

ACCIÓN DE *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) EN *Rhipicephalus (B.) microplus* (Canestrini) (ACARI: IXODIDAE) SOBRE GANADO BOVINO EN COALCOMÁN, MICHOACÁN

Manuel Rivera-Cervantes¹, Margarita Vargas-Sandoval¹✉, Mayra Ramos-Lima², José de Jesús Ayala-Ortega³, Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez¹, Teresita del Carmen Ávila-Val¹ y Maribel Gutiérrez-Contreras¹

¹Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Paseo Lázaro Cárdenas esquina con Berlín, Uruapan, Michoacán C. P. 60040 México,

²Facultad Medio Ambiente, Instituto Superior de Tecnologías y Ciencias Aplicadas (InSTEC), Ave Salvador Allende y Luaces, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba,

³Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, UMSNH. Km. 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro. Michoacán C. P. 58880 México.

✉Autor de correspondencia: vargasmarga@hotmail.com

RESUMEN. El objetivo del presente estudio fue evaluar la acción de este hongo en el control de la garrapata *R. (B.) microplus* en el ganado bovino en municipio de Coalcomán, Michoacán, en condiciones de campo. Para ello, se realizaron cinco conteos con intervalos semanales, antes y después de la aplicación de la cepa Ma198: dos antes de los tratamientos y tres posteriores y se evaluaron estadísticamente las diferencias entre los conteos. La tendencia de la media poblacional de *Rhipicephalus (B.) microplus* fue expresada mediante una curva exponencial negativa, lo que evidencia el efecto supresor de *M. anisopliae* sobre este ixódido; se corrobora estadísticamente que existieron diferencias entre las proporciones de *R. (B.) microplus* presentes antes y después de las aplicaciones con *M. anisopliae* y se concluye que la cepa Ma198 es efectiva sobre *R. (B.) microplus*, lo que constituye un resultado de gran importancia para las reses de este hato y la ganadería bovina en la región.

Palabras clave: Garrapatas, hongos, control biológico.

Action of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) in *Rhipicephalus (B.) microplus* (Canestrini) (ACARI: IXODIDAE) on bovine cattle in Coalcomán, Michoacán

ABSTRACT. The aim of the present study was to evaluate the action of this fungus in the control of the *R. (B.) microplus* tick in cattle in the municipality of Coalcomán, Michoacán, under field conditions. For them, five counts were performed with one-week intervals of the Ma198 strain: two before treatments and three after treatments, and the differences between counts were statistically evaluated. It was found that the trend of the population mean of *R. (B.) microplus* was expressed by a negative exponential curve, which evidences the suppressive effect of *M. anisopliae* on this ixodide; It was statistically corroborated that there were differences between the ratios of *R. (B.) microplus* present before and after the sprays with *M. anisopliae* and it is concluded that the strain Ma198 is effective on *R. (B.) microplus*, which constitutes a result of great importance for the cattle of this place and the bovine cattle in the region.

Keywords: Ticks, fungi, biological control.

INTRODUCCIÓN

En México, uno de los principales problemas de la salud animal bovina es la alta incidencia de las garrapatas. En este país, se han registrado 82 especies de estos ácaros, tanto en animales silvestres como domésticos siendo *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) la que mayor impacto tiene en la ganadería, debido a su amplia distribución en regiones tropicales y subtropicales, a los daños económicos por la disminución de los parámetros productivos de los animales, a los costos de control, a los problemas de resistencia a ixodicidas y a las enfermedades que trasmite (Rodríguez-Alcocer *et al.*, 2014).

En este sentido Vargas (2015) señala que una de las plagas ectoparásitas con mayor presencia en el ganado bovino es principalmente *R. microplus* y describe que provoca daños importantes en la reducción de la producción de carne y leche, pieles de mala calidad, reducción del aumento poblacional de pie de cría, intoxicación animal y un incremento en los costos de producción.

El control de las garrapatas se ha realizado comúnmente mediante acaricidas químicos, pero el 50 % de estas garrapatas en México son resistentes a esos productos. Esto constituye un auténtico problema, ya que una proporción importante de los bovinos están expuestos a estos artrópodos. Una mejora en el control de esta infestación tendría un gran impacto en los costos de producción de vacuno, ya que las enfermedades transmitidas por *R. microplus* y el gasto en garrapaticidas para su control producen un gasto de casi 5.000 millones de euros al año (Ventura, 2013). Otros elementos a tener en cuenta, además de la resistencia, es la actual demanda de alimentos libres de residuos químicos y el cuidado del medio ambiente, por lo que la utilización de sistemas alternativos de control es un tema en el que se está insistiendo actualmente (López *et al.*, 2009).

Dentro de los métodos alternativos, se pueden mencionar el uso de nematodos, vacunas, micropreparados a base de bacterias, aceites esenciales y hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill, 1806) y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1883). Se ha informado que estos hongos causan mortalidad en garrapatas adultas, a la vez que disminuyen su fecundidad (López *et al.*, 2009).

Por su distribución cosmopolita y alta patogenicidad, el hongo *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) ha demostrado ser uno de los entomopatógenos más eficientes para la biorregulación de *R. microplus* en condiciones *in vitro* e *in vivo* (Alonso *et al.*, 2007; Ojeda *et al.*, 2010). La disponibilidad de un nuevo producto para el control, a base de algunas de estas variantes, constituye una necesidad inaplazable, no sólo por el progresivo aumento de los casos de resistencia y los efectos negativos impactos ambientales, sino también por la necesidad de precisar su efecto en diferentes ecosistemas.

Teniendo en cuenta estos antecedentes se plantea el siguiente objetivo: evaluar la acción de *Metarhizium anisopliae* en el control de la garrapata *Rhipicephalus (B.) microplus* en el ganado bovino en municipio de Coalcomán, Michoacán, en condiciones de campo.

MATERIALES Y MÉTODO

Cultivo del hongo entomopatógeno *M. anisopliae*. El cultivo de *M. anisopliae* se realizó en el laboratorio del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, situado en el kilómetro 9.5 de la carretera Morelia-Zinápecuaro del municipio de Tarímbaro, Michoacán.

La cepa seleccionada fue Ma198, esta se encuentra depositada en la Colección de Hongos Entomopatógenos de la Universidad de Colima. Los hongos fueron cultivados en agar dextrosa Sabouraud (SDA), con 1 % de extracto de levadura y con 500 ppm de cloranfenicol, incubados en 25 °C y 70 % de humedad relativa durante tres semanas (Rivera-Oliver *et al.*, 2013; Valdez-Martínez *et al.*, 2013a y 2013b).

Posteriormente, para la separación de conidios se preparó una solución estéril de 0.1 % de Tween 80 con agua destilada y se agitó durante tres segundos. En la multiplicación masiva de los hongos, se utilizaron bolsas de polipapel con 250 g de arroz entero previamente lavado y tratado con 500 ppm de cloranfenicol, posteriormente, se esterilizó en un autoclave durante 15 minutos. Se inoculó cada bolsa con 10 ml de suspensión con conidios y se incubaron a una temperatura de 25 °C y 70 % de humedad relativa durante 21 días (Fernández *et al.*, 2010; Valdez-Martínez *et al.*, 2013a).

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

Estudio en campo. El estudio se realizó en un hato situado en el municipio de Coalcomán, al suroeste de Michoacán con una cantidad de 10 bovinos de las razas Suizo, Simental y Simbrah. La preparación para el tratamiento consistió en mezclar la cepa a una concentración de 1×10^8 conidios/ml con Inex-A® como adherente y agua, a la cual se le midió el pH con tiras reactivas (Valdez-Martínez *et al.*, 2013a). Se utilizaron lazos y una manga de manejo para inmovilizar a los animales: el ganado se reunía, se lazaba y se le colocaba la manga para evitar posibles golpes. Con un plumón, se marcó la mitad izquierda del cuerpo para facilitar el conteo de las garrapatas, también se utilizó una bomba tipo mochila para rociar a los animales, siempre a favor del viento, a contra pelo y después de la cinco de la tarde.

El conteo se realizó solo por ese lado del animal, en un plano medial multiplicado por dos (Valdez-Martínez *et al.*, 2013a). La metodología utilizada consistió en pasar una mano por la sección seleccionada de la vaca para detectar las garrapatas y con la otra mano fueron contabilizadas mediante un contador manual. Se realizaron cinco conteos, con intervalos de una semana entre los mismos, dos antes de la aplicación de la cepa y los otros tres después de cada tratamiento, una semana después de realizados los mismos.

Para calcular la tendencia poblacional de la media poblacional de *Rhipicephalus (B.) microplus* antes y después de los tratamientos con *M. anisopliae* se promediaron las garrapatas en cada conteo, con estos datos se dibujó la curva de tendencia de la población y se determinó el tipo de la misma, a través de las opciones gráficas que proporcionó Microsoft-Excel. Para estimar si existían diferencias entre las proporciones de *Rhipicephalus (B.) microplus* presentes antes y después de las aplicaciones con *M. anisopliae*, se estimó la proporción de garrapatas para cada conteo mediante la siguiente expresión:

$$\text{Proporción} = \frac{\text{Número de garrapatas registradas en cada muestreo}}{\text{Número total de garrapatas}}$$

Con los datos resultantes, se realizó un análisis de proporciones de Wald, para conocer si existían diferencias estadísticas entre los muestreos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1, se muestran las medias de la cantidad de garrapatas contabilizadas, antes y después de cada muestreo: se observa que en los dos primeros muestreos, antes de realizar las aplicaciones con la cepa 189 de *M. anisopliae*, las poblaciones de *R. (B.) microplus* eran altas y después de realizadas, se observa como disminuyen. La curva de tendencia resultó ser una exponencial negativa e indica claramente una evidente disminución de la población de garrapatas.

El análisis de comparación de proporciones de Wald corroboró estadísticamente esta observación (Cuadro 1), ya que se hallaron diferencias significativas entre los dos primeros muestreos (sin tratamientos) y el resto muestreos (tratados), siendo el último el que mostró los menores valores y difirió estadísticamente de todos.

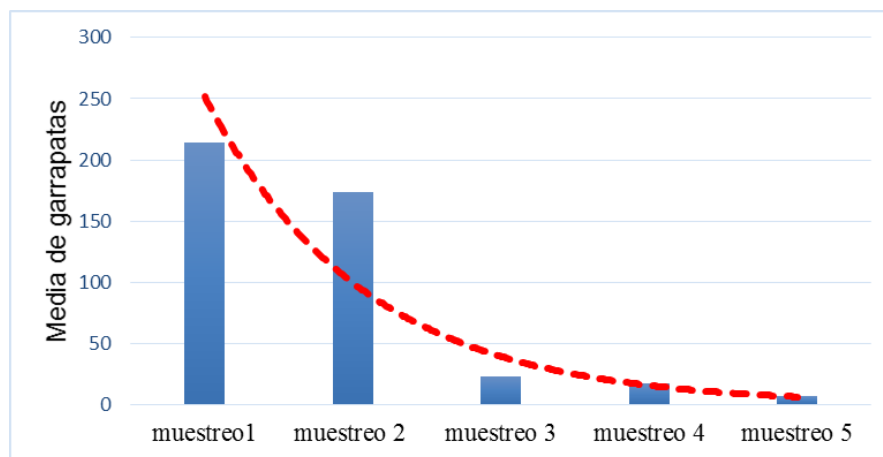


Figura 1. Media de *R. (B.) microplus* en los diferentes muestreos y curva de tendencia (línea roja). Las flechas indican los momentos de aplicación.

Cuadro 1. Comparación de proporciones de Wald entre muestreos.

Muestra	Población	Proporción	Error	Varianza	Signif.
0.64	1	0.64	0.6	0.2304	A
0.42	2	0.42	0.620	0.1771	A
0.06	3	0.02	0.571	0.0196	B
0.05	4	0.012	0.496	0.0123	B
0.01	5	0.002	0.446	0.0019	C

Con todos esos elementos es posible afirmar que la cepa Ma198 es efectiva sobre *R. (B.) microplus*. Este constituye un resultado de particular valor, sobre todo si se considera la situación zoonosaria que poseen las reses de este hato y la importancia económica que reviste la ganadería bovina en la región.

A pesar de los resultados positivos, vale señalar que existe una limitación en este estudio, dada por que no se pudo tener un grupo de reses sin tratamiento, que sirvieran como “control o testigo”, lo que sin dudas hubiera permitido una mejor comparación estadística. La principal razón es que en hatos de producción no se facilitan reses para que permanezcan sin ningún tratamiento, aunque se explique convenientemente la importancia de estos estudios. Otro elemento que también influyó fue el interés particular de la investigación de realizar esta prueba en condiciones de campo, sobre reses en producción. Este aspecto deberá quedar como una recomendación para estudios futuros. En estudios similares, De Castro *et al.* (1997), en pruebas de establo, con concentraciones de 10^7 y 10^8 conidios. ml^{-1} obtuvieron una eficacia significativa de *M. anisopliae* sobre diferentes estadios de desarrollo de *B. microplus*, en especial sobre estadios inmaduros o inmediatamente después de la muda, lo que constata el potencial que este hongo tiene para la aplicación directa sobre animales. Por su parte, Arguedas *et al.* (2008) encontraron que en la finca en la cual únicamente se utilizó el baño con la solución de *M. anisopliae*, se controló la población de garrapatas a un nivel que no permitió aumentos posteriores y refieren que la disminución en la finca tratada con el hongo fue de 20% superior a la finca en la cual no se llevó a cabo la aplicación del hongo.

López *et al.* (2009) obtuvieron también buenos resultados en ensayos de campo, ya que lograron reducir la infestación de garrapatas en un 75 % en vacas Holstein x Cebú, cuando se aplicó *M. anisopliae* a una concentración de 1×10^8 conidias/ml. Además, observaron que la fecundidad de las garrapatas provenientes de vacas tratadas con *M. anisopliae* era tres veces inferior que las del grupo control.

Aguilar (2010) registró que la aplicación directa de *M. anisopliae* sobre *R. microplus* produce un 92% de infectividad de garrapatas 24 h después de la aplicación del hongo, además, reporta una elevada mortalidad de hembras confinadas en las orejas al ser protegidas con bolsas, en ganado cebú. En este mismo trabajo, se indica que se reduce la eclosión de los huevos de 40 – 50 % y se induce mortalidad de hembras pletóricas en un 48 %.

Ojeda *et al.* (2010) en pruebas también in vivo, como las ejecutadas en esta investigación, hallaron que las variaciones en la eficacia de las cepas se pueden relacionar directamente con los factores climáticos y lugar de procedencia de las mismas, ya que existen cepas que presentan una mayor tolerancia a altas temperatura y exposición a rayos UV, así como al microambiente del animal, como es la temperatura de la piel, pero de forma general señalan resultados satisfactorios de *M. anisopliae* en el control de garrapatas.

Por último Porfirio y Schwentesius (2016) reportaron que cepas registradas de *M. anisopliae* tuvieron efectos positivos sobre las garrapatas (*Bophilus microplus*) ya que en los tres ranchos en donde fueron establecidos los experimentos redujeron la carga a 30 garrapatas/animal. Esos mismos autores afirmaron que al hacer un análisis económico de costos, los baños con los biopreparados resultaron ser relativamente baratos, ya que al dejar de usar químicos, se redujeron los costos hasta un 61 %, y finalmente que el uso de microorganismos no contamina el ambiente y garantiza la salud del consumidor.

Todos estos autores coinciden de forma general con lo obtenido en este estudio, lo que constituye un aval positivo para los resultados aquí descritos.

Vale señalar que actualmente, el uso de garrapaticidas de origen químico, llevan a que sea necesario desarrollar opciones que sean efectivas en el control de las garrapatas y que no provoquen resistencia. Los hongos entomopatógenos tienen gran potencial como agentes controladores y pueden ser una solución a este problema. En este sentido Cavallotti *et al.* (2003) y George *et al.* (2004), por solo citar dos autores, coinciden al afirmar que el uso continuado de productos químicos provoca resistencia en esos ácaros.

Por su parte Bazán (2002) expuso que el control químico, aunque efectivo, ha sido parcialmente exitoso, ya que trae consigo serios problemas de contaminación de carne y leche, debido a su toxicidad, causando efectos sobre la salud animal y humana, así como en el ambiente y que es por eso que muchos de ellos ya se encuentran prohibidos. Además, la aparición de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas químicos ocasiona que el ganadero realice un mayor número de aplicaciones por año, e incluso, que incremente la dosis, contribuyendo así a elevar los costos de producción. Los resultados de esta tesis tributan también a la reducción de resistencia y consecuentemente a la solución de este inconveniente.

También es importante destacar que el efecto supresor de *R. (B.) microplus* por de este hongo entomopatógeno, comprobado además en este experimento, adiciona elementos que lo convierten en una alternativa de bajo costo, que no produce resistencia e inocua al ambiente y reafirma que el control biológico representa en la actualidad una alternativa prometedora en el control de garrapatas.

CONCLUSIÓN

La tendencia de la media poblacional de *Rhipicephalus (B.) microplus* fue expresada mediante una curva exponencial negativa, lo que evidencia el efecto supresor de *M. anisopliae* sobre este ixódido.

Se corroboró estadísticamente que existieron diferencias entre las proporciones de *R. (B.) microplus* presentes antes y después de las aplicaciones con *M. anisopliae*.

La cepa Ma198 es efectiva sobre *R. (B.) microplus*, lo que constituye un resultado de gran importancia para las reses de este hato y la ganadería bovina en la región.

Literatura Citada

- Aguilar, J.A. 2010. *Termo-tolerancia y eficacia in Vitro del hongo entomopatógeno Metarhizium anisopliae (Ma14) Sobre el control de larvas de Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Tesis para obtener el Título de Médico Veterinario Zootecnista.
- Alonso D., García, M. A., Galindo-Velasco, L., Lezama-Gutiérrez, E., Angel-Sahagún, R. C., Rodríguez-Vivas, R. I. and 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. *Veterinary Parasitology*, 147: 336–340.
- Arguedas, M., Álvarez, V. y R. Bonilla. 2008. Eficacia del hongo entomopatógeno *Metharrizium anisopliae* en el control de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Agronomía Costarricense*, 32(2): 137–147.
- Bazán, M. 2002. *Control biológico de Boophilus microplus Canestrini (Acari: Ixodidae) en ganado bovino estabulado*. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Biotecnología.
- Cavallotti, V. B. y Palacio, M. V. (Coordinadores). 2003. *La ganadería mexicana*. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/articulos/control-biologico-garrapata-boophilus-t7734/p0.htm>. (Fecha de consulta: 28-I-2017).
- De-Castro, A. B. A., Bittencourt, V. R. E. P., Daemon, E. r E. C. Viegas. 1997. Eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre o carrapato *Boophilus microplus* em teste de estábulo. *Revista de Ciências da Vida*, 19: 73–82.
- Fernández, R. M., Berlanga, P. A. M., Cruz, V. C. y V. V. M. Hernández. 2010. Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la inhibición de ovoposición, eclosión y potencial reproductivo en una cepa triple resistente de garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). *Entomotropica*, 25(3): 109–115.
- George, J. E., Pound, J. M. and R. B. Davey. 2004. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology*, 129: S353–S366.
- López, E., López, G. y S. Orduz. 2009. Control de la garrapata *Boophilus microplus* con *Metarhizium anisopliae*, estudios de laboratorio y campo. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(1): 42–46.
- Ojeda, M. M., Rodríguez-Vivas, R. I., Galindo-Velasco, E. and R. Lezama-Gutiérrez. 2010. Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 170: 348–354.
- Porfirio, N. I. y R. R. Schwentesius. 2016. *Control biológico de garrapata (Boophilus microplus), con microorganismos*. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/289768055_Control_biologico_de_Garrapata_con_Microorganismos. (Fecha de consulta: 28-I-2017).
- Rivera-Oliver, R., Ángel-Sahagún, C. A., Cruz-Avalos, A. M., Lezama-Gutiérrez, R., Canchola-Ramírez, M. y J. Molina-Ochoa. 2013. *Patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre huevos de diferente edad de la garrapata Rhipicephalus microplus*. Pp. 346–350. In: M. A. Equihua, V. E. Estrada, J. A. Acuña S. y G. M. P. Chaires. *Entomología mexicana*, Vol. 12, Tomo 1. Colegio de Postgraduados y Sociedad Mexicana de Entomología.
- Rodríguez-Alcocer, U. J., Rodríguez-Vivas, R. I., Ojeda-Chi, M. M., Galindo-Velasco, E. and R. Lezama-Gutiérrez. 2014. Efficacy the mixture of two strains of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to control *Rhipicephalus microplus* on natural infestation of cattle. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17: 223–229.
- Valdez-Martínez, E., Gutiérrez-Vázquez, E., Vargas-Sandoval, M., Lezama-Gutiérrez, R., Juárez-Caratachea, A. y Salas-Razo, G. 2013a. Evaluación de la eficacia de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* en huevos y adultos de la garrapata (*R. microplus* y *A. cajennense*). Pp. 54–59. In: M. A. Equihua, V. E. Estrada, J. A. Acuña S. y G. M. P. Chaires. *Entomología mexicana*, Vol. 12, Tomo 1. Colegio de Postgraduados y Sociedad Mexicana de Entomología.

- Valdez-Martínez, E., Gutiérrez-Vázquez, E., Vargas-Sandoval, M., Lara-Chávez, M. B. N., Juárez-Caratachea, A. y G. Salas-Razo. 2013b. Evaluación in vitro de la eficacia de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumoroseus* en garrapatas (*R. microplus*) en Michoacán. Pp. 351–355. In: XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca de Juárez. Oaxaca, México. Septiembre:
- Vargas, S. B. 2015. *Eficacia de Metarhizium anisopliae en el control de la garrapata Rhipicephalus (Boophilus) microplus en bovinos del municipio de Coahuayana, Michoacán*. (Tesis de licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán. México.
- Ventura, J. 2013. ¿Cómo se hace resistente *Rhipicephalus microplus* a los garrapaticidas?. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/12628/actualidad/como-se-hace-resistenterhipicephalus-microplusa-los-garrapaticidas.html>. (Fecha de consulta: 28-I-2017).