

Aproximación al uso de hongos entomopatógenos y vacunas para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos: revisión*

Approach to the use of entomopathogenic fungi and vaccines paragraph sustainable control of ticks in farming systems: review

Ana Carolina Moncada González,^{1,3} David Villar Argai,² Jenny Jovanna Chaparro Gutiérrez,² Joaquín Angulo Arizala³ y Liliana María Mahecha Ledesma^{3*}

¹Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de producción Agropecuaria – CIPAV
Área de ganadería sostenible
Cali, Colombia.

²Grupo Véricel
Escuela de Medicina Veterinaria-Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia.

³Grupo GRICA, Escuela de Producción Animal
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia.

*Correspondencia: liliana^{mahecha}ledesma@gmail.com
Estudio de revisión

Resumen

La resistencia desarrollada por las garrapatas frente a los acaricidas de síntesis, hace necesario replantear las estrategias utilizadas actualmente para su control. Los programas de manejo integrado de parásitos se presentan como una alternativa que, al promover estrategias de control basadas en la ecología y la epidemiología de cada especie de parásito, reducen el riesgo de desarrollo de resistencia. Dichas estrategias incluyen la aplicación de vacunas antigarrapata y hongos entomopatógenos que afectan la viabilidad y la reproducción en las garrapatas. Sin embargo, la información obtenida entre estudios sobre hongos y vacunas ha sido inconsistente, por lo que hoy en día ambas representan áreas de investigación bastante activas. El propó-

Abstract

Resistance developed by ticks to acaricides, makes necessary to think again ectoparasite control strategies traditionally used in livestock farming. Integrated parasite management techniques, appear as an alternative, due to the low risk of resistance developing because of their control strategies based on the ecology and epidemiology of ticks. These strategies include the application of anti-tick vaccines and entomopathogenic fungi which affect tick viability and reproduction. Although encouraging results have been obtained from their use, information gleaned from studies of these strategies has been inconsistent, which makes this a very active research area. These review has the purpose of studying the mechanisms of action from

sito de este trabajo consistió en realizar una revisión descriptiva sobre los mecanismos de acción de la vacuna antigarrapata y los hongos entomopatógenos, en la búsqueda de una posible complementariedad que permita el diseño de planes de aplicación conjunta, con miras a mejorar los resultados de control en sistemas ganaderos. En la primera parte del documento se revisa la actual problemática asociada al uso y abuso de los acaricidas de síntesis, haciendo un énfasis particular en el tema de resistencia; posteriormente, se describen los mecanismos de acción de hongos y vacunas que afectan la reproducción y supervivencia en garrapatas, y se incluye información relevante sobre su eficacia. Se espera que la información aquí recolectada, sirva como base para elaborar estudios que permitan identificar la utilidad de los hongos entomopatógenos y las vacunas antigarrapata al interior de los programas de manejo integrado de parásitos en ganadería.

Palabras clave

Beauveria bassiana, control integrado de parásitos, *Metarhizium anisopliae*, resistencia a antiparasitarios, *Rhipicephalus microplus*.

entomopathogenic fungi and antitick vaccines, in search for a supportive interaction between both strategies, in the order to improve control results. In the first section of this document, a descriptive review of the problems associated with the use an abuse of acaricides, with an emphasis on resistance is performed; action mechanisms through which fungi and vaccines affect the reproduction and survival of ticks are described and relevant information about their effectiveness is completed. Thus, it is hoped that the information obtained support new studies that allow to understand how the combined use of fungi and vaccines may be utilized to improve levels of control of tick populations in livestock farms.

Keywords

Beauveria bassiana, Integrated Parasite Control, *Metarhizium anisopliae*, antiparasite resistance, *Rhipicephalus microplus*.

Introducción

R*hipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae), más conocida como la garrapata común del ganado, es un parásito hematófago obligado, especie específica de los bovinos e importante vector de los hemoparásitos *Babesia* sp. (Piroplasmida: Apicomplexa) y *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae). Su ciclo de vida se caracteriza por ser de un solo hospedero y estar compuesto por una fase parásita y otra no parásita; en la primera fase se presentan los estadios de larva, ninfa y gonandro o adulta ingurgitada, según se diferencie en macho o hembra; en la segunda fase, pasa por los estadios de kenogina (hembra totalmente ingurgitada que se desprende de su hospedero, lista para ovipositar en el ambiente), huevo y larva (Ullmann *et al.*, 2008).

Diferenciar la fase del ciclo de vida donde se encuentran las garrapatas es fundamental para el desarrollo de las estrategias de control más adecuadas; por ejemplo, no sería recomendable tratar las formas de vida libre en las praderas, por medio de la aplicación de los mismos productos utilizados sobre los animales, ya que éstos suelen ser poco selectivos y se desconoce cómo afectan a otras especies y al ambiente (Khan *et al.*, 2012).

Una característica ecológica fundamental a tener en cuenta para el control de *R. microplus*, es la duración de su ciclo de vida. Éste puede variar, dependiendo de factores ambientales externos, como la temperatura y la humedad (Sonenshine *et al.*, 2002; Anderson y Magnarelli, 2008), pero por lo general, puede durar de meses a años. La fase parásita del ciclo, que es en la que se enfocan la mayoría de programas de control convencional (Benavides, 2009), puede durar entre tres a cuatro semanas (Iowa State University, 2007). Con base en esta información, cualquier estrategia a implementar contra *R. microplus*, debe actuar para controlar las poblaciones por periodos superiores a la duración de la fase parásita; y así, se logra reducir tanto las poblaciones sobre los animales, como las larvas presentes en las praderas.

Los costos económicos asociados al control de *R. microplus* superan los US\$ 109 miles de millones de dólares anuales a nivel global (Avendaño y Correa, 2002), y es probable que debido al desarrollo de resistencia, estos valores se incrementen en los próximos años. La reducción y aún ausencia de efectividad que se evidencia en la actualidad respecto del uso de sustancias acaricidas de síntesis, motiva a los ganaderos poco informados y bajo un inadecuado acompañamiento técnico, a aumentar la concentración y frecuencia en la aplicación de acaricidas; lo cual convierte el control parasitario en un círculo vicioso, donde cada vez se requiere de un mayor consumo de productos, lo que además de incrementar los costos económicos para el productor, tiene implicaciones negativas sobre el ambiente, y la salud tanto de los animales, como de los propios operarios y los consumidores.

Por otra parte, algunos acaricidas y pesticidas orgánicos, tienen un efecto bioacumulativo en tejidos, como el músculo y la glándula mamaria de los animales expuestos a éstos. Al consumir carne y leche, estas sustancias pueden ser biomagnificadas en los seres humanos, exponiendo la salud de los consumidores a mediano y largo plazo. Sustancias de uso común para el control de ectoparásitos —como las cipermetrinas, el clorpirifos y el diazinón— presentan altos coeficientes de partición octanol/agua ($\log K_{ow}$), indicativo de un considerable potencial de acumulación en el suelo y en los tejidos de los seres vivos (Narváez *et al.*, 2012).

La adopción de estrategias de producción que coexistan en armonía con las dinámicas ecológicas, presentes al interior de los agroecosistemas, podría ser parte de la solución a la problemática planteada. Un ejemplo de esto son los sistemas silvopastoriles en ganadería, los cuales generan una amplia variedad de beneficios gracias a la articulación del componente árbol dentro del paisaje ganadero; entre los que se destacan aquellos asociados al control de ectoparásitos, como son la recuperación de aves e insectos que actúan como enemigos naturales de las garrapatas (biodiversidad funcional), ayudando a mantener las poblaciones bajo control, y una mayor oferta de alimento y mejores condiciones de confort para los animales en las praderas, así como reduciendo el estrés y fortaleciendo el sistema inmune; por lo que se disminuye la susceptibilidad de los animales frente a las altas infestaciones (Murgueitio y Giraldo, 2009).

A pesar de los beneficios mencionados, las menores temperaturas y tasas de evapotranspiración, que se dan en respuesta a un mayor sombrero al interior de los sistemas silvopastoriles, facilita la supervivencia de las garrapatas, principalmente en sus formas de vida libre, por lo que es necesario complementar dichos beneficios con otras estrategias de control.

El fomento de sistemas ganaderos más sostenibles, así como la reducción, o aun completa eliminación en el uso de pesticidas que puedan afectar el ambiente y la salud animal y humana, son algunos de los objetivos propuestos por el gremio ganadero en Colombia; específicamente, en su Plan Estratégico de la Ganadería (PEGA) 2019 (FEDEGAN, 2006). Éste surge en respuesta a la necesidad de mejorar la eficiencia de la industria ganadera en el país y aumentar su competitividad en los mercados internacionales; por tanto, la inocuidad de los productos de origen animal se convierte en un tema clave dentro de estos programas, y el uso irracional de agroquímicos y medicamentos veterinarios es una práctica que no tendría lugar en ellos (FEDEGAN, 2006).

Por lo expuesto anteriormente, es necesario investigar en nuevas estrategias de control que logren reducir la dependencia a los acaricidas de síntesis en los programas de control de garrapatas, y que respondan de manera satisfactoria a las nuevas demandas de producción. La adopción de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) usados en producción agrícola, surge como una alternativa interesante; incluso, algunos autores ya han adaptado la sigla MIP —en veterinaria— como Manejo Integrado de Parásitos (Benavides, 2009). El MIP promueve un abordaje integral del problema de las parasitosis, enfocándose en la ecología y la epidemiología del parásito.

La idea consiste en implementar diversas estrategias de manejo que se adapten según las necesidades y capacidades del productor; entre algunas de éstas, cabe mencionar el uso de razas de ganado resistentes a las altas infestaciones, programas de rotación y descanso de praderas, implementación de plantas repelentes como el pasto *Melinis minutiflora* (Thompson *et al.*, 1978; Mwangi *et al.*, 1995; Fernández-Ruvalcaba *et al.*, 2004); pastoreo alternado con otras especies animales productivas (ovinos); recuperación de las poblaciones de enemigos naturales como aves, hormigas y otros (Giraldo y Uribe 2007; Murgueitio y Giraldo, 2009); inmunización, aplicación de fitoquímicos y uso de biopesticidas como los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) (Mondal *et al.*, 2013).

La presente revisión tiene como objetivo identificar una posible complementariedad entre los mecanismos de acción de hongos entomopatógenos y la vacuna antigarrapatas en el control de *R. microplus*, en la búsqueda por mejorar los resultados de control en los programas de manejo integrado de garrapatas en sistemas ganaderos; y que dicha información sirva como punto de partida para la elaboración de estudios que permitan verificar su aplicabilidad en condiciones de campo.

Mecanismos de resistencia

El desarrollo de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas se da como resultado de la eliminación constante de individuos genéticamente susceptibles a cualquiera de estas sustancias, fomentando la supervivencia de los individuos insensibles (resistentes) (Alonso-Díaz *et al.*, 2006). Los mecanismos que confieren la resistencia varían entre individuos, y los mejor descritos, hasta el momento, incluyen la insensibilidad en el sitio de acción, la resistencia metabólica y la disminución en la permeabilidad de la cutícula de la garrapata (Alonso-Díaz *et al.*, 2006; Guerrero *et al.*, 2012b).

Para el caso de los piretroides, la resistencia está dada por la modificación del sitio donde actúa el acaricida, para reducir su sensibilidad a dicha sustancia. Esta modificación es atribuida a una mutación puntual en un aminoácido, que puede presentarse en uno de los distintos dominios del gen que codifica para los canales de sodio voltaje-dependientes ubicados en las células del sistema nervioso del parásito (Jonsson *et al.*, 2010; Lovis *et al.*, 2012); la resistencia metabólica se da por el desarrollo de estrategias de desintoxicación más eficientes, o por la capacidad para secuestrar sustancias acaricidas, gracias a la acción de varios complejos enzimáticos como las citocromo P450 esterasas, la glutatión S-transferasa (Alonso-Díaz *et al.*, 2006; Díaz, 2012; Guerrero *et al.*, 2012b) y los transportadores ABC (Pohl *et al.*, 2012). Como último mecanismo, está el aumento en la concentración lipídica de la cutícula de la garrapata, fenómeno que reduce la capacidad de penetración de los acaricidas a través de ésta (Alonso-Díaz *et al.*, 2006).

La detección de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas se da por medio de la aplicación de técnicas *in vitro* como la prueba de inmersión de adultas (AIT), la prueba de inmersión de larvas y la prueba del paquete de larvas (FAO, 2004). Gracias a estas técnicas, se han logrado identificar numerosas poblaciones de garrapatas resistentes a la mayoría de moléculas acaricidas que hoy en día se encuentran en el mercado.

Los casos de resistencia reportados en América Latina son múltiples y se extienden a lo largo del continente. El primer caso de resistencia a ivermectinas en México, fue reportado para varias poblaciones de garrapatas en el estado de Yucatán (Pérez-Cogollo *et al.*, 2010). Estudios realizados en el estado de Veracruz (México), identificaron poblaciones de garrapatas multiresistentes a compuestos organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz y lactonas macrocíclicas (Fernández-Salas *et al.*, 2012). En un estudio realizado en cinco estados de Brasil, se reportó la existencia de poblaciones de *R. microplus* resistentes a los piretroides sintéticos, al amitraz y a los organofosforados, con frecuencias del 94, 88 y 82%, respectivamente (Lovis *et al.*, 2013).

En seis regiones diferentes del estado de San Pablo (Brasil), otro estudio reveló que el 83% de la población de garrapatas estudiada mostró resistencia a la Cipermetrina, 86% a la Deltametrina y un 65% al Clorpirifos; sumado a esto, se identificó que el 50% de la población fue resistente tanto a los piretroides sintéticos como a los organofosforados; es decir, presentaron resistencia múltiple (Mendes *et al.*, 2011).

Por otra parte, Pohl *et al.* (2012) reportan en Brasil una cepa de *R. microplus* denominada “Jaguar”, la cual presenta resistencia a compuestos organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz y lactonas macrocíclicas.

Estudios recientes sobre esta misma cepa reportan, además, resistencia al fluazurón, un regulador de crecimiento con propiedades acaricidas que hasta ahora no había presentado problemas de resistencia (Reck *et al.*, 2014). Estudios realizados en Argentina, registraron la existencia de una cepa de *R. microplus* denominada “Santo Tomé”, resistente al amitraz y a la cipermetrina (Cutullé *et al.*, 2013). También se reportó resistencia al fipronil en México (Miller *et al.*, 2013), Brasil (Castro-Janer *et al.*, 2010a; Lovis *et al.*, 2013) y Uruguay (Castro-Janer *et al.*, 2010b).

En Colombia, el desarrollo de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas se viene registrando hace más de una década. En 1993, Betancourt identificó la existencia de poblaciones resistentes a la flumetrina, deltametrina, alfacipermetrina y lamdacialotrina en ocho cepas diferentes de *R. microplus*. En otros estudios, Benavides *et al.* (2000) identificaron en la cepa montecitos de *R. microplus*, multiresistencia a organofosforados, piretroides sintéticos y al amitraz. En un estudio *in vitro* realizado a partir de garrapatas recolectadas en 71 explotaciones ganaderas ubicadas en diferentes regiones de Colombia, Araque *et al.* (2014) estimaron una eficacia mayor al 90% para el amitraz en sólo 3% de las muestras recolectadas.

Recientemente, se evidenció una reducción en la eficacia de las láctonas macrocíclicas, cipermetrina y amitraz para controlar las infestaciones por garrapatas en sistemas ganaderos ubicados en dos municipios del departamento de Antioquia (López *et al.*, 2015). En la actualidad, no se cuenta con la suficiente información para entender a cabalidad el estatus de Colombia frente al problema de resistencia, y aunque existen algunos estudios puntuales donde se ha identificado la baja efectividad en los acaricidas de uso más común, aún es necesario realizar estudios que permitan identificar la magnitud del problema a nivel nacional (Díaz, 2012).

Vacunas para el control de *R. microplus*

La idea de usar vacunas para el control de garrapatas, surgió desde el año 1918, cuando se observó que el ganado expuesto de forma repetida a infestaciones por *R. microplus*, presentaba un número cada vez menor de garrapatas en las posteriores infestaciones (Akhtar *et al.*, 2010). Varias décadas después, el antígeno Bm86 fue aislado a partir de garrapatas semiingurgitadas, lo que representó una nueva era para el desarrollo de vacunas comerciales, como TickGARD™ y GAVAC® (Pruett, 2002). Sin embargo, aunque estas vacunas lograron comercializarse, nunca alcanzaron un 100% de eficacia, por lo que la búsqueda de nuevos antígenos que confieran una protección completa frente a las infestaciones por garrapatas continúa siendo un área de investigación bastante activa (Guerrero *et al.*, 2012a).

El mecanismo por medio del cual las vacunas logran conferir inmunidad al hospedero varía, dependiendo de si se usan antígenos de exposición natural o antígenos ocultos. Los primeros, corresponden a péptidos y proteínas normalmente secretados por la glándula salival de la garrapata, los cuales son tomados por las células dendríticas de la piel del hospedero para procesarlos; y, posteriormente, presentarlos ante los linfocitos T, preparando una respuesta inmune mediada por células a nivel local, que afecta el aparato bucal de la garrapata inhibiendo su fijación, y por ende, su alimentación (Nuttall *et al.*, 2006).

Por su parte, los antígenos ocultos se definen como moléculas antigénicas presentes en los órganos internos de la garrapata, que de forma natural nunca entran en contacto con su hospedero. Un ejemplo de ellos es la proteína Bm86, presente en las células intestinales de *R. microplus*. En este caso, los anticuerpos generados son consumidos durante el proceso de alimentación del parásito y actúan al llegar al lumen intestinal, reaccionando con el tejido, generando lesiones y pérdida de la función en el epitelio. El efecto final es

la disminución o aun inhibición del consumo de sangre por la garrapata, lo que afecta su supervivencia y capacidad reproductiva (Rodríguez-Valle, 2000; Willadsen, 2004).

Los resultados reportados sobre la efectividad de las vacunas son variables y se expresan generalmente como mortalidad de las garrapatas y de los huevos, reducción en el peso de la hembra ingurgitada y en el peso de la masa de huevos; aumento en el periodo de alimentación de la garrapata e inhibición de la muda (Nuttall *et al.*, 2006). La tendencia es a investigar nuevos antígenos que confieran una mayor protección, con el fin de crear vacunas multiantigénicas que logren afectar diferentes estructuras en la garrapata, aumentando así su efectividad (Almazán *et al.*, 2010). En esta búsqueda, Patarroyo *et al.* (2002), evaluaron el efecto de algunos polipéptidos derivados del antígeno Bm86, obteniendo una eficacia del 81% para un péptido sintético denominado SBm7462.

Algunos autores afirman que la efectividad de las vacunas antigarrapata depende, en gran medida, de que los antígenos que las conforman sean obtenidos de la cepa específica de garrapata que se quiere controlar (Guerrero *et al.*, 2012a); sin embargo, un estudio realizado en Brasil con vacunas elaboradas a partir de la cepa de *R. microplus* denominada “Campo Grande” y usada sobre garrapatas de la misma cepa, sólo registró una efectividad del 31% (Cunha *et al.*, 2012).

A pesar del bajo nivel de eficacia obtenido, los autores concluyeron que dicho antígeno podría ser usado como parte de una vacuna multiantigénica. El uso de una vacuna compuesta por las proteínas recombinantes cisteína endopeptidasa degradante de vitelina y pro-catepsina de yema de huevo de *boophilus* (VTDCE y BYC, por sus siglas en inglés, respectivamente) obtenida de *R. microplus*, y glutatión S-transferasa obtenida de *Haemaphysalis longicornis* (GST-HI, por su sigla en inglés), generó en los animales expuestos una reducción de hasta el 62% en los niveles de infestación, con una persistencia en el efecto de hasta tres meses (Parizi *et al.*, 2012). Canales *et al.* (2009), observaron una eficacia del 85 y del 71% sobre *R. microplus*, a partir de la aplicación de vacunas elaboradas con el antígeno Bm86 y su ortólogo Ba86, respectivamente.

En el cuadro 1 se aprecia, de forma resumida, la eficacia de algunos de los principales antígenos identificados en los últimos cinco años.

Cuadro 1
Eficacia de diferentes antígenos evaluados para el control de *R. microplus*.

<i>Cepa de R. microplus</i>	<i>Antígeno</i>	<i>Eficacia*</i>	<i>Referencia</i>
Campo Grande	Bm86	31%	Cunha <i>et al.</i> , 2012
México	EF1a-MSP1a	38%	Almazán <i>et al.</i> , 2012
	BM95-MSP1a	64%	
	SUB-MSP1a	81%	
Porto Alegre	rGST-HI	57%	Parizi <i>et al.</i> , 2011
Línea IVRI-I	Bm86	45%	Kumar <i>et al.</i> , 2012
n.e.**	BM95	81,27%	Kumar <i>et al.</i> , 2009
Campo Grande	rRmLTI	32%	Andreotti <i>et al.</i> , 2012
Línea IVRI-I	rBmSu	40.65%	Shakya <i>et al.</i> , 2014

*Eficacia: Hace referencia al efecto sobre la inhibición de la reproducción en garrapatas adultas.

**n.e: no especificada.

A pesar de que muchos antígenos promisorios que se han identificado para la elaboración de vacunas antigarrapata, los bajos porcentajes de eficacia obtenidos en muchos estudios y la variabilidad de los resultados de acuerdo a las cepas evaluadas, indican que aún queda un largo camino por recorrer en este campo de la investigación para, al fin, obtener un método de control efectivo y con una adecuada relación costo-beneficio que le permita ser manufacturado a escala industrial y que presente resultados replicables entre aplicaciones (Guerrero *et al.*, 2012a).

Hongos entomopatógenos y control de *R. microplus*

La primera descripción sobre un organismo entomopatógeno fue realizada en el año 1935, cuando el naturalista italiano Agostino Bassi observó cómo una enfermedad que él mismo denominó “mal del sueño” o “muscardina”, afectaba al gusano de seda y era capaz de contagiar a otros individuos al ponerlos en contacto con un cadáver infectado. Dicho organismo correspondía al hongo *Beauveria bassiana* (Lord, 2005; Steinhaus, 1956).

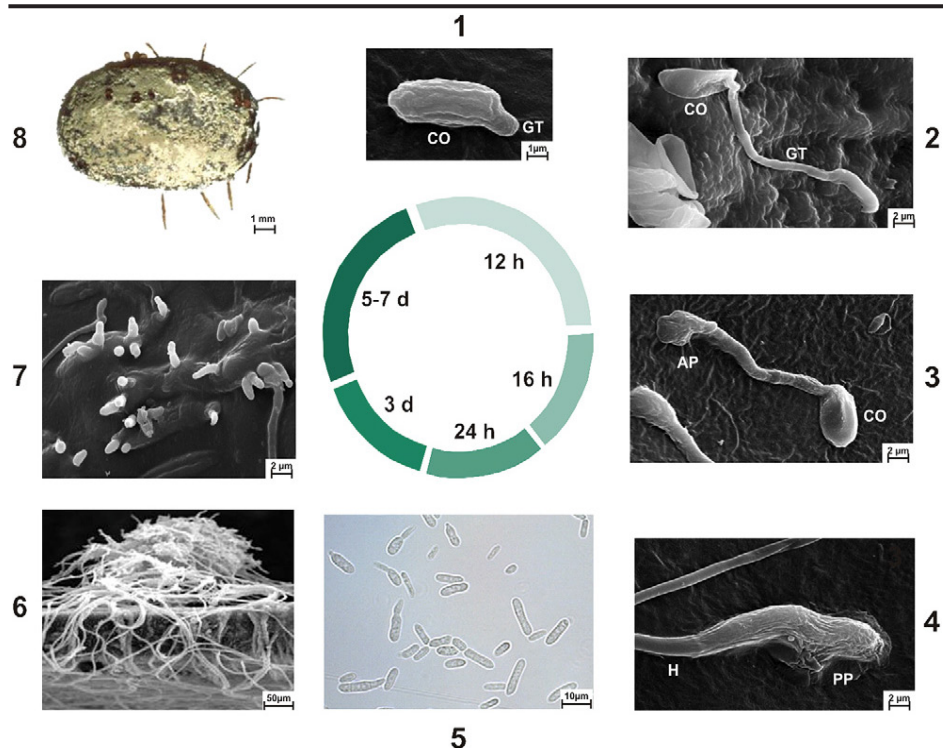
Posteriormente, *Metarhizium anisopliae* fue descrito a partir de las observaciones realizadas por el entomólogo ruso Eli Metchnikoff, a una enfermedad presentada por el “escarabajo de los granos” *Anisoplia austriaca*. Entre 1879 y 1884, Metchnikoff junto a su discípulo Krassiltschik, fueron los primeros en proponer el uso de microorganismos causantes de enfermedades en insectos, como estrategia para el control de plagas en los cultivos agrícolas (Hoddle y Driesche, 2009; Lord, 2005). En 1974, el uso de organismos entomopatógenos para el control de parásitos en el ganado fue reportado en la Unión Soviética, con preparaciones como Entobakterin y Dendrobacillin, elaboradas a partir de esporas y endotoxinas de *Bacillus thuringiensis*, y Boverin, una solución de conidias del hongo *B. bassiana* (Abdigoudarzi, 2009).

La infección de *R. microplus* por los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* (figura 1), comienza con la adhesión de las conidias del hongo a la cutícula de la garrapata y su colonización inmediata, proceso que dura alrededor de 24 horas (Kurtti y Keyhani, 2008) y que consiste en la identificación de un hospedero sensible para germinar y comenzar a formar hifas hasta crear una estructura denominada apresorio (Leemon y Jonsson, 2012). Dicha estructura, es responsable de la penetración del hongo a la cavidad interna de la garrapata, gracias a la liberación de enzimas lipolíticas y proteolíticas que van perforando la cutícula; y, a su vez, generan sustancias nutritivas que promueven el desarrollo de las hifas (Beys da Silva *et al.*, 2010).

En la fase siguiente, el hongo comienza a infectar todos los órganos internos de la garrapata, diferenciando las hifas a cuerpos levaduriformes o blastosporas, las cuales logran burlar el sistema inmune de la garrapata, gracias a la producción de destruxinas, citocalacinas y proteína tipo colágeno MCL1 (Schrank y Vainstein, 2010; Téllez-Jurado *et al.*, 2009).

Finalmente, se da la muerte de la garrapata por la acción de los metabolitos tóxicos secretados por el hongo, dando inicio a una fase de emergencia de micelios, los cuales perforan el tegumento entre las 48 y 60 horas siguientes para infectar nuevos individuos y comenzar nuevamente con el ciclo (Ojeda-Chi *et al.*, 2011; Schrank y Vainstein, 2010).

Figura 1
Etapas de la infección por *M. anisopliae* sobre *R. microplus*.



(1) Adherencia de conidias a la cutícula del hospedero; (2) Germinación de conidias; (3) Diferenciación de tubos de germinación en apesorio; (4) Penetración de la cutícula; (5) Diferenciación de hifas a blastosporas y cuerpos hifales; (6) Colonización del hospedero; (7) Reemergencia de micelios; (8) Producción de conidias en el cadáver de la garrapata. CO-conidia; GT –Tubo germinal; AP- apesorio; H- hifa; h- horas; d- días.

Fuente: tomado de Schrank, A. y Vainstein, M. H. “*Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins” (Elsevier, 2010). Todos los derechos reservados. Licencia de uso N. 3671930465327.

Aunque muchos bioensayos con hongos entomopatógenos han mostrado gran potencial para el control de *R. microplus* (cuadro 2), son necesarios más estudios que validen su eficacia en campo. Tan sólo tres de los 171 bioplaguicidas con base de hongos, comercializados mundialmente para combatir plagas de cultivos agrícolas, afirman poder controlar garrapatas (Fernandes *et al.*, 2012).

Para mencionar algunos de los ensayos en campo y realizados directamente sobre los animales, se incluye el estudio de Alonso-Díaz *et al.* (2007), realizado en bovinos del trópico mexicano, donde se logró demostrar una eficacia transitoria de entre el 40-91%, en reducción del número de garrapatas, cuando se aplicaban de forma repetida (cada 15 días) suspensiones de 1×10^8 conidias/mL de la cepa Ma34 de *M. anisopliae* directamente sobre los animales.

Asimismo, Leemon *et al.* (2008) obtuvieron mortalidades hasta del 100% en garrapatas colectadas tres días después de la aplicación de suspensiones de *M. anisopliae* (cepas ARIM10 y ARIM16) en una prueba de estable. Este porcentaje de mortalidad disminuyó con los días, lo que llevó a los investigadores a concluir que había una interacción entre el ambiente, las garrapatas sobre el animal y los hongos, que condicionaban la efectividad de estos últimos. En cuanto a la reducción de las poblaciones de larvas en las praderas, ensayos realizados en parcelas experimentales infestadas con larvas de *R. microplus*, obtuvieron una eficacia en la reducción de hasta el 94%, con formulaciones elaboradas a partir de conidias de *M. anisopliae* y salvado de trigo (Ángel-Sahagún *et al.*, 2010).

Estudios más recientes muestran que, aparte de la cepa concreta del hongo, la formulación de los productos es crítica para aumentar la resistencia de las conidias a las condiciones ambientales presentes en campo, y favorecer su adhesión a la cutícula de las garrapatas. De hecho, los estudios realizados con conidias suspendidas en aceite mineral (Camargo *et al.*, 2012; Camargo *et al.*, 2014) o aplicadas localmente con gel de celulosa polimerizada (Reis *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2009) han sido mucho más promisorios que los de suspensiones acuosas.

El producto brasileño comercial Metarril® SP Orgánico, diseñado frente a plagas agrícolas, ha mostrado que cuando se aplica directamente a bovinos, con un 10% de aceite mineral y 1% de Tween 80, es eficaz reduciendo el número de garrapatas en hasta un 50% durante tres semanas, después de una sola aplicación (Camargo *et al.*, 2014).

Los autores concluyeron que los adyuvantes (aceite y Tween 80) son imprescindibles para proteger a las conidias de las altas temperaturas, los rayos UV y favorecer la adhesión a la superficie de las garrapatas. En dichos estudios se emplearon cepas virulentas de *M. anisopliae*; y actualmente ya están descritos los marcadores genéticos y/o bioquímicos que permiten valorar la patogenicidad del hongo frente a *R. microplus* (Perinotto *et al.*, 2014).

De la cepa también dependerá qué tan segura es la aplicación de estos hongos para el ambiente, ya que algunas pueden ser altamente patógenas para especies benéficas dentro de los ecosistemas (Khan *et al.*, 2012; Schrank y Vainstein, 2010). No obstante, aunque se cuenta con un considerable volumen de información sobre estudios realizados con *M. anisopliae* para el control de *R. microplus*, no ocurre lo mismo para el hongo *B. bassiana*, del cual, a excepción del trabajo publicado por Ren *et al.* (2012), donde se evalúa la virulencia de varias cepas chinas de este hongo, se cuenta con poca información específica publicada para *R. microplus*.

En el cuadro 2, se resumen algunos estudios que reportan los resultados de la aplicación *in vitro* de *M. anisopliae* sobre la mortalidad y la reproducción en *R. microplus*.

Cuadro 2
Evaluación de la eficacia *in vitro*
de varias cepas de *M. anisopliae* aplicadas sobre *R. microplus*.

<i>Cepa de M. anisopliae</i>	<i>Mortalidad</i>	<i>Eficacia*</i>	<i>Referencia</i>
Ma 959	100%	93.69%	Camargo <i>et al.</i> , 2012
E6, CARO14, CG47 y CG97	90-100%	n.e.	Lubeck <i>et al.</i> , 2008
E6S1	100%	n.e.	Frazzon <i>et al.</i> , 2000
Ma34 + Ma14	90%	67.7-100%	Ojeda-Chi <i>et al.</i> , 2010
Ma.AT04	100%	n.e.	Ren <i>et al.</i> , 2012
CG 37, CG 384 y IBCB 481	100%	n.e.	Quinelato <i>et al.</i> , 2012
JS101-1B, KK104-2, AB101C-2, JS101C-4, KK104-1, AB101C-1, MB101C-1, JS101-1A, JS201C-1, BD101C-2, BN101C-2, AB101C-3, FR202-8, FR202-4 y FR202-2	100%	n.e.**	Leemon y Jonsson, 2008

*Eficacia: Hace referencia al efecto sobre la inhibición de la reproducción en garrapatas adultas.

**n.e. no evaluada.

A raíz de la problemática de resistencia, es muy probable que, en un futuro próximo, se extienda el uso de productos elaborados a partir de hongos entomopatógenos; sobre todo, a medida que se mejore la calidad y eficacia de las formulaciones actuales y se establezcan programas de control integrado, específicos para cada sistema productivo. Un beneficio adicional de estas formulaciones, es que pueden aplicarse en conjunto con acaricidas de síntesis, sin verse afectados en su viabilidad ni efectividad (Schumacher y Poehling, 2012), lo que los hace útiles en programas de transición hacia sistemas de producción más sostenibles.

Consideraciones finales

El uso de vacunas y hongos entomopatógenos, como parte de una estrategia de manejo integrado de garrapatas, se presenta como una opción para disminuir la dependencia en la aplicación de acaricidas de síntesis y para lograr un control efectivo de las poblaciones de garrapatas y otros parásitos en el mediano y largo plazo. Sin embargo, aún es necesario continuar con la búsqueda de antígenos más efectivos para la producción de vacunas, y de los protectores adecuados para mejorar el desempeño de los hongos entomopatógenos en condiciones de campo.

Es importante aclarar que, aunque en esta revisión sólo se profundizó en el tema de vacunas y hongos, existen otras estrategias que cumplen con los principios de los programas de manejo integrado; entre los que se destacan: el uso de razas resistentes a las infestaciones y al hemoparasitismo, el apoyo en la biodiversidad funcional dentro de sistemas de pastoreo

complejos (por ejemplo, los sistemas silvopastoriles); la preservación de poblaciones refugio, y otras tantas estrategias que en muchos casos hacen parte del conocimiento tradicional, y que debido a las agresivas estrategias de mercado implementadas en el marco de una ganadería industrializada, es cada vez más escaso entre los productores.

En síntesis, la solución a los problemas asociados al control parasitario que se experimentan en la actualidad, sólo podrán ser solucionados si productores y profesionales del gremio comprenden que no es posible realizar un control parasitario “sencillo”, y que la única manera de lograr un control verdadero y sostenible, es entendiendo la complejidad de los parásitos y de sus interacciones con el hospedero y el ambiente; y, con base en esto, aplicar soluciones igualmente complejas, pero no menos eficientes, que propendan no por la eliminación completa de los parásitos, sino más bien por el control de sus poblaciones en niveles que no afecten la salud y la productividad de los animales.

Para concluir, en esta revisión de estudios se evidencia que los mecanismos de acción tanto de vacunas como de hongos entomopatógenos, actúan por vías totalmente independientes; por un lado, las vacunas estimulan el sistema inmune del hospedero para producir anticuerpos que, al ser consumidos por la garrapata durante su proceso de alimentación, reaccionan con diferentes tejidos necesarios para su reproducción y viabilidad; por su parte, los hongos entomopatógenos entran en contacto con la cutícula de la garrapata, proliferan sobre ésta, perforándola e invadiendo sus órganos vitales, afectando así su supervivencia, gracias a la liberación de metabolitos tóxicos.

Por lo anterior, es de considerarse que el uso conjunto de vacunas y hongos debería mejorar los resultados de control respecto a su aplicación independiente en los programas de control de garrapatas en ganadería. No obstante, en la actualidad no se encuentran estudios donde se evalúe la aplicación combinada de ambos tratamientos; por lo que se considera necesario el desarrollo de nuevas investigaciones que comparen el efecto de la aplicación conjunta, y por separado de vacunas y hongos, para así confirmar si, efectivamente, existe un efecto complementario entre ambas estrategias.

Literatura citada

- Abdigoudarzi, M. (2009). Laboratory Study on Biological Control of Ticks (Acari: Ixodidae) by Entomopathogenic Indigenous Fungi (*Beauveria bassiana*). *Iranian J Arthropod-Borne Dis.* 3:36–43.
- Akhtar, M.; Muhammad, F.; Lodhi, L.A.; Hussain, I. y Anwar, M.I. (2010). Immunity against ticks - A Review. *Pak Vet J.* 31(1):9–16.
- Almazán, C.; Lagunes, R.; Villar, M.; Canales, M.; Rosario-Cruz, R.; Jongejan, F. y de la Fuente, J. (2010). Identification and characterization of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* candidate protective antigens for the control of cattle tick infestations. *Parasitol Res.* 106(2):471–9.
- Almazán, C.; Moreno-Cantú, O.; Moreno-Cid, J.A.; Galindo, R.C.; Canales, M.; Villar, M. y de la Fuente, J. (2012). Control of tick infestations in cattle vaccinated with bacterial membranes containing surface-exposed tick protective antigens. *Vaccine* 30(2):265–72.
- Alonso-Díaz, M.A.; García, L.; Galindo-Velasco, E.; Lezama-Gutiérrez, R.; Ángel-Sahagún, C.A.; Rodríguez-Vivas, R.I. y Fragosó-Sánchez, H. (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(3-4):336–40.

- Alonso-Díaz, M.A.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Fragoso-Sánchez, H. y Rosario-Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch Med Vet.* 38(2):105–13.
- Anderson, J. F. y Magnarelli, L.A. (2008). Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am.* 22(2):195–215.
- Andreotti, R.; Cunha, R.C.; Soares, M.A.; Guerrero, F.D.; Leite, F.P.L. y Pérez de León A. (2012). Protective immunity against tick infestation in cattle vaccinated with recombinant trypsin inhibitor of *Rhipicephalus microplus*. *Vaccine* 30(47):6678–85.
- 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. *Vet Parasitol.* 170: 278–286.
- Araque, A.; Ujueta, S.; Bonilla, R.; Gómez, D. y Rivera, J. (2014). Resistencia a acaricidas en *Rhipicephalus (boophilus) microplus* de algunas explotaciones ganaderas de Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica* 17 (1): 161 – 170.
- Avendaño-Reyes, L. y Correa-Calderón, A. (2002). *Diseases of dairy animals | Parasites, External: Tick Infestations*. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). John W. Fuquay (Ed.). Academic Press. San Diego. P 253-257.
- Benavides, E.; Rodríguez, J.L. y Romero, A. (2000). Isolation and partial characterization of the Montecitos strain of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1877) multiresistant to different acaricides. *Ann N Y Acad Sci.* 916:668–671.
- Benavides, E. (2009). Manejo integrado de los parásitos externos del ganado (I). *Carta Fedegan.* 115:1–3.
- Betancourt, J. (1993). *Susceptibilidad de varias cepas de Boophilus microplus a diferentes compuestos acaricidas*. Disponible en la red mundial en: URL:<http://201.234.78.28:8080/jspui/handle/123456789/4010> (Consultada el 17 de junio de 2013).
- Beys da Silva, W.O.; Santi, L.; Schrank, A. y Vainstein, M.H. (2010). *Metarhizium anisopliae* lipolytic activity plays a pivotal role in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infection. *Fungal Biol.* 114(1):10–5.
- Camargo, M.G.; Marciano, A.F.; Sá, F.A.; Perinotto, W.M.S.; Quinelato, S.; Gólo, P.S.; Angelo, I.C.; Prata, M.C.A. y Bittencourt, V.R.E.P. (2014). Commercial formulation of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* in a pen study. *Vet Parasitol.* 205:271–276.
- Camargo, M.; Gólo, P.; Angelo, I.; Perinotto, W.M.S.; Sá, F.A.; Quinelato, S.A. y Bittencourt, V.R.E.P. (2012). Effect of oil-based formulations of acaripathogenic fungi to control *Rhipicephalus microplus* ticks under laboratory conditions. *Vet Parasitol.* 188:140–147.
- Canales, M.; Almazán, C.; Naranjo, V.; Jongejan, F. y de La Fuente, J. (2009). Vaccination with recombinant *Boophilus annulatus* Bm86 ortholog protein, Ba86, protects cattle against *B. annulatus* and *B. microplus* infestations. *BMC Biotechnol.* 9(29):1-8.
- Castro-Janer, E.; Martins, J.R.; Mendes, M.C.; Namindome, A.; Klafke, G.M. y Schumaker, T.T.S. (2010a). Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. *Vet Parasitol.* 173(3-4):300–306.
- Castro-Janer, E.; Rifran, L.; González, P.; Piaggio, J.; Gil, A. y Schumaker, T.T.S. (2010b). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by *in vitro* bioassays. *Vet Parasitol.* 169(1-2):172–177.
- Cunha, R.; Pérez de León, A.; Leivas, F.; Da Silva, L.; dos Santos, A. y Andreotti, R. (2012). Bovine immunoprotection against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with recombinant Bm86-Campo Grande antigen. *Rev Bras Parasitol Vet. J. Joticabal.* 21 (3):254–62.
- Cutullé, C.; Lovis, L.; D'Agostino, B.I.; Balbiani, G.G.; Morici, G.; Citroni, D.; Reggi, J. y Caracostantogolo, J.L. (2013). *In vitro* diagnosis of the first case of amitraz resistance in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. *Vet Parasitol.* 192(1-3):296–300.
- Díaz, E. (2012). Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos *Rhipicephalus microplus*. *Rev Colomb Cienc Anim.* 5(1):72–81.
- FAO. (2004). *Module1 ticks. Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention*. En: Resistance management and integrated parasite control in ruminants: Guidelines. p 25–77. Disponible en la red mundial en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ag014e/ag014e00.pdf> (Consultada el 17 de junio de 2013).

- FEDEGAN. (2006). *Plan estratégico de la ganadería colombiana al 2019*. Editorial Sanmartín Obregon and Cia. Bogotá, Colombia. 296 pp.
- Fernandes, É.K.K.; Bittencourt, V.R.E.P. y Roberts, D.W. (2012). Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Exp Parasitol*. 130(3):300–5.
- Fernández-Ruvalcaba, M.; Preciado-De-La Torre, F.; Cruz-Vázquez, C. y García-Vázquez, Z. (2004). Antitick effects of *Melinis minutiflora* and *Andropogon gayanus* grasses on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. *Exp Appl Acarol*. 32(4):293–299.
- Fernández-Salas, A.; Rodríguez-Vivas, R.I. y Alonso-Díaz, M.A. (2012). First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Vet Parasitol*. 183(3-4):338–42.
- Frazzon A.P.G.; vaz J.R.I.; masuda A.; Schrank A.; Vainstein M.H. 2000. *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol* 94: 117-225.
- Giraldo, C. y Uribe, F. (2007). *Manejo integrado de garrapatas en sistemas sostenibles de producción ganadera*. Red Electrónica de Garrapatas y Enfermedades Transmitidas por Garrapatas para América latina y El Caribe. FAO. pp 1–12.
- Guerrero, F.D.; Miller, R.J. y Pérez de León, A. (2012a). Cattle tick vaccines: many candidate antigens, but will a commercially viable product emerge? *Int J Parasitol*. 42(5):421–7.
- Guerrero, F.D.; Lovis, L. y Martins, J.R. (2012b). Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Brazilian J Vet Parasitol*. 21(1):1–6.
- Hoddle, M.S. y Van Driesche, R.G. (2009). *Biological control of insect pests*. En: *Encyclopedia of Insects* (Second Edition). Vincent H. Resh/Ring T. Cardé (Eds.), Academic Press, San Diego. P 91-101.
- Iowa State University. (2007). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Factsheet. Disponible en la red mundial en: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/boophilus_microplus.pdf (Consultada el 26 de mayo de 2015).
- Jonsson, N.N.; Cutullé, C.; Corley, S.W. y Seddon, J.M. (2010). Identification of a mutation in the para-sodium channel gene of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* associated with resistance to flumethrin but not to cypermethrin. *Int J Parasitol*. 40(14):1659–64.
- Khan, S.; Guo, L.; Maimaiti, Y.; Mijit, M. y Qiu, D. (2012). Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. *Mol Plant Breed*. 3(7):63–79.
- Kumar, A.; Garg, R.; Yadav, C.L.; Vatsya, S.; Kumar, R.R.; Sugumar, P.; Chandran, D.; Mangamoorb, L.N. y Bedarkar, S.N. (2009). Immune responses against recombinant tick antigen, Bm95, for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks in cattle. *Vet Parasitol*. 165(1-2):119–24.
- Kumar, B.; Murugan, K.; Ray, D.D. y Ghosh, S. (2012). Efficacy of rBm86 against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (IVRI-I line) and *Hyalomma anatolicum anatolicum* (IVRI-II line) infestations on bovine calves. *Parasitol Res*. 111(2):629–35.
- Kurti, T.J. y Keyhani, N.O. (2008). Intracellular infection of tick cell lines by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Microbiology* 154: 1700–1709.
- Leemon, D.M. y Jonsson, N.N. (2012). Comparison of bioassay responses to the potential fungal biopesticide *Metarhizium anisopliae* in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Lucilia cuprina*. *Vet Parasitol*. 185:236-247.
- Leemon, D.M. y Jonsson, N.N. (2008). Laboratory studies on Australian isolates of *Metarhizium anisopliae* as a biopesticide for the cattle tick *Boophilus microplus*. *J. Invertebr Pathol*. 97(1):40–9.
- Leemon, D.M.; Turner, L.B. y Jonsson, N.N. (2008). Pen studies on the control of cattle tick (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) with *Metarhizium anisopliae* (Sorokin). *Vet Parasitol* 156: 248–260.
- López, A.; Villar, D.; Chaparro, J.; Miller, R. y Pérez de León, A.A. (2015). Reduced efficacy of commercial acaricides against populations of resistant cattle tick *Rhipicephalus microplus* from two municipalities of Antioquia, Colombia. *Environ Health Insights* 8(2):71-80.
- Lord, J.C. (2005). From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. *J Invertebr Pathol*. 89(1):19–29.
- Lovis, L.; Mendes, M.C.; Perret, J.-L.; Martins, J.R.; Bouvier, J.; Betschart, B. y Sager, H. (2013). Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Brazilian field populations. *Vet Parasitol*. 191(3-4):323–31.

- Lovis, L.; Guerrero, F.D.; Miller, R.J.; Bodine, D.M.; Betschart, B. y Sager, H. (2012). Distribution patterns of three sodium channel mutations associated with pyrethroid resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* populations from North and South America, South Africa and Australia. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2:216–224.
- Lubeck, I.; Arruda, W.; Souza, B.K.; Stanisquasi, F.; Carlini, C.R.; Schrank, A. y Vainstein, M.H. (2008). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* strains as potential biocontrol agents of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and the cotton stainer *Dysdercus peruvianus*. *Fungal Ecol.* 1:78–88.
- Mendes, M.C.; Lima, C.K.P.; Nogueira, A.H.C.; Yoshihara, E.; Chiebao, D.P.; Gabriel, F.H.L.; Ueno, T.E.H.; Namindome, A. y Klafke, G.M. (2011). Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol.* 178(3-4):383–388.
- Miller, R.J.; Almazán, C.; Ortiz-Estrada, M.; Davey, R.B.; George, J.E. y Pérez de León, A. (2013). First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. *Vet Parasitol.* 191(1-2):97–101.
- Mondal, D.B.; Sarma, K. y Saravanan, M. (2013). Upcoming of the integrated tick control program of ruminants with special emphasis on livestock farming system in India. *Ticks Tick Borne Dis.* 4(1-2):1–10.
- Murgueitio, E. y Giraldo, C. (2009). Sistemas silvopastoriles y el control de parásitos. *Carta FEDEGAN.* 115: 1–3.
- Mwangi, E.N.; Essuman, S.; Kaaya, G.P.; Nyandat, E.; Munyinyi, D. y Kimondo, M.G. (1995). Repellence of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* by the grass *Melinis minutiflora*. *Trop Anim Health Prod.* 27:211–216.
- Narváez, J.F.; Palacio, J.A. y Molina, F.J. (2012). Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestión y Ambiente.* 15(3): 27-38.
- Nuttall, P. A.; Trimnell, A. R.; Kazimirova, M. y Labuda, M. (2006). Exposed and concealed antigens as vaccine targets for controlling ticks and tick-borne diseases. *Parasite Immunology.* 28:155–163.
- Ojeda-Chi, M.M.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Galindo-Velasco, E. y Lezama-Gutiérrez, R. (2010). Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Vet Parasitol.* 170(3-4):348–354.
- Ojeda-Chi, M.M.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Galindo-Velasco, E.; Lezama-Gutiérrez, R. y Cruz-Vásquez, C. (2011). Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari : Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Revisión. *Rev Mex Cienc Pecu.* 2(2):177–192.
- Parizi, L.F.; Utiumi, K.U.; Imamura, S.; Onuma, M.; Ohashi, K.; Masuda, A. y da Silva Vaz Jr, I. (2011). Cross immunity with *Haemaphysalis longicornis* glutathione S-transferase reduces an experimental *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation. *Experimental Parasitology* 127: 113–118.
- Parizi, L.F.; Reck, J.; Oldiges, D.P.; Guizzo, M.G.; Seixas, A.; Logullo, C.; de Oliveira, P.; Termignoni, C.; Martins, J.R. y da Silva, I. (2012). Multi-antigenic vaccine against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a field evaluation. *Vaccine* 30(48):6912–7.
- Patarroyo, J.H.; Portela, R.W.; de Castro, R.O.; Pimentel, J.C.; Guzmán, F.; Patarroyo, M.E.; Vargas, M.I.; Prates, A.A. y Dias Mendes, M.A. (2002). Immunization of cattle with synthetic peptides derived from the *Boophilus microplus* gut protein (Bm86). *Vet Immunol Immunopathol.* 88:163–72.
- Pérez-Cogollo, L.C.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Ramírez-Cruz, G.T. y Rosado-Aguilar, J.A. (2010). Survey of *Rhipicephalus microplus* resistance to ivermectin at cattle farms with history of macrocyclic lactones use in Yucatan, Mexico. *Vet Parasitol.* 172(1-2):109–113.
- Perinotto, W.M.S.; Gólo, P.S.; Coutinho Rodrigues, C.J.B.; Sá, F.A.; Santi, L.; Beys da Silva, W.O.; Junges, A.; Vainstein, M.H.; Schrank, A.; Salles, C.M. y Bittencourt, V.R. (2014). Enzymatic activities and effects of mycovirus infection on the virulence of *Metarhizium anisopliae* in *Rhipicephalus microplus*. *Vet Parasitol.* 203:189–196.
- Pohl, P.C.; Klafke, G.M.; Júnior, J.R.; Martins, J.R.; da Silva Vaz, I. y Masuda, A. (2012). ABC transporters as a multidrug detoxification mechanism in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol Res.* 111(6):2345–2351.
- Pruett, J.H. (2002). Immunological intervention for the control of ectoparasites of livestock - A review. *Vet Parasitol.* 16(1):1–10.

- Quinelato, S.; Gôlo, P.S.; Perinotto, W.M.S.; Sá, F.A.; Camargo, M.G.; Angelo, I.C.; Moraes, A.M.L. y Bittencourt, V.R.E.P. (2012). Virulence potential of *Metarhizium anisopliae* s.l. isolates on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. *Vet Parasitol.* 190:556–65.
- Reck, J.; Klafke, G.M.; Webster, A.; Dall’Agnol, B.; Scheffer, R.; Souza, U.A.; Corassini, V.B.; Vargas, R.; dos Santos, J.S. y de Souza Martins, J.R. (2014). First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet Parasitol.* 201:128–36.
- Reis, R.C.S.; Fernandes, É.K.K. y Bittencourt, V.R.E.P. (2008). Fungal formulations to control *Rhipicephalus sanguineus* engorged females. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1149:239–241.
- Ren, Q.; Sun, M.; Guan, G.; Li, Y.; Liu, Z.; Liu, A.; Ma, M.; Niu, Q.; Liu, J.; Yin, H. y Luo, J. (2011). Biological control of engorged female *Haemaphysalis qinghaiensis* (Acari: Ixodidae) ticks with different chinese isolates of *Beauveria bassiana*. *Parasitol Res.* 109(4):1059–1064.
- Rodríguez-Valle, M. (2000). *Respuesta inmunológica contra garrapatas*. Biotecnol Apl. Disponible en la red mundial en: <https://tspace.library.utoronto.ca/html/1807/21814/ba00068.html> (Consultada el 17 de junio 17 de 2013).
- Schrank, A. y Vainstein, M.H. (2010). *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon* 56(7):1267–1274.
- Schumacher, V. y Poehling, H-M. (2012). *In vitro* effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. *Fungal Biol.* 116(1):121–132.
- Shakya, M.; Kumar, B.; Nagar, G.; de la Fuente, J. y Ghosh, S. (2014). Subolesin: a candidate vaccine antigen for the control of cattle tick infestations in Indian situation. *Vaccine* 32(28):3488–3494.
- Sonenshine, D.E.; Nicholson, W.L. y Lane, R.S. (2002). *Ticks (Ixodida)*. En: *Medical and Veterinary Entomology*, Gary Mullen and Lance Durden (Eds.), Academic Press, San Diego. P. 517-558.
- Souza, E.J.; Costa, G.L.; Bittencourt, V.R.E.P. y Fagundes, A.S. (2009). Ação do fungo *Beauveria bassiana* associado a gel polimerizado de celulose no controle do carrapato *Anocentor nitens* em teste de campo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(1):163-169.
- Steinhaus, E. (1956). Microbial Control-The emergence of an idea. A brief history of insect pathology through the nineteenth century. *HILGARDIA* 26(2):107–160.
- Téllez-Jurado, A.; Cruz, M.G.; Mercado, Y.; Torres, A.A. y Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Rev Mex Micol.* 30:73 – 80.
- Thompson, K.C.; Roa E.J. y Romero N.T. (1978). Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. *Trop Anim Health Pro.* 10:179–182.
- Ullmann, A. J.; Stuart, J.J.; Hill, C.A.; Tick-Hunter, W. y Cole, C. 2008. Genome Mapping and Genomics in Arthropods. En: *Genome Mapping and Genomics in Animals*. C. Cole y Hunter, W. (Eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 103-117.
- Willadsen, P. (2004). Anti-tick vaccines. *Parasitology.* 129(7):S367–S387.

Recepción: 09 de julio de 2015

Envío arbitraje: 17 de septiembre de 2015

Dictamen: 11 de noviembre de 2015

Aceptación: 18 de noviembre de 2015



Título: *Caballo de hierro*
Técnica: Pintura al carbón
Medidas: 50 x 60 cm
Autor: César Lara González