

**VALORACIÓN DEL USO COMBINADO DE VACUNAS Y HONGOS
ACAROPATÓGENOS COMERCIALES PARA EL CONTROL DE *Rhipicephalus microplus*
EN BOVINOS**

Ana Carolina Moncada González

Tesis de Posgrado presentada como requisito parcial para optar al título de

MAGISTER EN CIENCIAS ANIMALES

DIRECTORA

Liliana Mahecha Ledesma Dra. Sc. An.

COMITÉ TUTORIAL

Jenny Jovanna Chaparro PhD.

Carolina Giraldo Echeverri PhD.

Joaquín Angulo PhD.

David Villar Argaez PhD.

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

2015

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación fue posible gracias a la financiación otorgada por Colciencias al Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de producción Agropecuaria – CIPAV, en el marco del proyecto “Dinámica de las poblaciones de garrapatas del ganado en sistemas ganaderos tradicionales y silvopastoriles”.

Agradezco en primer lugar a Enrique Murgueitio Restrepo, como director de la Fundación CIPAV y a Julián David Chará, director del Centro de Investigaciones de esta misma institución, por haberme motivado inicialmente para realizar mis estudios de maestría, y permitirme hacer parte de tan excelente equipo de trabajo.

Quiero agradecer de forma especial al Profesor Rolando Barahona, a su esposa, Solange Sánchez y a Raquel Sofía Salazar, por aceptarme tan amablemente dentro de su equipo de trabajo, y permitirme articular mi investigación en el marco de dicho proyecto.

A los Hermanos Enrique José y Carlos Hernando Molina por abrirme las puertas de Hacienda Lucerna para realizar mi investigación; a Juan Fernando Suárez y a John Lopera por el apoyo logístico, así como a Martha Ramírez y a todo el equipo de ordeñadoras, que fueron una pieza fundamental para el éxito de mi labor, especialmente durante el periodo de muestreo.

A mi tutora, Liliana Mahecha por su orientación y valiosos aportes durante todo mi proceso formativo en posgrado. A todo mi comité tutorial, comenzando por Jenny Chaparro que me abrió las puertas del laboratorio de parasitología y me permitió el acceso a todos los materiales y equipos necesarios para mi trabajo; al profesor Joaquín Angulo por sus aportes, principalmente en las evaluaciones de producción de leche y a Carolina Giraldo por sus consejos, apoyo moral y orientación en los temas asociados a control biológico, estadística y muchos otros más.

Quiero agradecer muy especialmente al profesor David Villar, por guiarme en las metodologías tanto de campo como de laboratorio, y por contagiarme además de ese espíritu de investigador inquieto, dispuesto a cuestionarlo todo, con una elevada calidad humana y ética profesional.

A quienes fueran mis compañeros en CIPAV y permanecen como grandes amigos, Julián Rivera y Fredy Arenas, por el enriquecimiento de la discusión y el apoyo incondicional durante todo mi proceso formativo; a mis compañeros de trabajo y amigos de la Universidad de Antioquia, Carlos Giraldo, Henry Cadavid y Julián Muñoz por sus consejos y por apoyarme en los momentos más duros. A todos mis compañeros de la maestría, en especial a Catalina Gómez por ayudarme a enfrentar tres cursos de estadística.

Y por último, y más importante, a mi familia, quienes creyeron en esta causa, aun cuando yo perdía las esperanzas y que fueron mi gran motivación e inspiración para luchar por hacer este sueño realidad.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	9
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	14
OBJETIVO GENERAL	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
HIPOTÉISIS DE INVESTIGACIÓN.....	14
CAPITULO I	15
Uso de vacunas y hongos acaropatógenos para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos	15
Resumen.....	15
Abstract	16
Introducción	17
Mecanismos de Resistencia.....	19
Vacunas para el control de <i>R. microplus</i>	21
Hongos acaropatógenos y control de <i>R. microplus</i>	23
Consideraciones finales.....	27
Literatura citada	28
CAPITULO II	35
Ensayos con vacunas y hongos acaropatógenos para el control de <i>Rhipicephalusmicroplus</i> en vacas lecheras en pastoreo.....	35
Resumen.....	35
Abstract	36
Introducción	37
Materiales y métodos	38
Resultados y discusión	41
Conclusiones	49
Literatura citada	49
CAPITULO III.....	53
Relación entre el número de garrapatas y el volumen y calidad de la leche producida en ganado criollo colombiano Lucerna.....	53
Resumen.....	53
Abstract	54

Introducción	54
Materiales y métodos	56
Resultados y discusión	58
Literatura citada	61
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
LITERATURA CONSULTADA	66
ANEXOS	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Etapas de la infección por <i>Metarhizium anisopliae</i> sobre <i>R. microplus</i>	25
Figura 2.1. Disposición de las hembras ingurgitadas en cajas de Petri, para realizar el respectivo seguimiento reproductivo	40
Figura 2.2. Número de garrapatas en cada grupo de animales tratados con la vacuna TickVac®, producto a base de hongos acaropatógenos (Bioplag®) y combinación de ambos	42
Figura 2.3. Promedio (\pm E.S) del número de garrapatas en bovinos tratados con vacuna TickVac®, suspensión de hongos acaropatógenos (Bioplag WP®), y combinación de ambos	43
Figura 2.4. Medias (\pm EE) para la variable Peso (mg) de la hembra ingurgitada (PHI) de <i>Rhipicephalus microplus</i> obtenidas de bovinos tratados con hongos, vacuna y la combinación de ambos	44
Figura 2.5. Medias (\pm EE) para la variable Peso (mg) de la hembra ingurgitada (PHI) de <i>Rhipicephalus microplus</i> obtenidas de bovinos de primero, segundo y tercer parto.....	44
Figura 2.6. Medias (\pm EE) para la variable Peso (mg) de la masa de huevos (PMH) de <i>Rhipicephalus microplus</i> obtenidas de bovinos tratados con hongos, vacuna y la combinación de ambos	45
Figura 2.7. Correlación entre el peso de hembras ingurgitadas (PHI) y el peso de la masa de huevos (PMH) en mg.	45
Figura 2.8. Efecto de la temperatura ambiental sobre el número de garrapatas registrado durante el período de estudio.	47
Figura 2.9. Distribución de los porcentajes de eclosión de acuerdo a la temperatura ambiental ($^{\circ}$ C) registrada al momento de recolección de las garrapatas.	48

Figura 3.1.Gráfico comparativo del nivel de producción de leche en litros (barras), respecto a su contenido de grasa y proteína en gramos (líneas) durante el periodo de observación.....58

Figura 3.2.Distribución del número de garrapatas para cada animal durante el periodo de estudio. Se aprecia como la mayoría de los datos de conteo se concentran por debajo de 50 garrapatas por animal.60

Figura 4.1. Crecimiento de colonias no identificadas a partir del cultivo de BIOPLAG WP® en agar Sabouraud.....64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Eficacia de diferentes antígenos evaluados sobre <i>R. microplus</i>	23
Tabla 1.2. Evaluación de <i>Metarhizium anisopliae</i> para el control de <i>R. microplus</i>	26
Tabla 2.1. Nivel de significancia estadística (valor <i>p</i>) de los diferentes factores sobre los parámetros evaluados	41

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. El sistema silvopastoril intensivo como posible factor protector frente a infestaciones por garrapatas <i>Rhipicephalus (boophilus) microplus</i> en Hacienda Lucerna, Colombia.....	¡Error! Marcador no definido.
Anexo 2. Parámetros reproductivos de garrapatas <i>Rhipicephalus microplus</i> obtenidas de bovinos tratados con una vacuna a base de antígenos poliproteicos y una suspensión de hongos acaropatógenos.....	¡Error! Marcador no definido.
Anexo 3. Ensayos de una vacuna a base de antígenos poliproteicos y una suspensión de hongos acaropatógenos sobre el número de garrapatas <i>Rhipicephalus microplus</i> en bovinos en pastoreo.	¡Error! Marcador no definido.

RESUMEN

El manejo irracional de los acaricidas de síntesis en sistemas ganaderos, ha provocado el desarrollo de resistencia en poblaciones de garrapatas a nivel global, lo que se traduce en una menor efectividad en los programas de control parásitario, un aumento en los costos para el productor y una inevitable pérdida de la rentabilidad en esta actividad productiva. A raíz de la ausencia de conocimiento sobre otras alternativas de control, se ha optado por aumentar la concentración y frecuencia de aplicación de estos productos para hacer frente a esta problemática, haciendo que el ganadero entre en un círculo vicioso donde los costos de control son cada vez más altos y la efectividad de los productos es cada vez menor.

En el marco de una producción sostenible, se hace prioritaria la adopción de formas de control inocuas, que no contaminen el medio ambiente y que protejan la salud de operarios y consumidores. Los programas de Manejo Integrado de parásitos surgen como una opción que se ajusta de forma adecuada a estas necesidades, teniendo en consideración la ecología y la epidemiología de las garrapatas para el diseño de estrategias que permitan su control desde diferentes frentes. Como alternativas que se promueven al interior de estos programas se encuentran las vacunas antigarrapatas y los hongos acaropatógenos, los cuales además del gran potencial que han demostrado para controlar las infestaciones, presentan beneficios como una probabilidad reducida de desarrollar resistencia, menor riesgo de contaminación al medio ambiente y protección a la salud de los operarios, animales y consumidores, debido a que no presentan problemas de toxicidad ni de residualidad. No obstante, aún son necesarios más y mejores estudios respecto a dichas alternativas, debido a que muchos de los resultados publicados en la actualidad, permanecen inconsistentes y aún no se ha logrado una eficacia ideal, por lo que ambas tanto vacunas como hongos hoy representan áreas de investigación bastante activas.

En este trabajo, se indagó sobre una posible complementariedad entre el efecto acaricida de hongos acaropatógenos y vacunas antigarrapata comerciales al ser aplicados de forma combinada con miras a reducir los niveles de infestación respecto a su aplicación por separado. Se seleccionaron 27 animales por medio de un muestreo por conveniencia bajo los siguientes criterios: animales entre 1 y 3 partos, y animales que al inicio del ensayo estuvieran en el primer tercio de lactancia, esto con el fin de que permanecieran en producción durante el periodo de estudio. Posteriormente se crearon 3 grupos de 9 animales cada uno; a dos de los grupos se les asignó la aplicación de tratamientos de forma independiente (solo la vacuna Tick Vac® para el primer grupo, y solo la suspensión de

esporas Bioplug WP® para el segundo grupo); los animales del tercer grupo fueron tratados tanto con la vacuna como con la suspensión de hongos. Ambos productos fueron aplicados siguiendo cuidadosamente las recomendaciones sugeridas por los fabricantes.

Posteriormente, para estimar los niveles de infestación en los animales bajo estudio, se realizaron conteos quincenales del número de garrapatas mayores a 5 mm sobre toda su superficie, y mensualmente se seleccionaron garrapatas totalmente ingurgitadas (>8mm) para ser llevadas al laboratorio y valorar el efecto de los productos aplicados sobre su desempeño reproductivo registrando el peso y los parámetros de fecundidad (peso de la masa de huevos ovipositada) y fertilidad (porcentaje de eclosión de los huevos).

Con el fin de estimar el efecto del número de garrapatas sobre la producción de leche en este sistema, se realizaron mediciones quincenales del volumen de leche producida y se estimó su contenido de grasa y proteína. La fase experimental del presente estudio fue programada para realizarse en 12 semanas, en el periodo comprendido entre junio y diciembre de 2013. El análisis estadístico realizado comprendió principalmente la aplicación de modelos lineales simples, modelos mixtos de medidas repetidas en el tiempo y coeficientes de correlación. El análisis de los resultados obtenidos no mostró diferencias entre los tratamientos aplicados conjuntamente o por separado, con respecto al desempeño reproductivo en las garrapatas o el nivel de infestación en los animales. Tampoco hubo efecto del número de garrapatas sobre los parámetros productivos evaluados. En general, los efectos que presentaron significancia dentro de los modelos estadísticos aplicados en este estudio, se reducen al tiempo y la temperatura medioambiental. Aunque se obtuvo significancia estadística de los tratamientos sobre algunos de los parámetros reproductivos evaluados, desde el punto de vista biológico se consideraron irrelevantes ya que todos los valores medios correspondían con los valores normales descritos para *R. microplus*. Finalmente, se concluye que nuestros resultados estuvieron fuertemente condicionados por dos factores: 1) el bajo número de garrapatas registrado durante todo el periodo de medición en respuesta a las altas temperaturas y a la escasa precipitación que predominó en el lugar de estudio durante el segundo semestre del 2013, y 2) una posible falta de eficacia en los productos ensayados. Como recomendaciones finales se sugiere revisar nuevamente la eficacia de los productos aquí usados con pruebas de establo e infestaciones controladas; procurar la inclusión de periodos secos y de lluvias cuando se van a realizar ensayos con garrapatas en animales en pastoreo y por último, el desarrollo de una metodología que permita estimar de manera confiable los umbrales de daño económico para garrapatas en bovinos bajo sistemas de lechería tropical.

INTRODUCCIÓN

La producción ganadera, como parte del sistema de suministro de alimentos, se enfrenta a los retos que hoy exige un mercado globalizado. La producción en cantidades suficientes para satisfacer la demanda local y global no es suficiente; esta debe realizarse de la manera más eficiente posible y debe garantizar que los productos sean inocuos, que su impacto medioambiental sea mínimo y que cumplan con altos estándares de calidad (FAO, 2014). Es en este sentido, donde los productores deben enfrentarse al que pueda ser su principal reto: el surgimiento de una nueva cultura de consumidores conscientes, que no solo exigen estándares de calidad cada vez mayores, sino que además, manejan una elevada consciencia de responsabilidad social, protección al medio ambiente y cuidado del bienestar animal (Mahecha et al., 2002; Grandin, 2014).

La ganadería bovina se encuentra en la mira de los consumidores de forma particular, como resultado de una campaña quizás “justa” de desacreditación de ésta a nivel mundial, que la señala como una de las principales responsables de los procesos de erosión y desertificación de los suelos y del actual fenómeno de cambio climático, ya que dentro de las actividades pecuarias, es esta la que más gases de efecto invernadero emite a la atmósfera (FAO, 2009).

Por otro lado, está la aplicación de prácticas consideradas como “éticamente cuestionables” desde la perspectiva del consumidor, y que incluyen: el uso indiscriminado de medicamentos y hormonas para la producción, los sistemas de cría intensiva en condiciones de estabulación permanente y hacinamiento, la implementación de prácticas como el corte de cola, la castración sin anestesia y los destetes tempranos; la selección genética que muchas veces no logra diferenciar entre deformación y mejoramiento; el faenado que, independientemente de cómo se practique, siempre será escandaloso para los consumidores; la resistencia generada por múltiples agentes infecciosos en respuesta al abuso de antibióticos y antiparasitarios, entre muchos otros (Grandin, 2014).

En consecuencia, el desarrollo de nuevos modelos de producción ganadera basados en prácticas más sostenibles, es ahora un tema de alta pertinencia para el sector a nivel mundial (FAO, 2014). Para el caso específico de Colombia, se ha constituido como una política nacional del gremio ganadero dentro de su Plan estratégico de la Ganadería colombiana al año 2019 (FEDEGAN, 2006). Entre muchas otras, el uso irracional de medicamentos y antiparásitarios, es una de las dificultades que hoy afronta el sector, debido a la grave problemática de resistencia que se ha identificado en múltiples poblaciones de garrapatas a las principales moléculas acaricidas usadas en ganadería y

que incluyen organofosforados, carbamatos, piretroides, sintéticos, lactonas macrocíclicas, amitraz y fipronil (Castro-Janer et al., 2010a; Castro-Janer et al., 2010b; Pérez-Cogollo et al., 2010; Mendes et al., 2011; Diaz, 2012; Fernández-Salas et al., 2012; Pohl et al., 2012; Cutullé et al., 2013; Lovis et al., 2013;; Miller et al., 2013).

El desarrollo de resistencia implica múltiples efectos negativos para la economía del productor, el medio ambiente, y la salud de operarios y consumidores; quizás lo más preocupante en relación a esto, es la descripción de un patrón de desarrollo exponencial de la resistencia, o en otras palabras, que los nuevos productos desarrollados tienden a presentar menores intervalos de tiempo entre el momento en que se comienzan a reportar casos de resistencia y su salida al mercado (Alonso-Díaz et al, 2006).

Por otro lado, las altas infestaciones por garrapatas tienen graves implicaciones sobre la salud, el bienestar y la productividad de los animales, debido al estrés crónico asociado a las reacciones de hipersensibilidad generadas a nivel local por la fijación de las piezas bucales que genera decaimiento y pérdida del apetito, por lo que los animales reducen su consumo y por ende su productividad (Jonsson et al., 1998); estas reacciones generan daños en las pieles, lo que dificulta su comercialización (Avendaño y Correa, 2002; , Ulley et al., 2008). En animales muy jóvenes o débiles, las altas infestaciones pueden provocar estados de anemia grave e incluso la muerte de los animales. *R. microplus* actúa como vector biológico de los hemoparásitos *Babesia sp* y *Anaplasma marginale*, aumentándose en las altas infestaciones, el riesgo de que los animales manifiesten sintomatología de hemoparasitismo severo, situación que requiere atención médica veterinaria y aplicación de medicamentos con tiempos de retiro, situación que reduce considerablemente la rentabilidad en el sistema (Avendaño y Correa, 2002).

En este sentido, el presente trabajo , pretende aportar en la construcción de una ganadería más competitiva, buscando alternativas de solución que permitan abordar el problema de la resistencia a antiparasitarios, específicamente a aquellos de uso común para el control de garrapatas. El manejo actual de los programas de control de garrapatas en ganadería, sugiere que en el corto plazo no se tendrá acceso a productos sintéticos que logren controlar las poblaciones de garrapatas de manera satisfactoria (Nari, 2012), razón por la cual se hace prioritario el desarrollo, no de nuevos productos, sino de una nueva cultura de control parasitario a través de programas de Manejo Integrado de plagas (MIP).

El concepto de MIP, que surge en el siglo XIX para la protección de cultivos agrícolas, hoy pretende ser adaptado en la búsqueda de un control más eficiente sobre los parásitos de interés

veterinario (Benavides, 2009). Éste se fundamenta en la implementación de estrategias diseñadas tomando como modelo la ecología y la epidemiología de cada especie de parásito y de sus respectivos hospedadores. El MIP para garrapatas de un solo hospedero como *Rhipicephalus microplus* incluye prácticas como: el uso de razas de ganado resistente (*Bos indicus*), la rotación de pasturas, el pastoreo alterno con especies animales diferentes (ovinos), la sustitución de los acaricidas de síntesis por extractos fitoquímicos o biopesticidas (hongos acaropatógenos) y la inmunización de los animales (Benavidez, 2009; Murgueitio y Giraldo, 2009; Nari, 2011; Mondal et al., 2012).

Este estudio tiene como objetivo valorar el uso combinado de vacunas y hongos acaropatógenos de formulación comercial para el control de la garrapata *R. microplus*, como alternativas de control que logren articularse a los programas de manejo integrado de parásitos dentro de los sistemas de producción ganadera.

En el Capítulo I, se realiza una breve revisión de los mecanismos de acción tanto de vacunas antigarrapata como de hongos acaropatógenos y se construye la base teórica que soporta nuestra hipótesis de trabajo. En el Capítulo II se detallan los resultados obtenidos por la aplicación en campo de un producto registrado comercialmente en Colombia elaborado con base en las esporas de los hongos acaropatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, en combinación con un antígeno poliproteico obtenido a partir de un macerado de larvas de *R. microplus* y que también está disponible comercialmente. Para ello se midieron los tres parámetros esenciales que se usan en pruebas de campo para valorar la eficacia de productos frente a garrapatas: a) conteo de garrapatas ingurgitadas por animal, b) fecundidad y c) fertilidad (Holdsworth et al., 2006).

En el capítulo III se realiza un análisis económico, midiendo el efecto de los niveles de infestación por garrapatas, sobre las variables volumen de producción de leche y contenido de grasa y proteína, en la búsqueda de definir umbrales de daño económico específicos para este sistema productivo como una de las bases del control estratégico de garrapatas dentro de la filosofía de manejo integrado (Giraldo y Uribe, 2007). Finalmente, se expresan una serie de conclusiones y recomendaciones generales, construidas a partir de la integración de toda la información obtenida en este estudio, discutiendo las limitaciones, logros y aspectos a mejorar identificados a partir de la experiencia adquirida con este trabajo de investigación

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL

Valorar el uso combinado de una vacuna antigarrapata y de una formulación comercial de hongos acaropatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* para el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus*, en sistemas ganaderos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de la vacuna Tickvac® y los baños tópicos Bioplag WP® aplicados de forma combinada y por separado, sobre los niveles de infestación en los animales y los parámetros reproductivos de fecundidad y fertilidad en garrapatas adultas obtenidas de animales tratados.
2. Identificar el efecto del número de garrapatas, sobre el volumen de producción y el contenido de grasa y proteína en leche, en vacas naturalmente infestadas bajo un sistema de lechería tropical
3. .

HIPOTÉISIS DE INVESTIGACIÓN

- La aplicación combinado de la vacuna Tickvac® y de los baños tópicos Bioplag WP® mejora los resultados de control de infestaciones y reduce los parámetros reproductivos de garrapatas *R. microplus*, respecto a su aplicación por separado.
- El nivel de infestación por garrapatas estándar (>5mm) en bovinos, está inversamente relacionado con el volumen y la calidad (grasa y proteína) de la leche.

CAPITULO I

Uso de vacunas y hongos acaropatógenos para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos¹

Ana Carolina Moncada González^{1,3}; David Villar Argai²; Jenny Jovanna Chaparro Gutierrez²;
Joaquín Angulo Areiza³ y Liliana María Mahecha Ledesma^{3**}

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

²Grupo Vericel, 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.

** Autor para correspondencia: Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Producción Animal. Kr 75 # 65-87 A.A. 1226. Medellín, Colombia. E-mail: lilianamahechaledesma@gmail.com

Resumen

Debido a la resistencia desarrollada por las garrapatas frente a los acaricidas que se encuentran en el mercado, hoy se hace necesario replantear las estrategias de control de ectoparásitos utilizadas tradicionalmente en ganadería. Como alternativa, surgen los programas de manejo integrado de parásitos que promueven estrategias de control basadas en la ecología y en la epidemiología de cada especie de parásito, disminuyendo el riesgo de desarrollo de resistencia. Dichas estrategias incluyen la aplicación de vacunas antigarrapata y hongos acaropatógenos, capaces de afectar la viabilidad y la reproducción de las garrapatas. A pesar de presentarse como alternativas promisorias, la información arrojada entre estudios ha sido inconsistente, por lo que hoy representan un área de investigación bastante activa.

¹Artículo aceptado para publicación por la Revista Avances en Investigación Agropecuaria. Universidad de Colima, México. ISSN 0188 - 7890

El objetivo de éste documento es identificar cómo a partir de la complementariedad de los mecanismos de acción propios para vacunas antigarrapata y hongos acaropatogenos se pueden diseñar planes de aplicación combinada que mejoren los resultados de control. Para ello, se realiza una revisión descriptiva sobre el problema actual de resistencia a acaricidas con énfasis en la especie *Rhipicephalus microplus*, sobre los mecanismos de acción utilizados por hongos y vacunas para afectar la reproducción y supervivencia de las garrapatas. y se incluye información relevante sobre la eficacia de estos productos. Con esto, se espera obtener evidencia teórica que soporte cómo el uso conjunto de hongos y vacunas puede mejorar los niveles de control sobre las poblaciones de garrapatas en sistemas ganaderos.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, control integrado de parásitos, *Metarhizium anisopliae*, resistencia a antiparasitarios, *Rhipicephalus microplus*

Abstract

Due to the resistance developed by ticks to acaricides found in the marketplace, it is now necessary to rethink ectoparasite control strategies traditionally used in livestock farming. As an alternative, integrated parasite management techniques, that promote control strategies based on the ecology and epidemiology of each species of parasites, which diminish the development of resistance, are increasing in popularity among farmers. These strategies include the application of anti-tick vaccines and acaropathogenic 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. The objective of the present study is to identify how combined application plans taken from the mechanisms of action from each strategy may be designed in order to improve control results. To this end, a descriptive review of the problem of resistance to acaricides, with an emphasis on the species *Rhipicephalus microplus*, action mechanisms through which fungi and vaccines affect the reproduction and survival of ticks will be described and relevant information about the effectiveness of these products will be completed. Thus, it is hoped that theoretical evidence will be obtained that supports 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

Rhipicephalus microplus, 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. y *Anaplasma marginale*. Su ciclo de vida se caracteriza por ser de un solo hospedero y estar compuesto por una fase parasítica y otra no parasítica; 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. Así, para el control de las formas de vida libre en las praderas, deben implementarse estrategias diferentes a la aplicación de los tóxicos utilizados sobre los animales, ya que estos suelen ser poco selectivos y se desconoce como pueden estar afectando a otras especies y al medioambiente (Khan et al., 2012).

Otra característica ecológica fundamental que se debe tener en cuenta para el control de *R. microplus*, es la duración de su ciclo de vida. Este puede variar dependiendo de factores ambientales externos como la temperatura y la humedad (Soneneshine, 2002; Anderson y Magnarelli, 2008), pero generalmente puede durar de meses a años. La fase parasítica del ciclo, que es en la que se enfocan la mayoría de programas de control convencional (Benavides, 2009), puede durar entre 3 a 4 semanas (Iowa State University, 2007). Con base en esta información, cualquier estrategia a implementar *R. microplus* debe actuar controlando las poblaciones por periodos superiores a la duración de la fase parasítica, logrando así reducir tanto las poblaciones de éstos parásitos 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 al 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, convirtiendo 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 medio ambiente, y la salud de operarios y consumidores.

Por otra parte, algunos acaricidas y pesticidas orgánicos, tienen un efecto bioacumulativo en tejidos animales como el músculo y la glándula mamaria de los animales expuestos a estos. Al consumir carne y leche estas sustancias pueden ser biomagnificadas en los seres humanos, exponiendo la salud de los consumidores en el 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 (Narvaes 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 respuesta a la problemática planteada. Un ejemplo son los sistemas silvopastoriles en ganadería, cuya implementación viene siendo promovida por entidades nacionales e internacionales (FEDEGAN, 2006; FAO, 2014) debido a que gracias a la articulación del componente árbol dentro del paisaje ganadero, se obtiene, entre muchos otros beneficios, 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, lo que genera reducción del estrés y fortalecimiento del sistema inmune, disminuyendo 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 aún completa eliminación del uso de pesticidas que puedan afectar al medio ambiente y la salud humana, son algunos de los objetivos propuestos por el gremio ganadero en Colombia, específicamente en el plan estratégico de la ganadería -PEGA 2019 (FEDEGAN, 2006). Este 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 anteriormente expuesto, se hace prioritario investigar nuevas estrategias que logren reducir la dependencia a los acaricidas de síntesis en los programas de control de garrapatas. 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 ajustado la sigla MIP en veterinaria como Manejo Integrado de Parásitos (Benavides 2007). En el marco de estos programas se promueve un abordaje integral del problema de las parasitosis enfocándose tanto en la ecología como en la epidemiología del parásito. La idea consiste en implementar diversas estrategias de manejo ajustadas según las necesidades y capacidades del productor, las cuales incluyen: 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; Fernandez-Ruvalcaba et al., 2004), pastoreo alternado con otras especies animales productivas (ovinos); recuperación de las poblaciones de enemigos naturales como aves, hormigas y otros (Murgueitio y Giraldo, 2009; Giraldo y Uribe 2007); inmunización, aplicación de fitoquímicos y uso de biopesticidas como los hongos acaropatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Mondal et al., 2013).

En la presente revisión se abordará de forma específica la aplicación de vacunas y hongos acaropatógenos como estrategias con un alto potencial para reemplazar a los acaricidas químicos, y se indagará sobre la sinergia que teóricamente podrían expresar estos productos al ser aplicados de forma conjunta, mejorando los resultados de control en los programas de manejo integrado de garrapatas.

Mecanismos de Resistencia

El desarrollo de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas se da como el 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 hasta el momento, los mejor descritos son 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., 2012).

Para el caso de los piretroides, la resistencia está dada por la insensibilidad en el sitio de acción, la cuales atribuida a una mutación puntual en un solo aminoácido, que puede presentarse en uno de los distintos dominios de 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 gracias a que los individuos desarrollan métodos de desintoxicación más eficientes, o adquieren la capacidad de secuestrar las sustancias acaricidas, gracias a la acción de varios complejos enzimáticos como las citocromo P450 esterasas, la glutatión S-transferasa (Alonso-Díaz et al., 2006; Diaz, 2012; Guerrero et al., 2012) y los transportadores ABC (Pohl et al, 2012). Como último mecanismo, la permeabilidad de la cutícula de la garrapata se ve disminuída por modificaciones en su exoesqueleto asociadas a un aumento en la concentración lipídica, lo cual afecta negativamente la capacidad de penetración de los acaricidas a través de ésta (Alonso-Díaz et al., 2006).

La detección de poblaciones resistentes a los acaricidas se realiza por medio 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 ha logrado identificar numerosas poblaciones de garrapatas resistentes a la mayoría de moléculas acaricidas que hoy 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 la ivermectina en México, fue reportado por Pérez-Cogollo et al., por medio de la prueba de inmersión de larvas, específicamente en el estado de Yucatán (Perez-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 82,6% de la población de garrapatas estudiada mostró resistencia a la Cipermetrina, 86,36% a la Deltametrina y un 65,25% 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 (Cutullè et al., 2013). También se ha reportado 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 identifica la existencia de poblaciones resistentes a la flumetrina, deltametrina, alfacipermetrina y lambdaialotrina en 8 cepas diferentes de *R. microplus* (Betancourt, 1993). 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 del país, Araque et al. (2014) estimaron una eficacia mayor al 90% para el amitraz en solo 3% de las muestras recolectadas. Recientemente, en el departamento de Antioquia se evidenció una reducción en la eficacia de las lactonas 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). Lamentablemente, 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 han identificado problemas de baja efectividad en los acaricidas de uso más común, aún es necesario realizar nuevos 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, surge desde el año 1918 cuando se observó que el ganado expuesto de forma repetida a *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). No obstante, éstas vacunas lograron comercializarse a pesar de que los resultados asociados a su eficacia no han sido del 100%, por lo que la búsqueda de nuevos antígenos que confieran una protección completa frente a las infestaciones por garrapatas continua siendo un área de investigación bastante activa (Guerrero et al., 2012).

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 (Nuttall et al., 2006). Los segundos, 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, causando lesiones y pérdida de la función en el epitelio. El efecto final es la disminución o aún inhibición del consumo de sangre por la garrapata, afectando su supervivencia y/o su posterior desempeño reproductivo (Rodríguez-Valle, 2000; Willadsen, 2004).

Los resultados reportados sobre la efectividad de estas vacunas son variables y son expresados como mortalidad de las garrapatas y de los huevos, reducción en el peso de la hembra ingurgitada y de la masa de huevos, un periodo de alimentación prolongado e inhibición de la muda. (Nuttall et al 2006)). La tendencia es a investigar nuevos agentes 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. No obstante, aunque algunos autores afirman que la efectividad de las vacunas elaboradas con base en Bm86 depende en gran medida de que dichos antígenos se obtengan a partir de la cepa específica de garrapata que se quiere controlar (Guerrero et al., 2012), un estudio realizado en Brasil con vacunas elaboradas a partir de garrapatas *R. microplus* de la cepa “Campo Grande” y usada sobre garrapatas de la misma cepa solo 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. Canales et al. (2009), observaron una eficacia sobre *R. microplus* del 85.2% y del 71.5% a partir de vacunas elaboradas con el antígeno Bm86 y su ortólogo Ba86 respectivamente. En la tabla 1.1 se aprecia de forma resumida la eficacia de algunos de los principales antígenos identificados en los últimos cinco años.

Tabla 1.1 Eficacia de diferentes antígenos evaluados sobre *R. microplus*

Cepa de <i>R. microplus</i>	Antígeno	Eficacia*	Referencia
Campo Grande	Bm86	31%	Cunha <i>et al.</i> , 2012
	EF1a-MSP1a	38%	
México	BM95-MSP1a	64%	Almazán <i>et al.</i> , 2012
	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

Aunque son muchos los antígenos promisorios que se han identificado para la elaboración de vacunas que controlen las poblaciones de garrapatas, 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 lograr 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.*, 2012).

Hongos acaropatógenos 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 isopliae* es 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, son 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 es reportado en la Unión Soviética, con preparaciones denominadas como Entobacterin y Dendrobacillin, elaboradas a partir de esporas y endotoxinas de *Bacillus thuringiensis*, y Boverin, una solución de esporas del hongo *Beauveria bassiana* (Abdigoudarzi, 2009).

La infección de *R. microplus* por los hongos acaropatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae*, comienza con la adhesión de las esporas del hongo a la cutícula de la garrapata y la colonización inmediata, proceso que dura alrededor de 24 horas (Ojeda-chi et al., 2011) 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 inicia un proceso de infección de 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 para salir y esporular entre las 48 y 60 horas siguientes, infectar nuevos individuos y comenzar nuevamente con el ciclo (Ojeda-chi et al., 2011; Schrank y Vainstein, 2010). En la figura 1.1, se puede observar un resumen gráfico del proceso de invasión de *M. anisopliae*, sobre *R. microplus*.

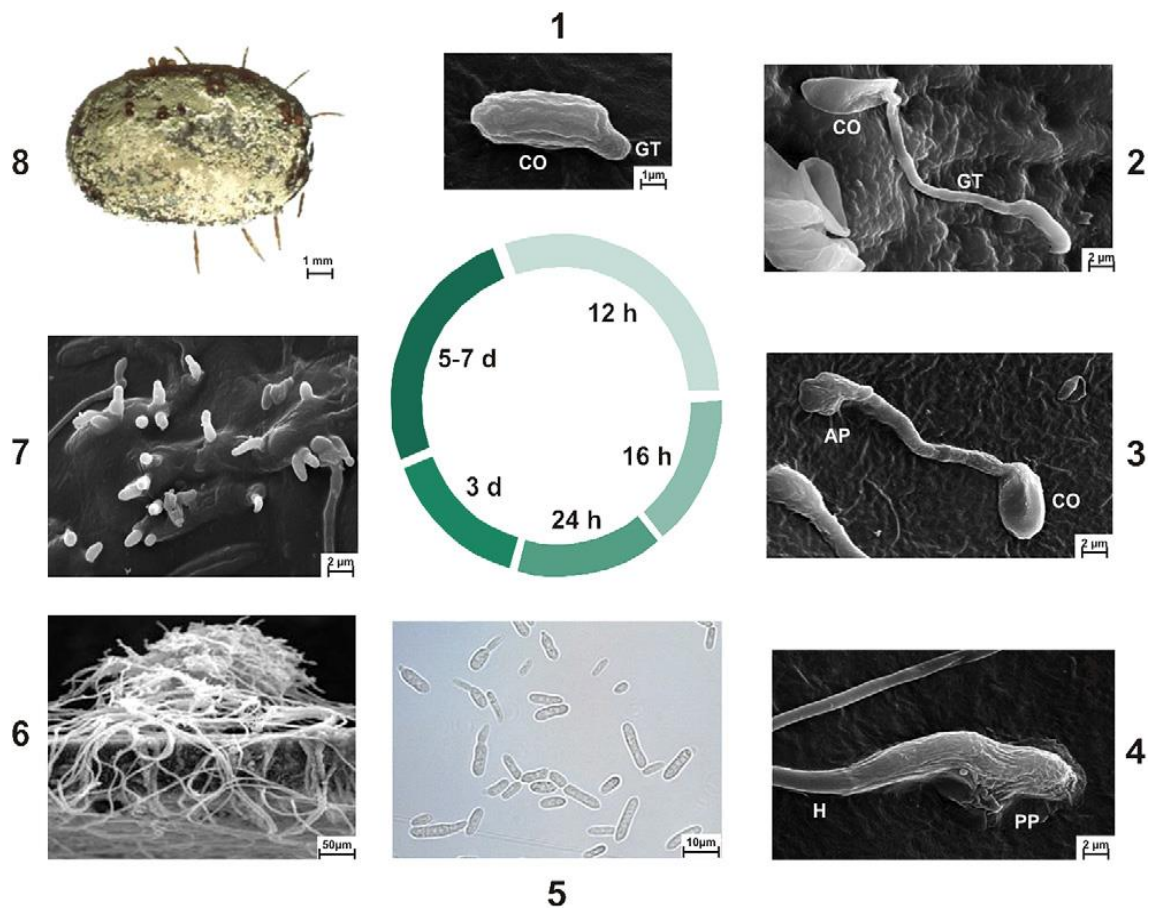


Figura 1.1. Etapas de la infección por *Metarhizium anisopliae* sobre *R. microplus*. (1) adherencia de conidias a la cutícula del hospedero; (2) germinación de conidias; (3) diferenciación de tubos de germinación en apesorio; (4) penetración de la cutícula; (5) diferenciación de hifas a blastosporas 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. 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*, existen pocos estudios que validen su eficacia en campo. Tan solo 3 de los 171 biopesticidas a base de hongos, comercializados mundialmente para combatir plagas de cultivos agrícolas, afirman poder controlar garrapatas (Fernandes et al., 2012). En un estudio realizado en bovinos del trópico mexicano se logró mostrar 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* (Alonso-Díaz et al., 2007). 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 en campo a las condiciones medioambientales y favorecer su adhesión a la cutícula de las garrapatas. De hecho, los estudios

realizados con conidias suspendidas en aceite mineral (Camargo et al., 2014; Camargo et al., 2012) o aplicadas localmente con gel de celulosa polimerizada (Souza et al., 2009; Reis et al., 2008) 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 3 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 que tan segura es la aplicación de estos hongos para el medio 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 volumen de información interesante 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 la tabla 1.2 se resumen algunos estudios que reportan los resultados de la aplicación de *M. anisopliae* sobre la mortalidad y la reproducción en *R. microplus*.

Tabla 1.2. Evaluación de *Metarhizium anisopliae* para el control de *R. microplus*

Cepa de <i>M. anisopliae</i>	Mortalidad	Eficacia	Referencia
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
Ma34	n.e.	91.20%	Alonso-Díaz <i>et al.</i> , 2007
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

En vista de la problemática de resistencia a los acaricidas tradicionales, es muy probable que en un futuro próximo se extienda el uso de estos productos a medida que se mejore la calidad y eficacia de las formulaciones actuales, y se establezcan programas de control biológico específicos para cada sistema productivo. Una característica interesante de estas suspensiones de hongos, es que pueden aplicarse en conjunto con acaricidas de síntesis química, 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

En el marco de los retos propuestos para la ganadería en Colombia, se hace prioritaria la implementación de estrategias integrales para alcanzar un manejo sostenible en todos los niveles dentro de los sistemas de producción ganadera. Los insecticidas, acaricidas de síntesis química, antibióticos y antiparasitarios de amplio espectro, deberían usarse de una forma más racional a como se vienen empleando y con base en diagnósticos que justifiquen su uso, de lo contrario se corre el riesgo de acelerar la aparición resistencias y generar efectos indeseables sobre el medio ambiente. Las estrategias asociadas a los programas de control integrado de garrapatas se presentan como una opción interesante para disminuir la frecuencia en la aplicación de sustancias agroquímicas y para lograr el control 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 eficientes para la producción de vacunas y de los protectores adecuados para mejorar el desempeño de los hongos acaropatógenos en condiciones de campo. Es importante aclarar que, aunque en esta revisión solo se profundizó en el tema de las vacunas y los hongos acaropatógenos como alternativas para el control sostenible de ectoparásitos en ganadería, lo recomendable es que éstas se encuentren articuladas a un programa de Manejo Integrado de Parásitos que aplique principios como el uso de razas resistentes a las infestaciones y al hemoparasitismo; se apoye en la biodiversidad funcional dentro de sistemas de pastoreo complejos (por ejemplo, los sistemas silvopastoriles); aplique los principios de preservar 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 maximizar las producciones al límite, es cada vez más escaso entre los productores. En síntesis, en la actualidad no es posible continuar con la idea de aplicar estrategias para “un control parasitario sencillo” (Benavides 2009), ya que en definitiva, la única forma de hacer frente a las dificultades que hoy representa el control parasitario en veterinaria, es entendiendo la complejidad de los parásitos y de sus interacciones con el

hospedero y el medio 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 las poblaciones de parásitos en niveles que no afecten la salud y la productividad de los animales.

Al revisar los mecanismos de acción tanto de vacunas como de hongos acaropatógenos, se evidencia que estos actúan por vías totalmente independientes; sin embargo, no hay estudios de campo que hayan evaluado el uso combinado de ambos tratamientos. Por un lado, las vacunas actúan estimulando 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, al entrar en contacto con la cutícula de la garrapata, proliferan sobre ésta perforándola e invadiendo sus órganos vitales, afectando su supervivencia gracias a la liberación de metabolitos tóxicos. En este contexto, es de esperarse que el uso conjunto de vacunas y hongos logre mejores resultados de control en comparación con cada producto aplicado de forma independiente. Por tanto, sería interesante proponer nuevas investigaciones que comparen el efecto de ambas alternativas de forma conjunta y por separado para así confirmar si efectivamente existe un efecto sinérgico entre ambas.

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.; 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.; 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.; 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-Gutierrez, R.; Angel-Sahagún, C.A.; Rodríguez-Vivas, R.I.; 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. *Vet Parasitol.* 147(3-4):336–40.
- Alonso-Díaz, M.A.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Fragoso-Sánchez, H.; Rosario-Cruz, R. 2006 Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch Med Vet.* 38(2):105–13.
- Anderson, J.F.; 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.; 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.
- Avendaño-Reyes, L.; Correa-Calderon, A. Parasites, External : Tick Infestations. Fuquay, J.W.; Fox, P.F.; McSweeney, P.L.H. (Eds.) *Diseases of Dairy Animals.* Elsevier Ltd. 2002. Páginas 253-257
- Benavides, E.; Rodríguez, J.L.; 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. [URL:http://201.234.78.28:8080/jspui/handle/123456789/4010](http://201.234.78.28:8080/jspui/handle/123456789/4010) [acceso: Junio 17 del 2013]
- Beys da Silva, W.O.; Santi, L.; Schrank, A.; 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.; Gôlo, P.S.; Angelo, I.C.; Prata, M.C.A.; 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.; Gôlo, P.; Angelo, I.; Perinotto, W.M.S.; Sá, F.A.; Quinelato, S.A.; 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.; 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., 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. 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.; Andreotti, R. 2012 Bovine immunoprotection against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with recombinant Bm86-Campo Grande antigen. *Rev Bras Parasitol Vet, Jaboticabal.* 21(3):254–62.
- Cutullé, C.; Lovis, L.; D'Agostino, B.I.; Balbiani, G.G.; Morici, G.; Citroni, D.; Reggi, J.; 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, 2014. Towards Sustainable Livestock. Global Agenda for Sustainable Livestock. Discusión paper. URL: http://www.livestockdialogue.org/fileadmin/templates/res_livestock/docs/2014_Colombia/2014_Towards_Sustainable_Livestock-dec.pdf [Access: October 16 of 2015]
- FEDEGAN. Plan estratégico de la ganadería colombiana. 2019. Editorial Sanmartín Obregon & Cia. Bogotá D. C. 2006 p. 296.
- Fernandes, É.K.K.; Bittencourt, V.R.E.P.; Roberts, D.W. 2012 Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Exp Parasitol.* 130(3):300–5.
- Fernandez-Ruvalcaba, M.; Preciado-De-La Torre, F.; Cruz-Vazquez, C. Garcia-Vazquez, Z. 2004 Anti-tick 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.; 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.
- Giraldo, C.; 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 p. 1–12.
- Guerrero, F.D.; Miller, R.J.; Pérez de León, A. 2012 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.; Martins, J.R. 2012 Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Brazilian J Vet Parasitol. 21(1):1–6.
- Hoddle, M.S.; Driesche, R.G.V. (2009) Biological Control of Insect Pests. Resh, V.H. y Cardé, R.T (Eds.) Encyclopedia of Insects. Second Edition. Elsevier Inc. 2009 p. 91-101
- Iowa State University. 2007. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Factsheet. URL: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/boophilus_microplus.pdf. [Acceso: Mayo 26 de 2015].
- Jonsson, N.N.; Cutullè, C.; Corley, S.W.; 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.; 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.; Mangamoorib, L.N.; 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.; 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.
- Leemon, D.M.; Jonsson, N.N. 2012 Comparison of bioassay responses to the potential fungal biopesticide *Metarhizium anisopliae* in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Lucilia cuprina*. Veterinary parasitology. 185:236-247
- Leemon, D.M.; 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.
- López, A.; Villar, D.; Chaparro, J.; Miller, R.; Perez de León, A.A. 2015 Reduced efficacy of commercial acaricides against populations of resistant cattle tick *Rhipicephalus microplus* from two municipalities of Antioquia, Colombia. Environmental 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.; 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.; 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.; Stanisçuaski, F.; Carlini, C.R.; Schrank, A.; 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.; 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.; Ortíz-Estrada, M.; Davey, R.B.; George, J.E.; 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.; 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.; 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.; 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.; Molina, F.J. 2012 Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: una revisión de los procesos de degradación natural. *Revista gestión y Ambiente.* 15(3): 27-38
- Nuttall, P. A.; Trimmell, 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.; 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. 2011 Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Revisión. Mex Cienc Pecu. 2(2):177–192.
- Parizi, L.F.; Reck, J.; Oldiges, D.P.; Guizzo, M.G.; Seixas, A.; Logullo, C.; de Oliveira, P.; Termignoni, C.; Martins, J.R.; 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.; Guzman, F.; Patarroyo, M.E.; Vargas, M.I.; Prates, A.A.; 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.
- Perez-Cogollo, L.C.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Ramirez-Cruz, G.T.; 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.; Gôlo, 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.; 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.; 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.; 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.; 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.; 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.; 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. *Biotechnol Apl.* URL:<https://tspace.library.utoronto.ca/html/1807/21814/ba00068.html> [acceso: Junio 17 de 2013]
- Schrank, A. and Vainstein, M.H. 2010 *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon.* 56(7):1267–1274.
- Schumacher, V. and 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.; Ghosh, S. 2014 Subolesin: a candidate vaccine antigen for the control of cattle tick infestations in Indian situation. *Vaccine.* 32(28):3488–3494.
- Souza, E.J.; Costa, G.L.; Bittencourt, V.R.E.P.; 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.; 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.; Romero N.T. 1978. Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. *Trop Anim Health Prod.* 10:179–182.
- Ullmann, A.J.; Stuart, J.J. y Hill, C.A. Tick. Hunter, W. y Cole, C. (Eds.) *Genome Mapping and Genomics in Arthropods.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008. Páginas 103-117
- Willadsen, P. 2004 Anti-tick vaccines. *Parasitology.* 129(7):S367–S387.

CAPITULO II

Ensayos con vacunas y hongos acaropatógenos para el control de *Rhipicephalus microplus* en vacas lecheras en pastoreo

Ana Carolina Moncada González^{1,2*}; Lilibiana María Mahecha Ledesma¹; Carolina Giraldo Echeverri²; David Villar Argai³; Jenny Jovanna Chaparro Gutierrez³ y Joaquín Angulo Areiza¹.

¹Grupo GRICA, Escuela de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia

²Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de producción Agropecuaria – CIPAV, Áreas de Restauración Ecológica, Cali - Colombia.

³Grupo Vericel, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia.

*Autor para correspondencia: acarolina.moncada@udea.edu.co

Resumen

La resistencia a acaricidas limita la efectividad de los programas de control de garrapatas, al aumentar los costos de producción y el riesgo de contaminación tanto del ambiente como de los alimentos obtenidos a partir del ganado bovino, como consecuencia del incremento en su concentración y frecuencia de aplicación. Los programas de manejo integrado de parásitos (MIP), surgen como una solución a este problema, promoviendo la aplicación de múltiples estrategias capaces de reducir la dependencia a los acaricidas químicos; dentro de éstas se destacan el uso de vacunas antigarrapata y de hongos acaropatógenos. El presente estudio buscó evaluar el efecto de la aplicación combinada de la vacuna TickVac® con una suspensión comercial de hongos acaropatógenos denominada Bioplag WP®, sobre el conteo corporal y reproducción de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en bovinos. Para tal fin, se formaron 3 grupos a los que se aplicó la vacuna, los hongos, o ambos productos combinados. Las variables número de garrapatas y

temperatura medioambiental fueron registradas cada dos semanas, y las variables peso de la hembra ingurgitada, peso de la masa de huevos y porcentaje de eclosión, cada mes. Se observó una gran fluctuación de las cargas parasitarias en todos los grupos durante el periodo de estudio; sin embargo, los valores promedio (\pm E.S) a lo largo de este fueron de tan solo 10.2 ± 2.4 , 11.9 ± 2.4 y 11.6 ± 2.4 para los grupos de vacuna, hongos y combinación, respectivamente. Se observó un efecto del tratamiento y el número de partos sobre el peso de la hembra ingurgitada y del tratamiento sobre el peso de la masa de huevos. También se observó efecto de la temperatura ambiental sobre el nivel de infestación y sobre los porcentajes de eclosión ($p < 0.005$). A pesar de la significancia estadística obtenida para algunos de los factores evaluados, desde el punto de vista experimental los resultados fueron inconclusos, ya que todos los parámetros reproductivos se encontraron dentro de los valores normales para esta especie de garrapata, y porque las infestaciones durante el período de estudio fueron tan bajas que no permitieron valorar la eficacia de los tratamientos

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, infestación natural, manejo integrado de garrapatas-MIG, *Metarhiziumanisopliae*, vacunas antigarrapata.

Trials with vaccines and acaropathogenic fungi for controlling the cattle tick *Rhipicephalus microplus* in grazing milking cows.

Abstract

Acarid resistance limits the effectiveness of tick control programs, thereby increasing production costs and the risk of contamination of both the environment and of the foods obtained from dairy cattle. Integrated parasite management programs (IPM) have arisen as a solution to this problem, promoting the application of multiple strategies able to reduce the dependence on chemical acaricides; standouts among these are the utilization of anti-tick vaccines and acaropathogenic fungi. The present study sought to evaluate the effectiveness of the combined application of the TickVac® vaccine with a commercial suspension of acaropathogenic fungi named Bioplag WP® on the survival and reproduction of the *Rhipicephalus microplus* cattle tick. To this end, 3 groups were formed, to which the vaccine, the fungi, or both together were applied. The variables number of ticks and median ambient temperature were registered every two weeks; and the variables engorged weight of the female, egg mass weight, and hatch percentage, each month. Great fluctuation was observed in parasite load in all groups during the study period; however, average

values (\pm E.S) over time were only 10.2 ± 2.4 , 11.9 ± 2.4 , and 11.6 ± 2.4 for vaccination, fungi, and combination groups, respectively. A treatment effect was observed in the number of hatchings divided by the engorged weight of the female and of the number of hatchings divided by the weight of the egg mass. Also, environmental temperature was observed to affect infestation level and hatch percentage ($p < 0.005$). However, despite the significant statistical difference obtained for some of the factors evaluated, from a biological point of view, these differences are irrelevant due to the fact that these parameters were found to be within normal values for the species of tick evaluated.

Keywords: Antitick vaccines, *Beauveria bassiana*, integrated tick management, *Metarhizium anisopliae*, natural infestations.

Introducción

Las garrapatas son organismos hematófagos que parasitan a gran cantidad de especies alrededor del mundo. La garrapata de mayor importancia económica en los sistemas ganaderos ubicados en zonas tropicales y subtropicales, corresponde a la especie *Rhipicephalus microplus* (Avendaño y Correa, 2002), vector de los hemoparásitos *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale*, agentes causales de la patología conocida como “fiebre de garrapatas” en ganadería (Ullman et al., 2008). Los costos anuales para el control de *R. microplus* ascienden los miles de millones de dólares, y este panorama tiende a empeorar debido a la resistencia que las garrapatas han desarrollado a compuestos usados para su control como los organofosforados, carbamatos, piretroides sintéticos, ivermectinas (Pérez-Cogollo et al., 2010; Mendes et al., 2011; Cutullé et al., 2013; Diaz, 2012; Fernández-Salas et al., 2012; Pohl et al., 2012; Lovis et al., 2013), y al fipronil (Castro-Janer et al., 2010a; Castro-Janer et al., 2010b; Miller et al., 2013).

En el marco de esta problemática, profesionales del sector y productores se han unido en la búsqueda de nuevas estrategias para el control parasitario que minimicen los problemas que causan los acaricidas de síntesis y que incluyen: a) desarrollo de resistencia; b) contaminación del medio ambiente, c) toxicidad para el operario durante su aplicación y d) contaminación de los productos para consumo humano, como la carne y la leche.

En respuesta a esta situación, aparece el concepto de Manejo Integrado de Parásitos (MIP), el cual propone no delegar el control sólo a la aplicación de productos, si no, como su nombre lo indica, realizar un abordaje integral del problema tomando como base la ecología y la epidemiología de las parasitosis (Benavides, 2009). De esta manera, el MIP no busca erradicar, sino más bien mantener las poblaciones a niveles que no afecten la salud y la producción de los animales, en otras palabras, que los parásitos se mantenga por debajo del umbral de daño económico (Benavides, 2009; Nari, 2011). Algunas de las estrategias propuestas para la aplicación de estos programas incluyen: el uso de razas resistentes (razas *Bos indicus*), manejo de pasturas (rotaciones y descansos), pastoreo alternado con otras especies, recuperación de la biodiversidad en los sistemas (enemigos naturales), aplicación de vacunas, extractos vegetales, y en general todas aquellas prácticas que reduzcan la dependencia de los acaricidas químicos (Benavidez, 2009; Murgueitio y Giraldo, 2009; Nari, 2011; Mondal et al., 2012).

La presente investigación, tuvo como objetivo valorar el efecto combinado de la vacuna antigarrapatas comercializada en Colombia como Tickvac® (Tecnoquímicas S.A.) y una suspensión comercial de esporas de hongos acaropatógenos denominada Bioplag WP® (Bioprotección S.A.), para el control de los niveles de infestación por garrapatas en ganado criollo bajo condiciones de silvopastoreo.

Materiales y métodos

Zona de estudio

Se seleccionó un sistema de lechería tropical ubicado en el municipio de Bugalagrande, Valle del Cauca – Colombia, a una altura de 960msnm, con temperatura promedio de 25°C, precipitación anual de 1110 mm y humedad relativa entre 75-85%. En este sistema están establecidas alrededor de 45 hectáreas en sistemas silvopastoriles intensivos multiestrato con un arreglo de pasto *Cynodon* sp., arbustos de *Leucaena leucocephala* y árboles de *Prosopis juliflora*, *Gliricidia sepium*, *Guazuma ulmifolia* y *Leucaena leucocephala* a libre crecimiento. El manejo de las pasturas se realiza por medio de rotación en franjas con períodos de descanso entre 45-50 días, con una capacidad de carga de aproximadamente 3.5 animales por hectárea.

Diseño del experimento

27 hembras bovinas de la raza criolla colombiana Lucerna fueron seleccionadas para entrar en el estudio por medio de un muestreo de conveniencia, tomando como criterios que los animales tuvieran entre uno y tres partos, y que se encontraran en el primer tercio de la lactancia, con el fin de abarcar la mayor cantidad de animales con características similares, dentro del lote de producción. Los grupos se formaron aplicando un diseño estadístico factorial completamente al azar, usando el paquete estadístico "R" (R Development Core Team, 2008) de modo que quedaran homogéneos respecto a número de partos y días de lactancia. Posteriormente se le asignó un grupo a cada tratamiento así: Grupo 1) vacuna elaborada con base en un antígeno poliprotéico de *R. microplus* obtenido a partir de un macerado de larvas (Betancourt et al., 2005), siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante (2mL por animal vía subcutánea los días 0, 20 y 60). Grupo 2) suspensión de esporas de los hongos acaropatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* a una concentración de 5 gramos del producto por litro de agua y aplicada con bomba aspersora (Royal Condor, PROGEN S.A.) según el protocolo recomendado por el fabricante (1 litro/100 kg de peso vivo aplicado uniformemente a contra pelo los días 0, 20, 40 y 60). Grupo 3) combinación de vacuna y hongos siguiendo los protocolos anteriormente descritos. Ambos productos se consiguen comercialmente en el país, son de venta libre y tienen su respectivo registro emitido por la autoridad sanitaria (Registro ICA 6814 para la vacuna y 8280 para los hongos acaropatógenos). No fue posible contar con un grupo control sin tratamiento, debido a que los propietarios del predio no lo permitieron por tratarse de animales en producción.

Estimación del número de garrapatas

Previo a la aplicación de los productos (día 0) y posteriormente cada 15 días, se registró el número de garrapatas mayores a 5 mm sobre la superficie total del animal, entre las 5:00 y las 7:00 horas (Wharton y Utech, 1970). Los datos de temperatura ambiental, fueron obtenidos a partir de la base de datos online AccuWeather™ (AccuWeather Inc.), para cada una de las fechas de conteo. Ambos registros se obtuvieron en el periodo comprendido entre junio y diciembre de 2013.

Parámetros reproductivos

Cada mes, se recolectaron las garrapatas mayores a 8mm, se empacaron en recipientes plásticos marcados con la fecha y la identificación del animal del que fueron tomadas (un recipiente por animal) y se transportaron refrigeradas al laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad de Antioquia. Allí fueron lavadas, identificadas taxonómicamente y se registró su peso para

finalmente, fijarlas en cajas de Petri (Figura 2.1), siguiendo los métodos recomendados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO, para la evaluación de resistencia a acaricidas a partir de garrapatas adultas (FAO, 2004). Las cajas de Petri fueron mantenidas en incubadora con una temperatura constante de 28°C y humedad relativa del 95%. Al tercer día de incubación, las garrapatas comenzaron la oviposición, y 21 días después, se separó la masa de huevos y se registró su peso individual. Posteriormente, se tomó una muestra de 12 mg (aproximadamente 300 huevos) de cada garrapata y se colocó en tubos de ensayo con una tapa de algodón humedecido. A los 42 días de iniciar la incubación, se registró el número de larvas vivas con ayuda de una lupa y cinta adhesiva para ir retirando las larvas y disminuir la probabilidad de error por recuento. Los parámetros reproductivos obtenidos fueron: peso de hembras ingurgitadas (PHI), peso de la masa de huevos (PMH) y porcentaje de eclosión (PE).



Figura 2.1. Disposición de las hembras ingurgitadas en cajas de Petri, para realizar el respectivo seguimiento reproductivo

Aspectos éticos

Análisis estadísticos

La información recolectada fue analizada por medio del paquete estadístico “R” (R Development Core Team, 2008). La variable número de garrapatas fue transformada aplicando $\sqrt{y + 1}$ para corregir la heterogeneidad de varianzas y eliminar los valores en cero, y posteriormente, se le aplicó un modelo mixto de medidas repetidas en el tiempo, tomando a la vaca como efecto aleatorio. Las variables PHI, PMH y PE fueron analizadas usando un modelo lineal simple, aplicando previamente una transformación arcoseno a la variable PE. Los resultados obtenidos en los modelos fueron sometidos a análisis de covarianza (ANCOVA), con test de Tukey (*librería agricolae*) para las

variables categóricas y test de múltiples comparaciones (librería *multcomp*) para las variables numéricas como pruebas *post hoc* ($\alpha < 0.05$). Finalmente, se aplicaron análisis de correlación entre parámetros reproductivos, entre la temperatura ambiental y el nivel de infestación, y entre la temperatura ambiental y los parámetros reproductivos por medio del test de correlación de Pearson con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Los resultados son presentados como la media \pm error estándar.

Resultados y discusión

Número de garrapatas

El análisis de covarianza de los datos mostró un efecto estadísticamente significativo del tiempo sobre el número de garrapatas en los bovinos ($p < 0.0001$). En la tabla 2.1 se puede observar el efecto de los diferentes factores sobre los parámetros evaluados. La prueba de múltiples comparaciones arrojó diferencias significativas del número de garrapatas en el día cero, respecto a las demás mediciones (Figura 2.2). Sin embargo, al observar dicha fluctuación entre los grupos, se evidenció una reducción similar entre éstos, lo que, apoyado en la ausencia de efecto estadístico del factor tratamiento ($p = 0.979$) sugiere que dichas fluctuaciones podrían obedecer más a la dinámica natural de las poblaciones de garrapatas en el sistema, que a los productos aplicados (Figura 2.2). Por otro lado, los valores promedio (\pm E.S) del número de garrapatas para cada grupo a lo largo del estudio, fueron de tan solo 10.2 ± 2.4 , 11.9 ± 2.4 , y 11.6 ± 2.4 para los grupos de vacuna, hongos y combinación, respectivamente (Figura 2.3), mostrando que el nivel general de infestación de los animales se mantuvo muy por debajo del umbral de daño económico estimado para la finca de 50 garrapatas por animal (Giraldo y Uribe, 2007), y del número mínimo de garrapatas recomendado para la evaluación de productos acaricidas (40 por animal) de acuerdo a la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología (Holdsworth et al., 2006), lo que aquí fue un factor limitante a la hora de poder detectar cualquier efecto de los tratamientos.

Tabla 2.1. Efecto de los diferentes factores sobre los parámetros evaluados (IC 95%)

Parámetro	n	Factor				
		Parto	Tratamiento	Tiempo	Temperatura	PHI
Número de garrapatas	341	0.6462	0.979	<0.001	0.0015	--
PHI	650	<0.001	0.0011	0.4367	0.0608	--

PMH	449	--	0.6683	0.0538	0.59101	<0.001
PE	209	--	0.8194	0.3403	<0.001	--

Códigos de significancia: 0 '***' $p < 0.001$ '**' $p < 0.01$ '*' $p < 0.05$.

PHI: peso hembra ingurgitada, PMH: peso masa de huevos, PE: porcentaje de eclosión

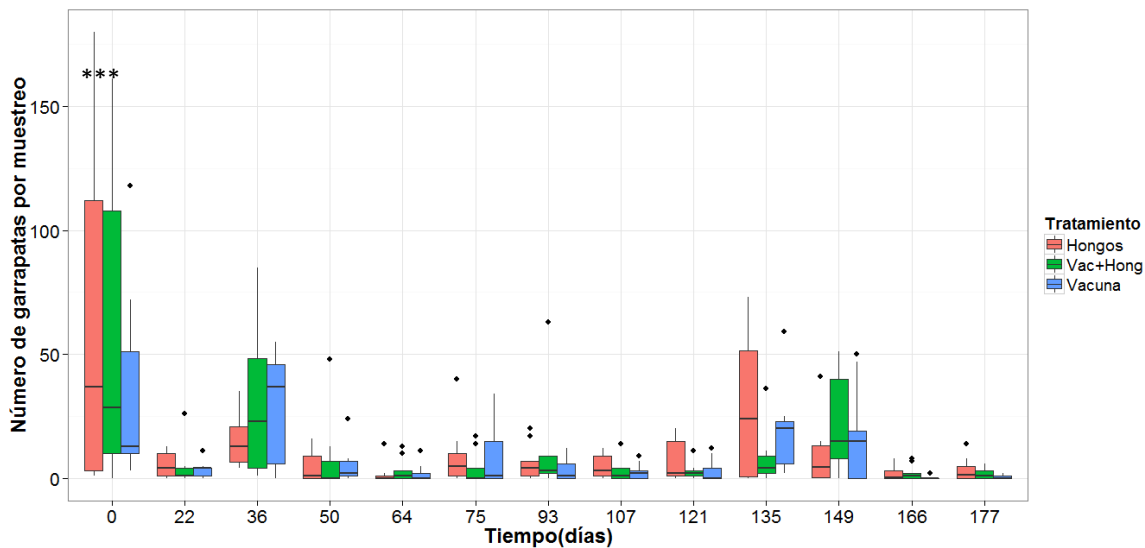


Figura.2.2. Número de garrapatas en cada grupo de animales tratados con la vacuna TickVac®, producto a base de hongos acaropatógenos (Bioplag®) y combinación de ambos en el transcurso de 6 meses (n=9 animales/grupo, 341 observaciones en total). Se observa como los niveles más altos de infestación fueron registrados en la medición previa a la aplicación de los productos para todos los grupos ($p < .0001$ “***”). Los puntos que se observan en la gráfica corresponden a los valores atípicos dentro de cada conjunto de datos.

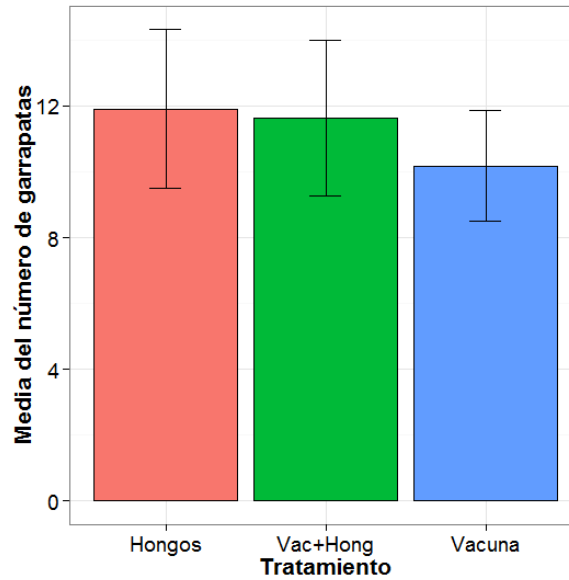


Figura 2.3. Promedio (\pm E.S) del número de garrapatas en bovinos tratados con vacuna TickVac®, suspensión de hongos acaropatógenos (Bioplag WP®), y combinación de ambos (n=9 animales/grupo, para un total de 341 observaciones) $p= 0.979$

Parámetros reproductivos

Para la variable PHI, se obtuvo un efecto significativo de los factores tratamiento ($p=0.0165$) y número de partos ($p=0.0009$). Como se logra apreciar en la figura 2.4, las garrapatas del grupo vacuna+hongos fueron significativamente más pesadas que las del grupo vacuna (151 ± 10.5 mg y 139.64 ± 10 mg respectivamente) y no difirieron del grupo tratado con hongos (148.91 ± 10.5). En la figura 2.5, se ilustra la diferencia entre los promedios del PHI según el número de partos de las vacas, donde se observa que las garrapatas obtenidas de vacas primíparas, fueron significativamente más pesadas (155.58 ± 11.82) que las obtenidas de vacas de segundo y tercer parto (140.74 ± 9.71 mg y 145.99 ± 8.93 mg respectivamente). A pesar de las diferencias señaladas por la estadística tanto para el factor tratamiento como número de partos, desde el punto de vista biológico, éstas podrían considerarse irrelevantes ya que los valores del PHI se encuentran dentro de los valores normales reportados para *R. microplus* por Wharton y Utech (1970), quienes observaron que el 80% de las garrapatas que se desprendían naturalmente del ganado, estaban en un rango de peso entre 125 y 200 mg.

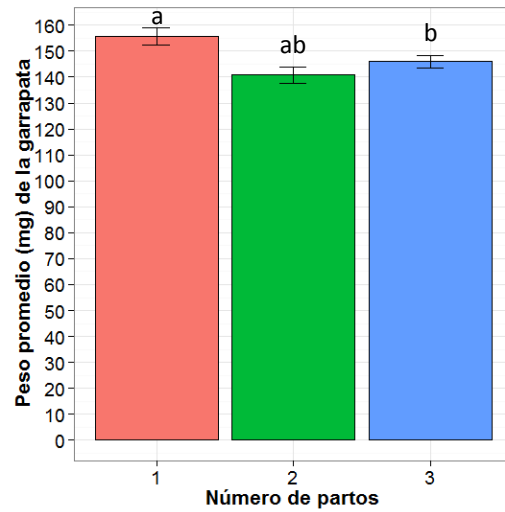
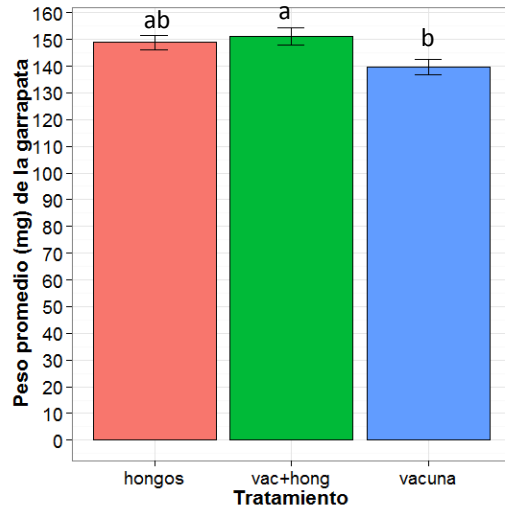


Figura 2.4. Medias (\pm EE) para la variable Peso (mg) de la hembra ingurgitada (PHI) de *Rhipicephalus microplus* obtenidas de bovinos tratados con hongos, vacuna y la combinación de ambos ($n=251$, $n=193$ y $n=206$ respectivamente). Barras con letras iguales no presentan diferencia estadística (Tukey test $p<0.05$).

Figura 2.5. Medias (\pm EE) para la variable Peso (mg) de la hembra ingurgitada (PHI) de *Rhipicephalus microplus* obtenidas de bovinos de primero, segundo y tercer parto ($n=173$, $n=210$ y $n=267$ respectivamente). Barras con letras iguales no presentan diferencia estadística (Tukey test $p<0.05$).

Se obtuvo un efecto significativo del tratamiento sobre el PMH (figura 2.6), efecto que se podría atribuir a la correlación directamente proporcional con el PHI ilustrada claramente en la figura 2.7 (Pearson $r=0.83$, $p<0.001$); esto sugiere que un efecto sobre la ingurgitación total de la garrapata implica una reducción en la postura y en consecuencia, en la densidad poblacional de individuos en fase de larva en el ambiente.

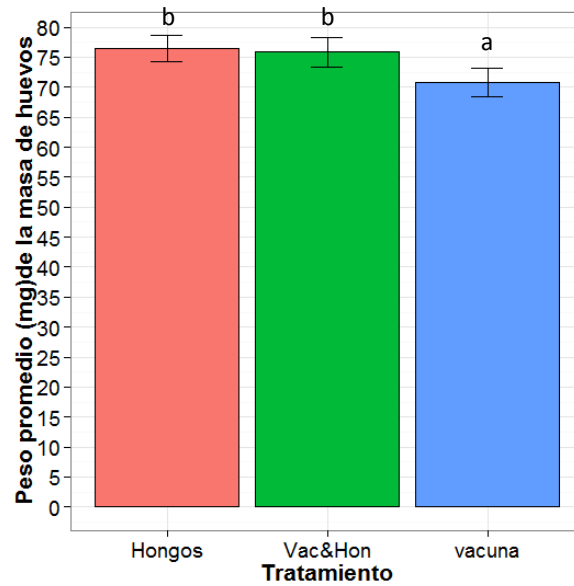


Figura 2.6. Medias (\pm EE) para la variable Peso (mg) de la masa de huevos (PMH) de *Rhipicephalus microplus* obtenidas de bovinos tratados con hongos, vacuna y la combinación de ambos (n=118, n=113 y n=148 respectivamente). Barras con letras iguales no presentan diferencia estadística (Tukey test $p < 0.05$).

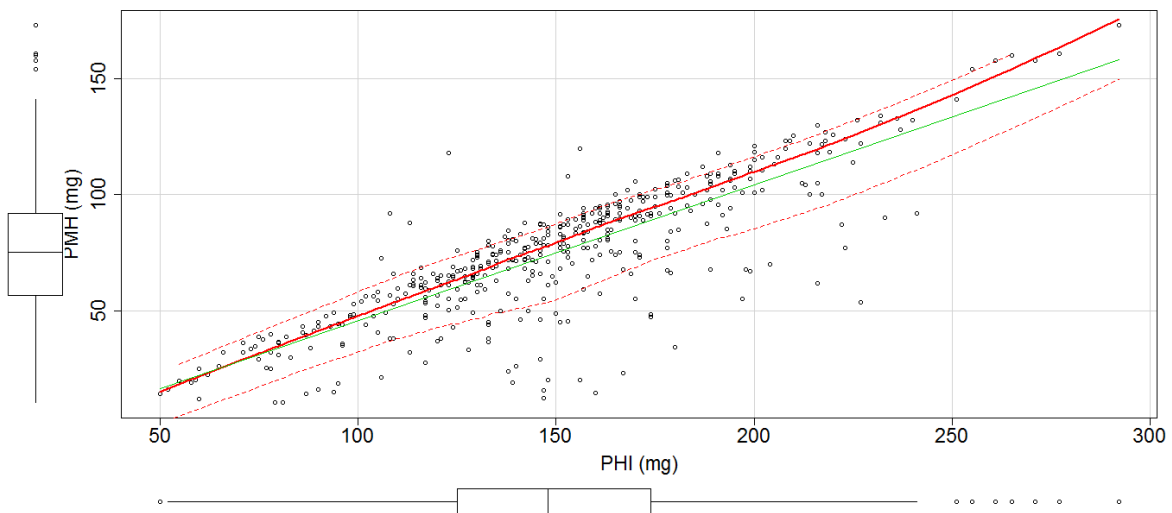


Figura 2.7. Correlación entre el peso de hembras ingurgitadas (PHI) y el peso de la masa de huevos (PMH) en mg. $r=0.83$, $p < 0.001$, total 449 observaciones.

No se observó efectos similares a los reportados para otras vacunas comerciales (Cunha et al., 2013; Andreotti et al., 2012; Canales et al., 2009), y para los hongos acaropatógenos (Alonso-Díaz et al., 2007; Camargo et al., 2014). Por lo general, la mayoría de antígenos vacunales estudiados, y que

han llegado a comercializarse, muestran eficacias de al menos un 50-80%, siendo el número de garrapatas ingurgitadas y la fertilidad de los huevos los principales parámetros de eficacia afectados (Cunha et al., 2013). El hecho de que aún no se haya obtenido una vacuna capaz de alcanzar una eficacia del 100% explica porque ésta sigue siendo un área de investigación muy activa. No obstante, y aunque existen vacunas multi-antigénicas que han mostrado eficacias entre el 35-60% por más de 3 meses (Parizi et al., 2012), se basan en combinaciones de proteínas recombinantes para las que se ha demostrado que existe una respuesta humoral específica. Para la vacuna aquí empleada, no existen estudios similares y la única información que está descrita por Betancourt et al., (2005) sobre los resultados obtenidos en las pruebas de establo evaluando la eficacia de TickVac® no ha podido ser corroborada por otros autores.

En lo que respecta a los hongos acaropatógenos, aunque existen numerosos estudios *in vitro* que demuestran la patogenicidad de *M. anisopliae* frente a garrapatas (Ojeda-Chi et al., 2011; Fernandes y Bittencourt, 2008; Frazzon et al., 2000), los estudios *in vivo* no han sido tan consistentes y por lo general han mostrado una gran variación, por lo que en las últimas investigaciones ha habido un mayor enfoque en adecuar las formulaciones de los productos ya comercializados para uso agrícola, con el objetivo de promover la adhesión de las conidias a la superficie del artrópodo y proteger su viabilidad en la piel del animal (Camargo et al., 2014). Otro aspecto esencial en la eficacia de los hongos se sabe que radica en alcanzar concentraciones cercanas a 1×10^8 conidias/mL de suspensión con alguna cepa patogénica; hecho demostrado tanto en estudios *in vitro* (Ojeda-Chi et al., 2010) como *in vivo* (Alonso-Díaz et al., 2007; Camargo et al., 2014). En varias pruebas de laboratorio en que se prepararon suspensiones del producto aquí empleado según las recomendaciones del fabricante, tan solo se lograron alcanzar concentraciones de 1×10^6 conidias/mL (Villar, comunicación personal). Dichas concentraciones de una cepa patogénica de *M. anisopliae* se han visto que son incapaces de alterar la capacidad reproductiva de garrapatas ingurgitadas, y sin embargo concentraciones de 1×10^7 y 1×10^8 si produjeron reducciones de hasta el 55% en la oviposición (Ojeda-Chi et al., 2010). De forma similar y específicamente respecto al número de garrapatas, Alonso-Díaz et al. (2007) observaron una reducción significativa de esta variable al aplicar una suspensión de *M. anisopliae* cepa Ma34, a una concentración de 1×10^8 conidias/mL. Ante la falta de estudios sobre el producto Bioplág WP® aquí empleado, estos resultados apuntan a que debería reevaluarse su formulación y hacer posteriores ensayos de eficacia, a ser posible en animales en estabulación y con infestaciones controladas, previo a intentar los ensayos en campo. La falta de información sobre la eficacia de productos comercializados en el

mercado colombiano como los aquí empleados es un aspecto que debería considerarse por las autoridades competentes antes de otorgar registros para venta legal.

Temperatura ambiental

La temperatura ambiental tuvo un efecto estadístico significativo sobre el número de garrapatas en los animales ($p=0.0015$) ya que en un rango comprendido entre 30.2°C y 30.6°C se registraron los mayores valores promedio de infestación (Figura 2.8). No obstante, estos valores en ningún momento superaron las 20 garrapatas ingurgitadas por animal, y como ya se ha mencionado en otras secciones de este documento, estos bajos niveles de infestación no permitirían llegar a conclusiones contundentes a pesar de la significancia estadística obtenida con el modelo. Afirmar a partir de los resultados aquí obtenidos, que las altas temperaturas ambientales favorecen un aumento en los niveles de infestación, sería desconocer la biología básica de las garrapatas que explica cómo la supervivencia de las formas de vida libre depende en gran medida de la saturación atmosférica de agua. Las altas tasas de evapotranspiración que se presentan como el resultado de las altas temperaturas, reducen la saturación de agua en el aire y por consiguiente, afectan la capacidad de las larvas de *R. microplus* para mantener un adecuado balance hídrico mientras se encuentran a la espera de un hospedero viable al que puedan parasitar (Sonenshine et al., 2002; Anderson y Magnarelli, 2008). En nuestro estudio, las bajas cargas parasitarias obtenidas (11.2 ± 1.3) durante el periodo de muestreo, podrían considerarse como una evidencia del efecto negativo de las altas temperaturas sobre las poblaciones de garrapatas, ya que solo una pequeña proporción de las larvas que llegan al hospedero, alcanzan la edad adulta. (Sonenshine et al., 2002).

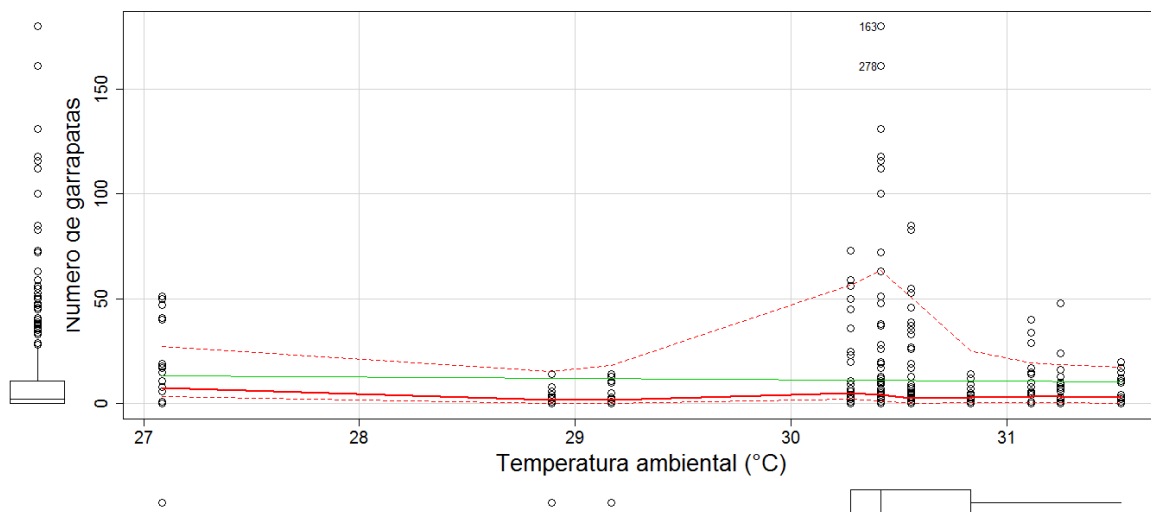


Figura 2.8. Efecto de la temperatura ambiental sobre el número de garrapatas registrado durante el

período de estudio. Se observa como la mayoría de los datos están agrupados entre los 30.2°C y 30.6°C (n=341 observaciones, p=0.0015)

La correlación negativa encontrada entre el porcentaje de eclosión y la temperatura ambiental ($r=-0.45$, $p<.0001$), sugiere una fuerte influencia del medio sobre el desempeño reproductivo de las garrapatas (Figura 2.9). Los resultados obtenidos por de la Vega et al. (2010) a partir de la exposición artificial de garrapatas adultas a diferentes temperaturas, soportan nuestros hallazgos, al coincidir en que por encima de los 30°C el desempeño reproductivo de *R. microplus* se ve afectado negativamente. De igual forma, Lysyk (2008) identifica una relación lineal entre el aumento de la temperatura ambiental y la de la piel de los bovinos e identifica cómo ésta última afecta el proceso de ingurgitación en garrapatas de la especie *Dermacentor andersoni*, posiblemente debido a la aceleración de sus procesos bioquímicos, lo que afecta su supervivencia y desempeño reproductivo posterior. Nuestros resultados con respecto al efecto de la temperatura sobre el PHI, aunque solo fueron una tendencia ($p= 0.0608$), también podrían explicarse a partir de los hallazgos de Lysyk (2008). No obstante, debido a que en el presente trabajo se tuvo un rango muy estrecho de variación en la temperatura (30.3 – 31.1°C), sería conveniente plantear nuevos estudios donde se manejen rangos más amplios que permitan dilucidar con mayor claridad dicha asociación y su aplicabilidad dentro de los programas de manejo integrado de garrapatas.

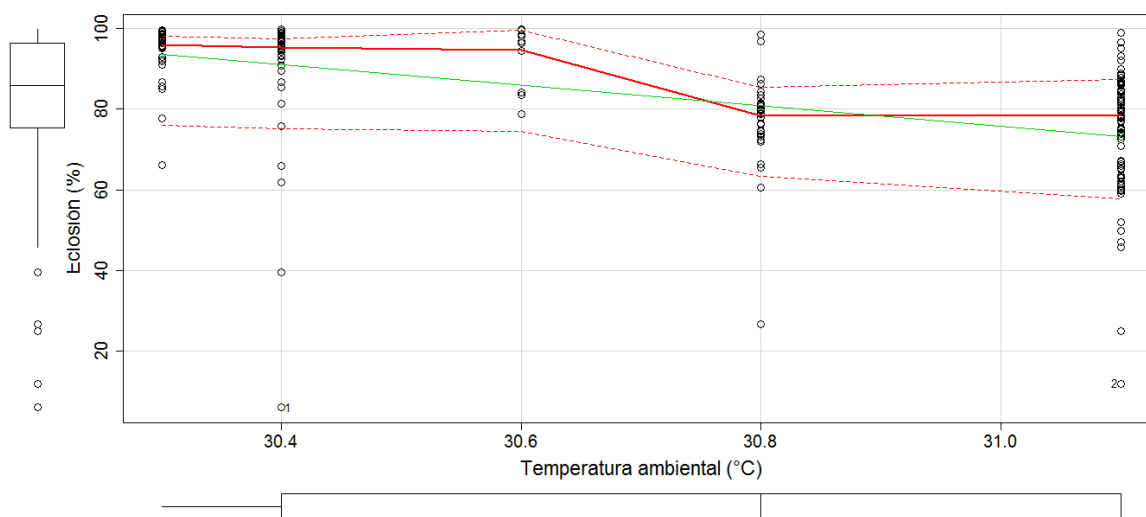


Figura 2.9. Distribución de los porcentajes de eclosión de acuerdo a la temperatura ambiental (°C) registrada al momento de recolección de las garrapatas. Se logra apreciar como la mayoría de observaciones con porcentajes de eclosión menores al 80%, se agrupan entre las mayores temperaturas registradas. $r=-0.45$, $p<.0001$ (n=209).

Conclusiones

El número de garrapatas estimado para los animales durante el periodo de estudio no difirió entre el momento previo a la aplicación de los productos y las mediciones posteriores, por lo que se considera que no se logró demostrar eficacia en ninguno de los dos productos evaluados y esto pudo deberse a: 1) las bajas cargas parasitarias durante el periodo de investigación y 2) la falta de eficacia en los dos productos ensayados. De acuerdo con los resultados reportados en la literatura, se esperaba detectar que la combinación de ambos tratamientos, vacuna y hongos, mostraran una reducción en la infestación y en los parámetros productivos con respecto a los dos grupos donde se aplicaron por separado. En los resultados aquí obtenidos, las variables evaluadas o se encontraron dentro de los parámetros normales para la especie o parecieron responder en mayor medida a las condiciones medioambientales predominantes al momento del estudio, lo que sugiere que los tratamientos no afectaron ni la supervivencia, ni la reproducción de las garrapatas. Sería necesario revisar la eficacia de ambos productos con pruebas de establo e infestaciones controladas, con miras a mejorar las formulaciones en caso de que estas no ejerzan ningún control, y así poder ofrecer productos que sean realmente útiles para el ganadero dentro de los programas de control de garrapatas. Por otro lado, la ausencia de datos de eficacia sobre productos veterinarios comercializados en Colombia para el control de las garrapatas, hace cuestionar todo el proceso de registro que se sigue para poder venderlos legalmente.

Literatura citada

- Alonso-Díaz M.A., García L., Galindo-Velasco E., Lezama-Gutierrez R., Angel-Sahagún C., Rodríguez-Vivas R.I., et al., 2007. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Vet Parasitol.* Jul 20; 147(3-4):336-40.
- Anderson J.F., Magnarelli L.A. 2008. Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am.* 22(2):195-215
- Andreotti R., Cunha R., Soares M., Guerrero F.D., Leite F.P., Perez de León A.A., 2012. Protective immunity against tick infestation in cattle vaccinated with recombinant trypsin inhibitor of *Rhipicephalus microplus*. *Vaccine* 30:6678-6685.
- Benavides E., 2009. Manejo integrado de los parásitos externos del ganado (I). *Cart Fedegan.* ;(I):1-3.

- Betancourt A, Patiño F, Torres O, Eugenio B (2005) Prueba de establo para evaluar la efectividad de la vacuna TickVac MK contra la garrapata *Boophilus microplus*. Revista ACOVEZ 34(3):18-25.
- Camargo M.G., Marciano A.F., Sá F., Perinotto W.M.S., Quinelato S., Gôlo P.S., et al., 2014. Commercial formulation of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* in a pen study. Vet Parasitol. Elsevier B.V.; Sep 15;205(1-2):271–6.
- Canales M., Almazan C., Naranjo V., Jongejan F., de la Fuente J., 2009. Vaccination with recombinant *Boophilus annulatus* Bm86 ortholog protein, Ba86, protects cattle against *B. annulatus* and *B. microplus* infestations. BMC Biotechnonology 9:29.
- Castro-Janer E., Martins J.R., Mendes M.C., Namindome A., Klafke G.M., Schumaker T.T.S., 2010. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. Vet Parasitol. Elsevier B.V.; Oct 29 ;173(3-4):300–6.
- Castro-Janer E., Rifran L., González P., Piaggio J., Gil A., Schumaker T.T.S., 2010. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by *in vitro* bioassays. Vet Parasitol. 2010 Apr 19;169(1-2):172–7.
- Cunha R., Andreotti R., Garcia M., Aguirre A., Leitao A., 2013. Calculation of the efficacy of vaccines against tick infestations on cattle. Rev. Bras Parasitol Vet. Jaboticabal 22(4):571-578.
- Cutullé C., Lovis L., D'Agostino B.I., Balbiani G.G., Morici G., Citroni D., et al., 2013. *In vitro* diagnosis of the first case of amitraz resistance in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. Vet Parasitol. Elsevier B.V.; Feb 18;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. Resistance management and integrated parasite control in ruminants: Guidelines. Module1. Ticks: Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention. pp. 25–77.
- Fernandes E.D. y Bittencourt E.V.R.P., 2008 Entomopathogenic fungi against South American tick species. Exp. Appl. Acarol. 46:71-93.
- Fernández-Salas A., Rodríguez-Vivas R.I., 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. Elsevier B.V.; 2012 Feb 10;183(3-4):338–42.
- Frazzon G.A.P., Vaz Jr. S.I., Masuda A., Schrank A., Vainstein H.M., 2000. *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* to control the cattle tick *Boophilus microplus*. Veterinary Parasitology 94:117-125.

- Giraldo C.; 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 p. 1–12.
- Holdsworth P.A., Kemp D., Green P., Peter R.J., DeBruin C., Jonsson N.N., Letonja T., Rehbein S., Vercruyse J., 2006. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks on ruminants. *Veterinary Parasitology* 136:29-43.
- Lysyk T.J., 2008. Effects of Ambient Temperature and Cattle Skin Temperature on Engorgement of *Dermacentor andersoni*. *J. Med. Entomol.* 45(6): 1000-1006
- Lovis L., Mendes M.C., Perret J.L., Martins J.R., Bouvier J., Betschart B., et al., 2013. Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. *Vet Parasitol. Elsevier B.V.*; Jan 31;191(3-4):323–31.
- Mendes M.C., Lima C.K.P., Nogueira a H.C., Yoshihara E., Chiebao D.P., Gabriel F.H.L., et al., 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. Elsevier B.V.*; Jun 10;178(3-4):383–8.
- Miller R.J., Almazán C., Ortiz-Estrada M., Davey R.B., George J.E., Pérez de León A., 2013. First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. *Vet Parasitol. Elsevier B.V.*; Jan 16;191(1-2):97–101
- Mondal D.B., Sarma K., 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.* Feb;4(1-2):1–10.
- Murgueitio E., Giraldo C., 2009. Sistemas silvopastoriles y el control de parásitos. Carta FEDEGAN ;1–3.
- Nari A. 2011. Towards sustainable parasite control practices in livestock production with emphasis in Latin America. *Vet Parasitol.* Aug 4;180(1-2):2–11.
- Ojeda-Chi M.M., Rodríguez-Vivas R.I., Galindo-Velasco E., 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. *Veterinary Parasitology* 170:348–354
- Ojeda-Chi M.M., Rodríguez-vivas R.I., Galindo-Velasco E., 2011. Control de *Rhipicephalus microplus*(Acari : Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales : Clavicipitaceae). *Revisión. Rev Mex Cienc Pecu*; 2(2):177–92

- Parizi L.F., Reck J., Oldiges D.P., Guizzo M.G., Seixas A., Logullo C., et al., 2012. Multi-antigenic vaccine against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a field evaluation. *Vaccine*; Nov 6;30(48):6912–7.
- Pérez-Cogollo L.C., Rodriguez-Vivas R.I., Ramirez-Cruz G.T., 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. Elsevier B.V.*; Aug 27;172(1-2):109–13
- Pohl P.C., Klafke G.M., Júnior J.R., Martins J.R., da Silva Vaz I., Masuda A., 2012. ABC transporters as a multidrug detoxification mechanism in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol Res. Dec*;111(6):2345–51.
- R Development Core Team, 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0
- Sonenshine D. E., Nicholson W.L., Lane R.S. 2002. Chapter 24: Ticks. *Medical and Veterinary Entomology*. Elsevier p. 517-558
- De la Vega R., Díaz G., Fonseca A.H., 2010. A multivariate analysis of *Boophilus microplus*(Acari:Ixodidae): non parasitic phase. *Rev. Salud Anim. Vol. 32 No. 2*: 89-96
- Wharton R.H. and Utech B.W., 1970. The relation between engorging and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. *J. Aust. Ent. Soc.* 9:171-182.

CAPITULO III

Relación entre el número de garrapatas y el volumen y calidad de la leche producida en ganado criollo colombiano Lucerna

Ana Carolina Moncada González^{1,2*}; Liliana María Mahecha Ledesma¹; Carolina Giraldo Echeverri²; David Villar Argai³; Jenny Jovanna Chaparro³ y Joaquín Angulo Areiza¹.

¹Grupo GRICA, Escuela de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia

²Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de producción Agropecuaria – CIPAV, Área de Restauración Ecológica, Cali - Colombia.

³Grupo Vericel, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia.

*Autor para correspondencia: acarolina.moncada@udea.edu.co

Resumen

Los efectos generados por las garrapatas sobre la productividad en hatos ganaderos incluyen reducción en el consumo de alimento, reducción en las ganancias de peso y reducción en el volumen de leche producida. El presente estudio buscó identificar cómo el número de garrapatas afecta la productividad en bovinos de raza criolla colombiana Lucerna, en términos del volumen de leche y su contenido de grasa y proteína en un sistema de lechería tropical bajo condiciones de bosque seco. Para tal fin, se seleccionaron 27 bovinos en producción, usando el método de muestreo por conveniencia, con base en el número de partos y los días en leche; posteriormente, se realizó un seguimiento quincenal del número de garrapatas >5mm, el volumen total de leche producido y el contenido de grasa y proteína en ésta, durante el periodo comprendido entre junio y diciembre de 2013. Los resultados sugieren la existencia de una correlación estadística positiva entre el número de garrapatas y el volumen de producción, y negativa entre el primero y el contenido de grasa y proteína en leche. Se concluye que las correlaciones estadísticas corresponden a la dinámica productiva normal en ganado lechero y que la ausencia de algún efecto negativo del número de

garrapatas sobre los parámetros evaluados, pudo estar influenciada por los bajos niveles de infestación presentados durante el período de estudio (7.1 ± 1.06 garrapatas por animal) como respuesta a una temporada predominantemente seca, y a la imposibilidad de establecer un grupo control real que estuviera libre de garrapatas en condiciones de pastoreo.

Palabras clave: grasa en leche, infestación natural, proteína en leche, umbral de daño económico

Abstract

The effects on productivity generated by ticks on livestock herds include the reduction of food consumption, reduction in weight gain, and reduction in volume of milk produced. The present study sought to identify how number of ticks affects the productivity of cattle of the Colombian Creole Lucerne breed in terms of volume of milk as well as milk fat and protein content in a tropical dairy in dry forest conditions. To this end, 27 dairy cattle in production were selected using the convenience method of sampling, based on number of births and days with milk; later, follow-up was done during a period between June and December of 2013 every 15 days to measure the number of ticks bigger than 5 milimeters, total volume of milk produced, and milk fat and protein content. Results suggest the existence of a positive statistical correlation between number of ticks and volume of milk produced and a negative correlation between the former and milk fat and protein content. It was concluded that the statistical correlations correspond to the normal productive dynamic in dairy cattle and the absence of any negative effect of number of ticks on the evaluated parameters, which could be influenced by low levels of infestation during the period of the study (7.1 ± 1.06 ticks per animal) due to the influence of a predominantly dry season and the impossibility of establishing a true control group that was free of ticks in grazing conditions.

Keywords: milkfat, natural infestation, milk protein, threshold of economic damage

Introducción

Las infestaciones por garrapatas representa uno de los principales factores que influye sobre la productividad en sistemas ganaderos en zonas tropicales, ya que están directamente asociadas a la reducción en el desempeño productivo y reproductivo de los animales, e indirectamente al aumento en los costos de producción y al riesgo de contaminación de los productos alimenticios para consumo humano. La garrapata implicada con mayor frecuencia en las infestaciones que ocurren en

bovinos en zonas tropicales corresponde a la especie *Rhipicephalus microplus* (Ixodidae), la cual se caracteriza por ser especie-específica de los bovinos y de algunos herbívoros mayores (Avendaño y Correa, 2001).

Al tratar de identificar los daños asociados a las infestaciones por *R. microplus*, se cree equivocadamente que estos solo se limitan a aquellos ocasionados por el consumo de sangre y la transmisión de agentes patógenos por la garrapata; técnicamente, se ha estimado que cada garrapata ingurgitada es responsable de la pérdida de aproximadamente 1ml de sangre en el animal (Riek, 1957). No obstante, esto solo logra explicar en un 35% las pérdidas en términos de ganancias de peso. En definitiva, es el efecto supresor del apetito generado por las infestaciones, el que explica el 65% de éstas pérdidas. (Seebeck et al., 1971); dicho Efecto, se da como el resultado de la alteración del flujo abomasal normal, la inmunosupresión y la alteración del metabolismo por la posible liberación de un compuesto hepatotóxico en la saliva de las garrapatas (Jonsson, 2006).

La importancia de conocer los efectos de la infestación por *R. microplus* sobre los diferentes parámetros productivos en ganadería, radica en la posibilidad de establecer un “umbral de daño económico”. Este concepto corresponde a un modelo matemático desarrollado por Sutherst et al. (1983) que permite estimar el número de garrapatas por debajo del cual la aplicación de productos acaricidas no es rentable.

A pesar de que éste modelo ha sido ampliamente aceptado y aún se encuentra vigente entre investigadores y productores, tiene como limitación que aparentemente fue diseñado para estimar un umbral tomando como base solo las ganancias de peso en bovinos, ya que como los mismos autores lo expresan en uno de sus artículos “El efecto de las garrapatas sobre la producción de leche aún no ha sido determinado, así que este análisis es solo para pérdidas en producción de carne” (Sutherst & Kerr, 1987). En 1998, Jonsson et al., intentan aplicar algunas de las ecuaciones propuestas por Sutherst et al., adaptando el coeficiente d (pérdidas en peso vivo por cada garrapata ingurgitada -g-), para obtener un coeficiente d_{MYD} (Milk Yield Damage) específico para producción de leche, el cual fue estimado en 8.9 ml para los animales en este estudio. En otras palabras, logran identificar que cada garrapata ingurgitada representó una pérdida de 8.9 ml de leche por día. A pesar de haber obtenido este valor, en dicha publicación no se encuentra información sobre la estimación de un umbral de daño económico, lo que sugeriría que no fue posible adaptar el modelo para vacas lecheras de alta producción en este estudio, y que por tanto, en la actualidad no se cuenta con un modelo confiable para establecer umbrales de daño económico en producción lechera.

A excepción del experimento realizado por Jonsson et al. (1998), no existe literatura reciente donde se evalué el efecto de las infestaciones por *R. microplus* sobre la productividad en ganado lechero y mucho menos donde se establezcan umbrales de daño económico para éstos. Solo se podría mencionar un estudio publicado por Young et al. (1998) donde se estiman umbrales de daño económico para ganancias de peso y producción de leche relacionados con la especie *Rhipicephalus appendiculatus* en Zambia, estimando a partir de información obtenida de fuentes secundarias un umbral de 12.3 garrapatas por animal específicamente en ganado lechero, y en ausencia del riesgo de transmisión de hemoparásitos. En términos generales, la mayoría de estudios que intentan definir un umbral de daño económico para las infestaciones por *R. microplus* son limitados para ganado de carne, lo que indica que aún es necesario desarrollar un modelo confiable que permita la estimación de estos umbrales en ganado lechero. En vista de la necesidad de generar nueva información en este campo del conocimiento, principalmente para condiciones tropicales, el presente estudio, buscó identificar el efecto del número de garrapatas en ganado naturalmente infestado de la raza criolla colombiana Lucerna, sobre el volumen de producción y contenido de grasa y proteína en la leche, en un sistema de lechería en trópico bajo.

Materiales y métodos

Lugar de estudio

El presente estudio se realizó en un sistema de lechería tropical en el municipio de Bugalagrande, Valle del Cauca – Colombia, ubicado a una altura de 960 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 25°C, una precipitación anual de 1110 mm y una humedad relativa entre 75-85%. En este sistema, los animales en producción permanecen en un área aproximada de 45 hectáreas, establecidas en sistemas silvopastoriles intensivos multiestrato con arreglos de pasto *Cynodon* sp., arbustos de *Leucaena leucocephala* y árboles de *Prosopis juliflora*, *Gliricidia sepium*, *Guazuma ulmifolia* y *Leucaena leucocephala* a libre crecimiento. Se realiza manejo de pasturas por medio de rotaciones en franjas con períodos de descanso entre 45-50 días y con una capacidad de carga aproximada de 3.5 animales por hectárea.

Toma de datos

Los animales bajo estudio correspondían a 27 hembras bovinas de la raza criolla colombiana Lucerna, seleccionadas mediante muestreo por conveniencia bajo los siguientes criterios: 1)

animales entre uno y tres partos, y 2) animales que se encontraban en el primer tercio de lactancia. Estos animales eran tratados con la vacuna Tick Vac® (Teqnoquímicas S.A.) y baños con suspensiones de hongos acaropatógenos Bioplág WP® (Bioprotección S.A.S.) para el control de las garrapatas. Quincenalmente, se estimó el número total de garrapatas semiingurgitadas (>5mm) sobre toda la superficie del animal, realizando conteos entre las 5:00 y las 7:00 horas (Wharton y Utech, 1970); el volumen de leche producido fue registrado de forma independiente, haciendo uso de un dispositivo medidor conectado al equipo de ordeño mecánico (DeLaval®).

Posteriormente se tomaron muestras para cada animal, de aproximadamente 100 ml de leche y se transportaron al laboratorio de calidad de leche de la Universidad de Antioquia, procurando mantener la cadena de frío (4°C), y se determinó su contenido de grasa y proteína por medio de la tecnología MilkoScan™ (Foss Inc.). No fue posible contar con un grupo control sin aplicación de acaricidas, ya que esta fue una de las condiciones establecidas por los propietarios para permitir el acceso al predio y la manipulación de los animales. Los datos de temperatura ambiental fueron obtenidos a partir de la base de datos online de AccuWeather™ (AccuWeather Inc.) y los registros de precipitación fueron colectados directamente en la finca, calculando un promedio a partir de 4 pluviómetros ubicados en zonas estratégicas dentro del predio.

Aspectos éticos

Análisis estadísticos

Se corrigió la heterogeneidad de varianzas y se eliminaron los valores en cero aplicando una transformación $\sqrt{y + 1}$, a la variable número de garrapatas. Éste y los demás datos obtenidos fueron analizados por medio del paquete estadístico “R” (R Development Core Team, 2008) usando un modelo mixto de medidas repetidas en el tiempo (librería *lme4*) seleccionado por medio de la función *step*, tomando a la vaca como efecto aleatorio ($p < 0.001$) y al tiempo de muestreo como efecto fijo ($p < 0.001$). A los parámetros obtenidos se les aplicó análisis de covarianza (ANCOVA), y se realizaron múltiples comparaciones usando la técnica de mínimos cuadrados medios (librería *lsmeans*) para las variables numéricas como prueba *post hoc*. Se aplicó el test de correlación de Spearman para identificar posibles asociaciones entre el número de garrapatas y el volumen de producción de leche; el número de garrapatas y el contenido de grasa y proteína en la leche, y el

volumen de leche y su contenido de grasa y proteína ($p < 0.05$). Los resultados se presentan como la media \pm el error estándar.

Resultados y discusión

El modelo arrojó un efecto del tiempo sobre el volumen de leche producido, y del tiempo y del volumen de leche sobre el contenido de grasa y proteína (figura 3.1). Este efecto, sería explicado por la relación inversa definida dentro del patrón normal de lactancia en bovinos, donde a medida que ésta avanza en el tiempo, disminuye el volumen de leche producido y a su vez ocurre un aumento relativo del contenido de sólidos en la misma (Calvache y Navas, 2012).

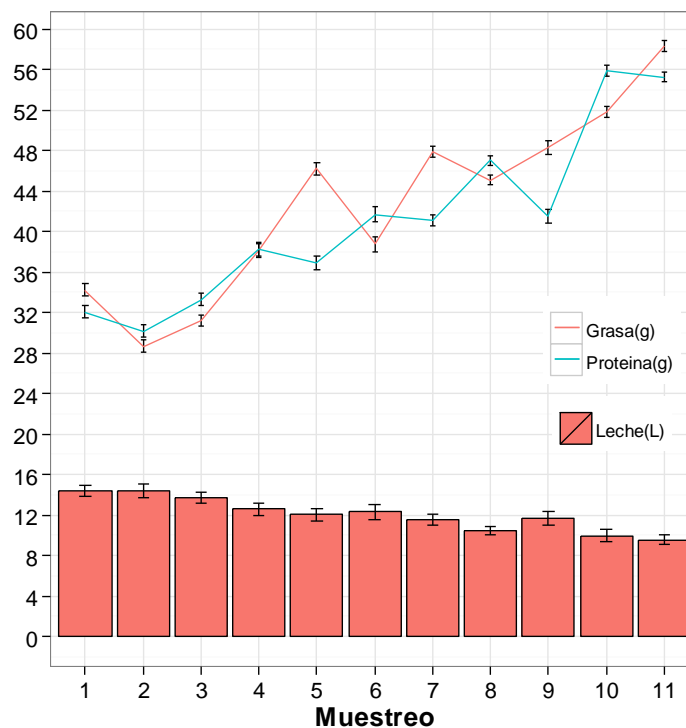


Figura 3.1. Gráfico comparativo del nivel de producción de leche en litros (barras), respecto a su contenido de grasa y proteína en gramos (líneas) durante el periodo de observación. Total observaciones= 238

Se obtuvo un coeficiente de correlación positivo entre el número de garrapatas y el volumen de producción de leche ($\rho = 0.25$, $p < .0001$) al aplicar el test de Spearman, resultados que concuerdan con los reportados por Barbosa da Silva et al., (2013), quienes hallaron que las vacas de mayor producción eran las más parasitadas. Al parecer, condiciones como el estrés de la gestación y los cambios hormonales asociados a esta, así como los altos requerimientos energéticos de los animales

en producción, generarían en éstos una mayor susceptibilidad frente a las infestaciones por garrapatas.

A pesar de la alta significancia estadística obtenida en las correlaciones entre el número de garrapatas y el contenido de proteína ($\rho=-0.30$, $p<0.0001$) y grasa ($\rho=-0.26$, $p<0.0001$), la existencia de un coeficiente de Pearson mayor entre el volumen de leche producido y el contenido de éstos sólidos ($r=-0.6$ y $r=-0.8$ para grasa y proteína respectivamente, $p<0.0001$), soporta de forma más robusta esta asociación; en este sentido, la correlación positiva entre infestación y producción expuesta anteriormente, soportaría la existencia de una correlación negativa entre el número de garrapatas y el contenido de sólidos.

La ausencia de efecto del número de garrapatas sobre las variables productivas evaluadas con el modelo, podría relacionarse con los bajos niveles de infestación presentados por los animales durante el periodo de estudio (figura 3.2), en los cuales, los valores promedio obtenidos para cada muestreo nunca superaron las 50 garrapatas por animal, valor establecido como umbral de daño económico para este sistema productivo en particular (Giraldo y Uribe, 2007). En los estudios que intentan estimar el impacto productivo de las garrapatas por medio de infestaciones naturales, los bajos niveles de infestación registrados son considerados como un error común en su diseño, ya que no se puede controlar el número de garrapatas adultas en los animales y aparentemente, las altas infestaciones (entre 100 y 1000 garrapatas/animal) obtenidas en los ensayos controlados, muy rara vez se obtienen bajo condiciones naturales (Jonsson, 2006). Esta situación, limita la comprensión de los diferentes efectos que se pueden generar en el organismo animal, y aún más la posibilidad de estimar un umbral de daño económico. A lo anterior se suma la dificultad de contar con un grupo control verdadero totalmente libre de garrapatas, otro error de diseño común, principalmente en los estudios con animales en pastoreo, ya que mantener animales bajo las mismas condiciones medioambientales y de oferta de alimento, evitando que compartan el mismo espacio, posee un alto grado de dificultad (Jonsson, 2006). La imposibilidad de contar con un grupo control, también fue una limitante a la hora de intentar establecer el umbral de daño económico para la finca, ya que para la estimación del coeficiente d (perdidas atribuibles a cada garrapata ingurgitada), es necesario establecer las diferencias en producción entre animales infestados y no infestados (Jonsson et al., 1998). En este estudio, no fue posible establecer dicha diferencia, debido a que los propietarios de los animales no admitieron tener animales en producción sin ningún tratamiento acaricida.

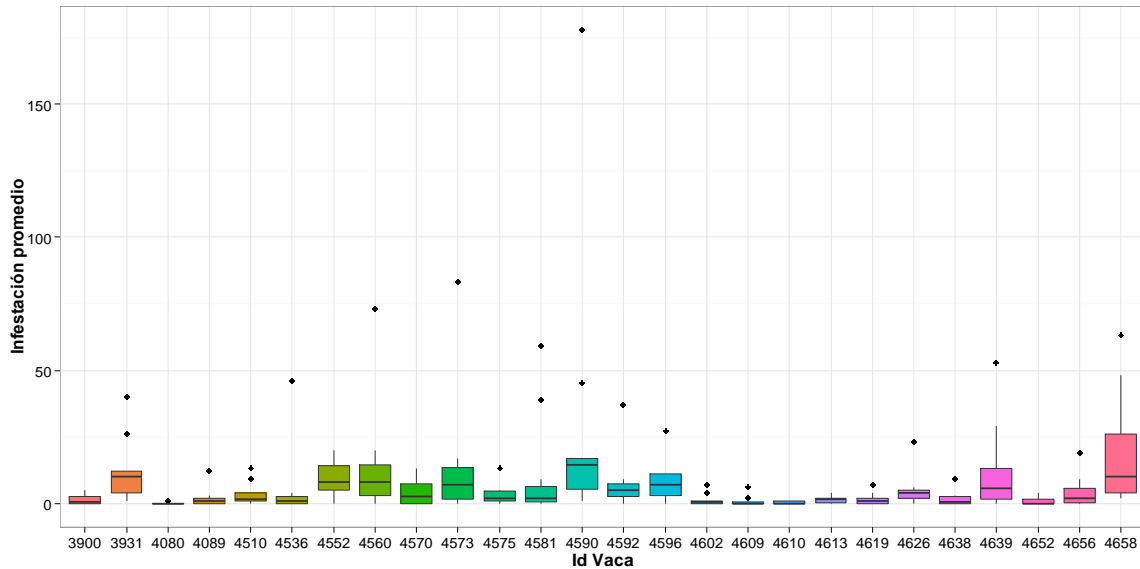


Figura 3.2. Distribución del número de garrapatas para cada animal durante el periodo de estudio. Se aprecia como la mayoría de los datos de conteo se concentran por debajo de 50 garrapatas por animal. Total observaciones= 341

Los bajos niveles de infestación registrados podrían explicarse por la baja precipitación y las altas temperaturas experimentadas durante el periodo de estudio, que dan evidencia de un clima marcadamente seco. En promedio, solo se registraron lluvias dos días por mes durante el periodo de observación, y la precipitación total durante éste fue de tan solo 362 mm; en cuanto a la temperatura ambiental, ésta presentó un valor promedio de 30.5°C con una variación de tan solo $\pm 0.7^\circ\text{C}$. Un ambiente seco reduce la probabilidad de las larvas para alcanzar un hospedero viable, debido a que esta condición limita su supervivencia en las pasturas por el alto riesgo de deshidratación al que están expuestas, ya que en esta fase del ciclo, el mantenimiento de su balance hídrico se fundamenta en su capacidad para capturar las partículas de agua contenidas en el aire saturado de humedad (Sonenshine et al., 2002; Anderson y Magnarelli, 2008).

En este estudio no se obtuvo evidencia de algún efecto negativo del número de garrapatas sobre los parámetros productivos evaluados, probablemente como consecuencia de los bajos niveles de infestación presentados por los animales durante el periodo de estudio y la imposibilidad de tener un grupo control en pastoreo. No obstante, y aun teniendo en cuenta las limitaciones de los estudios en campo, es importante insistir en la búsqueda de nuevas metodologías que permitan identificar los efectos causados por las garrapatas en condiciones productivas reales y ajustadas a los sistemas ganaderos tropicales, ya que la información obtenida a partir de infestaciones artificiales y en estabulación no logra estimarlos de forma confiable debido, entre muchos otros factores, a: 1) su

tendencia a sobreestimar el efecto del número de garrapatas, ya que los animales son expuestos a altos niveles de infestación que en condiciones naturales es muy poco probable que alcancen (Jonsson, 2006); y 2) ignoran el efecto de las hormonas del estrés sobre la productividad, ya que en la necesidad de asegurar unos niveles de infestación específicos para cada animal, se impide que éstos sean alojados en grupo, con una alta probabilidad de estresarlos en respuesta a su naturaleza gregaria. Finalmente, se identifica la ausencia de un modelo confiable para establecer umbrales de daño económico en ganado lechero, y en consecuencia, la necesidad de generar unos nuevos que permitan obtener esta información para ser implementada dentro de los programas de manejo integrado de garrapatas, en la búsqueda de una aplicación estratégica de los métodos de control con base en este umbral, evitando así cualquier riesgo de desarrollo de resistencia.

Literatura citada

- Anderson J.F., Magnarelli L.A. 2008. Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am.* 22(2):195-215
- Avendaño-Reyes L., Correa-Calderon A. 2002. Parasites, External : Tick Infestations. *Encyclopedia of Dairy Sciences Elsevier Ltd.* p. 253-257.
- Barbosa da Silva J., Passos Rangel C., de Azevedo Baêta B., da Fonseca A.H., 2013. Influence of the physiological state on infestation by *Rhipicephalus microplus* in dairy cows. *Ticks and Tick-borne Diseases* 4; 52–56
- Giraldo C., 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 p. 1–12.
- Jonsson N.N. 2006. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Veterinary Parasitology* 137:1–10
- Jonsson N.N., Mayer D.G., Matschoss A.L., Green P.E., Ansell J. 1998. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. *Veterinary Parasitology* 78: 65-77
- Navas A., Calvache I. 2012. Factores que influyen en la composición nutricional de la leche. *rev. cienc. anim.* 5: 73-85
- R Development Core Team, 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0
- Riek R.F., 1957. Studies on the reactions of animals to infestation with ticks: I. Tick anaemia. *Aust. J. Agric. Res.* 8, 209–214.

- Seebeck R.M., Springell P.H., O'Kelly J.C., 1971. Alterations in host metabolism by the specific and anorectic effects of the cattle tick (*Boophilus microplus*): I. Food intake and body weight growth. *Aust. J. Biol. Sci.* 24, 373–380
- Sonenshine D.E., Nicholson W.L., Lane R.S. 2002. Chapter 24: Ticks. *Medical and Veterinary Entomology*. Elsevier p. 517-558
- Sutherst R.W., Maywald G.F., Kerr J.D., Stegeman D.A., 1983. The effect of cattle tick (*Boophilus microplus*) on the growth of *Bos indicus* x *Bos taurus* steers. *Aust. J. Agri. Res.* 34, 317±327.
- Sutherst RW; Kerr, JD. 1987. Losses in livestock productivity caused by ticks and tick-borne diseases. In the Conference: Ticks and Tick-Borne Diseases. Proceedings of an international workshop. ACIAR Proc. No 17: 108-112
- Warthon R.H. and Utech B.W., 1970. The relation between engorging and dropping of *Boophilus microplus*(Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. *J. Aust. Ent. Soc.* 9:171-182.
- Young D.L., Haantuba, H.H. 1998. An Economic Threshold for Tick Control Considering Multiple Damages and Probability-Based Damage Functions. *Journal of Agricultural and Resource Economics* 23(2):483-493

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En términos generales, los resultados obtenidos en éste estudio respecto a niveles de infestación, desempeño reproductivo en garrapatas y producción en vacas lecheras, indican que las hipótesis planteadas al inicio de la investigación deben ser rechazadas. No obstante, se considera que dichos resultados no brindaron elementos suficientes para sacar conclusiones contundentes ni sobre la efectividad de vacunas y hongos acaropatógenos dentro de los programas de control de garrapatas, ni sobre el impacto económico de las infestaciones en sistema de lechería tropical, y esto fue debido a 1) los bajos niveles de infestación obtenidos durante el periodo de estudio, 2) la ausencia de un grupo control verdadero completamente libre de garrapatas y 3) la falta de eficacia de los tratamientos aplicados.

En respuesta a estas limitaciones, sería conveniente proponer nuevos estudios con una mayor duración en el tiempo, que logren abarcar tanto épocas secas como de lluvias, para eliminar el ruido generado por las condiciones de temperatura ambiental y precipitación sobre los resultados. Por otro lado, se propone realizar nuevos ensayos con los productos aquí aplicados que se desarrollen en diferentes fases, iniciando con ensayos *in vitro*, seguidos de pruebas de establo con infestaciones controladas, y por último, ensayos con animales en pastoreo. Es importante insistir en la revisión de las formulaciones, sobre todo para el producto Bioplag WP®, ya que al intentar validar la concentración de esporas en la solución obtenida, siguiendo las recomendaciones del fabricante para la aplicación, se encontró que estaba muy por debajo de la indicada en el empaque (se estimó una concentración de 1×10^6 esporas/ml, vs 1×10^{10} esporas/ml indicada en el empaque). Posteriormente, al intentar validar la presencia de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el mismo producto, se obtuvo el crecimiento por cultivo microbiológico, en agar Sabouraud (figura 4.1) de colonias que no lograron ser identificadas visualmente por el personal del laboratorio, y cuya morfología no se correspondía ni con *M. anisopliae* ni con *B. bassiana*. Subsecuentemente, una muestra del producto fue enviada al laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Iowa State University, donde a partir de la técnica MALDI-TOF, se reportó el aislamiento de la bacteria *Bacillus subtilis*, y de un hongo que no pudo ser identificado. Es importante aclarar que a pesar de la evidencia aquí presentada, no se puede afirmar abiertamente que el producto no contiene los hongos mencionados; más importante es comprender a partir de esta experiencia, la importancia de evaluar la viabilidad de las suspensiones que contengan organismos vivos, previo a la realización de

ensayos con estas, evitando así el ruido que esto puede generar sobre los resultados de una investigación.



Figura 4.1. Crecimiento de colonias no identificadas a partir del cultivo de BIOPLAG WP® en agar Sabouraud. Laboratorio de Microbiología Veterinaria, Universidad de Antioquia.

A pesar de la ausencia de efecto de los tratamientos sobre todos los parámetros aquí evaluados, vale la pena resaltar la existencia de un importante número de publicaciones dónde sí se obtuvieron resultados alentadores respecto a la efectividad tanto de vacunas como de hongos; por tanto, es necesario no desmotivarse, y seguir en la búsqueda de antígenos que confieran a los animales mejores niveles de protección, y de formulaciones que garanticen una mayor protección de los hongos frente a las condiciones medioambientales cuando son aplicados en suspensión. Es conveniente promover el desarrollo de investigaciones sobre estos temas, principalmente en países tropicales, donde las garrapatas abundan como consecuencia de un medio ambiente óptimo para su reproducción y supervivencia y donde una gran variedad de condiciones ambientales, y culturales pueden influir sobre los resultados obtenidos a partir de la aplicación de vacunas y hongos.

En cuanto a los umbrales de daño económico, tomando como base la información revisada en este estudio, se concluyó que no existe un modelo matemático adecuado que permita estimar los umbrales de daño económico por garrapatas en ganado lechero, lo que genera grandes posibilidades en investigación de alta pertinencia para desarrollar dichos modelos, ya que, para el control estratégico propuesto dentro de los programas de manejo integrado de garrapatas se deben establecer estos umbrales; llama la atención, como existe un desconocimiento general sobre el

concepto de umbral, y aun así, es un término ampliamente utilizado entre profesionales del sector y productores. No obstante, los modelos diseñados para ganado de carne son robustos y fáciles de aplicar inclusive por los mismos productores, la estimación de umbrales, tanto en ganado de leche como de carne, ha sido realizada de forma arbitraria, partiendo de criterios subjetivos para determinar qué tan altos o bajos pueden ser los niveles de infestación en los animales, sin realizar una estimación precisa sin tomarse el trabajo del número de garrapatas estándar sobre éstos. Una limitación que podría encontrarse en la construcción de estos modelos sería la necesidad de comparar parámetros productivos entre animales infestados y no infestados, condición muy difícil de alcanzar si se va a trabajar con animales en pastoreo, razón por la cual los nuevos modelos deben ser pensados, no solo tratando de adaptar los que ya han sido implementados, sino buscando nuevas metodologías que permitan estimar los parámetros necesarios para aplicar en el modelo, o por qué no, construir modelos nuevos que hagan uso de parámetros diferentes. También es importante resaltar que los modelos anteriores asumen una relación lineal entre número de garrapatas y nivel de producción, la cual fue establecida a partir de observaciones en animales estabulados. Esta relación tendría que ser confirmada en animales en pastoreo, razón que confirma aún más la necesidad de desarrollar éstos nuevos modelos.

LITERATURA CONSULTADA

- 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.; 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.; 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.; 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-Gutierrez R.; Angel-Sahagún C.A.; Rodríguez-Vivas R.I.; 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. Vet Parasitol. 147(3-4):336–40.
- Alonso-Díaz M.A.; Rodríguez-Vivas R.I.; Fragoso-Sánchez H.; Rosario-Cruz R. 2006. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch Med Vet. 38(2):105–13.
- Anderson J.F., 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.; 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.
- Avendaño-Reyes L.; Correa-Calderon A. 2002. Parasites, External: Tick Infestations. Fuquay, J.W.; Fox, P.F.; McSweeney, P.L.H. (Eds.) Diseases of Dairy Animals. Elsevier Ltd. Páginas 253-257
- Barbosa da Silva J., Passos Rangel C., de Azevedo Baêta B., da Fonseca A.H., 2013. Influence of the physiological state on infestation by *Rhipicephalus microplus* in dairy cows. Ticks and Tick-borne Diseases 4; 52–56
- Benavides E., 2009. Manejo integrado de los parásitos externos del ganado (I). Cart Fedegan. (I):1–3.
- Benavides E.; Rodríguez J.L.; 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.

- Betancourt A., Patiño F., Torres O., Eugenio B. 2005. Prueba de establo para evaluar la efectividad de la vacuna TickVac MK contra la garrapata *Boophilus microplus*. Revista ACOVEZ 34(3):18-25.
- Betancourt J. 1993. Susceptibilidad de Varias Cepas de *Boophilus microplus* a Diferentes Compuestos Acaricidas. URL:<http://201.234.78.28:8080/jspui/handle/123456789/4010> [acceso: Junio 17 del 2013]
- Beys da Silva W.O.; Santi L.; Schrank A.; 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.; Gôlo P.; Angelo I.; Perinotto W.M.S.; Sá F.A.; Quinelato S.A.; 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.
- Camargo M.G.; Marciano A.F.; Sá F.A.; Perinotto W.M.S.; Quinelato S.; Gôlo P.S.; Angelo I.C.; Prata M.C.A.; 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.
- Canales M.; Almazán C.; Naranjo V.; Jongejan F.; 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., Schumaker T.T.S., 2010. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. Vet Parasitol. Elsevier B.V.; Oct 29 ;173(3-4):300–6.
- Castro-Janer E., Rifran L., González P., Piaggio J., Gil A., Schumaker T.T.S., 2010. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by *in vitro* bioassays. Vet Parasitol. 2010 Apr 19;169(1-2):172–7.
- Castro-Janer E.; Rifran L.; González P.; Piaggio J.; Gil, A. 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., Andreotti R., Garcia M., Aguirre A., Leitao A., 2013. Calculation of the efficacy of vaccines against tick infestations on cattle. Rev. Bras Parasitol Vet. Jaboticabal 22(4):571-578.
- Cunha R.; Pérez de León A.; Leivas F.; Da Silva L.; dos Santos A.; Andreotti R. 2012. Bovine immunoprotection against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with recombinant Bm86-Campo Grande antigen. Rev Bras Parasitol Vet, Jaboticabal. 21(3):254–62.

- Cutullé C., Lovis L., D'Agostino B.I., Balbiani G.G., Morici G., Citroni D., et al., 2013. *In vitro* diagnosis of the first case of amitraz resistance in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. *Vet Parasitol.* Elsevier B.V.; Feb 18;192(1-3):296–300.
- De la Vega R., Díaz G., Fonseca A.H., 2010. A multivariate analysis of *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae): non parasitic phase. *Rev. Salud Anim.* Vol. 32 No. 2: 89-96
- 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. Resistance management and integrated parasite control in ruminants: Guidelines. Module1. Ticks: Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention. pp. 25–77.
- FAO 2009. La larga sombra del Ganado: problemas ambientales y opciones. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 464 p.
- FAO 2014. Towards Sustainable Livestock. Global Agenda for Sustainable Livestock. Discusión paper. URL: http://www.livestockdialogue.org/fileadmin/templates/res_livestock/docs/2014_Colombia/2014_Towards_Sustainable_Livestock-dec.pdf [Access: October 16 of 2015]
- FEDEGAN. Plan estratégico de la ganadería colombiana al año 2019. Editorial Sanmartín Obregon & Cia. Bogotá D. C. 2006 p. 296.
- Fernandes E.D. y Bittencourt E.V.R.P., 2008 Entomopathogenic fungi against South American tick species. *Exp. Appl. Acarol.* 46:71-93.
- Fernandes É.K.K.; Bittencourt V.R.E.P.; Roberts D.W. 2012. Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Exp Parasitol.* 130(3):300–5.
- Fernandez-Ruvalcaba M.; Preciado-De-La Torre F.; Cruz-Vazquez C. Garcia-Vazquez Z. 2004 Anti-tick 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., 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.* Elsevier B.V.; 2012 Feb 10;183(3-4):338–42.
- Frazzon G.A.P., Vaz Jr. S.I., Masuda A., Schrank A., Vainstein H.M., 2000. *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology* 94:117-125.
- Giraldo C., 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 p. 1–12.
- Grandin T. 2014. Animal welfare and society concerns finding the missing link. *Meat Science* 98:461–469

- Guerrero F.D.; Lovis L.; Martins J.R. 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Brazilian J Vet Parasitol. 21(1):1–6.
- Guerrero F.D.; Miller R.J.; Pérez de León A. 2012. Cattle tick vaccines: many candidate antigens, but will a commercially viable product emerge? Int J Parasitol. 42(5):421–7.
- Hoddle M.S.; Driesche R.G.V. 2009. Biological Control of Insect Pests. Resh, V.H. y Cardé, R.T (Eds.) Encyclopedia of Insects. Second Edition. Elsevier Inc. 2009 p. 91-101
- Holdsworth P.A., Kemp D., Green P., Peter R.J., DeBruin C., Jonsson N.N., Letonja T., Rehbein S., Vercruyssen J., 2006. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks on ruminants. Veterinary Parasitology 136:29-43.
- Iowa State University. 2007. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Factsheet. URL: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/Boophilus_microplus.pdf. [Acceso: Mayo 26 de 2015].
- Jonsson N.N. 2006. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. Veterinary Parasitology 137:1–10
- Jonsson N.N.; Cutullè C.; Corley S.W.; 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.
- Jonsson N.N., Mayer D.G., Matschoss A.L., Green P.E., Ansell J. 1998. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. Veterinary Parasitology 78: 65-77
- Khan S.; Guo L.; Maimaiti Y.; Mijit M.; 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.; Mangamoorib L.N.; 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.; 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.
- Leemon D.M.; 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.; Jonsson N.N. 2012. Comparison of bioassay responses to the potential fungal biopesticide *Metarhizium anisopliae* in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Lucilia cuprina*. *Veterinary parasitology*. 185:236-247
- López A.; Villar D.; Chaparro J.; Miller R.; Perez de León A.A. 2015. Reduced efficacy of commercial acaricides against populations of resistant cattle tick *Rhipicephalus microplus* from two municipalities of Antioquia, Colombia. *Environmental 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., et al., 2013. Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. *Vet Parasitol. Elsevier B.V.*; Jan 31;191(3-4):323–31.
- Lovis L.; Guerrero F.D.; Miller R.J.; Bodine D.M.; Betschart B.; 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.; Stanisquaski F.; Carlini C.R.; Schrank A.; 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.
- Lysyk T.J., 2008. Effects of Ambient Temperature and Cattle Skin Temperature on Engorgement of *Dermacentor andersoni*. *J. Med. Entomol*. 45(6): 1000-1006
- Mahecha L.M., Gallego L.A., Peláez F.J. 2002. Situación actual de la ganadería de carne en Colombia y alternativas para impulsar su competitividad y sostenibilidad. *Rev Col Cienc Pec Vol*. 15: 2
- Mendes M.C., Lima C.K.P., Nogueira a H.C., Yoshihara E., Chiebao D.P., Gabriel F.H.L., et al., 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. Elsevier B.V.*; Jun 10;178(3-4):383–8.
- Miller R.J., Almazán C., Ortiz-Estrada M., Davey R.B., George J.E., Pérez de León A., 2013. First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. *Vet Parasitol. Elsevier B.V.*; Jan 16;191(1-2):97–101
- Mondal D.B., Sarma K., 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*. Feb;4(1-2):1–10.
- Murgueitio E., 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.; Kimondo M.G. 1995. Repellence of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* by the grass *Melinis minutiflora*. Trop Anim Health Prod. 27:211–216.
- Nari A., 2011. Towards sustainable parasite control practices in livestock production with emphasis in Latin America. Vet Parasitol. Aug 4;180(1-2):2–11.
- Narváez J.F.; Palacio J.A.; Molina F.J. 2012. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: una revisión de los procesos de degradación natural. Revista gestión y Ambiente. 15(3): 27-38
- Navas, A., Calvache I. 2012. Factores que influyen en la composición nutricional de la leche. rev. cienc. anim. 5: 73-85
- Nuttall, P. A.; Trimmell, 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., 2011. Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Revisión. Rev Mex Cienc Pecu; 2(2):177–92
- Ojeda-Chi M.M., Rodríguez-Vivas R.I., Galindo-Velasco E., 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. Veterinary Parasitology 170;348–354
- Parizi L.F., Reck J., Oldiges D.P., Guizzo M.G., Seixas A., Logullo C., et al., 2012. Multi-antigenic vaccine against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a field evaluation. Vaccine; Nov 6;30(48):6912–7.
- Patarroyo J.H.; Portela R.W.; de Castro R.O.; Pimentel J.C.; Guzman F.; Patarroyo M.E.; Vargas M.I.; Prates A.A.; 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.
- Perez-Cogollo L.C.; Rodríguez-Vivas R.I.; Ramírez-Cruz G.T.; 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.; Gôlo 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.; 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., Masuda A., 2012. ABC transporters as a multidrug detoxification mechanism in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Parasitol Res. Dec;111(6):2345–51.

- 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.; Bittencourt V.R.E.P. 2012. Virulence potential of *Metarhizium anisopliae* s.l. isolates on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. *Vet Parasitol.* 190:556–65.
- R Development Core Team, 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0
- Reck J.; Klafke G.M.; Webster A.; Dall’Agnol B.; Scheffer R.; Souza U.A.; Corassini V.B.; Vargas R.; dos Santos J.S.; 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.; 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.; 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.
- Riek R.F., 1957. Studies on the reactions of animals to infestation with ticks: I. Tick anaemia. *Aust. J. Agric. Res.* 8, 209–214.
- Rodríguez-Valle M. 2000. Respuesta inmunológica contra garrapatas. *Biotechnol Apl.* URL:<https://tspace.library.utoronto.ca/html/1807/21814/ba00068.html> [acceso: 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.
- Seebeck R.M., Springell P.H., O’Kelly J.C., 1971. Alterations in host metabolism by the specific and anorectic effects of the cattle tick (*Boophilus microplus*): I. Food intake and body weight growth. *Aust. J. Biol. Sci.* 24, 373–380
- Shakya M.; Kumar B.; Nagar G.; de la Fuente J.; 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., Lane R.S. 2002. Chapter 24: Ticks. *Medical and Veterinary Entomology.* Elsevier p. 517-558

- Souza E.J.; Costa G.L.; Bittencourt V.R.E.P.; Fagundes A.S. 2009 Ação do fungo *Beauveria* basianna 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.
- Sutherst R.W., Maywald G.F., Kerr J.D., Stegeman D.A., 1983. The effect of cattle tick (*Boophilus microplus*) on the growth of *Bos indicus* x *B. taurus* steers. Aust. J. Agri. Res. 34, 317±327.
- Sutherst R.W. and Kerr J.D. 1987. Losses in livestock productivity caused by ticks and tick-borne diseases. In the Conference: Ticks and Tick-Borne Diseases. Proceedings of an international workshop. ACIAR Proc. No 17: 108-112
- Téllez-Jurado A.; Cruz M.G.; Mercado Y.; Torres A.A.; 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.; Romero N.T. 1978 Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. Trop Anim Health Prod. 10:179-182.
- Ullmann A.J.; Stuart J.J. and Hill C.A. 2008 8 Tick. Hunter, W. y Cole, C. (Eds.) Genome Mapping and Genomics in Arthropods. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p 103-117
- Warthon R.H. and Utech B.W., 1970. The relation between engorging and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. J. Aust. Ent. Soc. 9:171-182.
- Willadsen P. 2004 Anti-tick vaccines. Parasitology. 129(7):S367-S387.
- Young D.L., Haantuba H.H. 1998. An Economic Threshold for Tick Control Considering Multiple Damages and Probability-Based Damage Functions. Journal of Agricultural and Resource Economics 23(2):483-493

ANEXOS

Anexo 1. Moncada, C.; Suárez, J.F.; Molina, C.H., Molina, E.J.; Murgueitio, E.; Lopera, J.J.; Sánchez, M.S. El sistema silvopastoril intensivo como posible factor protector frente a infestaciones por garrapatas *Rhipicephalus (boophilus) microplus* en Hacienda Lucerna, Colombia”. VII Congreso Latinoamericano de Sistemas Agroforestales para la Producción Sustentable, noviembre 8 al 10 de 2013. Belém do Pará-Brasil.

Anexo 2. Moncada, A.C.; Giraldo, C.; Villar, D.; Chaparro, J.J.; Angulo, J.; Sánchez, S; Barahona, R.; Suárez, J.F.; Mahecha, L. Parámetros reproductivos de garrapatas *Rhipicephalus microplus* obtenidas de bovinos tratados con una vacuna a base de antígenos poliproteicos y una suspensión de hongos acaropatógenos. 3° Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles: VII Congreso Internacional Sistemas Agroforestales / compilado por Pablo L. Peri. - 1a ed. – Santa Cruz: Ediciones INTA, 2015:129-133

Anexo 3. Moncada, A.C.; Giraldo, C.; Villar, D.; Chaparro, J.J.; Angulo, J.; Sánchez, S; Barahona, R.; Suárez, J.F.; Mahecha, L. Ensayos de una vacuna a base de antígenos poliproteicos y una suspensión de hongos acaropatógenos sobre el número de garrapatas *Rhipicephalus microplus* en bovinos en pastoreo. 3° Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles: VII Congreso Internacional Sistemas Agroforestales. Compilador: Pablo L. Peri. 1a ed. – Santa Cruz: Ediciones INTA, 2015: 124-128