Biológicas. Diciembre 2025 (1): 1-

Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Evaluación de hongos entomopatógenos en *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) en bovinos de Michoacán, México

Elisa Valdez-Martínez[1] Ernestina Gutiérrez-Vázquez[1], Margarita Vargas-Sandoval[2]✉, Roberto Lezama Gutíerrez[3], Juan Mendoza Churape[4], José de Jesús Ayala Ortega[5] y Aureliano Juárez-Caratachea[1]

[1] Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, UMSNH, Carretera Morelia-Zinapécuaro km 9.5 58880, Tarímbaro, Michoacán. [2] Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edificio R, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. CP 58060. [3] Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Apartado postal No.36, 28100 Tecomán, Colima. [4] Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", UMSNH, Paseo Lázaro Cárdenas esq. Berlín s/n, Col. Viveros, 60170 Uruapan, Michoacán. [5]Facultad de Ciencias Agropecuarias Apatzingán UMSNH, Mariano Jiménez S/N, Varillero, 60670 Apatzingán de la Constitución, Michoacán.

Resumen

Se evaluó la eficacia de cepas de *Metarhizium anisopliae*, *Bauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* para el control de garrapatas *Rhipicephalus microplus* nativas del estado de Michoacán. *In vitro,* primero se probaron cepas que ya habían sido utilizadas en otros estados de la república, *Ma34, Ma198, Ma181, Ma14, Bb174* y *Bb249;* de ese grupo se eligió, con mejores resultados, la *Ma198* y *Bb247*. Posteriormente, se probaron las cepas individualmente y sus mezclas (*Ma198, Bb249, Pfr13, Bb249+Ma198, Pfr13+Ma198, Bb249+Pfr13* y *Bb249+Ma198+Pfr13*). Los resultados indicaron que hay diferencias significativas (P<0.05) donde *Ma198, Bb249+Ma198, Pfr13+Ma198* y *Bb249+Pfr13+Ma198* fueron las mejores con una efectividad del 95 al 100%. Estos resultados demuestran que *Ma198* se puede emplear como alternativa para control biológico en adultos y huevos de *R. microplus*. Posteriormente se evaluó la eficacia de la cepa Ma198 en el control de garrapatas *R. microplus* en ganado bovino de razas Cebú, Brahmán, Criollo y Suizo. El tratamiento se aplicó en hatos infestados de modo natural con garrapatas en los municipios de Queréndaro, Indaparapeo y Tzitzio del estado de Michoacán. Los animales fueron tratados por baños de aspersión con Ma198 a una concentración de 1x108 conidias/ml seis veces cada 15 días. El promedio inicial general de los tres municipios fue de 106.33 garrapatas por animal y finaliza con un promedio general de 7.95 garrapatas por animal después de las seis aplicaciones.

Palabras clave: Control biológico. Entomopatógenos. *Metarhizium anisopliae*. Garrapatas. Michoacán, México.

Abstract

The effectiveness of strains of *Metarhizium anisopliae*, *Bauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* to control ticks *Rhipicephalus microplus* native Michoacan state was evaluated. *In vitro*, first strains that had already been used in other Mexican states, *Ma34, Ma198, Ma181, MA14, BB174,* and *Bb249* were tested and was chosen, with the best results, *Bb247* and *Ma198*. Subsequently they strain individually and mixtures (*Ma198, Bb249, Pfr13, Bb249 + Ma198, Pfr13 + Ma198, Pfr13 + Bb249,* and *Bb249 + Ma198 +Pfr13*) were tested. The results indicated that *R. microplus* showed significant differences (P <0.05) where *Ma198, Bb249 + Ma198, Ma198 + Bb249* and *Pfr13 + Ma198 + Pfr13* were the best with an effectiveness of 95 to 100%. These results demonstrate that *Ma198* can be used as an alternative for biological control in adults and eggs of R. microplus. Then *Ma198* strain effectiveness in controlling *R. microplus* ticks in cattle Zebu, Brahman, Criollo and Swiss were evaluated. The treatment was applied in herds naturally infested with ticks in the municipalities of Querendaro, Indaparapeo and Tzitzio of Michoacan state. The animals were treated by spraying baths with *Ma198* at a concentration of 1x108 conidia/ml every 15 days for 6 times. The overall initial average of the three municipalities was 106.33 ticks per animal and ends with an overall average of 7.95 ticks per animal after six applications.

Key words: Biological control, Entomopathogenic, *Metarhizium anisopliae*, Ticks, Michoacan, Mexico.

✉ **Dra. Margarita Vargas Sandoval,** *margarita.vargas@umich.mx*.
Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edificio R, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. CP 58060

Para citar utilice: Valdez-Martínez E., E. Gutiérrez-Vázquez, M. Vargas-Sandoval, R. Lezama-Gutíerrez, J. Mendoza Churape, J.J. Ayala-Ortega y A. Juárez-Caratachea. (2025) Evaluación de hongos entomopatógenos en *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) en bovinos de Michoacán, México. *Rev. Biol.* 24 (1): 1-

Introducción

Se sabe que la producción bovina se encuentra limitada por problemas causados por parasitosis y enfermedades. Las garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) constituyen el ectoparásito más importante de la ganadería mundial, producen el mayor problema en la ganadería bovina de las regiones tropicales y subtropicales, donde sus climas son favorables para la supervivencia de las garrapatas (Jonsson 1997). El impacto económico se debe al daño causado a las pieles por acción del gnatosoma al alimentarse, pérdida de sangre, efectos tóxicos, reducción en la producción de leche y carne, en la producción de becerros y el incremento en los costos de control; además de que transmiten agentes etiológicos como: virus, bacterias, rickettsias y protozoos (Ojeda-Chi et al. 2011).

En México, el control de garrapatas se basa principalmente en ixodicidas; sin embargo, su uso irracional ha propiciado la aparición de garrapatas resistentes a las principales familias de ixodicidas (Rodríguez-Vivas et al. 2006a, 2006b, 2007).

Por la demanda de alimentos libres de residuos químicos y por el cuidado del ambiente, se ha sugerido la utilización de sistemas alternativos de control entre los que se pueden contar el empleo de nemátodos (Hill 1998), vacunas (Jonsson et al. 2000), bacterias (Hassanain et al. 1997), aceites esenciales (Prates et al. 1998) y hongos entomopatógenos. Entre los hongos más usados están *Beauveria bassiana* (Bassi, 1837) (*B. bassiana*) y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) (*M. anisopliae*) (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).

El control biológico con hongos entomopatógenos es una buena alternativa, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize, 1904) y *Metarhizium anisopliae* han sido los más utilizados, aunque se sabe que 17 especies de hongos han sido probados en garrapatas (Samish y Rehacek 1999).

En Colombia utilizaron *M. anisopliae* en *R. microplus* en laboratorio y campo, reportando 90-96% 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 et al. (2012) utilizaron *M. anisopliae* (mortalidad 92 a 100%) y *B. bassiana* (44 a 100%) en teleoginas de *R. microplus*. La patogenicidad de *Paecylomices fumosoroseus* (*P. fumosoroseus*) y su uso potencial como biocontrolador también ha sido documentado (Osborne y Landa 1992; Rodríguez-Dos Santos y Pozo-Núñez 2003; Chan-Capul 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) en el sureste de la república (Ojeda-Chi et al. 2010).

Se ha demostrado que Bb, Ma y Pfr han tenido efectividad sobre varios insectos y garrapatas, sin embargo, no han sido probadas otras cepas y la combinación de ellas. Por tal motivo el objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia de diferentes cepas de M. anisopliae, B. bassiana y P. fumosoroseus, así como la mezcla de ellos en condiciones de laboratorio y de campo sobre garrapatas en el estado de Michoacán.

Materiales y métodos

Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos que se utilizaron en esta investigación están depositados en la Colección de Hongos Entomopatógenos 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, ubicado en el km 40 de la carretera Colima-Manzanillo en Tecomán, Colima, México.

Se evaluó la eficacia de cepas de *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* para el control de garrapatas *R. microplus* nativas del estado de Michoacán. *In vitro*, primero se probaron cepas que ya habían sido utilizadas en otros estados de la República, las cepas *M. anisopliae* (*Ma34, Ma198, Ma181, Ma14*), *B. bassiana* (*Bb174* y *Bb249*) y *P. fumosoroseus* (*Pfr13*), de ese grupo se eligió, por sus mejores resultados, la *Ma198* y *Bb247*.

La cuantificación de conidios de esta suspensión se realizó en una cámara de Neubauer (Lezama y Munguía 1990). El aislado se reprodujo en grano entero de arroz (Alves y Pereira 1989; Lezama et al. 1997).

Pruebas de efectividad *in vitro*

Para la realización del bioensayo se obtuvieron garrapatas adultas procedentes del estado de Michoacán, México. Se transportaron al laboratorio, se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 0.1% durante 10 segundos, seguidos por tres lavados con agua destilada estéril (Kaaya y Hassan 2000). Las garrapatas de *R. microplus* se distribuyeron aleatoriamente en grupos de 20 ejemplares, en cada caja de Petri con 4 repeticiones.

Se inocularon mediante la técnica de inmersión durante 5 seg utilizada por Kaaya et al. (1996) con 8 tratamientos de cepas a la concentración de 1x108 conidias/ml, el grupo testigo asperjado con agua y Tween 80; después de la inoculación se dejaron en incubación a 25°C y cada 5 días se registró el número de garrapatas muertas por micosis.

La micosis fue considerada cuando al cuerpo de la garrapata se le observaron estructuras fúngicas características de la cepa inoculada.

El bioensayo se realizó en el Laboratorio de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en Uruapan, Michoacán.

Análisis estadísticos

Los resultados se sometieron a análisis estadístico con la prueba no paramétrica basada en rangos de Kruskal-Wallis para muestras múltiples ($P<0.05$), utilizando el paquete estadístico Statistica (Statistica, 2006); y así conocer las diferencias entre los porcentajes de efectividad con cada tratamiento.

Pruebas de efectividad *in vivo*

El estudio se realizó en 7 hatos con bovinos de doble propósito con 12 animales de todas las edades en cada hato, "El Capire", "El Naranjo", "El Capulín", "Cuicateo" pertenecientes a la tenencia de Tafetán, municipio de Tzitzio (19°35´50" N 100°55´21´´ W), con una temperatura promedio de 30°C; "La Arpita" perteneciente al municipio de Indaparapeo (19°47´38´´ N 100°58´20´´ W), con una temperatura promedio de 24°C; "Los Puchotes" y "Rincón de Zetina" pertenecientes al municipio de Queréndaro (19°80´87´´ N 100°88´42´´W), con temperatura media de 23°C. El período de muestreo comprendió de octubre a mayo.

Pruebas de efectividad *in vivo*

Las razas de bovinos que se utilizaron fueron: Suizo, Brahman, Cebú y Criollo. El criterio de selección para determinar las unidades que fueron sometidas a tratamiento fue que tuvieran en su cuerpo evidente estado de infestación de garrapatas. Los materiales para la aplicación de los baños fueron: hielera, bolsas de gel congeladas, contador, cepa Ma198 de Metarhizium anisopliae, cámara fotográfica, hojas de registros, tiras reactivas de pH, tween 80, agua, cubre bocas, guantes, mochilas de aspersión y lazos.

Aplicación de *M. anisopliae*

La cepa *Ma198* a una concentración de 1x108 conidias/ml, se trasladaba a la zona de trabajo en hielera con bolsas de gel congelantes, para después ser diluida la cepa con Tween 80 como adherente y agua (la cual ya se había medido con tiras reactivas de pH), se roció a los animales con las mochilas aspersoras y el personal de aplicación estuvo protegido con cubrebocas y ropa de apta; el baño se realizó siempre a favor del viento, en contra de la dirección del pelo y después de las cinco de la tarde. El ganado estuvo retenido por lazos y posterior se dejaron los animales libremente en el campo. Se hizo la aplicación a 84 animales con seis aplicaciones espaciadas cada 15 días, para un total de 504 aplicaciones.

Se 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 multiplicando por dos, tomando registros cada 15 días (Spickett et al. 1995; Polar et al. 2005). Los resultados del conteo de garrapatas se sometieron a análisis de regresión con el paquete estadístico Statistica (Statistica 2006) para observar la tendencia de reducción del número de garrapatas en el cuerpo de los animales y encontrar el mejor modelo para describir esta relación.

Resultados y Discusión

Efectividad *in vitro*

Los resultados obtenidos del bioensayo sugieren que la cepa *Ma198* fue la más eficaz con un control del 100% en R. microplus, seguido por un 60% de eficacia con las cepas Ma181 y Bb249 en A. cajennense en adultos (Fig.1).

La cepa *Ma198* fue la más efectiva mostrando 100% de virulencia en *R. microplus* en adultos y 95% en huevos (Fig. 2); los huevos de *R. microplus* sometidos a tratamientos mostraron diferencias significativas (P<0.05) donde *Ma198, Bb249+Ma198, Pfr13+Ma198* y *Bb249+Pfr13+Ma198* con efectividad de 95 a 100%. Estos resultados son similares a los reportados en Brasil (>50%) en ninfas de *A. cajennense* con *M. anisopliae* y *B. bassiana* (Lopes et al. 2007); Kaaya et al. (2011) con >70% de reducción en garrapatas adultas de *R. e. evertsi* y *R. decoloratus*. En Veracruz, México (40 a 91%) 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*. Por otra parte, Ojeda-Chi et al. (2011) evaluaron el efecto de la mezcla de *M. anisopliae* (Ma14+Ma34) en condiciones de laboratorio sobre larvas de *R. microplus* encontrando 90% de eficacia; por el contrario, en el presente trabajo se observó una efectividad del 40% en *R. microplus* en garrapatas adultas.

En huevos de *R. microplus*, las mezclas de *Bb249+Ma198, Ma198+Pfr13* y *Bb249+Pfr13+Ma198* resultaron efectivas. En ciertas condiciones la patogenicidad de *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* está influenciada por factores macroclimáticos (temperatura, humedad y radiación solar) como microclimáticos (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). Estos resultados demuestran que el tratamiento con *Ma198* es eficaz para el control de garrapatas adultas y huevos de *R. microplus*, así como de ocurrió en Brasil con garrapatas adultas de *A. cajennense.*

La mezcla *Ma198+Pfr13* con 100% de efectividad, seguidos de *Ma198+Bb249+Pfr13* con 98.7% y *Ma198+Bb249* con 97.5% de efectividad en huevos de *R. microplus*, muestran resultados similares a los reportados en Brasil ya previamente citados.

Efectividad *in vivo*

Los resultados sugieren que la cepa *Ma198* es capaz de reducir las poblaciones de *R. microplus*, en condiciones de pastoreo, en todos los hatos se observó que hubo reducción de garrapatas, en algunos hatos fue más notorio en comparación de otros.

Al inicio del experimento, al grupo de animales a los que se le aplicó *Ma198* en la localidad de "La Arpita" municipio de Indaparapeo tuvieron en promedio 143.33 garrapatas por animal, a los 15 días después de la primera aplicación del tratamiento se redujo, en los animales tratados a 126.5 garrapatas por animal. A los siguientes 15 días aumentó a 137.25 y después de la tercera aplicación se observó la mayor disminución a 42.16 en todas las aplicaciones, para terminar después de la sexta aplicación con 12 garrapatas promedio por animal (Fig. 3).

En la localidad "El Capire" perteneciente Tzitzio tuvieron en promedio 61 garrapatas por animal al inicio, a los 15 días después de la primera aplicación en los animales tratados se redujo a 41.66, para terminar después de la sexta aplicación a 2 garrapatas promedio por animal (Fig. 4).

En la localidad "El Capulín" perteneciente a Tzitzio el promedio fue de 51.08 garrapatas por animal, al iniciar el tratamiento, 15 días después de la primera aplicación del tratamiento, se redujo la población a 35.33 garrapatas por animal. A los siguientes 15 días disminuyó a 6.25, para terminar después de la sexta aplicación con 0.41 garrapatas promedio por animal; este fue el hato que resultó con el promedio menor final de entre todos los hatos (Fig. 5).

En la localidad de "Cuicateo" perteneciente al municipio de Tzitzio, inició con un promedio general de 201.7 garrapatas por animal, este hato tuvo su mejor respuesta después de la tercera aplicación descendió a 40.91 y finalizó con un promedio de 18.83 garrapatas promedio por animal, después de las seis aplicaciones (Fig. 6).

En la localidad de "El Rincón de Zetina" perteneciente al municipio de Queréndaro se inició con un promedio general de 32.16 garrapatas, después de la primera aplicación descendió a 23.91 garrapatas y después de su segunda aplicación a 5.66 garrapatas por animal, dando como resultado final el promedio de 1.58 garrapatas después de la sexta aplicación (Fig. 7).

La localidad de "El Naranjo" perteneciente al municipio de Tzitzio inició con un promedio general de 45.66 garrapatas por animal, después de su primer tratamiento esta cifra disminuyó a 35.66 garrapatas, este descenso fue el mayor de todas las aplicaciones con 10 garrapatas promedio, después de la segunda aplicación se incrementó a 37.41 garrapatas, este hato se caracterizó por ser el que quedó con mayor número de garrapatas promedio con 21 (Fig. 8).

En la localidad "Los Puchotes" perteneciente al municipio de Queréndaro los animales tuvieron en promedio 146.16 garrapatas al inicio del experimento, a los 15 días después de la primera aplicación del tratamiento, disminuyó la población de garrapata en los animales tratados a 100.41 por animal. A los siguientes 15 días disminuyó a 35; terminando después de la sexta aplicación con 0.5 garrapatas promedio por animal (Fig. 9). Las localidades de "Los Puchotes" y "El Capulín" concluyeron con los promedios de garrapatas mínimos con 0.41 y 0.5 garrapatas respectivamente. Cuicateo y El Naranjo fueron las localidades que terminaron con el mayor promedio de garrapatas con 18.83 y 21 garrapatas respectivamente.

El promedio general ya en conjunto de estos municipios pertenecientes al estado de Michoacán inicia con 106.33 garrapatas por animal y finaliza con un promedio general de 7.95 garrapatas por animal después de las seis aplicaciones. En general, el grado de infestación disminuyó a un 7.47% de infestación, como resultado final.

Probando diferentes modelos de regresión del conteo de garrapatas sobre el número de aplicaciones se determinó que el mejor modelo que describe el comportamiento del fenómeno está representado por un modelo cuadrático: y = 3.5433x2 - 44.795x + 148.43 (r2 = 0.992). En este modelo se predice una infestación inicial de 148.43 garrapatas por animal y se observa una mayor reducción en general después de la tercera aplicación, con un promedio de 51.71 garrapatas y posteriormente desciende a aproximadamente 7 garrapatas por animal, lo que resulta en una reducción del 93% de la población de después de la sexta aplicación (Fig. 8).

Estos resultados demuestran que la cepa *Ma198* de *M. anisopliae* es efectiva en el control biológico de la garrapata. Aunque la reducción del conteo no llegó a cero, esto puede deberse a que los animales estuvieron expuestos a nuevas reinfestaciones dado que se mantuvieron en praderas abiertas al ambiente natural en el que conviven con las garrapatas.

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 (Fig. 10); en donde, Alonso-Díaz et al. 2007 reportó reducción de población de garrapata a partir de la segunda aplicación del tratamiento.

Así como se coincide con Orozco (2005) con *M. anisopliae* en *R. microplus* en bovinos en condiciones de campo, en donde detectaron la disminución de las poblaciones de garrapatas desde 52 garrapatas promedio hasta 8 garrapatas por animal, después de dos aplicaciones con una reducción de 84,6%. Kaaya et al. (1996) y Bazán (2002) señalan que existe mortalidad de la garrapata. En cuanto a los trabajos realizados en praderas infestadas con larvas, las variaciones que se presentaron pueden estar influenciadas por las fórmulas utilizadas. Ángel-Sahagún et al., (2010) evaluaron cuatro formulaciones, Tween 80, arcilla (Celite) aceite mineral (Citrolina) y salvado de trigo, obteniendo mayor eficacia en el grupo tratado con salvado de trigo con Ma14 (1x108) obtuvo una reducción 58,3% después de los 21 días post tratamiento.

En ciertas condiciones la patogenicidad de *M. anisopliae* está influenciada por factores ambientales que interfieren con su crecimiento, producción del hongo y producción de micotoxinas (temperatura, humedad y pH, textura del suelo, composición de los sustratos o textura de suelo, radiación solar) así como por factores microclimáticos (temperatura de la piel, química de las secreciones de la piel, microflora) explican como intervienen estos factores en el nivel de infección de los hongos entomopatógenos (germinación y penetración) (Meyling y Eilenberg 2007; Leemon et al. 2008; Fernandes et al. 2012).

Conclusiones

La cepa de *M. anisopliae 198* resultó más efectiva para el control biológico de garrapatas adultas de *R. microplus*, así como de huevos de *R. microplus*.

El tratamiento con *Ma198* es capaz de reducir la población de garrapatas *R. microplus* en ganado bovino con problemas de infestación en praderas abiertas, en los municipios de Indaparapeo, Queréndaro y Tzitzio del estado de Michoacán, en donde se realizó este trabajo.

Literatura citada

Alonso-Díaz MA, García L, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R, Angel-Sahagún CA., Rodríguez-Vivas RI, Fragoso-Sánchez 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: 336–340.

Ángel-Sahagún CA, Lezama-Gutiérrez R, Molina-Ochoa J, Pescador-Rubio A, Skoda SR, Cruz-Vázquez C (2010) Virulence of Mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon *Rhipicephalus* = *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae andthe efficacy of conidia formulations to reduce larval tick density under field conditions. *Veterinary Parasitology* 170:278-286.

Bazán TM (2002) Efecto del hongo *M. anisopliae* (M18) sobre la garrapata *Boophilus microplus* del ganado bovino estabulado. Tesis de maestría en Ciencias Biotecnología. Facultad de ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Colima. Tecomán, Colima, México

Benjamín M, Zhioua E, Ostfeld R (2002) Laboratory and field evaluation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) for controlling questing adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* 5: 723-728.

Broglio-Micheletti SMF, De Souza LA, Valente ECN, De Araújo MJC, Da Silva-Dias N, Gómez-Torres ML (2012) Evaluation of entomopathogenic fungi as biological control agents *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *IDESIA (Chile)* 30(1): 93-99.

Castro AD, Bittencourt VREP, Deamon E, Viegas EC (1997) Eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre o carrapato *Boophilus microplus* em teste de estábulo. *Revista Universidade Rural Série Ciéncias da Vida (Brazil)* 19:73-82.

Chan-Capul W, Ruiz-Sánchez E, Cristóbal-Alejo J, Pérez-Gutiérrez A, Munguía-Rosales R, Lara-Reyna J (2010) Desarrollo *in vitro* de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces fumosoroseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. *Agrociencia* 44: 587-597.

Da Costa GL, Sarquis MIM, De Moraes AML, Bittencourt VREP (2002) Isolation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var anisopliae from *Boophilus microplus* tick (Canestrini, 1887); in Rio de Janeiro State, Brazil. *Mycopathologia* 154: 207-209.

Fernandes EKK, Bittencourt VREP, Roberts DW (2012) Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Experimental Parasitology* 130: 300-305.

Hassanain MA, El-Garby MF, Abdel-Ghaffar FA, El-Sharaby A, Abdel-Meged KN (1997) Biological control studies of soft and hard ticks in Egypt. The effect of *Bacillus thurigiensis* varieties of soft and hard tick (Ixodidade). *Parasitology Research* 83(3):209-213.

Hill DE (1998) Entomopathogenic nematodes as control agents of development stages of the black legged tick: *Ixodes scapularis*. *The Journal of Parasitology* 84(6):1124-1127.

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

Jonsson NN, Matschoss AL, Pepper P, Green PE, Albrecht MS, Hungerford J, Ansell J (2000) Evaluation of tickGARD Plus; a novel vaccine against *Boophilus*

microplus; in lactating Holstein-Friesian cows. *Veterinary Parasitology* 88(3-4): 275-285.

Kaaya GP, Mwangi EN, Ouna EA (1996) Prospects for Biological Control of Livestock Ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* y *Amblyomma variegatum*, using the Entomogenus Fungi *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 67(1): 15-20.

Kaaya GP, Hassan S (2000) Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Experimental and Applied Acarology* 24: 913-926.

Kaaya GP, Samish M, Hedimbi M, Gindin G, Glazer I (2011) Control of tick populations by spraying *Metarhizium anisopliae* conidia on cattle under field conditions. *Experimental and Applied Acarology* 55(3): 273-281.

Leemon DM, Turner LB, Jonsson NN (2008) Pen studies on the control of cattle tick (*Rhipicephalus microplus)* with *Metarhizium anisopliae* (Sorokin). *Veterinary Parasitology* 156(3-4): 248-260.

Lezama GR, Munguía RR (1990) Evaluación de cinco sustratos en la multiplicación masiva de tres cepas de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. y su virulencia sobre *Spodoptera frugiperda* J E. Smith. *XII Reunión Nacional de Control Biológico*. Colima, Col. México. p.7.

Lezama-Gutiérrez R, Molina-Ochoa J, Rebolledo-Domínguez O, Trujillo-De La Luz A, Gozález-Ramírez M, Briceño-Robles S (1997) Evaluation of entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against *Anthonomus fulvipes* (Coleoptera: Curculionidae) in organically growh Barbados cherry tres. *Vedalia (México)* 4:25-30.

Lopes RB, Alves SB, Padulla LF, Pérez CA (2007) Efficiency of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* formulations on *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) nymphae. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 16(1): 27-31.

López E, López G, 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.

Meyling NV, Eilenberg J (2007) Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control* 43:145-155.

Moorhouse ER, Gillespie AT, Charnley AK (1993) Selection of virulent and persistent *Metarhizium anisopliae* isolates to control black vine weevil (*Otiorynchus sulcatus*) larvae on glasshouse begonia. *Journal of Invertebrate Pathology* 62(1):47–52.

Ojeda-Chi MM, Rodriguez-Vivas RI, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R (2010) Laboratory and field evaluation *Metarhizium anisoplae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in Mexican tropics. *Veterinary Parasitology* 170: 348-354.

Ojeda-Chi MM, Rodriguez-Vivas RI, Galindo-Velasco E. Lezama-Gutiérrez R, Cruz-Vázquez C (2011) Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso de hongo entomópatogeno *Metarhizium anisoplae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Revisión. *Revista Mexicana de Cienciencias Pecuarias* 2: 77-192.

Orozco REM (2005) Efectividad de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. (Hyphomycetes) sobre garrapatas *Boophilus microplus* Can. (Acari:Ixodidae) de bovinos en condiciones de campo (Comunicación personal).

Osborne LS, Landa Z (1992) Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *The Florida Entomologist* 75(4): 456-471.

Polar P, Aquino De Muro M, Kairo MTK, MooreD, Pegram R, John SA, Roach-Benn C (2005) Thermal characteristics of *Metarhizium anisopliae* isolates important for the development of biological pesticides for the control of cattle ticks. *Veterinary Parasitology* 134:159-167.

Rodríguez-Dos Santos A, Del Pozo Núñez EM (2003) Alternativa para el manejo de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en tomate orgánico en Uruguay. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas (España)* 29: 211-218.

Prates HT, Leite RC, Craveiro AA, Oliveira AD (1998) Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora Beauv*.) and their activity against cattle-tick *(Boophilus microplus*). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 9(2): 193-197.

Rodríguez-Vivas RI, Alonso-Díaz MA, Rodríguez-Arevalo F, Fragoso Sánchez H, Santamaria VM, Rosario-Cruz R (2006a) Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the state of Yucatan, México. *Veterinary Parasitology* 136: 335-442.

Rodríguez-Vivas RI, Rodríguez-Arevalo F, Alonso-Díaz MA, Fragoso- Sánchez H, Santamaria VM, Rosario-Cruz R (2006b) Amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms from the state of Yucatan, Mexico: prevalence and potential risk factors. *Preventive Veterinary Medicine* 75: 280–286.

Rodríguez-Vivas RI, Rivas AL, Chowell G, Fragoso SH, Rosario CR, García Z, Smith SD, Williams JJ, Schwager SJ (2007) Spatial distribution of acaricide profiles (*Boophilus microplus* strains susceptible or resistant to acaricides) in southeastern Mexico. Veterinary Parasitology 146(1-2):158–169.

Samish M, Rehacek J (1999) Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. *Annual Review of Entomology* 44: 159-182.

Sneh B (1991) Isolation of *Metarhizium anisopliae* from insects on an improved selective medium based on wheat germ. *Journal of Invertebrate Pathology* 58:269–273.

Spickett AM, Horak IG, Heyne H, Braack LEO (1995) The effect of severe drought on the abundance of ticks on vegetation and on scrub hares in the Kruger National Park. *Koedoe* 38(1): 59-63.

Statistica (Statistica Six Sigma). 2006. *Statistica Release 7.* Stat Soft /Product licensed to Microsoft. STA365CO24733D. Copyright Stat soft Inc. US.

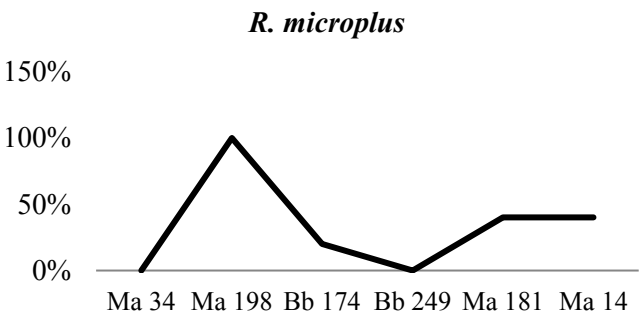

Figura 1. Porcentajes de efectividad virulenta en garrapatas adultas de *R. microplus*, con las diferentes cepas Ma34, Ma198, Bb174, Bb249, Ma182 y Ma14.

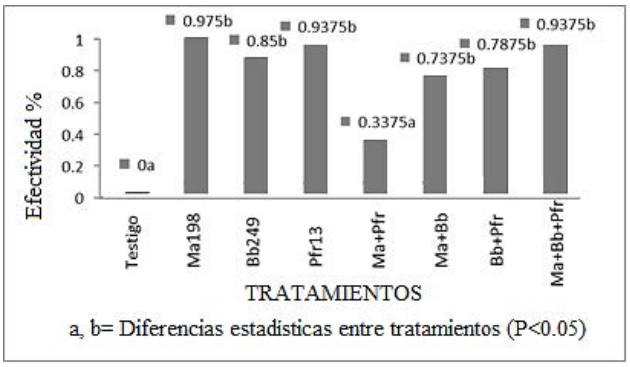

Figura 2. Porcentajes de efectividad virulenta en garrapata adulta de *R. microplus* del estado de Michoacán con Ma198, Bb249, Pfr13, Bb249+Ma198, Ma198+Pfr13, Pfr13+Bb249, Ma198+Pfr13+Bb249 y el testigo de agua con tween 80.

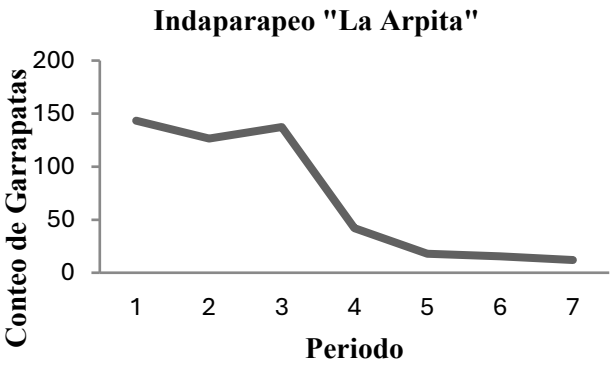

Figura 3. Representación del conteo de garrapatas durante 6 períodos cada 15 días en el ejido de la "Arpita" municipio de Indaparapeo, Michoacán

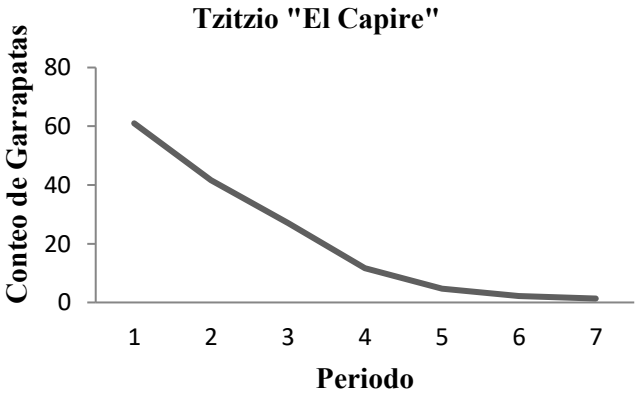

Figura 4. Representación del conteo de garrapatas durante 6 períodos cada 15 días en el ejido "El Capire" tenencia Tafetán municipio de Tzitzio, Michoacán.

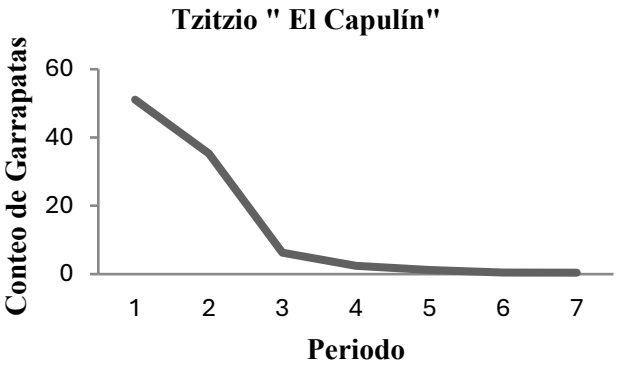

Figura 5. Representación del conteo de garrapatas durante 6 períodos cada 15 días en el ejido "El Capulín" tenencia Tafetán municipio de Tzitzio, Michoacán.

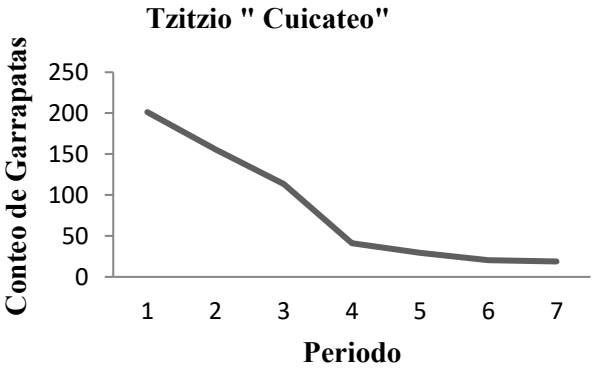

Figura 6. Representación del conteo de garrapatas durante 6 períodos cada 15 días en el ejido de "Cuicateo" en el municipio de Tzitzio, Michoacán

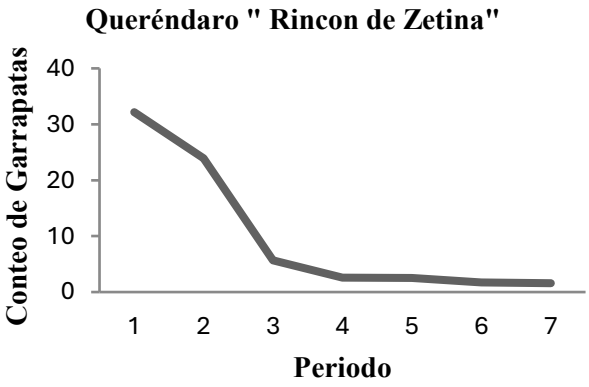

Figura 7. Representación del conteo de garrapatas durante 6 períodos cada 15 días en el ejido de "Rincón de Zetina" municipio de Queréndaro, Michoacán.

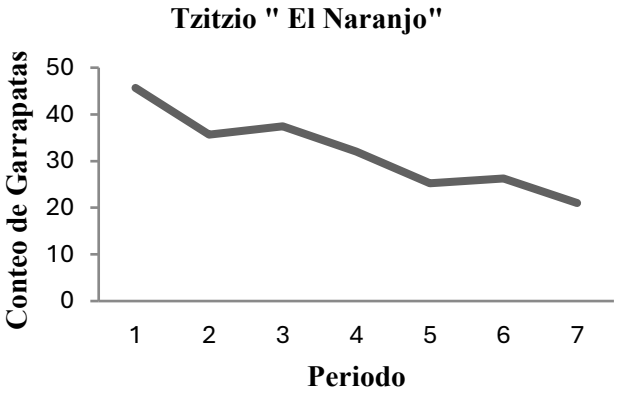

Figura 8. Representación del conteo de garrapatas durante 6 períodos cada 15 días en el ejido de El Naranjo municipio de Tzitzio, Michoacán.

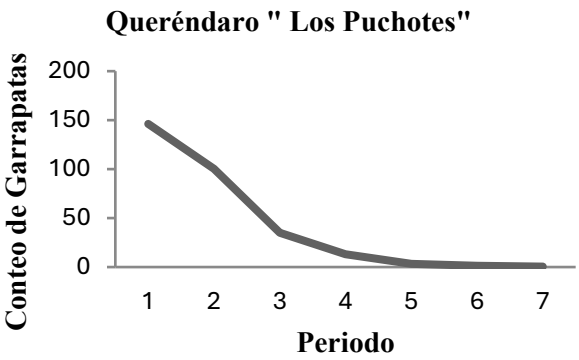

Figura 9. Representación del conteo de garrapatas durante 6 períodos cada 15 días en el ejido de Los Puchotes municipio de Queréndaro, Michoacán.

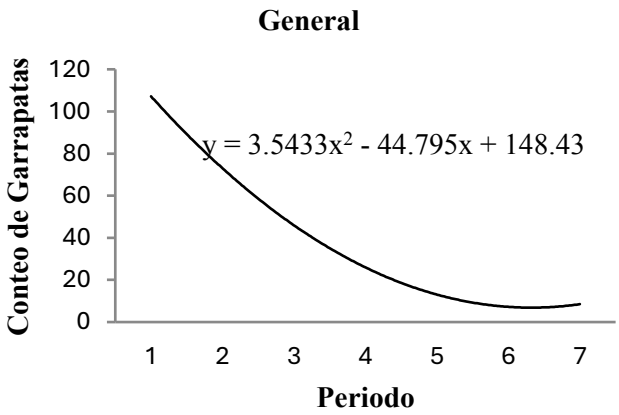

Figura 10. Representación general del modelo de regresión polinomial de segundo grado, específico del conteo de garrapatas sometidas a tratamiento con *Ma198* correspondientes a los municipios de Queréndaro, Indaparapeo y Tzitzio, del estado de Michoacán.