh, B., 1991. Isolation of *Metarhizium anisopliae* from insects on an improved selective medium based on wheat germ. J Invertebr Pathol. 58:269-273.
- Statistix, 1998. Statistix for windows. Analytical software, User's Manual. Tallahassee, U.S.A. 333p.