

**Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y
de *Metarhizium anisopliae* en control biológico
de *Boophilus microplus***

Lía Raquel Espinoza Silva

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2005

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

**Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y
de *Metarhizium anisopliae* en control biológico
de *Boophilus microplus***

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

Presentado por

Lía Raquel Espinoza Silva

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

La autora concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor

Lía Raquel Espinoza Silva

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y de *Metarhizium anisopliae* en control biológico de *Boophilus microplus*

Presentado por:

Lía Raquel Espinoza Silva

Aprobada:

Rogelio Trabanino, M. Sc.
Asesor principal

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador de Área Temática de
Fitotecnia

John Jairo Hincapié, Ph.D.
Asesor

Abelino Pitty, Ph.D.
Director Interino Carrera Ciencia y
Producción Agropecuaria

Alfredo Rueda, Ph.D.
Asesor

George Pilz, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A Mi Dios que siempre me acompañó dándome fortaleza y sabiduría para sobrellevar el tiempo de dificultad.

A mis padres, gracias a ellos por el esfuerzo que han hecho por mí.

A mi familia que ha puesto cada uno parte de sus vidas y oraciones para apoyarme y realizar mis metas.

AGRADECIMIENTOS

A mi Señor Jesús por a ver me permitido llegar hasta este momento y permitirme conocer cada día su misericordia e inigualable amor hacia a mi

A mis padres Luis y Juanita que me han apoyado siempre con su amor y sus palabras sabias en los momentos mas difíciles, por sus oraciones y por creer en mi.

A mis hermanos Alejandro y Marvin por estar conmigo en cada momento; ser mi hombro de apoyo y su gran amistad

A mis abuelos, tíos, tías y primos que siempre están pendientes de mis, por sus oraciones y sus consejos en tiempo de dificultad.

A mis asesores Ing. Trabanino, Dr. Hincapié y Dr. Rueda por sus enseñanzas, paciencia y por el tiempo que dedicaron en mi aprendizaje.

Al Dr. Vélez por tenerme paciencia y colaborar cuando necesitaba ayuda.

A la Ing. Eliana Rosales y el Ing. Joel Méndez por su paciencia y sus enseñanzas que han sido de mucha ayuda.

A mis amigos Cecil Montemayor, Diana Castillo, Verónica Ballón, Juan C. Aguirre Ricardo Botero y Víctor Naranjo que han estado siempre a mi lado apoyándome; dando consejos en el tiempo adecuado y su amistad durante mi estadía en Zamorano.

A mis amigos Ana Andino, Lenin Toapanta, Moisés Castellanos, Gabriela Ronquillo, María Herrarte, Jesús García, Miguel Estévez, Milton Zeballos y Nery de Zeballos, Oscar Huete, Olga Rivadeneyra, Elena Lagos, Karen Sierra, Flavia Houlse, Víctor Alberto, Cristiana Godoy, Sebastián Vélez, Ronald Navarrete, Nelson Proaño y Carlos Villavicencio, por estar pendiente de mi y las palabras de aliento en tiempos de dificultad.

A todo el personal del Laboratorio de Control Biológico que siempre me prestaron su ayuda y colaboración.

A todas las personas que colaboraron en realizar este proyecto mis colegas y estudiantes de tercer año.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A mi familia por el gran esfuerzo que realizó durante los cuatro años de estudio en Zamorano.

A la Secretaria de Agricultura y Ganadería (S.A.G.) por ayuda parcial en mis dos últimos años.

Al Ing. Rogelio Trabanino por su ayuda en mi cuarto año.

RESUMEN

Espinoza, L. 2005. Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y de *Metarhizium anisopliae* en control biológico de *Boophilus microplus* Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 29 p.

Las garrapatas del género *Boophilus microplus* es la especie de garrapatas que más especies de animales atacan en todo el mundo. Se han calculado grandes pérdidas económicas ocasionadas por las garrapatas, además, estas ocasionan enfermedades y proporcionan una pérdida del 40% en leche y 58% en carne. El control de garrapatas basado en el uso exclusivo de químicos es insostenible a largo plazo, por el desarrollo de resistencia y presencia de residuos en la carne. Buscando alternativas de control se han realizado varios estudios para combatirlos; uno de ellos es la aplicación de hongos entomopatógenos. Los objetivos de este estudio fueron evaluar el efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de garrapatas, seleccionar cepas de *Beauveria bassiana* y de *Metarhizium anisopliae* con mayor control sobre las garrapatas en la etapa de laboratorio, determinar a nivel de campo el efecto de los hongos entomopatógenos y comparar con el testigo químico. El estudio se realizó en dos etapas, la I etapa se llevo en el Laboratorio de Control Biológico de Zamorano y la II etapa en la Unidad de Ganado Lechero de Zamorano. La I etapa consistió en la recolección en campo de garrapatas y llevadas al laboratorio donde se inocularon por el método de inmersión, con dos cepas de *Beauveria bassiana* Nicaragua y Zamorano y dos cepas de *Metarhizium anisopliae*, Yara e Inglés; seguidamente fueron colocadas en platos petri, muestreándose a los 7 y 14 días para contar las garrapatas muertas e infectadas. Se uso un Diseño Completo al Azar (DCA) con 15 repeticiones, las cepas de mayor mortalidad e infección fueron, Yara y Zamorano, cepas utilizadas para producir METAZAM[®] y BAZAM[®] productos biológicos. En la II etapa, las cepas fueron llevadas al campo para ser utilizadas sobre 22 toros de 24 meses, marcando la zona con más infección y luego realizando un conteo de garrapatas antes de la aplicación. Se usó un Diseño Completo al Azar (DCA), se realizaron dos aplicaciones de METAZAM[®], BAZAM[®] y un testigo con agua, con una separación de siete días entre aplicación, y una sola aplicación del producto químico Amitraz[®]. Se obtuvo como resultado un control igual de los productos biológicos al control realizado por el químico. Se recomienda realizar pruebas de campo en condiciones adversas como climas secos y con baja humedad relativa con productos biológicos como BAZAM[®] y METAZAM[®] para control de garrapatas en campo. Los productos biológicos pueden resultar una opción a los ganaderos interesados en tener una ganadería libre de productos químicos y aquellos que buscan las certificaciones o realizar las aplicaciones de producto biológico después de una aplicación de producto químico ya que las garrapatas que se adhieren al ganado después de la aplicación son garrapatas en estado de ninfa volviéndose así sobre el animal en adulto joven y este producto tiene mejor control sobre esta etapa del ciclo de la garrapata.

Palabras clave: Bioacaricidas, ectoparásitos, garrapatas.

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimiento a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Contenido.....	viii
	Indice de cuadros.....	ix
	Indice de Anexos.....	x
1	INTRODUCCION.....	1
2	REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1	Descripción taxonómica y ciclo de vida de <i>Boophilus microplus</i>	3
2.2	Hongos entomopatógenos.....	3
2.3	Modo de acción.....	3
2.4	Modo de acción sobre las garrapatas.....	4
2.5	Método de inoculación por inmersión.....	4
3	MATERIALES Y METODOS.....	5
3.1	LOCALIZACION.....	5
3.2	METODOLOGIA.....	5
3.2.1	Etapa I Laboratorio.....	5
3.2.2	Etapa II Campo.....	6
3.3	TRATAMIENTO.....	6
3.3.1	Etapa I Laboratorio.....	6
3.3.2	Etapa II Campo.....	7
3.4	VARIABLES MEDIDAS.....	7
3.4.1	Etapa I Laboratorio.....	7
3.4.2	Etapa I Campo.....	7
3.5	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	7
3.5.1	Etapa I Laboratorio.....	7
3.5.2	Etapa II Campo.....	7
3.6	ANALISIS ESTADISTICO.....	8
3.6.1	Etapa I Laboratorio.....	8
3.6.2	Etapa II Campo.....	8

4	RESULTADOS Y DISCUSION	9
4.1	ETAPA I LABORATORIO.....	9
4.1.1	Mortalidad.....	9
4.1.2	Infección de garrapatas.....	9
4.2	ETAPA II CAMPO.....	10
4.2.1	Porcentaje de sobrevivencia.....	11
4.3	ANALISIS ECONOMICO.....	12
5	CONCLUSIONES	13
6	RECOMENDACIONES	14
7	BIBLIOGRAFIA	15
8	ANEXOS	17

INDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Concentraciones para la aplicación de cepas de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en etapa I.....	6
2.	Dosis de tratamientos utilizados en las aplicaciones de la etapa II.....	7
3.	Evaluación estadística de mortalidad e infección de garrapatas con dos cepas de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i>	9
4.	Población inicial de garrapatas en toros antes de la aplicación de los tratamientos.	10
5.	Sobrevivencia de garrapatas en dos fechas después de la aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> Zamorano y <i>Metarhizium anisopliae</i> Yara en comparación con el porcentaje de sobrevivencia en animales tratados con Amitraz [®] y agua.....	11
6.	Costos de aplicación de BAZAM [®] y METAZAM [®] en comparación con Amitraz [®]	12

INDICE DE ANEXOS

Anexo

1. Ciclo de vida de garrapata Ixódidos. A. Con un solo huésped.
Ejemplo: *Boophilus* spp..... 17
2. Datos climáticos en los días de aplicación en el mes de septiembre..... 17

1. INTRODUCCION

Las garrapatas del género *Boophilus microplus* es la especie de garrapatas que más especies de animales atacan en todo el mundo. Estos ectoparásitos presentan su ciclo de vida en tres fases: larvas, ninfas y adultos; que antes de tomar la sangre de sus huéspedes son planos y al succionarla sus cuerpos se distienden en grados variables. Al fijarse al cuerpo y chupar sangre las garrapatas dañan la superficie del cuero, debilitan a los animales atacados y transmiten enfermedades contagiosas (Cueronet 2000).

De acuerdo a Colciencias (2003) en Colombia se ha calculado que las garrapatas causan pérdidas anuales superiores a los ciento nueve millones de dólares; además las pérdidas económicas ocasionadas por enfermedades hemoparasitarias (babesiosis y anaplasmosis) son cuantiosas y se puede estimar una disminución del 40% en leche y un 58% en carne. Según la FAO (2005) se ha estimado que en países con buen sistema de control, las pérdidas ocasionadas por ectoparásitos alcanzan del 10 al 20% del valor total de la producción anual, y en países con sistemas deficientes de control, el porcentaje es entre el 30 y el 40% del valor anual de la producción.

El control de garrapatas basado en el uso exclusivo de químicos es insostenible a largo plazo, por el desarrollo de resistencia y presencia de residuos; así pues, se reporta resistencia múltiple de *Boophilus microplus* con un 95% de resistencia a los Piretroides Sintéticos (PS) y Amitraz (amidinas), además del alto costo de estos productos. Por otra parte los baños garrapaticidas penetran la piel, envenenan poco a poco al animal, generando residuos en la leche y carne (Colciencias 2003).

Buscando alternativas de control se han realizado varios estudios para combatirlos; uno de ellos es la aplicación de hongos entomopatógenos. Según Fernández (2004) los hongos poseen características que definen muy bien sus posibilidades como biocontroladores, por su alto poder patogénico y capacidad de producir epizootias. Los hongos entomopatógenos actúan principalmente por contacto, cuando el hongo es capaz de penetrar dentro de la garrapata e invadirla provocando la muerte por micosis.

Rijo (1987) aisló cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* que eliminaron el 92% de los huevos en garrapatas a los 15 días en condiciones de laboratorio. Adicional a esto aisló *Verticillium lecanii* que además de tener propiedades ovicida, mataron el 100% de las larvas del ectoparásito y tuvo acción micótica sobre adultos al producir la infestación del 30 al 40% de la masa de huevos. Partiendo de estos ensayos se realizaron pruebas en el campo de las que se obtuvo una reducción total del ectoparásito.

Según SENASA en Perú (2002) se realizó una investigación para determinar la acción de hongos como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Verticillium lecanii* sobre diferentes estadios de desarrollo de las garrapatas. Utilizaron soluciones esporogénicas de 2.7×10^8 conidias/mL demostrando una mortalidad del 100% en *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y 67% con *Verticillium lecanii*. La fase de campo se realizó con 27 vacunos infestados con *Boophilus microplus* los cuales fueron bañados con aspersiones de biopreparados (soluciones de hongo y agua) a intervalos de cuatro días. La mortalidad por *Metarhizium anisopliae* fue 68%, *Beauveria bassiana* 59% y *Verticillium lecanii* 47%.

En Zamorano se evaluó la efectividad que tienen estos hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre el desarrollo de las garrapatas en condiciones de campo y laboratorio. El objetivo general del estudio fue, evaluar el efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de garrapatas. Los objetivos específicos fueron: seleccionar cepas de *Beauveria bassiana* y de *Metarhizium anisopliae* con mayor efecto de control sobre las garrapatas en la etapa de laboratorio; determinar a nivel de campo el efecto de los hongos entomopatógenos sobre las garrapatas y comparar con el testigo químico.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 DESCRIPCION TAXONOMICA Y CICLO DE VIDA DE *Boophilus microplus*

Garrapatas *Boophilus microplus* pertenece a la Clase *Arachnida* Orden *Acarina* Familia *Ixodidae*. Presenta rostro corto, con ojos, palpos con arrugas transversas y peritremos circulares. El macho es muy pequeño y presenta un surco atrás que rodea el ano. El macho fecunda a la hembra y muere a los pocos días. La hembra se desprende y en el suelo inicia la postura en 2 a 6 días, por un período de 8 a 20 días. El tiempo de incubación puede durar hasta 50 días (según el clima y humedad). Las larvas nacen con tres pares de patas y se fijan al huésped, muda de cutícula en 7 días y pasa a ninfa (con 8 patas), en 8 a 9 días muda y luego adulto. El ciclo total es de 19 a 22 días por término medio en climas medios o templados, esta familia puede sobrevivir de 21 a 27 meses sin alimento (Vélez 1995) (Anexo1).

2.2 HONGOS ENTOMOPATOGENOS

Los hongos usados para el control de insectos son llamados hongos entomopatógenos. Son un grupo de micro-organismos ampliamente estudiados. *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* pertenecen a la división *Eumycota* y la subdivisión *Deuteromycotica* también llamados hongos imperfectos por que aparentemente no se conocen su fase sexual (meiótica, ascogena o teleomorfa) y se reproduce por conidias (esporas asexuales). Ellos ocurren en la naturaleza y a menudo causan reproducciones significativas en poblaciones de insectos incluyendo especies plagas (Monzon 2004).

2.3 MODO DE ACCION

Los hongos entomopatógenos, infectan al hospedante a través de la cutícula externa. Esta forma de penetración es única de los hongos ya que otros entomopatógenos como bacterias y virus penetran por vía oral. El contacto entre el inóculo del entomopatógeno y el insecto es fundamental para el inicio del proceso infeccioso; el contacto ocurre al azar, un clima favorable, suficiente cantidad de inóculo en el ambiente, así como la existencia de suficientes insectos hospedantes son factores que favorecen el efecto de los hongos entomopatógenos. La epicutícula o capa externa del integumento del hospedante es el sitio inicial de la interacción patógeno-hospedante. El integumento es una estructura muy compleja, cuya composición química es muy importante para el proceso de penetración. Entre sus componentes se encuentran lípidos, lipoproteínas, polifenoles y proteínas. Se ha observado que esta capa posee finos canales por los cuales ocurre el suministro de ceras, azúcares y proteínas, los cuales juegan un rol muy importante de las interacciones señal-receptor, entre la cutícula y la espora. Azúcares no estructurales y compuestos nitrogenados producidos por plantas o el insecto puede contaminar la cutícula, afectando así el proceso de fijación (Monzon 2004).

En el proceso de micosis se observan tres fases a) germinación de la espora en la cutícula del hospedero; b) penetración del integumento del insecto por medio del tubo germinativo c) desarrollo del hongo dentro del cuerpo del insecto y su multiplicación. En este proceso se pueden verificar 10 pasos: Adhesión, germinación, multiplicación del hongo, producción de toxinas, muerte del insecto, colonización, producción de micelio hacia el exterior, esporulación y diseminación del hongo (Rijo 1987).

2.4 MODO DE ACCION SOBRE LAS GARRAPATAS

Colciencias (2003) afirma que se ha encontrado una cepa de *Metarhizium anisopliae* que ataca con alta efectividad el género *Boophilus microplus*, pues disminuye su fecundidad, produciendo menos huevos y reduciendo los nacimientos de nuevas larvas de garrapatas. La conidia cae sobre el cuerpo de la garrapata y el hongo empieza a germinar, al hacerlo produce dos fenómenos, uno bioquímico a través del cual el hongo produce enzimas que debilitan los tejidos blandos de la garrapata y otro mecánico produciendo presión sobre él. Enzimas y presión causan una grieta sobre las estructuras blandas de la garrapata y el hongo penetra por allí causando una micosis que finalmente mata las garrapatas. También penetra por las aperturas de respiración de la garrapata llamadas espiráculos. Colciencias (2003) agrega que la cepa de *Metarhizium anisopliae* seleccionada es la más potente bajo condiciones de laboratorio, sin embargo, en campo debe ser evaluada teniendo en cuenta condiciones de alta humedad y sombra, que son las recomendadas para que el hongo actúe efectivamente sobre la garrapata.

2.5 METODO DE INOCULACION POR INMERSION

El método de inoculación es influenciado principalmente por la forma del inóculo, el tamaño y fragilidad del insecto. El inóculo es comúnmente administrado a la superficie de la cutícula por diferentes métodos tales como espolvoreo, aspersion e inmersión. La inmersión es el método más utilizado en el laboratorio para dosificación en suspensiones de esporas en un tiempo específico. Generalmente este es un método rápido y conveniente de dosificación, pero encontrar la medida exacta de la dosis tiene un alto grado de dificultad. Para asegurarse que cada insecto de un grupo utilizando un tratamiento, reciben dosis similares, los grupos de insectos deben ser simultáneamente sumergidos. El cuidado que se debe tomar es que cada insecto este la misma cantidad de tiempo en la suspensión (Navon y Ascher 2000).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 LOCALIZACION

La investigación se realizó entre los meses de mayo y septiembre de 2005 en la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, ubicado en el Valle del Río Yeguaré departamento de Francisco Morazán Honduras. Zamorano está ubicado a 30 km al Este de Tegucigalpa, 14° latitud norte, 87° longitud oeste, a 800 msnm, precipitación promedio anual de 1200 mm y temperatura promedio anual de 23° C.

3.2 METODOLOGIA

El estudio consistió de dos etapas:

3.2.1 Etapa I Laboratorio

Recolección e identificación: Se recolectaron garrapatas en estado adulto joven del ganado vacuno de la unidad de terneros de Zamorano. La recolección se realizó manualmente, desprendiendo las garrapatas con el dedo índice y pulgar, evitando dañar el hipostoma de las mismas. Las garrapatas recolectadas fueron identificadas como *Boophilus microplus* de la familia Ixodidae.

Inoculación: Luego de la recolección e identificación, las garrapatas fueron inoculadas sumergiéndolas durante cinco minutos en las diferentes soluciones de tratamientos establecidos, éstas se sumergieron utilizando el método de Navon y Ascher (2000); a diferencia de las garrapatas del testigo que fueron sumergidas en agua destilada. Posteriormente, se colocaron en cámaras húmedas. Las cámaras húmedas se elaboraron en placas petri de plástico de 8.5 cm de diámetro por 1.5 cm de altura que contenían un disco de papel toalla para ayudar a mantener la humedad. Se colocaron seis garrapatas inoculadas en cinco platos petri, se le agregó agua destilada al disco de papel toalla, luego fueron selladas con papel parafilm y rotuladas.

Muestreos: Después de la inoculación se realizaron dos muestreos, el primero a los siete días y 14 días después de la inoculación. Se contabilizaron las garrapatas muertas, infectadas o contaminadas por otras causas. Una vez evaluadas las garrapatas, los platos fueron sellados nuevamente. Al finalizar las evaluaciones, las garrapatas que tuvieron esporulación fueron usadas para realizar nuevos aislamientos y verificar bajo al microscopio que las garrapatas estuvieran contaminadas con los hongos en mención.

3.2.2 Etapa II Campo

Una vez seleccionadas las cepas más eficientes en la etapa I, se procedió a ejecutar la etapa de campo que consistió en:

Selección e identificación: Se usaron 22 toros de la unidad de terneros de Zamorano, con edades de 24 meses, con una infección promedio de 68 garrapatas por animal. Se aseguró que las garrapatas de los toros eran del género *Boophilus microplus* y se procedió a la selección de los animales por su número correlativo. Se identificó el área con mayor infección de garrapatas; localizada en las patas traseras, ancas, flancos y testículos.

Aplicación: Antes de las aplicaciones se realizó el conteo de garrapatas en la zona marcada. El nivel crítico utilizado para la primera aplicación fue de 20 garrapatas por animal. Las aplicaciones fueron hechas con bombas manuales de 16 litros utilizando una solución de 4 litros por animal. La dosis por bomba fue de 9.6 g de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* asperjando aproximadamente 2.4 g por animal. El producto químico aplicado fue Amidinas (Amitraz®) utilizando una dosis de 25 mL en una bomba de 16 litros y aplicando 2 litros por animal. Los animales fueron completamente asperjados hasta penetrar el pelo del animal. Se realizaron dos aplicaciones cada siete días para los productos biológicos y una aplicación cada 21 días para el producto químico.

3.3 TRATAMIENTO

3.3.1 Etapa I Laboratorio

Se utilizaron dos cepas de *Beauveria bassiana* (Zamorano y 455 de Nicaragua) y dos cepas de *Metarhizium anisopliae* (Yara e Inglés) y un testigo con agua (Cuadro1).

Cuadro 1. Concentraciones para la aplicación de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en la etapa I

Tratamientos	Cepa	Conidias/mL
<i>Beauveria bassiana</i>	Nicaragua (455)	2.8×10^{11}
	Zamorano	2.8×10^{11}
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Yara	2.5×10^{12}
	Inglés	2.5×10^{12}

3.3.2 Etapa II campo

En el ensayo de campo se utilizó la cepa Zamorano de *Beauveria bassiana* (BAZAM) y cepa Yara de *Metarhizium anisopliae* (METAZAM) que fueron las que presentaron mayor porcentaje de infección a las garrapatas en laboratorio y se aplicó el producto químico Amitraz[®] 12.5% (cada mL de producto contiene 12.5 mg de Amitraz) y un testigo con agua (Cuadro 2).

Cuadro 2. Dosis de los tratamientos utilizados en las aplicaciones de la etapa II.

Tratamiento	No. Animales	Dosis
<i>Beauveria bassiana</i> cepa Zamorano (BAZAM [®])	7	19.2 g
<i>Metarhizium anisopliae</i> cepa Yara (METAZAM [®])	7	19.2 g
Amidinas (Amitraz [®])	4	12.5 L
Testigo absoluto Agua	4	-

g.= gramos, l= litros

3.4 VARIABLES MEDIDAS

3.4.1 Etapa I Laboratorio

- Mortalidad: la mortalidad se midió contando el número de garrapatas muertas a los siete días.
- Infección de garrapatas: Se midió a los 14 días determinando la cantidad de garrapatas infectadas con los hongos.

3.4.2 Etapa II Campo

Porcentaje de sobrevivencia: Se cuantificaron las garrapatas vivas en cada animal 7 días después de cada aplicación y se cuantificó el porcentaje de sobrevivencia sobre la población inicial.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.5.1 Etapa I laboratorio

Se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA), con 90 repeticiones y tres réplicas por tratamiento, usando una garrapata como unidad experimental.

3.5.2 Etapa II campo

Se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA), se usaron 22 toros, 7 para el tratamientos *Beauveria bassiana* y 7 para *Metarhizium anisopliae*, cuatro testigo con agua y cuatro con Amitraz[®], tomando cada toro como una unidad experimental.

3.6 ANALISIS ESTADISTICO

3.5.1 Etapa I laboratorio

Se realizó un Análisis de Varianza (ANDEVA) usando un Modelo Lineal General (GLM) y una separación de medias “Student-Newman-Keuls” (SNK) para las variables número de garrapatas muertas y número de garrapatas infectadas. El nivel de significancia exigido fue de 0.05. Se utilizó el programa estadístico “Statistical Analysis System” (SAS 2001).

3.5.2 Etapa II campo

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) usando un Modelo Lineal General (GLM) y una separación de medias usando la prueba de Turkey para las variables mortalidad y tiempo de infección. El nivel de significancia exigido fue de 0.01. Se utilizó el programa MINITAB (MINITAB 1999).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 ETAPA I LABORATORIO

4.1.1 Mortalidad

La mortalidad de garrapatas fue estadísticamente mayor ($P \leq 0.05$) en el tratamiento que se usó *Metarhizium anisopliae* cepa Yara al resto de los tratamientos. Los tratamientos *Beauveria bassiana* cepa Zamorano y *Metarhizium anisopliae* cepa Inglés no presentan diferencia estadística ($P \leq 0.05$) en porcentaje de mortalidad. *Beauveria bassiana* cepa Nicaragua presentó los niveles más bajos de mortalidad que el resto de los tratamientos. El testigo presentó un porcentaje muy bajo de mortalidad, esto ocasionado por otros patógenos contaminantes (Cuadro 3).

4.1.2 Infección de garrapatas

El tratamiento que mayor porcentaje de infección lo obtuvo *Beauveria bassiana* cepa Zamorano con un porcentaje estadísticamente ($P \leq 0.05$) mayor de infección en comparación con las otra cepas. Los tratamientos *Metarhizium anisopliae* cepa Inglés y *Beauveria bassiana* cepa Nicaragua son estadísticamente ($P \leq 0.05$) iguales en porcentaje de infección pero diferentes a *Beauveria bassiana* cepa Zamorano. *Metarhizium anisopliae* cepa Yara fue diferente a los demás tratamientos obteniendo el porcentaje de infección mas alto de la cepa de *Metarhizium anisopliae*. El testigo mostró diferencia con respecto a los tratamientos con un porcentaje de infección menor estadísticamente ($P \leq 0.05$) que la cepa Inglés (Cuadro3).

Cuadro 3. Evaluación estadística de mortalidad e infección de garrapatas con dos cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*

Tratamiento	Mortalidad	Infección
	% de garrapatas muertas	% de garrapatas infectadas
<i>Metarhizium anisopliae</i> Yara	93 a ^{&}	33 c
<i>Metarhizium anisopliae</i> Inglés	78 b	22 b
<i>Beauveria bassiana</i> Zamorano	73 b	71 a
<i>Beauveria bassiana</i> Nicaragua	60 c	38 b
Testigo	6 d	8 d

[&] Datos de las columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes con $P \leq 0.05$, según prueba SNK.

Beauveria bassiana cepa Zamorano y *Metarhizium anisopliae* cepa Yara dieron los mejores resultados para la mortalidad y la infección, determinando que las garrapatas inoculadas a los 7 días murieron y a los 14 días se observaron infectadas por los hongos inoculados. El porcentaje de garrapatas muertas pero no infectadas en los tratamientos, se atribuye a varios factores, uno de ellos fue la dificultad de manipular el ambiente dentro de los platos. Según Benavides (2005), la biología de las garrapatas puede verse alterada por la humedad relativa o temperatura del ambiente; así mismo la temperatura interna en los platos petri es difícil de monitorear. Otro factor que posiblemente incidió en el ensayo, es que las garrapatas antes de ser inoculadas no podían ser desinfectadas con alcohol, ya que esto podía causar la muerte por asfixia de las garrapatas. El porcentaje de garrapatas muertas en el testigo se debió al poco control del ambiente dentro de los platos y a la contaminación por bacterias; también afectaron hongos contaminantes que están en el ambiente del laboratorio como *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger*.

4.2 ETAPA II CAMPO

Con base en el estudio anterior, los mejores tratamientos fueron la cepa Zamorano y la cepa Yara, éstas se usaron para ser evaluadas contra el tratamiento químico y un testigo absoluto. La población de garrapatas en los animales evaluados, resultó ser igual estadísticamente para cada tratamiento (Cuadro 4).

Cuadro 4. Población inicial de garrapatas en toros antes de la aplicación de los tratamientos 17/09/05.

Tratamiento	Número de garrapatas
Testigo absoluto (agua)	60
BAZAM [®]	58
METAZAM [®]	81
Amitraz [®]	74

4.2.1 Porcentaje de sobrevivencia

El testigo absoluto agua, fue el tratamiento con mayor porcentaje de sobrevivencia después de las aplicaciones (Cuadro 5), este porcentaje fue significativamente ($P \leq 0.01$) mayor al resto de tratamientos METAZAM[®], BAZAM[®] y Amitraz[®] los cuales no presentaron diferencia en cuanto a porcentaje de sobrevivencia entre ellos.

Cuadro 5. Sobrevivencia de garrapatas en dos fechas después de la aplicación de *Beauveria bassiana* Zamorano y *Metarhizium anisopliae* Yara en comparación con el porcentaje de sobrevivencia en animales tratados con Amitraz[®] y Agua.

Tratamiento	24/09/05	31/09/05
Testigo absoluto Agua	144 a ^{&}	203 a
<i>Beauveria bassiana</i> cepa Zamorano (BAZAM [®])	31 b	21 b
<i>Metarhizium anisopliae</i> cepa Yara (METAZAM [®])	43 b	30 b
Amidinas (Amitraz [®])	14 b	42 b

[&] Datos de las columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes con $P \leq 0.01$, según prueba Turkey.

Los productos METAZAM[®] y BAZAM[®] ejercieron un control sobre las poblaciones iniciales de garrapatas al igual que el producto Amitraz[®], comparando el muestreo inicial con el segundo muestreo (después de siete días). Esto demuestra que la sobrevivencia de garrapatas después cada aplicación es menor a la población inicial. En el muestreo realizado después de la segunda aplicación se observan reducciones de garrapatas en los tratamientos METAZAM[®] y BAZAM[®] pero no en Amitraz[®], que aunque no existe una diferencia significativas, las poblaciones aumentaron. El porcentaje de sobrevivencia de garrapatas en con el producto Amitraz[®] se debe a que el producto solo se aplicó una vez en el tiempo destinado para el experimento, siguiendo las recomendaciones hechas por la casa comercial que lo produce, que consiste en; realizar una aplicación cada 21 días para la especie *Boophilus microplus*. Los productos biológicos actúan de forma más eficiente cuando la humedad relativa es alta y la radiación solar baja, debido a que entre más humedad relativa y menos radiación solar las conidias se mantienen más tiempo viables. La humedad relativa y la radiación solar durante las aplicaciones fueran las adecuadas para obtener un resultado favorecedor (Anexo 2).

4.3 ANALISIS ECONOMICO

Se realizó una comparación económica entre los precios de los tratamientos; Amitraz[®] y los productos biológicos BAZAM[®] y METAZAM[®] (Cuadro 6).

Según las recomendaciones, de la casa comercial Amitraz[®] se debe aplicar una vez cada 21 días para el control de *Boophilus microplus* en los animales ya que el producto mantiene residualidad. Para BAZAM[®] y METAZAM[®] se realizaron dos aplicaciones cada 7 días siguiendo las recomendaciones dadas por los estudios realizados por Rijo (1987).

Cuadro 6. Costos de aplicación de BAZAM[®] y METAZAM[®] en comparación con Amitraz[®]

Producto	Precio (L)	Cant.	Dosis/ bomba	No. de Aplic.	Ani./ bomba	Costo/ bomba	Costo/ animal	Costo M.O. (L)	Total (L)
Amitraz [®]	565	1 l	25 mL	1	8	14.1	1.7	1.3	3.0
BAZAM [®]	440	240 g	9.6 g	2	4	17.6	4.4	2.6	7
METAZAM [®]	440	240 g	9.6 g	2	4	17.6	4.4	2.6	7

L = Lempiras, Cant.= Cantidad, Aplic.= Aplicación, Ani.=Animal, M.O.= Mano de obra

Según el ensayo realizado en campo la utilización de estos productos biológicos no son más económicos que la aplicación del producto químico debido que el precio de las aplicaciones de Amitraz[®] para control de *Boophilus microplus* es más bajo que el de los productos biológicos, esto se debe al número de aplicaciones realizadas. Rijo (1987) recomienda que antes de realizar el tratamiento biológico debe procederse a deprimir la población del parásito con un producto químico y luego seguir con los baños biológicos con frecuencia semanal, durante las primeras diez semanas y posteriormente espaciar cada 15 días reduciendo la frecuencia de baño.

5. CONCLUSIONES

Las dos cepas de *Beauveria bassiana* (Nicaragua y Zamorano) y dos cepas de *Metarhizium anisopliae* (Yara e Inglés) ejercen un control sobre la garrapata *Boophilus microplus* en evaluaciones de laboratorio.

En la Etapa I laboratorio, los mejores resultados de mortalidad e infección se obtuvieron de la cepa Yara y Zamorano.

Beauveria bassiana (BAZAM[®]) y *Metarhizium anisopliae* (METAZAM[®]) ejercen un control similar al garrapaticida químico (Amitraz[®]) cuando son aplicados a nivel de campo (animales).

La utilización de productos biológicos no es más económico que la aplicación del producto químico.

Los productos biológicos tiene la ventaja, que pueden ser aplicados sin restricciones de tiempo, contrario al Amitraz[®] que sólo se puede aplicar cada 21 días; además, son una opción para los ganaderos interesados en tener una producción libre de productos químicos y aquellos que buscan las certificaciones orgánicas.

6. RECOMENDACIONES

Pruebas en campo y bajo condiciones adversas como climas secos y con baja humedad relativa con productos biológicos como BAZAM® y METAZAM® para control de garrapatas en campo.

Aplicar los producto biológico después de una aplicación de producto químico ya que las garrapatas que se adhieren al ganado después de la aplicación son garrapatas en estado de ninfa volviéndose así sobre el animal en adulto joven etapa en la que las garrapatas son mas susceptibles a los hongos entomopatógenos.

Probar los prodcutos con otras especies de garrapatas que se encuentra en Zamorano.

7. BIBLIOGRAFIA

Cueronet. 2000. Piel cruda. Consultado 9 de marzo de 2005. Disponible (en línea): http://www.cueronet.com/flujograma/pielcruda_manejo_ganado.htm

Conciencias. 2003. Nueva vacuna de Limor de Colombia contra las garrapatas. Consultado 11 de abril de 2005 .Disponible (en línea): <http://www.colciencias.gov.co/agenda/pn137.html>

Benavides, E. 2004. Control de garrapatas con hongos entomopatógenos. Consultado 15 de enero de 2005. Disponible (en línea): <http://pwp.007mundo.com/saludanimal/discusion/comefrben.htm>

FAO. 2005. Departamento de Agricultura. Resistencia a los antiparasitarios; estado actual con énfasis en América Latina. Consultado 11 de abril 2005. Disponible (en línea): http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/DOCREP/006/Y4813S/y4813s03.htm.

Fernández, O. 2004. Tecnologías para la producción de biopesticidas a base de hongos entomopatógenos y su control de calidad. Consultado 15 de enero 2005. Disponible (en línea): <http://www.aguascalientes.gob.mx/agro/produce/HONG-ENT.htm>.

Hoffmann, A. 1996. Las bombas succionadoras de sangre Consultado el 10 de octubre 2005 Disponible. (en línea): http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/060/htm/sec_13.htm.

MINITAB[®]. 1999. Minitab Statistical Software for Windows[®], Minitab Inc, USA.

Monzon, A. 2004. Producción de hongos entomopatógenos. Nicaragua. CATIE 63 p.

Navon, A.; Ascher, K. 2000. Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. USA Butt T. Goettel M. Bioassays of entomogenous fungi. Department of Entomology Agricultural Research Organization Bet Dagan Israel .141-191

Rijo, E. 1987. Control de garrapatas del ganado, *Boophilus microplus* (canestrini) con hongos entomopatógenos. Consultado 15 de enero de 2005. Disponible (en línea): <http://www.aguascalientes.gob.mx/agro/produce/GARRAPAT.htm>.

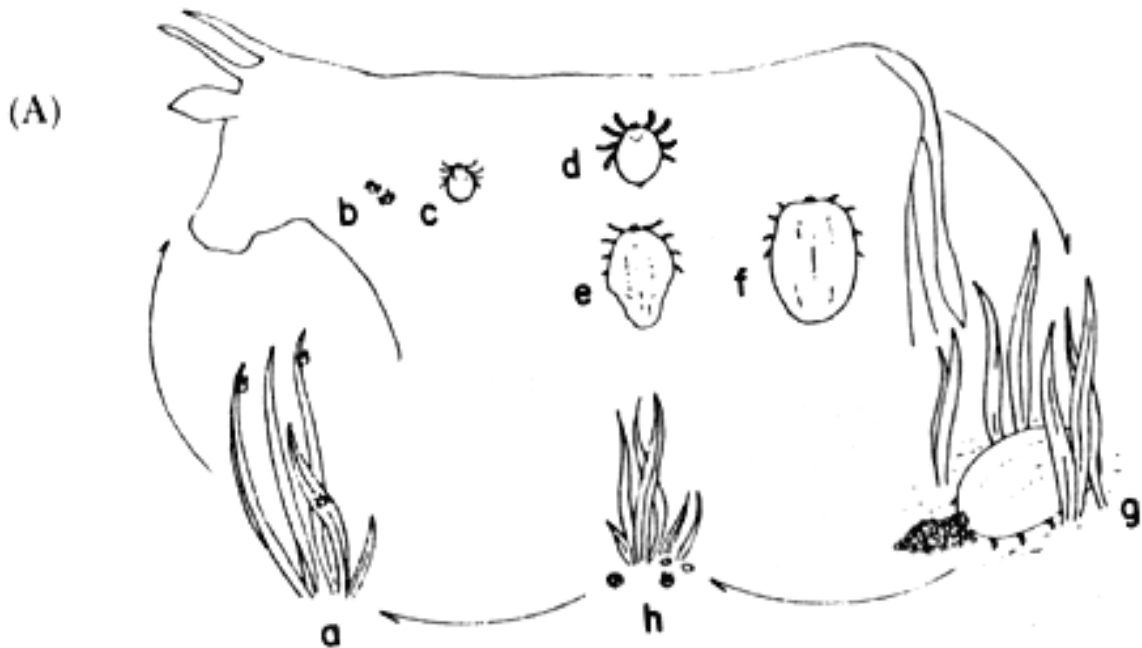
SAS Institute. 2001. SAS[®] serguide: statistical versión 8.0 Edition. SAS Institute Inc.

SENASA. 2002. Efecto de tres cepas de hongos entomopatógenos para el control de *Boophilus microplus* en bovinos. Consultado 15 de enero 2005. Disponible (en línea): http://www.lamolina.edu.pe/convencionentomologia/enotmologia_medica.htm

Vélez, A. 1995. Guías en parasitología veterinaria. Artrópodos. Medellín, Colombia Ed. Exitodinámica. 417 p.

8. ANEXOS

Anexo1. Ciclo de vida de garrapata Ixódidos. A. Con un solo huésped. Ejemplo: *Boophilus* spp. A. a) Larvas en la punta de las hierbas, dispuestas a agarrarse al huésped que padece. b) larvas sobre el huésped; después de alimentarse se transforman en c) ninfas, las que después de alimentarse se transforman en d) machos y e) hembras; f) hembra fecundada y alimentada, se desprende del huésped y g) cae al suelo donde oviposita; h) al cabo de algún tiempo eclosionan las larvas (Hoffman 1996).



Anexos 2 Datos climáticos en los días de aplicación de BAZAM[®], METAZAM[®] en el mes de septiembre del 2005.

Días	Precipitación (mm)	Humedad relativa promedio	Temperatura °C	
			Máxima	Mínima
17	2.0	92.5	29.0	19
24	13	88.1	31.5	19