

Evaluación de tres agentes biológicos para el control de larvas de garrapatas (*Amblyomma cajennense*) en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras

Adis Yajaira Morales Viquez

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2019

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Evaluación de tres agentes biológicos para el control de larvas de garrapatas (*Amblyomma cajennense*) en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera Agrónoma en el Grado académico de Licenciatura

Presentado por:

Adis Yajaira Morales Viquez

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2019

Evaluación de tres agentes biológicos para el control de larvas de garrapatas (*Amblyomma cajennense*) en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras

Adis Yajaira Morales Viquez

Resumen. El 95% de las garrapatas se encuentran en el pasto y un 5% en los animales, por ello, el objetivo del estudio fue evaluar la eficacia de tres agentes biológicos en el control para larvas de *A. cajennense* aplicados al pasto. El estudio se desarrolló en potreros del Club Hípico en los meses de junio a agosto del año 2019. Para el primer ensayo los tratamientos biológicos evaluados fueron *B. bassiana*, *M. anisopliae*, ambos combinados y *H. bacteriophora* con una frecuencia de siete días (tres aplicaciones); el tratamiento químico fipronil, se aplicó solo al inicio del ensayo y un testigo sin aplicar. En el segundo ensayo se evaluó la eficacia entre tratamientos biológicos, se evaluó a una concentración doble de la usada en el primer ensayo. Se utilizó un diseño de bloques completamente al Azar (BCA) con seis y cuatro tratamientos para el primer y segundo ensayo respectivamente y tres repeticiones en ambos. Se evaluó la densidad poblacional utilizando la técnica de doble bandera. Los tratamientos con mayor porcentaje de mortalidad después de tres semanas fueron: fipronil y *B. bassiana* con 98% y 83% respectivamente. Las aplicaciones de *M. anisopliae*, *H. bacteriophora* y *B. bassiana*/*M. anisopliae* con un porcentaje de mortalidad del 59, 19 y 65% respectivamente no presentaron diferencia significativa en el control de las larvas de *A. cajennense*. El testigo sin aplicar presentó un aumento en población del 191% con respecto a la población inicial. En el segundo ensayo los tratamientos biológicos no presentaron diferencia significativa en el control de *A. cajennense*.

Palabras clave: Bioplaguicidas, ectoparásitos, fipronil, pastos, prevención.

Abstract: The 95% of ticks are found in grass and 5% in animals, thus, the objective of the study was to evaluate the efficacy of three biological agents for the control of larvae *A. cajennense*, were the biological agent is applied to grass. The study took place in paddocks of the Equestrian Club, from June to August of the present year. For the first trial, the biological treatments evaluated were *B. bassiana* in synergy with *M. anisopliae* and *H. bacteriophora* with a seven-day frequency (three applications); Fipronil (chemical treatment) were applied only at the beginning of the trial and an unapplied control. The concentration was doubled in the second trail in comparison with the first, and as well, the efficacy was measured, comparing it with the first trail. A completely randomized block design (BCA) was used with six and four treatments for the first and second trials respectively and three repetitions in both. Population density was evaluated using the double flag technique. The treatments with the highest percentage of mortality after three weeks were fipronil and *B. bassiana* with 98% and 83% respectively. The applications of *M. anisopliae*, *H. bacteriophora* and *B. bassiana*/*M. anisopliae* with a mortality rate of 59, 19 and 65% respectively did not show a significant difference in the control of the larvae of *A. cajennense*. The unapplied control presented an increase in population of 191% in respect to the initial population. In the second trial, the biological treatments did not show a significant difference in the control of *A. cajennense*.

Keywords: Biopesticides, ectoparasites, fipronil, grasses, prevention.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros y figuras	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES.....	12
5. RECOMENDACIONES.....	13
6. LITERATURA CITADA.....	14

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURA

Cuadros	Página
1. Tratamientos evaluados para el ensayo I para el control de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras.....	5
2. Tratamientos evaluados para el ensayo II para el control de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras.....	6
3. Población promedio de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> en tres fechas de muestreo en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras.....	9
4. Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> en potreros del Club Hípico, Zamorano, Honduras.....	10
5. Densidad poblacional semanal de las larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> evaluando segunda dosis en el Club Hípico, Zamorano, Honduras.....	11

Figura	Página
1. Croquis de la distribución de parcelas por tratamientos y puntos de muestreo en el Club Hípico de Zamorano, Honduras.....	4

1. INTRODUCCIÓN

Las garrapatas, ectoparásitos hematófagos considerada como principal plaga en los animales en producción extensiva (bovinos, equinos, caprinos, ovinos), por ser potentes vectores de enfermedades como anaplasmosis (*A. marginale*), babesiosis (Babesiosis (*Babesia bigemina*)) y Teileriosis (*Theileria annulata*) (Brown *et al.* 2006), y principal causa en la reducción de la eficiencia productiva de los animales bovinos (ganancia de peso, lento desarrollo, afecciones secundarias)” (Vanegas 2015). Las garrapatas, están distribuidas en Centro América, Sur América y el occidente de África (Lopez *et al.* 2009).

Considerando las condiciones ambientales de la región en producción, la población de un género de garrapata logra ser de gran importancia económica, siendo uno de los principales factores a la hora de tomar decisiones sanitarias. Por ende, el interés en conocer la ecología y fisiología, tomando relevancia en la clasificación y ciclo de vida de estas para el control sanitaria. Los productos químicos de amplio espectro capaces de controlar las poblaciones de garrapatas se popularizaron entre las actividades sanitarias de los productores, sin embargo, la capacidad de supervivencia ha evolucionado debido a la resistencia que provocaron estos productos acaricidas por un mal manejo sanitario, dosis altas innecesarias e intensivos que muchos productores utilizan (Álvarez *et al.* 2007). Por otro lado, se ha popularizado la innovación de mecanismos de control como el uso de controladores biológicos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora*), control cultural (quema de potreros, descanso y rotación de potreros), control genético (razas resistentes) y vacunas (Gallozzi *et al.* 1999).

En el estudio se evaluó *Amblyomma cajennense*, presente en los potreros del club hípico de Zamorano, Honduras. *A. cajennense* pertenece a la familia Ixodidae dentro del grupo vulgarmente llamado garrapatas duras por su textura física. Sus fases de desarrollo se basan en cuatro estadios: huevos, larvas, ninfas y adultas; además su comportamiento de depredación “se basa en la espera pasiva de los hospederos entre la vegetación” (Estrada-Peña 2015). Se caracteriza por: 1) completar su ciclo biológico en tres hospederos, 2) su fase de hematofagía y crecimiento son lentas en todos sus estadios parasíticos, 3) tiene un alto potencial biótico, este género puede ovipositar hasta 22,000 huevos en una postura, 4) posee baja especificidad por sus hospederos infestando especies de animales como reptiles, aves y mamíferos, 5) sus piezas bucales desarrolladas son largas lo cual le permite adherirse más profundamente a la piel del hospedero (Meléndez *et al.* 2014).

El ciclo de vida de las garrapatas independientemente de su género se manifiesta entre el estado parasítico y el estado en campo (fase libre) (Rodríguez *et al.* 2006), el 95% de las garrapatas se encuentran en el pasto y un 5% en los animales, esto quiere decir que la vegetación cumple un importante papel en el desarrollo del parásito, caracterizados por las afinidades de las garrapatas en los pastos tales como el efecto de abundancia de vegetación que es un indicativo del género de garrapata del cual podemos encontrar, ya que, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tiene una afinidad por pastos y vegetación de baja altura y huésped bovino (Álvarez y Bonilla 2007) y *Amblyomma cajennense* prefieren los pastos altos y vegetación densa y su huésped principal son los equinos (Labruna *et al.* 2002).

Los controladores biológicos se han convertido en una estrategia popular de manejo de plagas, reduciendo las poblaciones a un nivel por debajo del umbral de daño económico según la plaga. Diversas investigaciones demuestran que el uso de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, nematodos (*Heterorhabditis bacteriophora*), es efectivo. El modo de acción de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* inicia en adherirse mediante sus esporas a las garrapatas reproduciéndose en ellos provocándoles la muerte (Brobyn y Wilding 1977) y en el caso de los nematodos es entrar en contacto con la plaga, este puede introducirse en su organismo mediante sus orificios bucales y anales provocando la muerte, adyacente por la infección de la bacteria *Photorhabdus luminiscens* que habita en su tracto digestivo (Ciche 2007). Por el éxito que conllevan los controladores biológicos, promueven el abandono de los productos químicos, para evitar la generación de plagas resistentes, deterioro de las moléculas sintéticas, la demanda de productos libres de residuos químicos y el cuidado del ambiente.

Existen técnicas de muestreo de larvas de garrapatas en fase libre, (Fernández 1996) que nos permite registrar la incidencia o no de las mismas dentro de un lote. Sin embargo, no hay mucha información, ni mucho menos estudios concluyentes que determinen un umbral de daño económico del parásito en el pasto, al mismo tiempo, muy poca investigación de los controladores biológicos, como alternativa, aplicados al pasto. De esta manera surge la necesidad de realizar investigaciones con productos biológicos aplicados en el hábitat inicial de los ácaros, que nos permita el control de las garrapatas en fase libre como una opción para disminuir sus poblaciones en los lugares de infección y la reducir las probabilidades de enfermedades en los animales.

Los objetivos de este estudio fueron:

- Evaluar la eficacia de tres agentes biológicos para el control de larvas de *Amblyomma cajennense* aplicados al pasto.
- Comparar tres agentes biológicos con el producto químico Fipronil sobre las poblaciones de larvas *Amblyomma cajennense* aplicado en pasto.

2. MATERIALES Y METODOS

Ensayo I. Evaluación de la eficacia de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Beauveria bassiana*/ *Metarhizium anisopliae* y el testigo fipronil para el control de larvas de garrapatas en potreros del Club Hípico de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Ubicación. El estudio se llevó a cabo entre los meses de junio a agosto en los potreros del club hípico de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, a 30 km de Tegucigalpa, Honduras. Ubicado a 14°0'9.29" latitud Norte y 86°59'49.69" longitud Oeste, a 800 msnm, con una precipitación de 287 mm durante el estudio, temperatura promedio de 25 °C y una humedad relativa 70%.

Diseño de parcelas: El experimento se estableció en un lote de 2773 m², cercada con cuatro cuerdas de alambre de púas, se restringió la entrada de los equinos durante todo el estudio, por un periodo de nueve semanas. El pasto de la parcela tenía un tamaño irregular entre 20 a 30 cm, representado por pasto Tanzania (*Panicum máximum*), pasto negro (*Sporobolus poiretii*), pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*); se procedió a uniformizar la altura del pasto con una maquina podadora, a una altura de 10 cm. El tamaño de cada unidad experimental fue de 100 m² y entre cada unidad experimental se dejó un borde de 1 metro, seis tratamientos y tres repeticiones fueron establecidas.

Muestreos y herramientas: Los muestreos se realizaron con la ayuda de la técnica de doble bandera (Fernández 1996). La bandera consistió en un manto de tela de algodón de 1 m² sujetado a dos bolillos de madera en cada extremo. En cada parcela se tomaron tres puntos aleatorios y se realizaron tres pases dobles por unidad experimental (Figura 1), el muestreo consistió en arrastrar la manta en línea recta por cada parcela, medido en cinco pasos a una velocidad constante de 1 m/s para un área de 5 m². Por cada pase se realizó un conteo de las larvas adheridas al manto y se registró el resultado. Se muestrearon larvas de garrapatas en el pasto antes de aplicar los tratamientos y se registró la población; las garrapatas adultas encontradas en los equinos fueron recolectadas en viales de vidrio con alcohol al 75% y llevadas a la Colección Entomológica de Zamorano para su posterior identificación.



Figura 1. Croquis de la distribución de parcelas por tratamientos y puntos de muestreo en el Club Hípico de Zamorano, Honduras.

Tratamientos y aplicaciones: Se evaluaron seis tratamientos (Cuadro 1), estos fueron aplicados en campo con una frecuencia de siete días, se realizaron tres aplicaciones, durante un periodo de 21 días, tiempo total del estudio. La aplicación del tratamiento químico fipronil, el cual se aplicó una vez en todo el experimento. Las aplicaciones se realizaron en horas frescas de la mañana 6:00 am hasta 9:00 am para aprovechar el rocío y la nubosidad de la mañana para reducir el impacto negativo de la radiación solar sobre los tratamientos. Se utilizaron dos bombas de motor marca SHP 800 ECHO, con capacidad de 20 L: una para los tratamientos biológicos y testigo y la otra para el tratamiento fipronil. Las aplicaciones fueron dirigidas directamente al follaje, se utilizó un volumen de aplicación de 800 L/ha, se utilizó un adherente no iónico Break Thru a una dosis de 1 mL/L.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados para el ensayo I para el control de larvas de *Amblyomma cajennense* en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Cepa / I. Activo concentración	Dosis / Hectárea	Dosis / Unidad experimental
<i>Beauveria bassiana</i>	2.0×10^{11} esporas	480 g	4.8 g
<i>Metarhizium anisopliae</i>	1.0×10^{13} esporas	480 g	4.8 g
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	8.0×10^7 nematodos	800 L	8.0×10^7
<i>Beauveria bassiana</i> / <i>Metarhizium anisopliae</i>	1.0×10^{11} esporas / 5.0×10^{12} esporas	240 g/ 240 g	2.4 g 2.4 g
Fipronil	Fipronil	1 mL / L	1 mL / L
Testigo	Agua		8 L

Variables medidas.

Densidad poblacional. Los muestreos se realizaron a los seis días después de cada aplicación. Se registró la población de las larvas a través del tiempo durante tres semanas. La densidad poblacional se determinó mediante el conteo de las larvas adheridas al manto en un área aleatorio de 30 m² por cada unidad experimental.

Mortalidad. Se obtuvo el porcentaje de mortalidad de las larvas de *A. cajennense* por efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora* y el tratamiento fipronil mediante la ecuación 1 descrita por Abbot (Püntener 1981):

$$\text{Porcentaje de mortalidad} = 100 (1 - (Ta/Ca)) \quad [1]$$

Donde:

Ta= número de larvas de garrapatas después del tratamiento.

Ca= número de larvas de garrapatas en el testigo después del tratamiento.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA), seis tratamientos y tres repeticiones para un total de 18 unidades experimentales.

Análisis estadístico. Los datos fueron sometidos a una transformación de raíz cuadrada + 10 y se analizaron los resultados utilizando un modelo lineal general (GLM) y una separación de medias con el método Duncan con un nivel de significancia exigido de $P \leq 0.05$ con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.4).

Ensayo II. Evaluación de la eficacia de los tratamientos biológicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora* y *Beauveria bassiana*/*Metarhizium anisopliae* para el control de larvas de garrapatas en potreros del Club Hípico de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Establecimiento del experimento. El ensayo II se instaló en la misma parcela que el ensayo I, con el objetivo de poder incrementar la dosis utilizada en el experimento I y evaluar los tratamientos biológicos sobre el control de larvas de *A. cajennense*.

Tratamientos y aplicaciones. Se evaluaron los mismos cuatro tratamientos biológicos que en el experimento I (Cuadro 2). Se realizaron tres aplicaciones con una frecuencia de siete días por tratamientos. Las aplicaciones se realizaron en horas frescas de la mañana 6:00 am hasta 9:00 am. Las aplicaciones se realizaron utilizando una bomba de motor marca SHP 800 ECHO, con capacidad de 20 L. Las aplicaciones fueron dirigidas directamente al follaje, se utilizó un volumen de aplicación de 800 L/ha, se utilizó un adherente no iónico Break Thru a una dosis de 1 mL/L.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados para el ensayo II para el control de larvas de *Amblyomma cajennense* en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Cepa / I. Activo concentración	Dosis / Hectárea	Dosis / Unidad experimental
<i>Beauveria bassiana</i>	4.0×10^{11} esporas	960 g	9.6 g
<i>Metarhizium anisopliae</i>	2.0×10^{13} esporas	960 g	9.6 g
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	1.6×10^8 nematodos	800 L	1.6×10^8
<i>Beauveria bassiana</i> /	2.0×10^{11} esporas /	480 g/	4.8 g/
<i>Metarhizium anisopliae</i>	1.0×10^{13} esporas	480 g	4.8 g

Variables medidas.

Densidad poblacional. Los muestreos se realizaron a los seis días después de la aplicación. Se registró la población de las larvas a través del tiempo durante tres semanas. La densidad poblacional se determinó mediante el conteo de las larvas adheridas al manto en un área aleatorio de 30 m² por cada unidad experimental.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA), cuatro tratamientos y tres repeticiones para un total de 12 unidades experimentales.

Análisis estadístico. Los datos fueron sometidos a una transformación de raíz cuadrada + 10 y se analizaron los resultados utilizando un modelo lineal general (GLM) y una separación de medias con el método Duncan con un nivel de significancia exigido de $P \leq 0.05$ con el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.4).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo I. Evaluación de la eficacia de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Beauveria bassiana*/ *Metarhizium anisopliae* y el tratamiento fipronil para el control de larvas de *A. cajennense* en potreros del Club Hípico de la Escuela Agrícola Panamericana.

Los resultados muestran que el tratamiento testigo presentó significativamente la mayor población de larvas a lo largo del estudio respecto a los demás tratamientos. El tratamiento fipronil presentó la menor población de larvas de *A. cajennense* a lo largo del experimento lo que indica que el modo de aplicación es el correcto, al igual la dosis indicada por el fabricante tiene un efecto letal sobre las larvas, lo que concuerda con Vargas (2006), quien demostró que el fipronil tiene una alta tasa de mortalidad sobre el control de garrapatas y oviposición.

Después de la primera aplicación, los tratamientos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *H. bacteriophora* y el tratamiento fipronil presentaron una reducción significativa en la densidad poblacional de *A. cajennense* en relación al tratamiento en que se mezcló *B. bassiana*/ *M. anisopliae* y el testigo sin aplicación, manifestando que la mezcla *B. bassiana* y *M. anisopliae* a una concentración de 1×10^{11} esporas y 5×10^{12} esporas respectivamente, no logran un efecto de control sobre las larvas de *A. cajennense*. Después de la segunda aplicación se observó que los tratamientos *M. anisopliae* y *H. bacteriophora* presentaron poblaciones más bajas que *B. bassiana* y la mezcla con *M. anisopliae*. Después de la tercera aplicación se observó que el tratamiento *B. bassiana* y fipronil siguen mostrando una reducción mayor que los demás tratamientos, indicando que fipronil tiene una alta residualidad de 15 días (Inifap 2008) sobre las larvas de *A. cajennense*. Los tratamientos *H. bacteriophora* y el testigo presentaron poblaciones más elevadas que el resto de los tratamientos biológicos, siendo el tratamiento *B. bassiana* que redujo en una mayor cantidad la población de la plaga (Cuadro 3.)

Cuadro 3. Población promedio de larvas de *Amblyomma cajennense* en tres fechas de muestreo en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras.

Tratamientos	Antes de aplicar	1era Aplicación§	2da Aplicación§	3era Aplicación§
<i>Beauveria bassiana</i>	19.67 c¥	6.33 c	20.67 b	8.33 cd
<i>Metarhizium anisopliae</i>	27.00 bc	3.00 c	7.00 c	20.00 b
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	37.67 ab	7.00 c	7.67 c	42.33 a
<i>Beauveria bassiana</i> / <i>Metarhizium anisopliae</i>	26.33 bc	14.00 b	17.00 b	17.33 bc
Fipronil	39.33 a	2.00 c	0.00 d	1.00 d
Testigo	23.00 c	36.67 a	46.00 a	50.67 a
Probabilidad	0.0285	<0.0001	<0.0001	0.0003
R ²	0.7262	0.9518	0.9353	0.9231
CV	7.947	7.774	9.868	10.907

§: Medias de poblaciones siete días después de cada aplicación.

CV: Coeficiente de variación.

R²: Coeficiente de determinación.

¥: valores con letras distintas en la columna presentan diferencias significativas según la prueba Duncan ($P \leq 0.05$).

Porcentaje de mortalidad.

El tratamiento químico durante el periodo de evaluación presentó la menor población de larvas, disminuyendo un 98% con respecto al testigo (Cuadro 4). El tratamiento *Beauveria bassiana* presentó un alto porcentaje de mortalidad; con un 83% después de tres aplicaciones consecutivas indicando que el control de larvas de *A. cajennense* es efectivo. Los agentes biológicos *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora* y la mezcla de *Beauveria bassiana* / *Metarhizium anisopliae* mostraron un control reducido al obtener 59, 65, 19% de control después de las tres aplicaciones.

Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad de larvas de *Amblyomma cajennense* en potreros del Club Hípico, Zamorano, Honduras.

Tratamientos	1era Aplicación§	2da Aplicación§	3era Aplicación§
<i>Beauveria bassiana</i>	82.17 a¥	53.82 c	83.13 ab
<i>Metarhizium anisopliae</i>	92.31 a	84.83 ab	59.11 b
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	82.25 a	82.99 ab	19.22 c
<i>Beauveria bassiana</i> / <i>Metarhizium anisopliae</i>	60.43 b	62.34 bc	65.16 b
Fipronil	94.20 a	100.00 a	98.02 a
Probabilidad	0.0102	0.0153	0.0051
R ²	0.8262	0.8057	0.8555
CV	9.845	15.823	23.109

§: Medias de poblaciones siete días después de cada aplicación.

CV: Coeficiente de variación.

R²: Coeficiente de determinación.

¥: valores con letras distintas en la columna presentan diferencias significativas según la prueba Duncan ($P \leq 0.05$).

Ensayo II. Evaluación de la eficacia de los tratamientos biológicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora* y *Beauveria bassiana*/*Metarhizium anisopliae* para el control de larvas de garrapatas en potreros del Club Hípico de la Escuela Agrícola Panamericana.

En los tratamientos *B. bassiana*, *H. bacteriophora*, *B. bassiana*/*M. anisopliae* la media de población después de la primera aplicación no presentó diferencia significativa entre tratamientos, para la segunda y tercera aplicación los controladores biológicos no presentaron diferencia significativa entre tratamientos, sin lograr un control de las larvas de *A. cajennense* en potrero (Cuadro 5).

Cuadro 5. Densidad poblacional semanal de las larvas de *Amblyomma cajennense* evaluando segunda dosis, en el Club Hípico, Zamorano, Honduras.

Tratamientos	Antes de aplicar	1era Aplicación§	2da Aplicación§	3era Aplicación§
<i>Beauveria bassiana</i>	17.67 b	4.67 b	37.33 ns	26.00 ns
<i>Metarhizium anisopliae</i>	65.67 a	18.67 b	14.33	20.33
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	22.00 b	77.00 a	23.00	31.33
<i>Beauveria bassiana</i> / <i>Metarhizium anisopliae</i>	21.00 b	13.67 b	23.33	24.00
Probabilidad	0.0500	0.0013	0.1732	0.6824
R ²	0.7818	0.9405	0.6544	0.3461
CV	16.590	12.734	12.085	11.689

§: Medias de poblaciones siete días después de cada aplicación.

CV: Coeficiente de variación.

R²: Coeficiente de determinación.

¥: valores con letras distintas en la columna presentan diferencias significativas según la prueba Duncan ($P \leq 0.05$).

ns: no presentó diferencia significativa ($P > 0.05$).

4. CONCLUSIONES

- El insecticida biológico *B. bassiana* a la concentración de 2×10^{11} esporas controló en un 83% la población de *Amblyomma cajennense* cuando este es aplicado en el pasto durante tres semanas consecutivamente.
- El control de *Amblyomma cajennense* con el insecticida fipronil resultó ser el más efectivo con una sola aplicación, el cual redujo en 98% la población de larvas.
- Los agentes biológicos *Beauveria bassiana*/ *Metarhizium anisopliae*, *Heterorhabditis bacteriophora* redujeron la población de larvas *Amblyomma cajennense* en un 65 y 19% respectivamente.
- El incremento de la concentración en las dosis de los productos biológicos aplicados al pasto no representó un incremento en la mortalidad de larvas de *Amblyomma cajennense*.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar la efectividad *in vitro* de los agentes biológicos sobre *Amblyomma cajennense*.
- Evaluar las aplicaciones de los agentes biológicos en horas frescas de la tarde.
- Evaluar la sinergia de circuitos de pastoreo y la aplicación de agentes biológicos pos-salida de los animales después de cada potrero.
- Evaluar los tratamientos biológicos en diferentes épocas del año.

6. LITERATURA CITADA

- Álvarez V, Bonilla R. 2007. Adultos y ninfas de la garrapata *Amblyomma cajennense* Fabricius (Acari: Ixodidae) en equinos y bovinos. *Agronomía Costarricense*. 31(1):61-69.
- Brobyn PJ, Wilding N. 1977. Invasive and developmental processes of *Entomophthora* species infecting aphids. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 69:349-366.
- Brown WC, Norimine J, Goff WL, Suarez CE, Micelwain TF. 2006. Prospects for recombinant vaccines against *Babesia bovis* and related parasites. *Parasite Immunology*. [2019 sep 10] 28(7):315-327. DOI: 10.1111/j.1365-3024.2006.00849.x
- Ciche T. 2007. The biology and genoma of *Heterorhabditis bacteriophora*. *Worm Book*. In biology and genome of nematodes other than *C. elegans*. http://www.wormbook.org/chapters/www_genomesHbacteriophora/genomesHbacteriophora.html.
- Estrada Peña A. 2015. Garrapatas. Morfología, fisiología y ecología. [internet]. Ed LATAM. España: Zaragoza; [consultado el 25 de sep. de 2019]. https://issuu.com/editorialservet/docs/p33540_garrapatas_dosier_849df962532a09
- Fernández Ruvalcaba M. 1996. Comparación de cuatro técnicas de colecta de larvas de *Boophilus microplus* bajo condiciones de campo en infestación controlada. *Técnica pecuaria en México*. 34(3):1-8. Esp. file:///D:/OneDrive%20-%20Zamorano/Downloads/8%20(2).pdf.
- Gallozzi R, Hincapié JJ, De Flores G, Matamoros I. 1999. ¿Cómo controlar las garrapatas? 1era ed. Honduras: WK Kellogg Foundation. 14 p.
- Inifap Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2008. Forrajes y Pastizales. Manejo integrado de la mosca pinta en pastos de la planicie huasteca [internet]. México; [consultado 2019 oct 10]. <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/875/399.pdf?sequence=1>
- Iowa State University. 2006. Hidropericardio (Cowdriosis). The Center for Food Security & Public Health (CFSPH). [2019 sep 10]. Esp. Sitio web: http://www.cfsph.iastate.edu/Infection_Control/FADs/S_heartwater_fastfact.pdf

- Labruna MB, De Paula CD, Lima TF, Sana DA. 2002. Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Animals from the Porto-Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil. Scielo. [2019 sep 11]. 97(8):1133-1136. Eng. https://www.researchgate.net/publication/304102046_Manual_Tecnico_para_el_control_de_garrapatas_en_el_ganado_Bovino
- López E. 2009. Control de la garrapata *Boophilus microplus* con *Metarhizium anisoplae*, estudios de laboratorio y campo. Scielo. [2018 septiembre 22]; Volumen (35):1. español. Dirección: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882009000100008
- Meléndez R, Meléndez A, Marín S, Torres S, Torres A, Fortis M, Granda F, Mujica F. 2014. Fases de larva y ninfa de *Amblyomma cajennense* (Acari:Ixodidae) en ratas (*Rattus norvegicus*) esplenectomizadas e intactas: estudio de casos. Revista científica FCV-LUZ. [consultado 24 de sep. de 2019]; 24(5):421-427. Esp. <http://www.redalyc.org/pdf/959/95932260006.pdf>
- Püntener W. 1981. Manual for field trials in plant protection. Segunda edición. Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited; [consultado 2019 Oct 02]. <http://www.ehabsoft.com/ldpline/onlinecontrol.htm#SchneiderOrelli>.
- Rodríguez Vivas R, Rosado Aguilar A, Basto Estrella G, García Vázquez Z, Rosario Cruz R, Fragoso Sanchez H. 2006. Manual técnico para el control de garrapatas en el Ganado bovino. 1ra ed. México, D.F. (Mexico). INIFAP; [consultado 2019 sep. 10]. https://www.researchgate.net/publication/304102046_Manual_Tecnico_para_el_control_de_garrapatas_en_el_ganado_Bovino
- Vanegas Pérez M. 2015. Efectos de la infestación de garrapata *Boophilus microplus*, en la ganancia de peso y los parámetros reproductivos y fenotípicos de toros Brangus hasta los 19 meses [tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 29 p.
- Vargas XS. 2006. Efecto de fipronil y selamectina, sobre ovoposición y muerte de garrapatas adultas *Rhipicephalus sp.* Mediante un test in vivo en perros. [Tesis]. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-León-Nicaragua. 57 p.