

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS COMERCIALES
CAMPUS MANAGUA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación del Efecto del Hongo *Bauveria bassiana* en el Control de las Garrapatas en Bovinos de Quinta Jerusalén de Camoapa del Departamento de Boaco en el Periodo de Marzo a Junio 2021.

Sustentantes:

EMVZ. Fátima Espinoza Fernández.

EMVZ. José Humberto Castellón Navarrete.

Asesor:

Dr. Ligia Hernández Salgado Ph.D.

Managua, Nicaragua, diciembre del 2021

INDICE DE CONTENIDO

Contenido	Página
DEDICATORIA.....	i
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	ii
INDICE DE FIGURAS.....	iii
INDICE DE ANEXOS	iv
RESUMEN	v-vi
ABSTRACT	vii-viii
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo General	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
III. HIPOTESIS	4
3.1 Hipótesis de Investigación	4
3.2 Hipótesis Nula	4
3.3 Hipótesis Alternativa	4
IV. DISEÑO METODOLÓGICO	5
4.1 Ubicación del Área de Estudio	5
4.2 Diseño Metodológico.....	6
4.2.1 Estudio <i>in vitro</i>	6
a. Identificación del género de las garrapatas coleccionadas del cuerpo de los bovinos de la quinta Jerusalén.....	6
b. Bioensayo. Evaluación del efecto de patogenicidad producido por una dilución 1×10^8 de conidios puros de <i>Bauveria bassiana</i> sobre las garrapatas.....	7
4.2.2 Estudio <i>in vivo</i>	11
a. Determinación de la efectividad del hongo <i>Bauveria bassiana</i> en garrapatas que parasitan a los bovinos naturalmente infectados mediante aplicación de baños por aspersión.....	8
<i>Aplicación del hongo Bauveria bassiana mediante baño de aspersión.....</i>	9
4.3 Análisis de datos	10
4.4 Materiales	10
4.5 Instrumentos	10

V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
	5.1 El primer ensayo se realizó de forma <i>in vitro</i>	11
	5.1.1 Estudio <i>in vitro</i>	11
	5.1.1.1 Identificación del género de las garrapatas encontradas en los bovinos de la quinta Jerusalén	11
	5.1.1.2 Bioensayo. Evaluación del efecto de patogenicidad producido por una dilución 1×10^8 de conidios puros de <i>Bauveria bassiana</i> sobre las garrapatas	13
	5.2 El segundo ensayo se realizó de forma <i>in vivo</i>	15
	5.2.1 Estudio <i>in vivo</i>	15
	5.2.1.1 Determinación de la efectividad del hongo <i>Bauveria</i> <i>bassiana</i> en garrapatas que parasitan a los bovinos naturalmente infectados mediante la aplicación de baños por aspersión.....	15
VI.	CONCLUSIONES	20
VII.	RECOMENDACIONES.....	21
VIII.	LITERATURA CITADA	22
IX.	ANEXOS	28

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi esposo, mi amigo, mi cómplice, mi confidente, por ser parte importante en el logro de mis metas profesionales, por creer en mí y estar siempre animándome, agradeceré por siempre a la vida el que te convirtieras en mi destino deseo una larga vida a tu lado porque eres un hombre especial y maravilloso.

A mis Hijos porque son el mejor regalo que Dios me pudo dar y la fuente más pura de inspiración y motivación para nunca rendirme en los estudios y poder llegar hacer un ejemplo para ellos.

A mis adorables pequeños de la casa mis nietos. José Carlos, Fatima Antonella, Michell Alessandra, Farisha Katiella y Katherine Josué porque fueron mi principal fuerza para llevar a cabo este logro y que mi ejemplo sean su inspiración del mañana.

Fátima Espinoza Fernández.

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a DIOS, por todas y cada una de sus abundantes Bendiciones, quien en todo momento guio mis pasos e ideas para permitirme culminar con éxito mi carrera.

José Humberto Castellón Navarrete.

AGRADECIMIENTO

Al concluir esta etapa maravillosa de mi vida quiero extender un profundo agradecimiento a Dios, primeramente, por permitirme culminar con éxito esta hermosa etapa maravillosa de mi vida por regalarme salud, sabiduría y fuerza de voluntad para lograr mis objetivos.

A mis padres, Julio Espinoza Somoza y Lorenza Fernández Ortega por darme la vida y haberme forjado con valores y responsabilidades.

A mi incondicional esposo José Antonio González por ser parte de mi motivación e inspiración, por cada palabra de apoyo y fortaleza que me brindo para superarme.

A mis hijos Katherine J, José Carlos, y Kellsey D. por motivarme e inspirarme con cada palabra de apoyo.

A mis hermanos y sobrinos por apoyarme en todo momento.

A la Dra. Ligia Hernández Ph.D., por estar siempre animándome y compartiendo sus conocimientos para concluir este trabajo de investigación.

Fátima Espinoza Fernández.

AGRADECIMIENTO

Agradezco infinitamente A Dios, por haberme dado la vida, por llevarme de la mano en cada paso que he dado, por la sabiduría y el entendimiento en el día a día, por haberme permitido llegar a esta nueva fase de mi vida.

A mis Padres Francisco Javier Castellón Noguera y mi Madre Ety Navarrete, por el apoyo y la confianza que me brindaron en todo momento.

A mi Esposa Paola Marchena por motivarme y apoyarme en todo momento.

A Mi asesora la Dr. Ligia Hernández Salgado Ph.D., por confiar en mí y estar siempre al pendiente, compartiendo sus conocimientos para concluir este proyecto.

A todos y cada uno de los Docentes que en el transcurso de la carrera fueron parte importante de mi formación como profesional.

José Humberto Castellón Navarrete.

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Macro localización de quinta Jerusalén, Camoapa, Boaco -----	5
Figura 2. Cambios de las garrapatas en el tiempo -----	13
Figura 3. Niveles de infestación antes de los baños -----	15
Figura 4. Niveles de infestación antes y después de los baños -----	16
Figura 5. Cambios morfológicos observados en las garrapatas-----	18-19

INDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
Anexo 1. Lote de 30 vacas -----	28
Anexo 2. Clasificación de las garrapatas -----	28
Anexo 3. Identificación taxonómica de las garrapatas -----	29
Anexo 4. Guía ilustrada de garrapatas -----	29-30
Anexo 5. Baño de las garrapatas con la dilución del hongo (<i>B. bassiana</i>) -----	30
Anexo 6. Cámaras húmedas -----	31
Anexo 7. Arroz inoculado con el hongo <i>B. bassiana</i> -----	31
Anexo 8. Preparación de la mezcla -----	32
Anexo 9. Realizando baño por aspersión <i>in vivo</i> -----	32
Anexo 10. Niveles iniciales de infestación de garrapatas-----	33
Anexo 11. Niveles iniciales de infestación de garrapatas-----	33
Anexo 12. Resultados iniciales del primer baño realizado -----	34
Anexo 13. Estudio a nivel <i>in vivo</i> -----	34
Anexo 14. Estudio a nivel <i>in vivo</i> -----	35
Anexo 15. Estudio a nivel <i>in vitro</i> -----	35
Anexo 16. Estudio a nivel <i>in vitro</i> -----	36
Anexo 17. Método de transporte del hongo <i>Bauveria bassiana</i> -----	36
Anexo 18. Lote de 30 vacas de ordeño -----	37
Anexo 19. Garrapatas identificadas a nivel <i>in vitro</i> -----	37

RESUMEN

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados al necesitar sangre durante una parte fundamental de su ciclo de vida, pertenecen a la familia *Ixodidae* y se encuentran ubicados taxonómicamente en la clase *Arachnida*, en salud pública y sanidad animal las garrapatas son importantes, por ser transmisoras de enfermedades infecciosas. El impacto económico ocasionado por estos ectoparásitos se distribuye en pérdidas directas e indirectas. Por otra parte, los hongos entomopatogenos se encargan de limitar la producción de artrópodos, plagas y organismos parásitos que generaran daños económicos en diversos campos como el agrícola y ganadero. Tienen alta virulencia contra las garrapatas, por esto han sido rápidamente desarrollados para el control biológico de plagas. Es por eso que para el desarrollo del presente estudio se realizaron dos tipos de ensayos uno *in vitro* y otro *in vivo*; con el propósito de evaluar el ensayo *in vitro* se procedió a identificar el género de las garrapatas encontradas en los bovinos de la quinta Jerusalén mediante estereoscopía, así mismo se evaluó el efecto producido sobre estas garrapatas con una dilución de 1×10^8 de conidias puras de *Bauveria bassiana*, y para el ensayo *in vivo* se evaluó la efectividad del hongo *Bauveria bassiana* en las garrapatas de bovinos naturalmente infectados mediante aplicación de baños por aspersión. Siguiendo las líneas de nuestro estudio se establecieron los resultados en dos tipos de ensayos; en el estudio *in vivo* se obtuvo como resultado la identificación y presencia de los géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, de igual manera también la dilución 1×10^8 de conidios puros de *Bauveria bassiana* utilizada en este mismo ensayo *in vitro* fue altamente efectiva para las garrapatas de los géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, anteriormente identificadas. Por otra parte, en el estudio *in vivo*, se obtuvo como resultado que los niveles de efectividad que se obtuvieron con la aplicación del *Bauveria bassiana* a través de los baños por aspersión a los bovinos de la quinta Jerusalén fueron significativos, alcanzando en el primer baño en el nivel alto una disminución del 16.6 (1 Bovino) de efectividad, el nivel medio de infestación alcanzo una disminución del 68.42% (13 Bovinos) de efectividad, en cambio el nivel bajo de infestación disminuyo en un 100% (5 Bovinos) de efectividad, determinando que la efectividad en este primer baño corresponde al 63.3%.

En el segundo baño realizado 7 días después del primer baño el nivel alto de infestación consiguió una disminución del 100%(5 Bovinos) de efectividad, el nivel medio de infestación alcanzo una disminución del 16.6%(5 Bovinos) de efectividad, Mientras el nivel bajo se mantuvo en 100% de efectividad, determinando que la efectividad en este segundo baño corresponde al 83.3%. Al realizarse el tercer y último baño 14 días después del primer baño, se observó que el nivel alto de infestación se mantuvo en un 100% de efectividad, en cambio el nivel medio de infestación disminuyo y paso de estar de 5 bovinos a 1 bovino, determinándose que la efectividad en este tercer baño alcanzo el 96.7% (29 Bovinos), es decir que, de los 30 bovinos, 29 de estos resultaron totalmente limpios.

Palabras clave: Ectoparásitos, hongos entomopatogenos

ABSTRACT

Ticks are obligate hematophagous ectoparasites as they need blood during a fundamental part of their life cycle, they belong to the *Ixodidae* family and are taxonomically located in the *Arachnida* class, in public health and animal health ticks are important, for being transmitters of diseases infectious. The economic impact caused by these ectoparasites is distributed in direct and indirect losses. On the other hand, entomopathogenic fungi are responsible for limiting the production of arthropods, pests and parasitic organisms that generate economic damage in various fields such as agriculture and livestock. They have high virulence against ticks, which is why they have been rapidly developed for biological control of pests. That is why for the development of the present study, two types of tests were carried out, one *in vitro* and the other *in vivo*; With the purpose of evaluating the *in vitro* test, the gender of the ticks found in the cattle of the fifth Jerusalem was identified by means of stereoscopy, likewise the effect produced on these ticks with a dilution of 1×10^8 of pure conidia of *Bauveria bassiana* was evaluated. , and for the *in vivo* test, the effectiveness of the fungus *Bauveria bassiana* on naturally infected bovine ticks was evaluated by applying spray baths. Following the lines of our study, the results were established in two types of trials; In the *in vivo* study, the identification and presence of the *Rhipicephalus* and *Amblyomma* genera was obtained. In the same way, the 1×10^8 dilution of pure conidia of *Bauveria bassiana* used in this same *in vitro* assay was highly effective for ticks of the *Rhipicephalus* genera. and *Amblyomma*, previously identified. On the other hand, in the *in vivo* study, it was obtained as a result that the levels of effectiveness that were obtained with the application of *Bauveria bassiana* through the spray baths to the bovines of the fifth Jerusalem were significant, reaching in the first bath at the high level a decrease of 16.6 (1 Cattle) of effectiveness, the average level of infestation reached a decrease of 68.42% (13 Cattle) of effectiveness, on the other hand the low level of infestation decreased by 100% (5 Cattle) of effectiveness, determining that the effectiveness in this first bath corresponds to 63.3%. In the second bath carried out 7 days after the first bath, the high level of infestation achieved a decrease of 100% (5 Cattle) of effectiveness, the average level of infestation reached a decrease of 16.6% (5 Cattle) of effectiveness, while the low level remained at 100% effectiveness, determining that the effectiveness in this second bath corresponds at 83.3%.

When the third and last bath was carried out 14 days after the first bath, it was observed that the high level of infestation remained 100% effective, while the average level of infestation decreased and went from 5 bovines to 1 bovine. determining that the effectiveness in this third bath reached 96.7% (29 Bovines), that is to say that, of the 30 bovines, 29 of these were totally clean.

Key words: Ectoparasites, entomopathogenic fungi

I. INTRODUCCION

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados al necesitar sangre durante una parte fundamental de su ciclo de vida (Polanco y Ríos, 2016, p.83), pertenecen a la familia *Ixodidae* y se encuentran ubicados taxonómicamente en la clase *Arachnida*, cuya característica principal es que en su vida adulta poseen cuatro pares de patas y su cuerpo está dividido en dos regiones, cefalotórax y abdomen (Mastropaolo *et al.* 2017 p.140). En la salud pública y sanidad animal las garrapatas son importantes, por ser transmisoras de enfermedades infecciosas y afectan al 80% de la población bovina del mundo. (Dantas y Torres *et al.* 2012, p.439)

Entre los impactos negativos que acarrearán estos ectoparásitos se encuentran: baja producción de carne y leche, daño a las pieles de los hospederos, problemas reproductivos y la transmisión de enfermedades, como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale* y *Theileria parva* (Polanco y Ríos, 2016, p.86).

En la actualidad, las enfermedades provocadas por los microorganismos patógenos transmitidos por las garrapatas están aumentando en diferentes países debido a los cambios y a la variabilidad climática, así como, a los escenarios de globalización, representando amenazas para la salud pública y animal en todo el mundo (Dantas y Torres *et al.* 2012, p.442).

Por otra parte, el control de ectoparásitos, se ha basado en el uso desmedido de moléculas sintéticas, que se aplican mediante baños de inmersión y aspersion. Dicha práctica se ha relacionado con un mal manejo de los productos químicos, bien sea por una sub o sobredosificación, la rigurosidad en el mecanismo de aplicación de los productos, la frecuencia de aplicación, la selección y rotación de moléculas acaricidas y la falta de una base epidemiológica para el control de los ectoparásitos. (Rodríguez *et al.* 2006, p.16).

Sin tomar en consideración los daños ocasionados hacia al ambiente, animales, personas encargadas de su aplicación, además de producir un progresivo aumento en la resistencia a este parásito, y por ende un incremento en los residuos de acaricidas en leche y carne (Broglia *et al.* 2012, p.99).

Por esta razón en este estudio se pretende evaluar el efecto del hongo entomopatógeno *Bauveria bassiana* en el control de las garrapatas en bovinos de la quinta Jerusalén del municipio de Camoapa, del departamento de Boaco en el periodo de marzo a junio, a través de técnicas *in vitro* e *in vivo* que ayuden a valorar la efectividad que este produce en las garrapatas.

Contribuyendo a la disponibilidad de información referente al uso del hongo entomopatógeno; *Bauveria bassiana* en el control de garrapatas de bovinos, y que sirva de base a las organizaciones que trabajan en producción de hongos entomopatógenos y a los ganaderos para generalizar el uso y comercialización de bioplaguicidas.

En particular los hongos entomopatógenos ofrecen varias ventajas en el control de plagas: bajos costos de producción, bajo impacto ambiental, no tiene efectos sobre organismos acuáticos, y animales de sangre caliente, son más selectivos que los productos químicos y puede utilizarse en áreas de producción orgánica, la eliminación de sus residuos es relativamente fácil. (Barrientos, 2002, p.27)

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto del hongo entomopatogeno *Bauveria bassiana* en el control de las garrapatas en bovinos de la quinta Jerusalén del municipio de Camoapa, del departamento de Boaco en el periodo de marzo a junio.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar el género de garrapatas que parasitan a los bovinos de finca Jerusalén.
- Evaluar mediante ensayos *in vitro* el efecto producido por una dilución 1×10^8 de conidias puras de *Bauveria basiana* sobre las garrapatas.
- Determinar la efectividad garrapaticida del hongo *Bauveria bassiana* en garrapatas que parasitan en los bovinos naturalmente infectados mediante la aplicación de baños por aspersión.

III. HIPOTESIS

3.1 Hipótesis de Investigación

- La eficacia de *Bauveria bassiana* está relacionada a los géneros de las garrapatas.

3.2 Hipótesis Nula

- La eficacia de *Bauveria bassiana* no está relacionada a los géneros de las garrapatas.

3.3 Hipótesis Alternativa

- La eficacia de *Beauveria bassiana* es alta en todos los géneros de garrapatas.

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

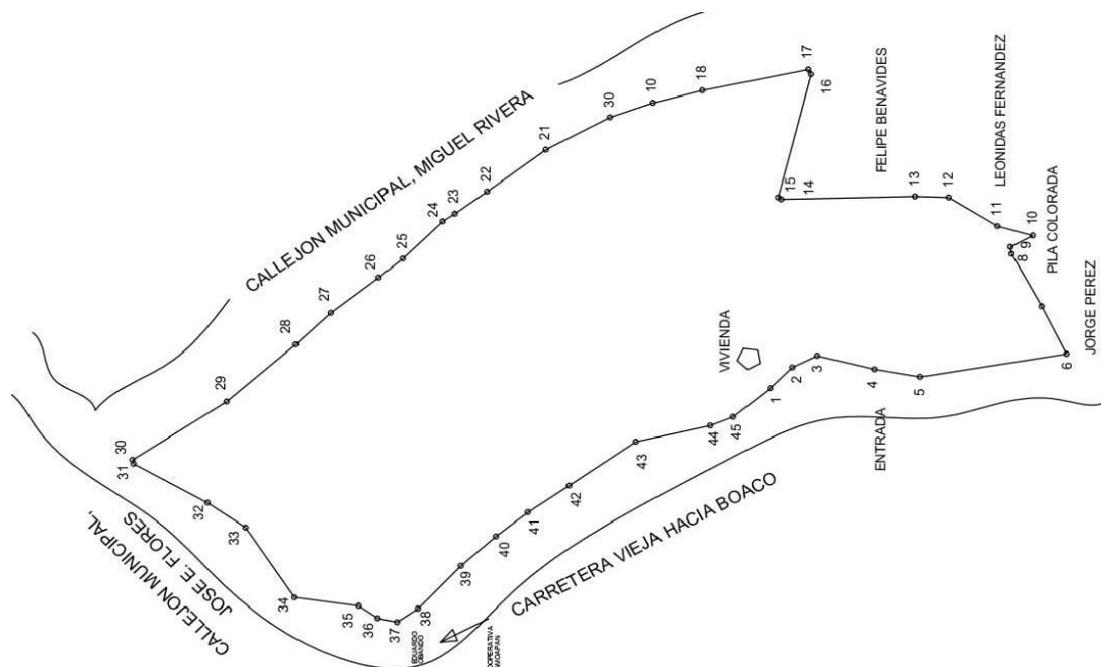
4.1 Ubicación del Área de Estudio

El presente trabajo se llevó a cabo en el municipio de Camoapa, Departamento de Boaco; en quinta Jerusalén. (véase figura. 1).

El municipio de Camoapa cuenta con coordenadas geográficas de latitud $12^{\circ}22'48''N$ y longitud: $85^{\circ}30'36''W$, se encuentra a una altitud aproximada de 536 m.s.n.m. El clima es variado, su temperatura promedio anual es de 25.2° centígrados, y en algunos períodos logra descender 23° centígrados. La precipitación pluvial alcanza desde los 1200 hasta los 2000 milímetros en el año. (ENACAL, 2009)

Figura 1.

Macro localización de quinta Jerusalén, Camoapa, Boaco.



Nota. Mapa propio de quinta Jerusalén, Camoapa-Boaco, Fuente: Jirón (2011)

4.2 Diseño Metodológico

El diseño de la presente investigación es de corte transversal – descriptivo – observacional.

De corte transversal debido a que delimitamos el tiempo en el que se llevó a cabo el estudio, disponiendo de los meses de marzo a junio del año 2021.

De tipo descriptivo - observacional, debido a que se observaban y se describían las manifestaciones presentadas tanto a nivel de laboratorio (*in vitro*) como a nivel de campo (*in vivo*), con respecto a los niveles de infestación inicial de garrapatas en los animales, prestando atención especial a cada una de estas manifestaciones de interés presentadas durante el estudio.

Para este trabajo se realizaron dos tipos de estudio uno *in vitro* y otro *in vivo*:

4.2.1 Estudio In Vitro

Para la evaluación del estudio *in vitro* se procedió a:

a. Identificación del género de las garrapatas coleccionadas del cuerpo de los bovinos de la quinta Jerusalén.

Para este propósito se recolectaron 70 garrapatas directamente del cuerpo de los 30 bovinos totales existentes, de la quinta Jerusalén, tomando de 1-4 garrapatas de cada bovino, de diferentes zonas ecológicas en relación a la región anatómica del hospedador, las cuales fueron trasladadas vivas en un envase de plástico con una mota de algodón húmeda con agua, con el objetivo de oxigenarlas y que llegaran vivas al laboratorio de parasitología del Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI) de la Escuela de Ciencias Agraria y Veterinaria de la UNAN-León (ECAV- UNAN-León).

Una vez en laboratorio, se seleccionaron las garrapatas que llegaron muertas, regurgitadas, en estadio de ninfas y larvas, separando 40 garrapatas adultas vivas no regurgitadas, (**Véase Anexo: 2, 3 y 4**). Para la identificación del género al cual pertenecían, mediante estereoscopía, haciendo uso de las claves propuestas en la “Guía ilustrada para la identificación de garrapatas” de Barros *et al.* (2006).

b. Bioensayo. Evaluación del efecto de patogenicidad producido por una dilución 1×10^8 de conidios puros de *Bauveria bassiana* sobre las garrapatas.

Para esta finalidad se utilizaron las 40 garrapatas seleccionadas e identificadas taxonómicamente por su género, las cuales fueron enviadas vivas al laboratorio de hongos del departamento de agroecología de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias (ECAV), donde se les impregnó a través de inmersión en una solución líquida de hongo entomopatógeno de *B. bassiana*, durante 2 minutos.

La cepa del hongo entomopatógeno utilizada contenía una concentración de 1×10^8 conidios/ml, y forma parte de la colección del laboratorio de hongos de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias (ECAV), de la UNAN-León. Codificado por *Bauveria bassiana*, cepa 114. Hongo aislado, purificado y conservado en un medio de sílica gel.

Luego se colocaron en papel toalla para eliminar el exceso y observar su vitalidad, en seguida se incubaron en las cámaras húmedas en grupos de 10 ejemplares.

(Véase Anexo: 5).

Una vez incubadas las garrapatas en las cámaras húmedas (Platos petri, con base a lo interno de papel toalla, húmeda) se observaron por un periodo de 10 días los cambios que ellas sufrían por el efecto de patogenicidad del hongo. **(Véase Anexo: 6).** Además, se les depositó gotas de agua en diferentes extremos de las cámaras para mantener la vitalidad del hongo y separar las garrapatas que murieron durante este periodo, esta observación se realizó cada dos días, hasta su muerte total.

Todo este proceso fue desarrollado por el laboratorio de hongos del Departamento de Agroecología de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias (ECAV), utilizando técnicas propias de protocolo para la preparación de soluciones de los medios que se aplican dentro del laboratorio de hongos.

Las garrapatas muertas por el efecto del hongo de este bioensayo se utilizaron posteriormente para la preparación de una suspensión fungosa el cual tenía contenido genómico de dichas garrapatas antes mencionadas y con esta preparar e inocular las bolsas de arroz con el hongo que se utilizaron para el segundo ensayo *in vivo*.

El método de preparación para la producción del hongo en bolsas de polipropileno con el arroz fue desarrollado de igual manera por el laboratorio de hongos, utilizando sus propias técnicas de métodos de producción en bolsas, preparación de sustrato, inoculación del sustrato con el medio líquido y secado del producto final, protocolos propios que se aplican en el laboratorio de hongo del Departamento de Agroecología de la ECAV.

4.2.2 Estudio In Vivo

a. Determinación de la efectividad del hongo *Bauveria bassiana* en garrapatas que parasitan a los bovinos naturalmente infectados mediante aplicación de baños por aspersión.

El material que se obtuvo del ensayo *in vitro*, es decir, la producción del hongo en bolsas de polipropileno con arroz, fue adquirido al laboratorio de hongos del Departamento de Agroecología de la ECAV, Luego se procedió a trasladar las bolsas con 200 gr de arroz inoculadas con el hongo, en un medio refrigerante (Termo) para dar condición al hongo, a la quinta Jerusalén del Municipio de Camoapa, Departamento de Boaco, donde se encontraban los 30 bovinos, que fueron parte de nuestro ensayo, siendo esta la población total de bovinos existentes en la quinta.

Debido al umbral poblacional muy alto de garrapatas en los hospederos no se contabilizó el número de garrapatas, lo cual nos conllevó a focalizar (orejas, nuca, genitales, ubre, ingle, área anal, raíz de la cola), utilizando la técnica propuesta por Balladares (1983), quien expresa que, al estar en presencia de una alta población de garrapatas, es imposible contabilizarlas, y nos conlleva a tomar conteos visuales a través de los siguientes parámetros de referencias:

- ✓ Infección baja, 0% - 30% de la zona ecológica de la garrapata.
- ✓ Infección media, 31% - 60% de la zona ecológica de la garrapata.
- ✓ Infección Alta, 61% - 100% de la zona ecológica de la garrapata.

Tomando uno a uno los bovinos se procedieron a observar la zona más infectada de garrapatas, posteriormente con una cinta métrica se midió el largo y ancho; multiplicándose para obtener como parámetro contable los centímetros cuadrados.

Luego dicha zona se divide en dos partes para obtener el diámetro de la zona estudiada, en seguida mediante una regla de tres se sacan los porcentajes dividiendo entre el área total.

Ejemplo:

Zona ecológica de la Garrapata: Plano Ventral del bovino.

Largo: 55 cm X Ancho: 45 cm = 2,475 cm²

Diámetro de la zona estudiada= 2,475 cm² ÷ 2 =1,237

Regla de tres:

2,475 cm² – 100 %

1,237.5 – X ?

X= 50 % Infección de la zona ecológica de la garrapata.

Aplicación del hongo *Bauveria bassiana* mediante baño de aspersión.

En un recipiente de metal se vertió 2 litros de agua y se le agrego una bolsa de 200 gramos de arroz inoculada con conidios de hongo de *Bauveria bassiana*, (**Véase Anexo 7 y Anexo 8**). Se homogenizó la mezcla para desprender los conidios del arroz, y luego se filtró con un pascón y se trasegó en una bomba asperjadora de mochila, añadiendo 18 litros de agua hasta alcanzar un volumen de 20 Litros.

Con esta mezcla realizada, se asperjaron 10 vacas bañando completamente el animal y poniendo atención especial a las zonas con mayor carga parasitaria, logrando que el producto penetrara el pelaje. Repitiendo este mismo procedimiento para bañar las otras 20 vacas faltantes.

De tal manera que para bañar los 30 bovinos se realizaron 3 mezclas; cada mezcla conteniendo 200 gramos de arroz inoculados con el hongo y 20 litros de agua, Usando 600 gramos para bañar los 30 bovinos.

Estos procedimientos de baños por aspersión se realizaron 1 vez cada 7 días, durante 21 días. Realizando un total de 3 baños, Observando cada día la disminución de la carga parasitaria de garrapatas en los bovinos. Estos baños fueron realizados durante el periodo de mayo a junio entre las 3-4 de la tarde, para favorecer a las condiciones de temperatura y humedad que requiere el hongo para su adecuado desarrollo.

4.3 Análisis de Datos

Para este propósito se utilizó el programa IBM SPSS (Producto de Estadística y Solución de Servicio) Statistics V21.0, como base estadística, la que nos permitió reconocer la asociación de nuestra correlación entre las variables cualitativas a través del test de Chi-cuadrado.

4.4 Materiales

Los materiales utilizados para realizar este estudio son los siguientes:

- | | | | |
|------------------------------|--------------------------|------------------------|---|
| ✓ Alcohol al 90% | ✓ Corrector . | ✓ Vasos de muestras. | ✓ Hongo <i>B bassiana</i> . |
| ✓ Cinta adhesiva. | ✓ Gabacha . | ✓ Papel Toalla | ✓ Tabla de campo. |
| ✓ Botas de hule. | ✓ Gorras. | ✓ Gafas. | ✓ Engrapadora . |
| ✓ Gorra. | ✓ Lapicero. | ✓ Manilas. | ✓ Algodón. |
| ✓ Balde de Agua de 7 Litros. | ✓ Lápiz de grafito. | ✓ Libreta de apuntes. | ✓ Guantes de Látex |
| ✓ Tapa boca. | ✓ Borrador. | ✓ Carpetas plásticas. | ✓ Tabla de campo. |
| ✓ Computadora . | ✓ Balde de agua de 20lt. | ✓ Cámara fotográfica . | ✓ Bomba de Fumigar de mochila de 20 Litros. |

4.5 Instrumentos

Los instrumentos utilizados fueron los siguientes:

- | | | | |
|--------------------------------|-----------|------------|--------------------------|
| ✓ Estereoscopio | ✓ Pinzas | ✓ Espátula | ✓ Platos Petrix |
| ✓ Vasos de muestras biológicas | ✓ Mechero | ✓ Tamiz | ✓ frascos de Erlenmeyer. |

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Siguiendo las líneas de nuestro estudio se han establecido los resultados de este trabajo de investigación en dos tipos de ensayos.

5.1 El primer ensayo se realizó de forma *In Vitro*

- a. Clasificación taxonómica de las garrapatas de acuerdo a su género.
- b. Bioensayo para evaluar el efecto de patogenicidad producido por una dilución 1×10^8 de conidios puros de *Bauveria bassiana* sobre las garrapatas.

Primer Ensayo

5.1.1 Estudio *In Vitro*

5.1.1.1 Identificación del género de las garrapatas encontradas en los bovinos de la quinta Jerusalén.

Las 40 garrapatas vivas que fueron anteriormente seleccionadas se les identificó su taxonomía, teniendo como resultado la presencia de los géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma*. **(Véase Anexo 9 y Anexo 10).**

La presencia de los géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma* en los bovinos de quinta Jerusalén, sugiere que se da debido a las características climatológicas en la que está ubicada quinta Jerusalén, la cual posee un clima húmedo con una temperatura que oscila entre 23°C a 25.2°C, con una humedad del 77% y su precipitación pluvial alcanza desde los 1200 hasta los 2000 milímetros en el año, lo que favorece la presencia de estos géneros.

Estudios realizados por Mastropaolo *et al.* (2017, p.5141). Corroboran que las garrapatas del género *Amblyomma* pueden vivir desde el nivel del mar hasta los 2,600 msnm, con fluctuaciones de lluvia de 400 a 2,800 mm anuales, temperatura arriba de los 20°C y humedad de 84 %, y que las del género *Rhipicephalus*, son garrapatas resistentes a climas cálidos, climas medios y bajos, incluso pueden vivir y aclimatarse en trópicos altos.

Polanco y Ríos (2016, p.91) manifestaron que las garrapatas del ganado bovino, pertenecientes a la familia *Ixodidae*, se encuentran distribuidas en regiones templadas, subtropicales y tropicales.

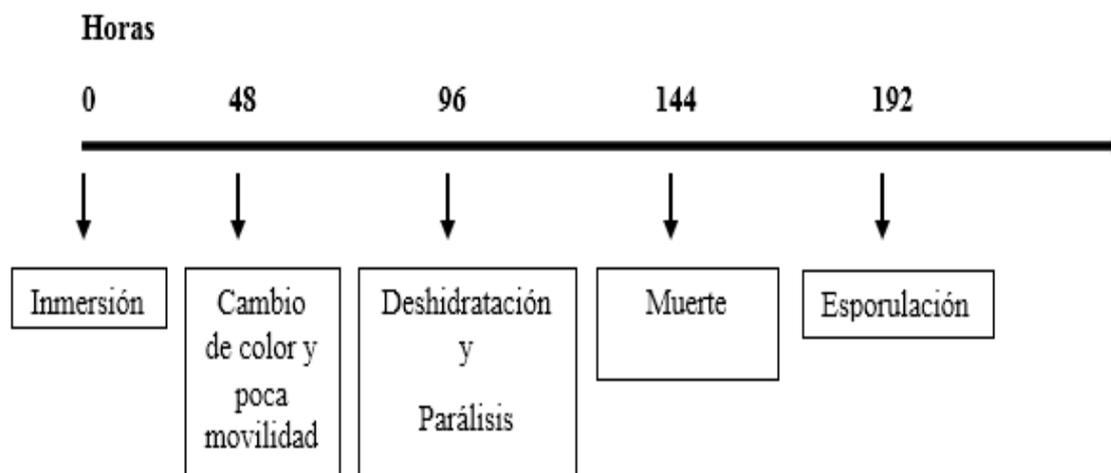
Guglielmone *et al.* (2006, p.25) expresó que las garrapatas del género *Rhipicephalus microplus*, es por excelencia la garrapata común del ganado bovino. En un estudio epidemiológico de prevalencia e identificación de garrapatas en el ganado bovino del municipio de San Pedro de Lóvago - Chontales" realizado por López y Holmàn (2006, p. 25) identificaron géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, concordando con los géneros identificados en este estudio, lo que sugiere que puede ser debido a que ambas zonas pertenecen a la región central del país, donde se ostentan temperatura que fluctúan desde los 25 a 26 °C y una precipitación pluvial de 1200 a 1400 mm anuales las que se asemejan a las condiciones de nuestra zona de estudio.

5.1.1.2 Bioensayo. Evaluación del efecto de patogenicidad producido por una dilución 1×10^8 de conidios puros de *Bauveria bassiana* sobre las garrapatas.

Se observó que a partir de las 48 horas después de la inmersión de las garrapatas en la solución líquida de conidios de hongo hubo un cambio de color y movilidad lenta, a las 96 horas se exteriorizó un proceso de deshidratación, movilidad de extremidades, pero no en el espacio, confirmando lo que expresa Fernández (2006), donde sugiere que una vez dentro del hemocele el hongo coloniza y se dispersa en la hemolinfa produciendo metabolitos secundarios (micotoxinas o bauvericinas), afectando los órganos y su función del organismo parasitado, produciendo parálisis para luego provocar la muerte un periodo de 4-8 días.

Figura 2.

Cambios de las garrapatas en el tiempo.



Nota. Cambios en las garrapatas después de la hora cero de inmersión en el hongo *B. bassiana*. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

A las 144 horas (6to día) hubo muerte total, algunas presentaron esporulación en diferentes partes del cuerpo. Corroborando lo que expresa (Alatorre, 2007, p.345) donde indica que durante la fase de esporulación las hifas empiezan a emerger por espiráculos, ano y boca a través de áreas más débiles.

Los cambios observados en este ensayo *in vitro* se deben a las condiciones de temperatura del ambiente del laboratorio el cual se encontraba entre los 25°C y 27°C, por otra parte, a las cámaras húmedas a las cuales cada 48 horas se les aplicaba gotitas de agua en diferentes extremos para poder mantener al hongo activo, estos resultados coinciden con los de Godoy *et al*, (2007, p. 18), el cual expresa de que los factores de humedad y temperatura optima están íntimamente relacionados con la germinación, de igual manera señala de que la temperatura entre 25°C y 30°C y humedad de 97-100%, la germinación es rápida.

En otro aspecto, las garrapatas que murieron a las 144 horas y no habían presentado esporulación, las presentaron a las 192 horas (8) días con invasión total de esporas en el cuerpo de las mismas, esto pudo deberse a que el hongo no había colonizado todos los órganos. Tal como lo manifiesta Bustillo, (2001, p.30) el cual expresa que existe una cronología de invasión del hongo en diferentes órganos iniciando por cuerpos grasos, sistema digestivo, tubo de malphigi, hipodermis, sistema nervioso, músculos y tráqueas.

5.2 El segundo ensayo se realizó de forma *In Vivo*

Segundo Ensayo

5.2.1 Estudio *In Vivo*

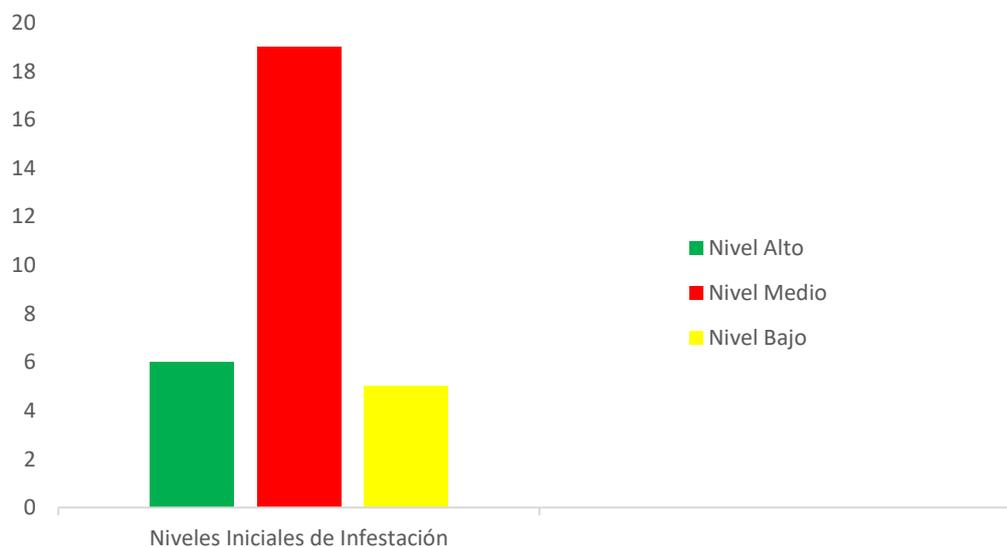
5.2.1.1 Determinación de la efectividad del hongo *Bauveria bassiana* en garrapatas que parasitan a los bovinos naturalmente infectados mediante la aplicación de baños por aspersión.

Baños por aspersión con el hongo *Bauveria bassiana*.

Se observaron los niveles de infestación inicial por parámetros de referencias, en relación a la cantidad de animales totales (30 Bovinos), los cuales fueron parte de nuestro estudio a nivel del ensayo *in vivo*, encontrando los siguientes niveles de infestación; nivel alto (6 bovinos/20%), nivel medio de (19 bovinos/63.30%), y nivel bajo de (5 bovinos/16.70%).

Figura 3.

Niveles de infestación inicial de garrapatas antes de los baños.



Nota. Niveles de infestación inicial de garrapatas antes de los baños.

Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Figura 4.

Niveles de infestación antes y después de la aplicación de *Bauveria bassiana*, en el campo (*in vivo*).

	Nivel alto: 61-100%	Nivel medio: 31-60%	Nivel bajo: 0-30%
Nivel inicial de infestación	6 Bovinos	19 Bovinos	5 Bovinos
<i>N. Infestación Post. 1er Baño</i>	5 Bovinos	6 Bovinos	0 Bovinos
<i>N. Infestación Post. 2do Baño</i>	0 Bovinos	5 Bovinos	0 Bovinos
<i>N. Infestación Post. 3er Baño</i>	0 Bovinos	1 Bovinos	0 Bovinos

Nota. En la anterior tabla se observa cómo se encontraban los niveles iniciales de infestación de garrapatas del grupo de los 30 bovinos que fueron parte del estudio. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

En el primer baño realizado, se observó que el nivel de infestación alto alcanzo una disminución del 16.6% (1 Bovino) de efectividad, permaneciendo infestados en este nivel el 83.33% (5 Bovinos) esto pudo deberse a las altas cargas parasitarias en la que se encontraban los bovinos inicialmente.

Mientras que, en el nivel medio de infestación de garrapatas en los bovinos, se observó una disminución del 68.42%(13 Bovinos) con una efectividad significativa con respecto a los niveles iniciales de infestación, persistiendo infestados el 31.57% (6 Bovinos) esta persistencia de garrapatas puede apuntar a que estos bovinos se encontraban con altos niveles de infestación de garrapatas.

En cambio, en el nivel bajo de infestación, se observó una disminución del 100% (5 Bovinos) de efectividad del hongo sobre las garrapatas.

Esto indica que entre mayor sea la carga parasitaria menor se aprecia la efectividad del hongo. Según Fernández *et al.* (2012) menciona que el efecto de los hongos entomopatógenos depende de factores tales como la virulencia de la cepa, resistencia a factores ambientales como los rayos ultravioleta o temperatura, y la respuesta inmune de las garrapatas ante estos hongos.

El nivel de efectividad del hongo sobre las garrapatas en los bovinos de quinta Jerusalén fue significativo al realizarse el primer baño, alcanzando el 63.3%(19 bovinos), difiriendo con los resultados obtenidos de Tofiño (2017) quien reporta que obtuvo un 50.7% de efectividad en el primer baño realizado en una semana.

Pérez (2015), Reporto que obtuvo resultados del 61.30% de efectividad con aplicación cada 21 días, en cambio en nuestro estudio obtuvimos el 63.30% (19 Bovinos) de efectividad en el primer baño realizado en una semana.

En el segundo baño realizado 7 días después del primer baño, no se observó nivel de infestación alto, de tal manera que los 5 bovinos que persistieron durante el primer baño en este nivel, probablemente pasaron a ser parte del nivel medio de infestación en este segundo baño, tomando en cuenta el alto nivel de infestación que tenían inicialmente.

En el caso de los bovinos que se encontraban en el nivel medio de infestación después del primer baño pudo notarse una efectividad significativa del hongo sobre las garrapatas con respecto al primer baño, obteniendo un 83.3% (25 Bovinos) de efectividad y persistiendo un 16.70% (1 Bovino) en nivel medio de infestación, los resultados obtenidos de nuestro segundo baño difieren con los resultados obtenidos por Delgadillo (2017), quien logro obtener un 50 % de efectividad a los 14 días.

Al realizar el tercer baño 14 días después del primer baño, se observó que hubo un nivel de efectividad del 96.70 %(29 Bovinos), estos resultados difieren sobre los resultados obtenidos por Tofiño (2017), quien alcanzó el 96.8% de efectividad hasta en un quinto baño realizado.

Observaciones realizadas a nivel de campo.

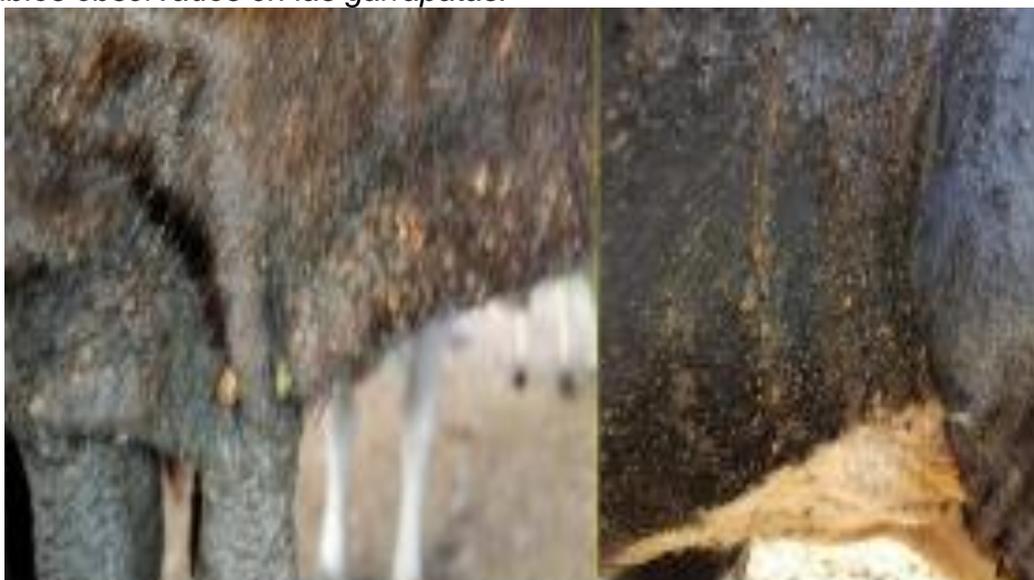
Durante este segundo ensayo fuimos observando los sucesos que sufrían las garrapatas contaminadas por el hongo *B. bassiana* en el cuerpo del hospedero producto del baño por aspersión realizado.

De la manera que se observa en la **figura 5 A**, las garrapatas en el segundo día después del baño las garrapatas ya sufrían cambios en su color de lo natural a lo marrón.

Tal como se observa en la **figura 5 B**, las garrapatas en el tercer día presentaron deshidratación y al tocarlas mostraban poca movilidad.

Figura 5.

Cambios observados en las garrapatas.



A

B

Nota. Cambios morfológicos en los primeros 7 días después del baño. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

El cuarto día ya se observaba inmovilidad total de dichas garrapatas.

A como se observa en la **figura 5 C**, durante el quinto día observamos muerte de las garrapatas, esporulación del hongo en diferente parte del cuerpo de las garrapatas además de un bajo porcentaje de desprendimiento de estas del cuerpo de los bovinos.

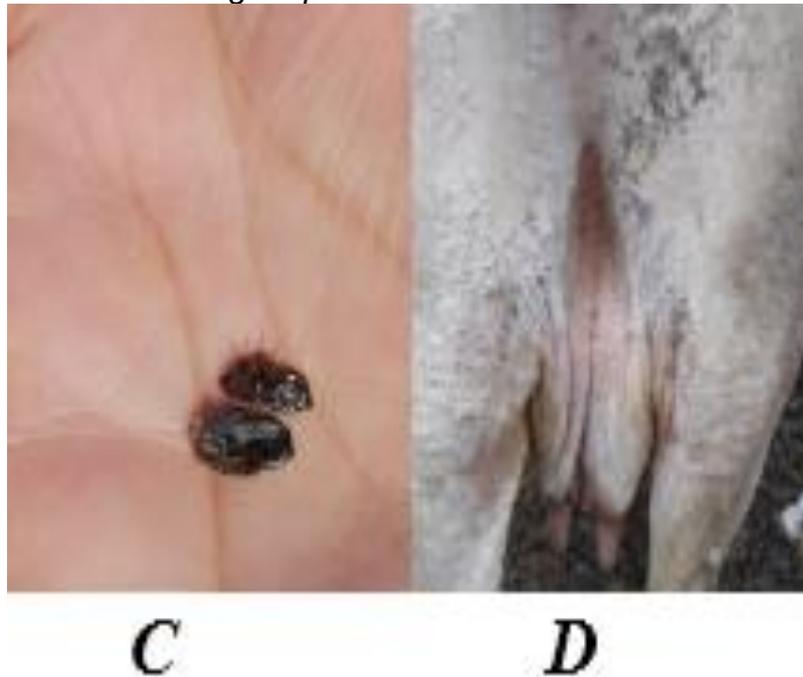
En el sexto día se observó un notable desprendimiento de las garrapatas del cuerpo del hospedero y aun se mostraba esporulación de las que quedaron adheridas a piel.

En el séptimo día, se realizó un segundo baño por aspersión, observando en este mismo momento un mayor desprendimiento de las garrapatas que aún estaban adheridas al cuerpo del bovino.

Tal como se ve en la **figura 5 D**, el día décimo cuarto día se realizó el tercer y último baño donde se observó un total desprendimiento de las garrapatas, y así una baja total de la carga parasitaria.

Figura 5.

Cambios observados en las garrapatas.



Nota. Cambios morfológicos en los primeros 7 días después del baño. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

VI. CONCLUSIONES

Las garrapatas que parasitaban los bovinos de quinta Jerusalén y fueron identificadas a nivel de laboratorio mediante estereoscopía correspondían a los géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma*.

La dilución de conidios 1×10^8 conidias/ml puros de *Bauveria bassiana*, utilizada a nivel del estudio *in vitro* fue altamente efectiva para las garrapatas de los géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, anteriormente identificadas.

Durante el primer baño realizado el nivel alto de infestación logro una disminución del 16.6% (1 Bovino) de efectividad, el nivel medio de infestación alcanzo una disminución del 68.42% (13 Bovinos) de efectividad, en cambio el nivel bajo de infestación disminuyo en un 100% (5 Bovinos) de efectividad, determinando que la efectividad en este primer baño corresponde al 63.3%, es decir que de los 30 bovinos 19 de estos resultaron totalmente limpios.

En el segundo baño realizado 7 días después del primer baño el nivel alto de infestación consiguió una disminución del 100%(5 Bovinos) de efectividad, el nivel medio de infestación alcanzo una disminución del 16.6%(1Bovino) de efectividad, Mientras el nivel bajo se mantuvo en 100% de efectividad, determinando que la efectividad en este segundo baño corresponde al 83.3% (25 Bovinos), es decir que, de los 30 bovinos, 25 de estos resultaron totalmente limpios.

Al realizarse el tercer baño 14 días después del primer baño, se observó que el nivel alto de infestación se mantuvo con un 100% de efectividad, en cambio el nivel medio de infestación disminuyo y paso de estar de 5 bovinos a 1 bovino, determinándose que la efectividad en este tercer baño alcanzo el 96.6% (29 Bovinos), es decir que, de los 30 bovinos, 29 de estos resultaron totalmente limpios.

Los niveles de efectividad que se obtuvieron con la aplicación del *Bauveria bassiana* a nivel de campo fueron significativos logrando un 63.3% de efectividad en el primer baño, 83.3% de efectividad en el segundo baño, y 96.6% de efectividad en el tercer baño, en relación al 100%(30 Bovinos) de los animales totales existentes en la quinta.

VII. RECOMENDACIONES

- Exponer a los productores ganaderos el uso de este importante producto biológico para introducirlo y utilizarlo en nuestras prácticas con el fin de controlar las garrapatas.
- Evaluar el efecto del hongo *Bauveria bassiana* en diferentes temporadas del año; invierno o verano.
- Realizar múltiples baños por aspersion en los animales para un mayor control e impacto en la población de garrapatas en dicha unidad de producción.
- En futuros estudios a nivel de campo procurar tomar una muestra mayor de animales experimentales.
- Valorar el efecto del hongo *Bauveria bassiana* en distintos sistemas de producción bovina; de acuerdo al objetivo de cada unidad de producción.
- Identificar los géneros de garrapatas existentes en cada unidad de producción a trabajar con el fin de valorar si dicho hongo entomopatógeno a ocupar controlara o no las garrapatas antes encontradas.
- Utilizar el hongo *Bauveria bassiana* como producto biológico para el control de garrapatas, evitando así lo menos posible el uso de productos químicos.

VIII. LITERATURA CITADA

- Anderson, J y Magnarelli, L. (2008). Biología de las garrapatas. *Clínicas médicas de América del Norte* 22, 195-215.
- Alatorre, R. (2007). Hongos entomopatógenos. En L. A. Rodríguez-del-Bosque & H. Arredondo-Bernal (Eds.), *Teoría y aplicación del control biológico* (pp. 127- 143). Ciudad de México, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico.
- Bustillo, A. (2001). Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. In: *seminario Uso de entomopatógenos en Colombia*. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá, pp. 30–53.
- Barandika, J. (2010). Las garrapatas exófilas como vectores de agentes zoonóticos: estudio sobre la abundancia y actividad de las garrapatas en la vegetación, e investigación de la presencia de agentes patógenos en garrapatas y micromamíferos. Sitio WED: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/922/2009ON-BARANDIKA IZA, JESÚS FÉLIX.pdf?sequence=1>
- Barker, S y Murrell, A. (2008). Sistemática y evolución de garrapatas con lista de géneros y especies válidos. En: Bowman, A., Nutall, P. Editores. *Garrapatas: biología, enfermedad y control*. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 1-39
- Barrientos, L. (2002). *Uso de Hongos Entomopatogenos en el control de plagas en campo, comercialización, uso actual y futuro de hongos Entomopatogenos, curso de patología de Insectos*, Ciudad Victoria Tamaulipas, Mexico, 2002, 40 Pág.
- Balladares, C. (1983). *Dinámica de la Garrapata en Nicaragua*. Ministerio de Desarrollo Agropecuario y Reforma Agraria, Centro Nacional de Diagnostico e Investigación Veterinaria. Tomo 1. Managua, Nicaragua, Julio 19
- Betancur, O y Ríos, C. (2018). Impacto económico y sanitario de las garrapatas en animales de producción. En *garrapatas y patógenos transmitidos por garrapatas*. Sitio WED: <https://doi.org/10.5772/intechopen.81167>

Brisola, C. (2011). Ácaros (Garrapatas). Entomología médica y veterinaria. Editorial Athenen. pp. 263-315.

Broglio, S., Leilianne, S., Ellen, V., Araújo, M., Días, N. y Gómez, M. (2012). Evaluación de hongos entomopatógenos como agentes de control biológico (Acari: Ixodidae). 30(1), 93–99. Sitio WED: <http://www.scielo.cl/pdf/idesia/v30n1/art11.pdf>

Camilo, J. y Ancizar, M. (2010). Garrapatas Amblyomma. Tecnólogo en producción pecuaria ecológico. Sitio WED: <http://pecuariaecologica7305.blogspot.com/2010/03/garrapatas-amblyomma.html>

Dantas y Torres, F. (2012). Garrapatas y enfermedades transmitidas por garrapatas: una perspectiva de salud única. Tendencias Parasitol. 28(10):437-446.

Delgadillo, O., Gomez, M. y Jimenez, C. (2007). UNAN- Leon. Sitio WED: de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/979/1/205100.pdf>

ENACAL, B. V. (2009). *Caracterización Municipal de Camoapa*. Biblioteca Virtual ENACAL: Sitio WED: <http://biblioteca.enacal.com.ni/bibliotec/Libros/enacal/Caracterizaciones/Boaco/Camoapa.pdf>

Estrada, A. (2015). CLASE ARACHNIDA Orden Ixodida: Las garrapatas. *Revista IDE@-SEA, No, 13*, 1–15. Sitio WED: www.sea-entomologia.org/IDE@

Estrada y Peña, A. (2015). Orden Ixodida: Las garrapatas. *Revista IDE@-SEA* 13, 2- 15.

Estrada y Peña. (2010). Una revisión de la sistemática de la familia de las garrapatas Argasidae (Ixodida). *Acarologia*. 50(3): 317-333

- Fan, Y., Fang, W., Guo, S., Pei, X., Zhang, Y., Xiao, Y. y Pei, Y. (2007). Mayor virulencia de insectos en cepas de *Beauveria bassiana* que sobre expresan una quitinasa modificada. *Microbiología aplicada y ambiental*, 73(1), 295–302. Sitio WED: <https://doi.org/10.1128/AEM.01974-06>
- Faria, M. y Wraight, S. (2007). Mycoinsecticides and Mycoacaricides: Una lista completa con cobertura mundial y clasificación internacional de tipos de formulación. *Control biológico* 43: 237-256 págs.
- Fernandes, É., Bittencourt, V. y Roberts, D. (2012). Perspectivas sobre el potencial de los hongos entomopatógenos en el control biológico de garrapatas.
- Fernández, J. (2006). Evaluación de la eficiencia del control de garrapatas (*Boophilus microplus*) con tres frecuencias de aplicación de BAZAM® (*Bauveria bassiana*) 36p.
- Fernandes, É., Bittencourt, V. y Roberts, D. (2012). Perspectivas sobre el potencial de los hongos entomopatógenos en el control biológico de garrapatas. *Exp Parasitol* 130: 300-305. doi: 10.1016/j.exppara.- 2011.11.004
- Godoy, J., Valera, R., Guédez, C., Cañizalez, L. y Castillo, C. (2007). Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. Caracas, Venezuela. 7 p.
- Gómez, H., Zapata, A., Torrez, E. y Tenorio, M. (2014). *MANUAL DE PRODUCCION Y USO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS*. PERU: LABORATORIO DE ENTOMOPATOGENOS SBC-SENASA. 37pág.
- Gragera., Roncero., Montes. y Habela, M. (2005). (PDF) Enfermedades por garrapatas en bovino: situación epidemiológica en España y recomendaciones para el control. Pág. 25-31. Sitio WED: https://www.researchgate.net/publication/28280897_Enfermedades_por_garrapatas_en_bovino_situacion_epidemiologica_en_Espana_y_recomendaciones_para_el_control
- Guajardo. (2015). Control biológico e integrado de la garrapata "*Hyalomma lusitanicum*" en explotaciones silvo-agro-cinegéticas de ecosistema mesomediterráneo - Dialnet. Pág. 211. Sitio WED: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=99095>

Hesketh, H., Roy, H., Eilenberg, J., Pell, J. y Hails, R. (2010). Desafíos en el modelado de la complejidad de los entomopatógenos fúngicos en poblaciones seminaturales de insectos. En *The Ecology of Fungal Entomopathogens* (págs. 55-73). Sitio WED: https://doi.org/10.1007/978-90-481-3966-8_5

Inglis, G., Goettel, M., Butt, T. y Strasser, H. (2001). Uso de hongos hifomicetosos para el manejo de plagas de insectos. Sitio WED: <https://www.cabi.org/isc/fulltextpdf/2001/20013125209.pdf> . (3): 23-69

Jiron, J. (2011). Mapa Catastral de QUINTA JERUSALEN. *Macro Localizacion de Quinta Jerusalem* . Boaco, Camoapa, Nicaragua.

López, J, Holman. D. (2006). *Repositorio Institucional, UNA*. Repositorio Institucional, UNA: Sitio WED: <https://repositorio.una.edu.ni/1342/1/tnl73l864.pdf>

Mastropaolo, M., Mangold, A., Guglielmone, A. y Nava, S. (2017). Ciclo de vida no parasitario de la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en los pastos de *Panicum maximum* en el norte de Argentina. *Investigación en Ciencias Veterinarias* 115, 138-145.

Monzon, A. (2001). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo integrado de plagas*. Costa Rica. 63: 95-103

NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica). (2019). Sitio WED: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/11740>

Vigo, A. (2011). Hongos Entomopatógenos. Sitio WED: http://www.slideshare.net/alfvigo/hongos-entomopatgenos?utm_source=slideshow02&utm_medium=ssemail&utm_campaign=share_slideshow_loggedout.

Mora, M., Castilho, A. y Fraga, M. (2018). Mecanismo de clasificación e infección de hongos entomopatógenos. *Archivos del Instituto Biológico*, 84(0). Sitio WED: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000552015>

- Ortiz-Urquiza, A. y Keyhani, N. (2013). Acción en superficie: Hongos entomopatógenos frente a la cutícula del insecto. *Insectos*, Vol. 4, pp. 357–374. Sitio WED: <https://doi.org/10.3390/insects4030357>
- Ostfeld, R., Price, A., Hornbostel, V., Benjamin, M. y Keesing, F. (2006). Control de garrapatas y zoonosis transmitidas por garrapatas con agentes biológicos y químicos. *BioScience*, 56(5), 383–394. Sitio WED: [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2006\)056\[0383:ctatzw\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)056[0383:ctatzw]2.0.co;2)
- Pérez, M. (2007). *Efecto de diferentes medios biológicos en el control de garrapas en bovino*. Sitio WED: <http://biblioteca.ihatuey.cu/link/tesis/tesism/juanmaperez.pdf>
- Pérez, M. (2015) *Validación del efecto de los hongos entomopatógenos Beauveria Bassiana (Balsamo) Vuillemin y Metarhizium Anisopliae (Metsch) Sorokin, reguladores biológicos de estados parasitarios de la garrapata Rhipicephalus Microplus (Arachnida: Ixodidae)*. Congreso Colombiano de Entomología. Sociedad Colombiana de Entomología-SOCOLEN.
- Piguave, R. (2016). Evaluación del efecto acaricida del hongo entomopatógeno (*Lecanicillium lecanii*) en el control de las garrapatas en el ganado vacuno (p. 56). p. 56. Sitio WED: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20789>
- Polanco, D. y Alberto, L. (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras.
- Polanco, D y Ríos, L (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria, Mosquera (Colombia)*. Sitio WED: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v17n1/v17n1a08.pdf>
- Rehner, S., Minnis, G., Sung, J., Luangsaard, L., Devotto y Humber, R. (2011). Filogenia y sistemática del género anamórfico y entomopatógeno *Beauveria* *Mycol.*103(5): 1055-1073.
- Rodríguez, R., Rosado, J., Ojeda, M., Pérez, L., Martínez, I. y Bolio, M. (2014). Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. Sitio WED: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282014000300009

- Rodríguez, V., Quiñones, A. y Fragoso, S. (2005) Epidemiología y control de la garrapata *Boophilus* en México. En: Enfermedades de importancia económica en producción animal. Rodríguez-Vivas, R.I. Editor. México D.F. McGraw-Hill-UADY. pp: 571-592.
- Rodríguez, V., Rosado, A., Basto, G., Rosario, C., Rodrigo, F. y Sánchez, H. (2006) Manual técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino. Mx, Instituto nacional de investigaciones forestales agrícolas y pecuarias (INIFAP). Sitio WED: <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/handle/123456789/3647>
- Rosario, R. (2010). Estrategias para el control de la garrapata *Boophilus microplus* y la mitigación de la resistencia a los pesticidas. Sitio WED: https://www.researchgate.net/publication/304102212 ESTRATEGIAS_PARA_EL_CONTROL_DE_LA_GARRAPATA_Boophilus_microplus_Y_LA_MITIGACION_DE_LA_RESISTENCIA_A_LOS_PESTICIDAS
- Rosario, C., Almazan, C., Miller, R., Dominguez, G., Hernandez, O. y Fuente, J. (2009). Base genética e impacto de la resistencia a los acaricidas por garrapatas. *Fronteras en biociencia*, 14(7), 2657–2665. Sitio WED: <https://doi.org/10.2741/3403>
- Suquilanda, M. (2017). Manejo agroecológico de plagas MSV | Pesticida | Plaga (organismo). Sitio WED: <https://es.scribd.com/document/373744779/Manejo-agroecologico-de-plagas-MSV>
- Téllez, A., Cruz, M., Mercado, Y., Torres, A. Y Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. Sitio WED: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000200007
- Tofiño, R. (2017). *Efectividad de Beauveria bassiana (Baubassil®) sobre la garrapata común del ganado bovino Rhipicephalus microplus en el Departamento de la Guajira, Colombia. ELSEVIER. REVISTA ARGENTINA DE MICROBIOLOGIA.* Sitio WED: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-microbiologia-372-avance-efectividad-beauveria-bassiana-baubassil-sobre-S0325754117301773>

IX. ANEXOS

Anexo 1.

Lote de 30 vacas, quinta Jerusalén



Nota. Lote de las 30 vacas, las cuales fueron parte del estudio. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 2.

Clasificación de las garrapatas



Nota. Clasificación de las garrapatas a nivel *in vitro*. Laboratorio de parasitología del Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEDEVI). UNAN-León.

Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 3.

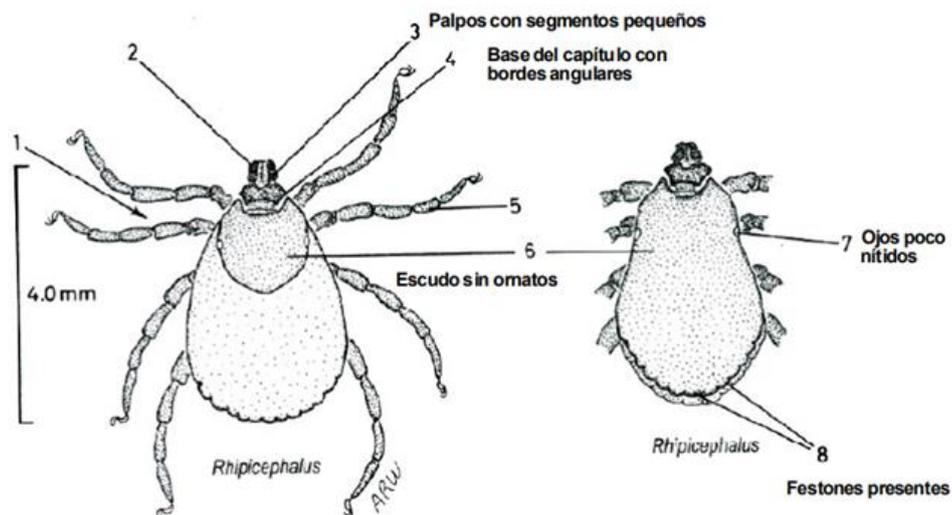
Identificación taxonómica de las garrapatas



Nota. Identificación taxonómica de las garrapatas a nivel *in vitro*. Laboratorio de parasitología del Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEDEVI). UNAN-León. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 4.

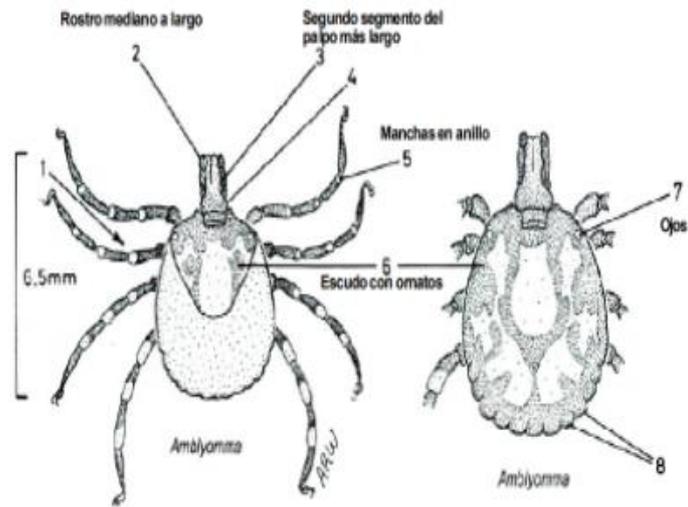
Guía ilustrada para la identificación de garrapatas



Nota. Guía ilustrada para la identificación de garrapatas. Tomado de la Guía ilustrada de garrapatas. Fuente: Barros *et.,al* (2006).

Anexo 4.

Guía ilustrada para la identificación de garrapatas



Amblyomma

Nota. Guía ilustrada para la identificación de garrapatas. Tomado de la Guía ilustrada de garrapatas. Fuente: Barros *et.,al* (2006).

Anexo 5.

Baño de las garrapatas con la dilución del hongo (*B. bassiana*)



Nota. Bañando las garrapatas con la mezcla ya diluida del hongo *Bauveria bassiana* y PDA (Papa Dextrosa Agar). A nivel *in vitro*. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 6.

Cámaras húmedas *in vitro*



Nota. Cámaras húmedas, donde se les brinda condición a las garrapatas infectadas con el hongo. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 7.

Arroz inoculado con el hongo *Bauveria bassiana*



Nota. Bolsas de 200 gramos de arroz inoculado con el hongo *Bauveria bassiana*. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 8.

Preparación de la mezcla



Nota. Realizando mezcla para luego verterla en la bomba de fumigar de 20 litros.
Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 9.

Realizando Baño por aspersion in vivo



Nota. Realizando baño por aspersion directa en cada una de las vacas que fueron parte del estudio. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 10.

Niveles iniciales de infestación de garrapatas



Nota. Niveles iniciales de infestación de garrapatas en los bovinos de quinta Jerusalén. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 11.

Niveles iniciales de infestación de garrapatas



Nota. Niveles iniciales de infestación de garrapatas en los bovinos de quinta Jerusalén. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 12.

Resultados Iniciales del primer baño realizado



Nota. Resultados iniciales *in vivo*, producto del primer baño realizado. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 13.

Estudio a nivel in vivo



Nota. Resultados finales producto del efecto del hongo *Bauveria bassiana* a nivel *in vivo*. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 14.

Estudio a nivel in vivo



Nota. Resultados finales producto del efecto del hongo *Bauveria bassiana* a nivel *in vivo*. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 15.

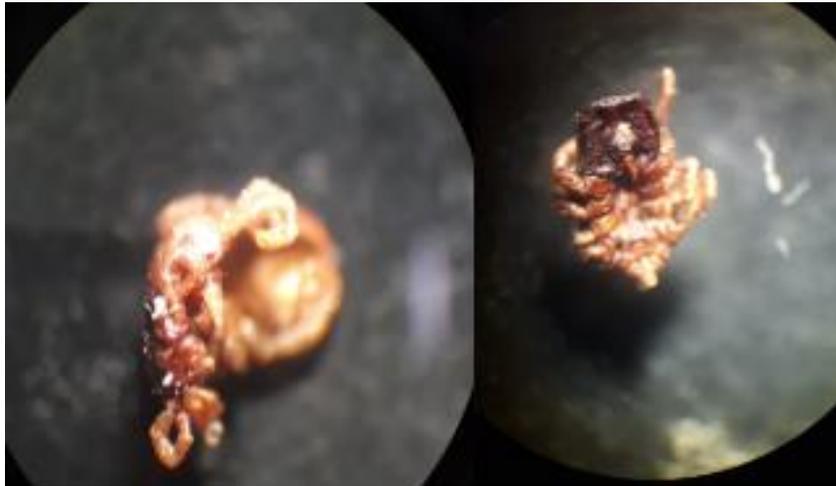
Estudio a nivel in vitro



Nota. Efecto del hongo *Bauveria bassiana* a nivel *in vitro*. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 16.

Estudio a nivel in vitro



Nota. Efecto del hongo *Bauveria bassiana* a nivel in vitro. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 17.

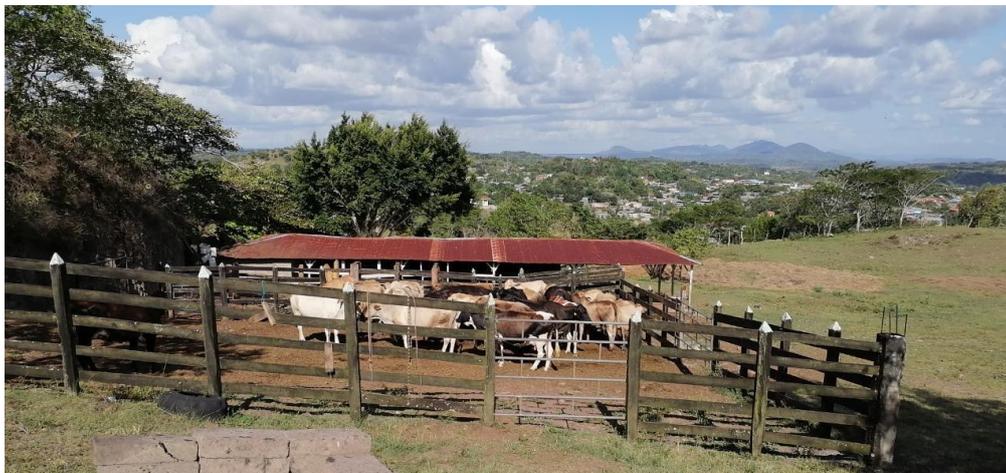
Método de transporte del hongo Bauveria bassiana



Nota. Termo refrigerante para transportar el hongo desde el laboratorio hasta la quinta Jerusalén. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 18.

Lote de 30 vacas de ordeño



Nota. Lote de 30 vacas con las que se trabajaron durante el estudio. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Anexo 19.

Garrapatas identificadas in vitro



Nota. Garrapatas del genero *Rhipicephalus* y *Amblyomma* identificadas *in vitro*. Fuente: Espinoza y Castellón (2021).

Imágenes de Fátima Espinoza y José Castellón. Camoapa. Boaco 2021.