



UNIVERSIDAD DEL ZULIA
REVISTA CIENTÍFICA



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

MARACAIBO, ESTADO ZULIA, VENEZUELA



EFECTO DE *Beauveria bassiana* (ASCOMYCOTA) EN EL CONTROL DE *Rhipicephalus microplus* (ARACHNIDA: IXODIDA, IXODIDAE) RESISTENTE A IXODICIDAS

Effect of *Beauveria bassiana* (Ascomycota) on control of *Rhipicephalus microplus* (Arachnida: Ixodida, Ixodidae) resistant to ixodicides

Adriana Marcela Galindo-Soracá¹, Martín Orlando Pulido-Medellín¹ y Diego José García-Corredor^{1,2*}

¹Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. GIDIME-VETZ. ²Doctorado en Ciencias Biológicas y Ambientales. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

*Correspondencia diegojose.garcia@uptc.edu.co

RESUMEN

Se evaluó el efecto patógeno del hongo *Beauveria bassiana* (Ascomycota) a diluciones de 1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^8 conidias/mL sobre la viabilidad y la reproducción de la garrapata *Rhipicephalus microplus* (Arachnida: Ixodida, Ixodidae) resistente a ixodicidas. La eficacia de mortalidad encontrada para Cipermetrina (CP) fue de 41,8%, Amitraz (AM) 66,7% y Triclorfon (TR) de 100%; se encontraron correlaciones positivas para TR y negativas para AM y CP. Los bioensayos presentaron eficacias de mortalidad entre 95,26 y 98,43% a partir del día (d) 10, con invasión del hongo a partir del d 8 en el 77% de la población evaluada. Los parámetros reproductivos fueron reducidos después de la infección presentando eficacia de la reducción de la ovoposición entre 23,4 y 47,2%; y eficacia de reducción de la eclosión entre 16,3 y 79,3%. Los resultados sugieren baja susceptibilidad a AM y CP y alta a TR. Garrapatas susceptibles a TR son iguales de susceptibles a *B. bassiana*, mientras que garrapatas con mayor supervivencia frente a los químicos, tienen menor probabilidad de supervivencia frente al hongo. La cepa BbF2011 del hongo *B. bassiana* puede ser considerada como potencial control biológico de *R. microplus* y debe incluirse como elemento importante en el manejo integrado de garrapatas resistentes a ixodicidas.

Palabras clave: *Beuveria bassiana*; *Rhipicephalus microplus*; resistencia; ixodicidas.

ABSTRACT

The pathogenic effect of the fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota) was evaluated at dilutions of 1×10^4 , 1×10^6 and 1×10^8 conidia/mL on the viability and reproduction of the resistant tick *Rhipicephalus microplus* (Arachnida: Ixodida, Ixodidae). The efficacy of the mortality found for Cypermethrin (CP) was 41.8%, Amitraz (AM) 66.7% and Trichlorfon (TR) of 100%; positive correlations were found for TR and negative correlations for AM and CP. The bioassays showed mortality efficiencies between 95.26 and 98.43% from day (d) 10, with invasion of the fungus from day 8 in 77% of the evaluated population. The reproductive parameters were reduced after infection, presenting an efficacy of oviposition reduction between 23.4 and 47.2%; and efficiency of hatching reduction between 16.3 and 79.3%. The results suggest low susceptibility to AM and CP and high to TR. Ticks susceptible to TR are equal to susceptible to *B. bassiana*, while ticks with greater survival against chemicals, have a lower probability of survival against the fungus. The strain BbF2011 of the fungus *B. bassiana* can be considered as a potential biological control of *R. microplus* and should be included as an important element in the integrated management of ticks resistant to ixodicides.

Key words: *Beuveria bassiana*; *Rhipicephalus microplus*; resistance; ixodicides.

INTRODUCCIÓN

En bovinos, (*Bos taurus*) el ectoparasitismo generado por la garrapata (*Rhipicephalus microplus*) (Latreille, 1806) (Arachnida: Ixodida, Ixodidae) produce efectos directos e indirectos en la sanidad y la productividad de estos hospedadores, algunos de los cuales pueden ser muy intensos de manera que su control requiere medidas más fuertes y continuas. El control de estos ectoparásitos se basa principalmente en tratamientos con ixodicidas de origen químico, pero su uso intensivo y en condiciones inapropiadas ha conllevado a que las poblaciones de garrapatas desarrollen resistencia a la mayoría de estos agentes químicos volviéndolos ineficaces [1]. En Colombia, la aplicación de ixodicidas varía de 6 a 24 veces por año (a), y se utiliza de 500 a 1.000 mililitros (mL) de cada acaricida por animal [3]. No existe evidencia tangible del efecto en la ecología del ectoparásito en diferentes regiones del país, pero se reporta que existen tratamientos ineficaces para el control [21].

Aun cuando no se han realizado estudios en Colombia para determinar la extensión de la situación de resistencia, no obstante, se han ejecutado trabajos de carácter regional que permiten visualizar el problema, determinándose que se encuentra presente en diversas regiones e incluye los acaricidas más utilizados (amitraz, ethion y cipermetrina) [3, 27]. Asimismo, se debe tener en cuenta el posible efecto en salud pública debido a la presencia del compuesto químico en productos de consumo de origen animal como leche y carne [8]. Ante la potencial toxicidad e ineficacia de la mayoría de los compuestos químicos para el control de garrapatas, se sugieren sistemas alternativos de control enmarcados en el manejo integrado de plagas, entre los que se pueden encontrar el uso de mezclas de acaricidas de origen químico [26], vacunas [4], extractos vegetales [22] y hongos entomopatógenos [10, 13].

Los hongos entomopatógenos son considerados como enemigos naturales de gran importancia en el control de artrópodos, por lo que pueden ser utilizados como agentes biocontroladores dentro de programas de manejo integrado de poblaciones de garrapatas [16].

El control biológico mediante el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota-Hypocreales, Clavicipitaceae) ha demostrado tener una eficacia patógena sobre la viabilidad y la eficiencia reproductiva de garrapatas [11, 24]; la razón para esta preferencia reside en su amplio rango de acción correspondiente a cerca de 750 especies de artrópodos, el alto grado de conocimiento a nivel molecular de la interacción hospedador -patógeno y el desarrollo del sistema de producción de este hongo [12].

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar *in vitro* la actividad de la cepa BbF2011 del hongo entomopatógeno *B. bassiana* contra poblaciones de hembras de la garrapata *R. microplus*, que mostraron ser resistentes a dos ixodicidas de origen químico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para los experimentos, se recolectaron garrapatas adultas repletas de dos producciones de ganado bovino criollo ubicadas en la región de Ricaurte Alto de Boyacá, en los municipios de Arcabuco y Gachantivá, Colombia. La ubicación topográfica de las fincas se reporta con 2.450 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m) en Gachantivá y 2.739 m.s.n.m en Arcabuco; la temperatura media es de 13 a 15 °C., estas características medioambientales son similares al Altiplano Cundiboyacense donde se evidencia distribución y adaptación biológica de *R. microplus*. [6]. Las garrapatas se colocaron en tubos de ensayo con tapas perforadas para permitir la aireación, se etiquetaron y transportaron al laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), allí se lavaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1% para la asepsia de la cutícula y posteriormente fueron enjuagadas con agua destilada y secadas con toallas de papel estéril.

Previo a la realización del estudio, se determinó la susceptibilidad de las garrapatas a los ixodicidas de origen químico en las fincas evaluadas teniendo en cuenta las dosis recomendadas por el fabricante y la concentración utilizada por los productores, realizando pruebas de inmersión [7] con cuatro tratamientos: T1: 1mL/L de (CP) 15%, T2: 1,5 gramos (g) /L de TR 97%, T3: 1 mL/L de AM 20,8% y T4 o control (agua destilada). Cada tratamiento fue probado con tres réplicas, cada una con 20 garrapatas. Para ello, cada garrapata se sumergió en 1,5 mL de los ixodicidas por un minuto (min). Posteriormente, fueron secadas con papel absorbente estéril, colocadas en cajas Petri y mantenidas en cámara de incubación (Memmert®, INE 500 E5120992, Alemania) a 27 ± 1 °C y $80 \pm 5\%$ de humedad relativa (HR) durante 21 días (d) El efecto de las diferentes suspensiones de ixodicidas, fue evaluado a través de los parámetros: eficacia de la mortalidad (EM) y eficacia de la reducción de la eficiencia reproductiva (PCONER).

Para la evaluación del efecto de *B. bassiana* sobre las garrapatas, se utilizó la cepa BbF2011 de la colección micológica de la Fundación de Asesorías para el Sector Rural Ciudad de Dios (FUNDASES, 2011) en Bogotá, Colombia. El crecimiento de los hongos se realizó en agar Saboraud Dextrosa, enriquecido con 1% de extracto de levaduras y 500 partes por millón (ppm) de cloranfenicol; después se incubó (Memmert®, INE 500 E5120992, Alemania) a 25 ± 1 °C y 70% de HR durante tres semanas (sem). La cosecha de conidias se realizó por raspado y se suspendió en agua destilada estéril; se prepararon tres concentraciones de 1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^8 conidias/mL en forma directa utilizando un hemocitómetro de Neubaüer. Para determinar la viabilidad de las colonias se colocó 100 microlitros (uL) de la suspensión en agar dextrosa Sabouraud y se incubó bajo las condiciones mencionadas anteriormente. A las 48 horas (h), se evaluó la viabilidad de las conidias (germinación de los conidios, crecimiento vegetativo y esporulación).

Los bioensayos fueron basados en las técnicas descritas por Drummond y col. [7], así las garrapatas pletóricas que mostraron más vitalidad (motilidad del estigma respiratorio y ciegos intestinales) fueron seleccionadas, pesadas y distribuidas en 4 tratamientos con 20 hembras cada uno así: T1: Suspensión de 1×10^4 conidias/mL; T2: Suspensión de 1×10^6 conidias/mL; T3: Suspensión de 1×10^8 conidias/mL y Tcontrol (Agua destilada).

Se llevó a cabo la inmersión de cada garrapata en placas entomológicas individuales con 1,5 mL del biopreparado por 60 segundos (seg); después, las hembras se secaron sobre papel absorbente estéril, se colocaron individualmente en placas entomológicas debidamente identificadas (cepa, dilución y réplica) y se mantuvieron en incubadora a temperatura de 27 ± 1 °C y HR de $80 \pm 5\%$, en oscuridad constante durante dos sem para la ovoposición, realizándose observaciones diarias al estereoscopio (Nikon®, C-Leds 219202, Japón) donde además se evaluó mortalidad e invasión superficial (IS) del hongo.

A las dos sem, cada lote de huevos se pesó (Ohaus®, Pioneer PA313, México) y depositó en un tubo de vidrio rotulado, se tapó con algodón húmedo y se llevó a incubación bajo condiciones controladas de humedad y temperatura para la eclosión (28 °C y 85% HR por 35 d). Cada tubo se observó diariamente, cada muestra se llevó a una caja Petri con solución de alcohol para inactivar las larvas y facilitar el conteo de huevos rotos en una muestra de 100 huevos.

La eficacia de las diferentes suspensiones de *B. bassiana* fue evaluada a través de las directrices regulatorias europeas para preparaciones ectoparasitarias de Thrusfield [25]. Para evaluar la EM, se realizó observación individual diaria durante tres sem de la motilidad del estigma respiratorio y ciegos intestinales utilizando estereoscopio, basado en los resultados se aplicó la siguiente fórmula:

$$EM = \frac{(\% \text{ Supervivencia Control} - \% \text{ Supervivencia Tratamiento})}{(\% \text{ Supervivencia Control})} \times 100$$

De igual forma se evaluó la eficacia de la reducción de la ovoposición (ERO), teniendo en cuenta el índice de eficiencia de conversión (IEC):

$$ERO = \frac{IEC \text{ Control} - IEC \text{ Tratamiento}}{IEC \text{ Control}} \times 100$$

Donde IEC = Peso de huevos de la unidad experimental (UE)/ peso de garrapatas de la UE.

Para obtener la eficacia de reducción de la eclosión (ERE), se tomaron cinco alícuotas de una muestra de un gramo (g) de huevos, se realizó el conteo de 100 huevos, diferenciando huevos rotos y enteros [24], y se determinó el porcentaje de eclosión (% E) por tratamiento mediante la siguiente fórmula [11]:

$$\%E = \frac{C}{H} \times 100$$

Donde C = huevos rotos y H= huevos

$$ERE = \frac{(\% E \text{ Grupo control} - \% E \text{ Grupo biosensayo})}{\% E \text{ Grupo control}}$$

La eficiencia reproductiva (ER) por tratamiento se obtuvo a partir de la siguiente fórmula

$$ER = (IEC) \times (\% E/100) \times 20.000$$

Donde IEC = Peso de huevos de la UE /peso de garrapatas de la UE; E = Porcentaje de eclosión y 20.000 = número de huevos estimado por g de masa ovígena.

El PCONER se calculó mediante la fórmula

$$PCONER = \frac{(ER \text{ Grupo control} - ER \text{ del trabajo})}{ER \text{ Grupo Control}} \times 100$$

Asimismo, en cada grupo de garrapatas se registró el grado de invasión superficial (IS) de micelas en la cutícula mediante observación de cada espécimen por medio de estereoscopio y se clasificó así: I de 0 a 25% de IS, II de 25 a 50% de IS, III de 50 a 75% de IS y IV de 75 a 100% de IS. La observación se realizó durante 21 d.

Los datos de EM, ERO, ERE, ER y el PCONER de cada uno de los tratamientos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA), comparados entre sí mediante prueba de Tukey con 5 % de significancia ($P \leq 0,05$). Se realizó prueba de correlación de Pearson entre el grado de efectividad de los ixodícidicos químicos y la efectividad de *B. bassiana* con respecto a la tasa de supervivencia usando el software libre R 3.4.3 [18]. Además, se determinó el tiempo letal 50 (TL_{50}) mediante observación diaria de mortalidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La EM encontrada para CP fue de 41,8%, AM 66,7% y TR de 100%; según la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) [9], valores $\geq 95\%$ de mortalidad sugieren susceptibilidad al químico, por lo que los resultados encontrados en las fincas de la región de Ricaurte Alto, podrían sugerir baja susceptibilidad a AM y CP y alta a TR. La ineficacia a los químicos puede estar relacionado con los antecedentes de control, los ixodícidicos usados y la frecuencia de administración; al tenerse mayor tiempo de contacto con algún tipo de ixodícidico se desarrolla resistencia de forma más rápida [5].

Mediante coeficiente de relación de Pearson (TABLA I) se determinó que a concentraciones más altas (1×10^8), se encontraron correlaciones positivas para TR ($r > 0$) y negativas ($r < 0$) para AM y CP, indicando que garrapatas susceptibles a TR son iguales de susceptibles a *B. bassiana*, mientras que garrapatas con mayor supervivencia frente a los químicos,

tendrán menor probabilidad de supervivencia frente al hongo.

El mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos en los artrópodos es totalmente diferente a los ixodicidas de origen químico, ya que aquellos matan a los invertebrados por la invasión del hemocele, causa una inmunosupresión toxica en garrapatas reduciendo los hemocitos en circulación. La patogénesis causada por *B. bassiana* podría ser alterada por los niveles de lípidos y proteínas en la hemolinfa de *R. microplus*. Los mecanismos de resistencia de la penetración de *R. microplus* a los químicos modifican la concentración de lípidos por consiguiente pueden facilitar o retardar la penetración afectando en alguna medida la susceptibilidad a la infección por hongos [2, 17].

TABLA I
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LA SUPERVIVENCIA A IXODICIDAS Y LA SUPERVIVENCIA A LA CEPA BbF2011 DEL HONGO *B. bassiana*

TRATAMIENTO	AM	CP	TR
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁴	0,006	0,006	-0,006
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁶	0,50	0,50	-0,50
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁸	-1,00	-1,00	+1,00

AM= Amitraz CP=Cipermetrina TR= Triclorfon

La EM de los tratamientos *B. bassiana* a 1x10⁶ conidias/mL y 1x10⁸ conidias/mL fue la misma llegando a una mortalidad de 97,63% al d 21, mientras que la EM encontrada en la concentración de 1x10⁴ conidias/mL fue de 92,86 % (P ≤0,05) (TABLA II). La mortalidad acumulada fue mayor de la primera a la segunda sem con valores de 38 a 66% para *B. bassiana* a 1x10⁴ conidias/mL; 40 a 71,2% en la concentración de 1x10⁶ conidias/mL y 29,6 a 84,8% para 1x10⁸ conidias/mL, presentándose en este periodo el mayor efecto patógeno de la cepa y con mejores valores a las concentraciones más altas.

El TL₅₀ de *B. bassiana* se muestra en la TABLA II y varía de 8,6 a 12,5 d sin diferencias significativas entre tratamientos (P ≤0,05).

Raymond y col. [19] determinaron que, sustancias encontradas en la cutícula principalmente proteínicas ricas en alanina, prolina y aminoácidos hidrofóbicos son las responsables de incrementar la germinación conidial en el hongo *B. bassiana* y la subsecuente penetración hifal. Algunos de ellos son nutrientes que favorecen el crecimiento del hongo, sustancias que en la ovoposición se reducen por la disminución y paso de hifa a los huevos en el proceso.

Con los tratamientos de *B. bassiana* (cepa BbF2011), la supervivencia de las garrapatas se encontró asociada a la presentación de micelos en la superficie de la cutícula. La presencia de la micosis observada en los grupos de garrapatas tratadas indica que *B. bassiana* fue la causa de la mortalidad; su facilidad de penetración directamente a través de la cutícula, usando mecanismos enzimáticos y mecánicos determina que la patogenicidad de los hongos entomopatógenos sobre garrapatas adultas, se incrementa en la medida que aumenta la concentración de los biopreparados [10]. Sin embargo, Motta y Murcia [15] afirman que la alta producción de micelios no está asociada a mayor virulencia y patogenicidad, y que una germinación por debajo de 50% no es menos importante debido a que hay alta producción de toxinas antes de la muerte de los conidios.

Aunque el tratamiento con *B. bassiana* reduce la ovoposición en rangos de 23,40 a 47,2 % sin encontrarse diferencias entre tratamientos (TABLA III). Según Kaaya y Hedimbi [14], los adultos infectados por entomopatógenos que no mueren se ven afectados significativamente en el tracto genital, así como la postura de huevos. Los resultados del estudio demuestran que los tres tratamientos fueron patógenos para *R. microplus* resistentes a ixodicidas (A y C), similar a lo reportado por Ren y col. [20] con reducción de la ovoposición de 42,6 a 54,2% en diluciones de 1x10⁸ conidias/mL; de igual forma, el porcentaje de eclosión se redujo en un 79% con mejor efecto en el tratamiento de 1x10⁴ conidias/mL.

Aunque la concentración más baja de hongo presentó menor ER, entre valores por tratamientos no se encontraron diferencias significativas (P ≤0,05). Por otro lado, el PCONER reporta valores

TABLA II
SUPERVIVENCIA (%), EM, TL₅₀, MICOSIS (%) E INICIO DE MICOSIS EN *R. microplus* A DIFERENTES TRATAMIENTOS DE *B. bassiana*

Tratamiento	Supervivencia (%)	EM	TL50 (Días)	Micosis (%)	Inicio micosis (Días)
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁴	4,73 ±4,7 ^b	92,86 ± 7,1 ^a	12,5 ^c	77,62 ± 4,7 ^c	8,8 ± 2,1 ^c
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁶	1,56 ±2,7 ^b	97,63± 4,0 ^a	8,6 ^d	81,82 ± 8,4 ^c	8,8 ± 1,8 ^c
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁸	1,56 ±2,7 ^b	97,63± 4,0 ^a	12,5 ^c	82,52 ± 8,1 ^c	8,5 ±1,9 ^c

Superíndices diferentes indican P<0,05 (Tukey). Valores promedio y SD

TABLA III
PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EVALUADOS EN *R. microplus* RESISTENTE A IXODICIDAS CON *B. bassiana*

TRATAMIENTO	ERO	ERE	ER	PCONER
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁴	23,4±12,3 ^a	79,3± 12,5 ^a	205,5±145,2 ^b	83,4±11,6 ^a
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁶	31,0±35,1 ^a	0±0 ^b	1348,0±1215,9 ^{ab}	31,0±67,7 ^b
<i>B. bassiana</i> 1x10 ⁸	47,2±11,3 ^a	16,3±27,7 ^b	526,40±102,5 ^{ab}	57,68 ±8,2 ^a
Control			1465 ^a	

ERO: eficacia reducción de la ovoposición; ERE: eficacia de reducción de la eclosión, ER: eficacia de reproducción, PCONER: porcentaje de control de eficiencia reproductiva.

Superíndices diferentes en la misma columna difieren a P<0,05 (Tukey). Valores promedio y SD

favorables de control (TABLA III), observándose reducción de la reproducción. Al tratarse de un método de control biológico, los resultados encontrados fueron favorables, teniendo en cuenta que la prueba se realiza sobre garrapatas repletas, las cuales son más tolerantes, por lo menos al control químico [23].

CONCLUSIONES

Las pruebas de eficacia realizadas en el presente estudio sugieren que las fincas de la región de Ricaurte Alto presentaron susceptibilidad baja a AM y CP y alta a TR. La susceptibilidad de *R. microplus* a los ixodidas puede influir en la sensibilidad a la infección por hongos observándose que, en garrapatas con tolerancia al control químico con AM y CP, un tratamiento con la cepa BbF2011 de *B. bassiana* podría ser eficaz a concentraciones de 1x10⁸ conidias/mL mostrando mayores mortalidades y control de la ovoposición, por lo que este hongo es considerado como acaricida potencial para el control biológico de garrapatas *R. microplus* resistentes, enmarcado dentro de un programa de manejo integrado del ectoparásito, contribuyendo a la disminución del uso de ixodidas de origen químico. De igual forma, se observó que la patogenicidad de los hongos sobre las garrapatas adultas en condiciones de laboratorio, se incrementó en la medida que aumentó la concentración de los tratamientos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABBAS, R.; ZAMAN, M.; COLWELL, D.; GILLEARD, G.; IQBAL, Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. **Vet. Parasitol.** 203 (1-2): 6-20. 2014.
- [2] ANGELO, I.; GOLO, P.; CAMARGO, M.; KLUCK, G.; FOLLY, E.; BITTENCOURT, V. Haemolymph protein and lipid profile of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infected by fungi. **Transbound Emerg. Dis.** 57 (1): 79-83. 2010.
- [3] ARAQUE, A.; UJUETA, S.; BONILLA, R.; GÓMEZ, D.; RIVERA, J. Resistencia a acaricidas en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* de algunas explotaciones ganaderas de Colombia. **Rev. UDCA Act. Div. Cien.** 17(1): 161-170. 2014.
- [4] BETANCOURT, A.; PATIÑO, F.; TORRES, O.; EUGENIO, B. Prueba de establo para evaluar la efectividad de la vacuna TickVac MK contra *Boophilus microplus*. **Rev. ACOVEZ.** 32 (3): 18-25. 2005.
- [5] BRAVO, M.; CORONADO, A.; HENRIQUEZ, H. Eficacia *in vitro* del amitraz sobre poblaciones de *Boophilus microplus* provenientes de explotaciones lecheras del estado Lara, Venezuela. **Zoot. Trop.** 26 (1): 35-40. 2008.
- [6] CORTÉS, J.; BETANCOURT, A.; ARGÜELLES, J.; PULIDO, L. Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia). **Rev. CORPOICA Cien. Tec. Agro.** 11(1): 73-84. 2010.
- [7] DRUMMOND, R.; ERNST, S.; TREVINO, J.; GLADNEY, W.; GRAHAM, O. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory Test of Insecticides. **J. Eco. Entomol.** 66 (1): 130-133. 1973.
- [8] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. **Estudio FAO Producción y Sanidad Animal.** 157: 1-51. 2003.
- [9] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Module 1. Ticks: acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. **FAO Plant Proceedings Bull.** 19: 15-18. 2007.
- [10] FERNANDES, E. ; BITTENCOURT, E. ; ROBERTS, D. Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. **Exp. Parasitol.** 130: 300-305. 2012.
- [11] FERNÁNDEZ, M.; BERLANGA, A.; CRUZ, C.; HERNÁNDEZ, V. Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la inhibición de oviposición, eclosión y potencial reproductivo en una cepa triple resistente de garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). **Entomotrop.** 25: 109-115. 2010.

- [12] GALIDEVARA, S.; REINEKE, A.; KODURU, U.D. *In vivo* expression of genes in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* during infection of lepidopteran larvae. **J. Invertebr. Pathol.** 136: 32-34. 2016.
- [13] GARCÍA-CORREDOR, D.J.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; PULIDO-MEPELLÍN, M.O.; DÍAZ-ANAYA, A.M.; ANDRADE-BECERRA, R.J. Evaluación *in vitro* de *Cordyceps bassiana* (Ascomycota: Sordariomycetes) en el Control Biológico de *Rhipicephalus microplus*. **Rev. Inv. Vet. Per.** 27(1): 130-136. 2016.
- [14] KAAYA, G; HEDIMBI, M. The use of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, as bio-pesticides for tick control. **Int. J. Agri. Scien.** 2 (6): 245-250. 2012.
- [15] MOTTA, P.; MURCIA, B. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. **Rev. Amb. Agua.** 6 (2): 77-90. 2011.
- [16] PERINOTTO, W.M.S.; ANGELO, I.C.; GOLO, P.S.; QUINELATO, S.; CAMARGO, M.G.; SÁ, F.A.; BITTENCOURT, V.R. Susceptibility of different populations of ticks to entomopathogenic fungi. **Exp. Parasitol.** 130: 257-260. 2012.
- [17] POSADAS, B.; LECUONA, E. Selection of native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycetes: Clavicipitaceae) for the microbial control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **J. Med. Entomol.** 46 (2): 284-291. 2009.
- [18] R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing 2016. R Foundation for Statistical Computing. Austria En línea. <http://www.R-project.org>. 22-10-18.
- [19] RAYMOMD, K.; ROJAS, F.; BENAVIDES, E.; COTES, A.; VILLAMIZAR, L.; RONDEROS, V.; GARCÍA, P. Effect of entomopathogenic fungi on the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodida): use of pathogenicity activators. **Rev. Col. Entomol.** 30 (1): 1-6. 2004.
- [20] REN, Q.; ZHIJIE, L.; GUIQUAN, G.; MING, S.; MILING, M.; QINGLI, N.; YOUQUAN, L.; AIHONG, L.; JUNLONG, L.; JIFEI, Y.; HONG, Y.; JIANXUN, L. Laboratory evaluation of virulence of Chinese *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to engorged female *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks. **Biol. Cont.** 63 (2): 98-101. 2012.
- [21] SEPÚLVEDA, A.L.; PULIDO-MEPELLÍN, M.O.; RODRÍGUEZ-PACHECO, J.E.; GARCÍA-CORREDOR, D.J. Eficiencia *in vitro* de hongos entomopatógenos y productos químicos sobre *Rhipicephalus microplus*. **Vet. Zoot.** 11 (2): 67-80. 2017.
- [22] SINGH, N.K.; MILLER, R.J.; KLAFKE, G.M.; GOOLSBY, J.A.; THOMAS, D.B.; PEREZ, A.A. *In-vitro* efficacy of a botanical acaricide and its active ingredients against larvae of susceptible and acaricide-resistant strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). **Ticks Tick-Borne Dis.** 9 (2): 201-206. 2018.
- [23] SUN, M.; REN, Q.; GUAN, G.; LIU, Z.; MA, M.; GOU, H.; CHEN, Z. Virulence of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus* to the engorged female *Hyalomma anatolicum anatolicum* tick (Acari: Ixodidae). **Vet. Parasitol.** 180: 389-393. 2011.
- [24] SUN, M.; REN, Q.; GUAN, G.; LI, Y.; HAN, X.; MA, C.; LUO, J. Effectiveness of *Beauveria bassiana* sensu lato strains for biological control against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in China. **Parasitol. Int.** 62 (5): 412-415. 2013.
- [25] THRUSFIELD, M. The Design and Conduct of Clinical Trials. Defining Efficacy. **Eff. Ecto. Prep.** 1: 225-246. 1997.
- [26] VALENCIA, G.; OQUENDO, J.; AGUDELO, L.; CARRASQUILLA, D. Evaluación de una mezcla de cipermetrina+ clorpirifós sobre la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en pruebas de campo y de laboratorio en el predio Esteban Jaramillo Román Gómez del Politécnico Colombiano de Marinilla, Antioquia. **Rev. CES Med. Zoot.** 4(2): 57-65. 2009.
- [27] VILLAR, D.; GUTIÉRREZ, J.; PIEDRAHITA, D.; RODRÍGUEZ-DURÁN, A.; MARTÍNEZ, N.; CORTÉS-VECINO, J.A.; GÓNGORA-ORJUELA, A.; CHAPARRO-GUTIÉRREZ, J.J. Resistencia *in vitro* a acaricidas tópicos de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* provenientes de cuatro departamentos de Colombia. **Rev. CES Med. Zoot.** 11 (3): 58-70. 2016.



REVISTA CIENTÍFICA

Vol, XXVIII, N° 5 _____

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en
Octubre de 2018, por La Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.*