

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



**“EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATOGENO *Verticillium lecanii*
(ZIMMERMAN) VIEGAS COMO BIO-CONTROLADOR DE GARRAPATAS EN
PERROS (*Canis domesticus L*)”**

POR:

IRMA NOEMY ARGUETA AYALA.

CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO 2011.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL.



“EVALUACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Verticillium lecanii*
(ZIMMERMAN) VIEGAS COMO BIO-CONTROLADOR DE GARRAPATAS EN
PERROS (*Canis domesticus L*)”

POR:

IRMA NOEMY ARGUETA AYALA.

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO 2011.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR.

Ing. Agr. MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ.

SECRETARIO GENERAL.

Lic. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ.

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS.

DECANO.

Dr. Ing Agr. REYNALDO ADALBERTO LÓPEZ LANDAVERDE.

SECRETARIO.

Ing. Agr. MSc. LUÍS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL.

Ing. Agr. MSc. RAFAEL ANTONIO MENJÌVAR ROSA.

DOCENTES DIRECTORES.

Ing. Agr. BLANCA DAISY ÁVILA DE SOLANO.

Licda. IDALIA ROSMERY ERROA RAMOS.

COORDINADOR DE PROCESOS DE GRADUACION.

Ing. Agr. MSc. RAFAEL ANTONIO MENJÌVAR ROSA.

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a Dios Todopoderoso que me ha dado la vida, las fuerzas, la salud, mi familia, amigos(as), compañeros(as), por las personas que me ha permitido conocer a lo largo de mi vida y que muchas de ellas han sido de bendición para mi vida porque me han extendido la mano y han hecho un espacio en su corazón dándome su amistad y cariño sin yo merecerlo.

Agradezco a Dios por la familia que me ha dado, por mis Padres, mi hermanos, mis sobrinos, mis cuñadas, mis tíos (en especial por mi tía Irma y Sail Perdomo, por ser como unos segundos padres que a pesar de la distancia han estado pendientes de mí y al cuidado y por sus oraciones), por mis primos. Porque hemos pasado juntos felicidad y tristezas, luchas pero así mismo ver como Dios está con nosotros sacándonos adelante sin desmayar en toda situación, por el apoyo que cada uno me ha dado, por tener con quien contar y saber que no me dejaran perder.

Agradezco a Dios por mis amigas, todas son muy importantes y cada una ocupa un lugar muy especial en mi corazón y cada una ocupa una casilla importante y me ayudan dándome consuelo, palabras de aliento y compartir las felicidades de la vida. Y no pongo sus nombres porque ninguna es más que otra.

Quiero agradecer a mis compañeros(as) y amigos(as); a Fátima porque durante toda la carrera fue mi compañera y amiga y hemos terminado juntas y nuestra amistad ha estado fuerte y por la confianza que ella ha depositado en mí y por ser como una hermana y por lo que hemos compartido. Por haberme ayudado a terminar este trabajo de tesis, por acompañarme a realizar las prácticas de campo, así como Néstor, Sonia y Rodrigo Josa porque a pesar del cansancio estuvieron apoyándome; sacrificando su día de descanso acompañándome a trabajar con los perros del refugio en Santa Ana; también quiero agradecer a la Sra. Miriam de Laínez por su amistad y ayuda, a todos gracias.

Agradezco a Dios por mis Asesoras por enseñarme y tener paciencia y porque no dejaron de asesorarme a pesar del tiempo y las dificultades que ocurrieron en el desarrollo de la tesis y por el tema de tesis, que a pesar de las muchas dificultades pude disfrutar de cada experiencia porque me han servido, dándome experiencia en un área muy prometedora e interesante.

DEDICATORIA.

Dedico este trabajo a Dios todopoderoso, porque sin él no hubiera terminado mi carrera y este trabajo de tesis.

Dedico este trabajo a mis padres por todo el esfuerzo que han hecho por sacarme adelante y darme la mejor herencia que es el del Saber, y la superación.

Dedico este trabajo al alma mater por ser el centro de desarrollo y por los docentes que me han enseñado y han transmitido su sabiduría y experiencia.

Dedico este trabajo a mi familia por ser un apoyo, dándome ánimos y por los momentos de alegría que he compartido con cada uno los que están en casa y los que están lejos de casa pero están en mi corazón.

Dedico este trabajo a mis amigos, amigas y compañeros por el apoyo de cada uno, en especial a Fátima por su amistad incondicional.

Dedico este trabajo a mi gato Nino por ser mi compañía en las noches de desvelo y por ser mi conejito de indias, tan bello y a todos los animales que han sido mi inspiración.

ÍNDICE GENERAL.

Contenido.	
Agradecimiento.....	v
Dedicatoria.....	vi
Índice de cuadros.....	xi
Índice figuras.....	xii
Índice de anexos.....	xiii
1. Introducción.....	1
2. Revisión Bibliográfica.....	4
2.1. Generalidades de las garrapatas.....	4
2.1.1. Clasificación taxonómica.....	4- 5
2.1.2. Distribución geográfica y presentación.....	6
2.1.3. Morfología.....	6-7
2.1.4. Identificación de los géneros de garrapatas.....	8-9
2.1.5. Ciclo de vida.....	10-12
2.2. Hábitat y ecología.....	13
2.2.1. Epidemiología.....	13
2.2.2. Daños al hospedador.....	13
2.2.2.1 Daños directos.....	14-16
2.2.2.2 Daños indirectos.....	17-18
2.2.2.3 Diagnostico de la infestación de garrapatas.....	19
2.2.3. Erradicación.....	19
2.2.4. Métodos de control.....	19
2.2.4.1 Control mecánico por extracción de la garrapata.....	19
2.2.4.2 Tratamiento y control químico.....	20
2.2.4.3 Compuesto Organoclorados.....	20
2.2.4.4 Los Organofosforado.....	21
2.2.4.5 Los Piretroides.....	22
2.2.4.6 Los Endectocidas.....	24

2.2.4.7 Los Finilpirazoles.....	25
2.2.5. Otras medidas de control.....	27
2.3 Efecto de los insecticidas químicos en el medio ambiente.....	27
2.3.1. Garrapatas y cambio climático.....	28
2.4. Control biológico.....	29
2.4.1 Control microbiano.....	30
2.4.1.1 Hongos.....	30
2.4.1.2 Nematodos.....	30
2.4.1.3 Otros depredadores.....	31
2.4.1.4 Artrópodos.....	31
2.4.1.5 Anfibios.....	31
2.4.1.6 Aves.....	32
2.5 Antecedentes de control biológico.....	34
2.5.1. Ventajas, desventajas, riesgo y Beneficios del control biológico....	35
2.5.1.1 Limitaciones del control biológico.....	36
2.5.1.2 Alcance y futuro del control biológico.....	37
2.5.2 Hongos entomopatógenos.....	37
2.5.2.1 Modo de acción y ciclo de vida de los hongos entomopatógenos..	38
2.5.2.2. Parámetros de evaluación de entomopatógenos.....	40
2.5.2.3. Seguridad en el empleo de hongos.....	41
2.5.2.4 Técnicas empleadas con hongos entomopatógenos.....	41
2.5.2.5 Aislamiento.....	41
2.5.2.6 Medios de cultivo.....	42
2.5.2.7 Coloración para observación al microscopio.....	43
2.5.3. Conservación.....	43
2.5.3.1 Reducción del metabolismo.....	43
2.5.3.2 Epizootiología.....	44
2.6 Generalidades de los hongos.....	46
2.6.1 <i>Verticillium lecanii</i> (Zimmerman) Viegas.....	48

2.6.1.1. Clasificación científica.....	49
2.6.1.2. Taxonomía.....	49
2.6.1.3 Descripción del Género <i>Verticillium lecanii</i>	50
2.6.1.4 Mecanismo de acción del hongo <i>Verticillium lecanii</i>	52
2.6.2. Antecedentes del uso de <i>Verticillium lecanii</i>	53
3. Materiales y métodos.....	55
3.1 Metodología de laboratorio.....	55
3.1.1 Instalaciones de laboratorio.....	55
3.1.2 Obtención de la cepa del hongo entomopatógeno.....	55
3.1.3 Elaboración del medio de cultivo.....	56
3.1.4 Reactivación y aislamiento de la cepa <i>Verticillium lecanii</i>	56
3.2 Cultivo de hongo para la elaboración del preparado de arroz.....	57
3.2.1. Formulación del biopreparado.....	57
3.3. Metodología de campo.....	59
3.3.1. Ubicación del área de estudio.....	59
3.3.1.1.Instalaciones.....	59
3.3.1.2Equipo.....	59
3.3.1.3 Selección de unidades experimentales y formación de grupos.....	59
3.3.1.4 Identificación de garrapatas presentes.....	59
3.3.2 Fase experimental.....	60
3.3.2.1Manejo.....	60
3.3.2.2 Control de garrapatas en los perros en estudio.....	60
3.3.2.3 Áreas de aplicación en el animal.....	61
3.3.3 Toma de datos.....	61
3.3.3.1 Recuento de garrapatas.....	61
3.3.3.2 Frecuencia de recuentos.....	61
3.3.4 Análisis Estadístico.....	62
4. Resultados y Discusión.....	63

5. Conclusiones.....	67
6. Recomendaciones.....	68
7. Bibliografías.....	69
8. Anexos.....	74
9. Glosario.....	81- 83

INDICE DE CUADROS.

Cuadro1. Características diagnósticas de garrapatas adultas de géneros aislados en perros.....	4
Cuadro 2. Cronología del Ciclo evolutivo de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , garrapata de tres huéspedes.....	12
Cuadro 3. Enfermedades transmitidas por garrapatas.....	17
Cuadro 4. Grupos de insecticidas, modo de acción y fecha de introducción.....	26
Cuadro 5. Garrapatas muertas por semana de aplicación con el Biopreparado de <i>Verticillium lecanii</i> del grupo 1 de perros tratados.....	62
Cuadro 6. Calculo estadístico utilizado para determinar los promedios de garrapatas muertas por semana de aplicación con el Biopreparado de <i>Verticillium lecanii</i> para el grupo 1 de perros tratados.....	62
Cuadro 7 Conteo de garrapatas muertas según la semana de aplicación con el Biopreparado <i>Verticillium lecanii</i> del grupo 2 de perros tratados.	64
Cuadro 8 Calculo estadístico utilizados para determinar los promedios de garrapatas muertas según las semanas de aplicación con el Biopreparado de <i>Verticillium lecanii</i> para el grupo 2 de perros tratados.	65

INDICE DE ANEXOS.

A- 1 Grupo de Perros seleccionados con la frecuencia de aplicación cada 8 días.....	74
A-2 Grupo de Perros seleccionados con la frecuencia de aplicación cada 15 días	74
A-3 Hoja ficha del protocolo de aplicación del Biopreparado <i>Verticillium lecanii</i> en perros cada 8 días y cada 15 días.....	75
A-4 Cantidad de Garrapatas después de cada Aplicación en cada perro.....	76
A-5. Imágenes de los perros tratados con el Biocontrolador <i>Verticillium lecanii</i> , con presencia de garrapatas en las diferentes áreas del cuerpo.....	77
A-6. Imágenes de los perros tratados con el biocontrolador <i>Verticillium lecanii</i>	78
A-7. Equipo y materiales utilizados para aplicar el Bio-preparado a los perros.....	79
A-8. Instalaciones de APROSA.....	79
A-9. Equipo y materiales utilizados en el Laboratorio.....	79
A-10. Material utilizado para reproducir el hongo en arroz.....	80
A-11. Crecimiento de micelio del hongo <i>Verticillium lecanii</i> en de arroz.....	80
A-12. Vista microscópica de la morfología de <i>Verticillium lecanii</i>	80
A-13. Imágenes de garrapatas infectadas con <i>Verticillium lecanii</i> en la prueba in-vitro.....	80

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1: Morfología de la garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , vista dorsal, tomada de www.clubmascotas.cl	7
Figura 2. Morfología de la garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , vista ventral, tomado de www.Wikipedia.org	7
Figura 3. Hipostomas de la garrapata, tomado de forum de Mikroskopia.....	8
Figura 4: Morfología de la garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> macho y hembra, tomado de www.laopiondemalaga.es	10
Figura 5: Ciclo evolutivo de la garrapata del genero <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en perros.....	12
Figura6:Hábitat natural de la garrapata, tomado de www.cuidadomimascota.es	13
Figura 7. Tomado de www.petsymas.com	14
Figura 8: Acción mecánica e irritativa de la garrapata sobre el huésped. tomado de www.clubmascota.com	14
Figura 9: Granuloma ocasionado por la fijación de una garrapata y a la citología se observaron numerosos histocitos activados., tomado de www3.unileon.es	15
Figura 10: Acción hematófaga de la garrapata sobre su huésped, tomado de www.facilísimo.com	16.
Figura 11: Ciclo de la garrapata en la transmisión de enfermedades al hombre, tomado de www.lafuentonademuried.com	18
Figura 12: Técnica de extracción de garrapata con pinzas, tomado de www.facilísimo.com	19

Figura 13: Fórmula molecular del DDT, tomado de www.Wikipedia.org	20
Figura 14: Fórmula molecular del Diclorvos, tomado de Wikipedia.org	21
Figura 15: Fórmula molecular del Diazinón,tomado de www.Wikipedia.org	22
Figura 16: Fórmula molecular de la Cipermetrina., tomado de www.Wikipedia.org	22
Figura 17: Flores de <i>Pyrethrum</i> spp.....	23
Figura 18: Fórmula molecular de la Ivermectina Fórmula molecular de la Doramectina. Tomado de www.Wikipedia.org	23
Figura 19: Fórmula molecular del Fipronil, tomado de www.Wikipedia.org	25
Figura 20: <i>Solenopsis richteri</i> , tomado de www.discoverlife.org	31
Figura 21: Bufo paracnemis, tomado de www.scserp.com	31
Figura 22: Subrufa pelomedusa, tomada de www.cbtaiwan.com	31
Figura 23: picabuey africano (<i>Buphagus</i> spp.), tomado de www.parasitosdelganado.com	32
Figura 24: Garcilla bueyera (<i>Bubulcus ibis</i>) tomado de www.Wikipedia.org	32
Figura 25: <i>Gallus domesticus</i> , tomado de www.birding.in	32
Figura 26: <i>Caradriformes</i> , tomado de www.en.academic.ru	33
Figura 27: <i>Coraciformes</i> , tomado de www.en.academic.ru	33
Figura 28: <i>Cuculiformes</i> , tomado de www.tetrabrazil.org.br	33

Figura 29: <i>Tinammiformes</i> , tomado de www. eeb.cornell.edu	34
Figura 30: <i>Galliformes</i> , tomado de www. canariasmedioambiente.com	34
Figura 31. Generalized infection cycle of insect-killing fungi.....	40
Figura 32: Morfología de <i>Verticillium lecanii</i> , tomado de www. fda. Gov	50
Figura 33: Morfología del conidióforo y fiálides de <i>Verticillium lecanii</i> visto microscópicamente.....	51
Figura 34: Morfología de las conidias de <i>Verticillium lecanii</i> vista microscópicamente.....	51
Figura 35: Fiálides de <i>Verticillium lecanii</i> , tomada de www. agrociencia-panamenci.com	51
Figura 36: Colonias de <i>Verticillium lecanii</i> , (foto tomada por Irma Argueta).....	52

1. INTRODUCCION.

En nuestro país el control químico es una herramienta eficaz y muy utilizada para combatir las garrapatas tanto en el ganado y otras especies incluyendo a los caninos, pero para el medio ambiente representa un problema ya que los químicos contaminan el aire, suelo, agua, flora y fauna silvestre y esto también afecta al ser humano en su salud. Ya que no solo se trata de eliminar las garrapatas del cuerpo del animal sino del medio que rodea a estos.

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos de un gran número de vertebrados terrestres, tales como anfibios, reptiles, aves, mamíferos e incluso los humano, teniendo gran importancia desde el punto de vista de la salud animal y la salud pública, ya que son vectores de un gran número de enfermedades virales, rickettsiales, bacterianas, protozoarias y micóticas, que afectan tanto a los animales como a los humanos, también ocasionando importantes pérdidas económicas. Las garrapatas son ectoparásitos de difícil control, con un ciclo de vida complejo que frecuentemente incluye a más de una especie hospedadora.

El control frente a las garrapatas es doble, por un lado por ser parásito, y por el otro, que es el más importante, por ser transmisor de numerosas enfermedades.

El tratamiento contra garrapatas va dirigido directamente a los animales afectados, esto consiste en realizar baños, con champú o jabón que contengan algún químico potente contra garrapatas, aerosoles, la aplicación de pipetas o collares y pulverizadores. Dentro de los productos más comunes y eficaces se encuentra los Organoclorados, Organosfosforados, Carbamatos, Amitraz, Arsénicos, Piretrinas; todos ellos son garrapaticidas químicos con efectos tóxicos para los animales, humanos y el medio ambiente.

También el tratamiento va dirigido al medio ambiente que se realiza con fumigaciones en la zonas donde la carga parasitaria es muy alta se recurre a la quema de pasto.

Estas razones han contribuido a la búsqueda de nuevos métodos de control, y entre ello cabe resaltar el control microbiano

Por lo anterior, el uso de controladores biológicos se presenta hoy en día como una opción para aprovechar al máximo, los organismos que se desarrollan de manera natural en el ambiente y se pueden reproducir a nivel de laboratorio, como en el caso del biocontrolador *Verticillium lecanii*; que podría ser de mucho valor si se emplea en otras prácticas que se realizan dentro de la Medicina veterinaria, como una medicina alternativa y natural.

Por lo que el presente trabajo tuvo como finalidad evaluar la eficacia del hongo Biocontrolador, *Verticillium lecanii* en el tratamiento contra garrapatas en perros.

Con el propósito de tener en nuestro medio una alternativa de control de garrapatas donde salga beneficiado el animal, el propietario porque se le estaría reduciendo los riesgos para su salud y de cómo aportar significativamente a nuestro medio ambiente utilizando herramientas naturales que son benéficas porque mantienen la armonía del ecosistema.

OBJETIVOS.

GENERAL:

- ✚ Evaluar la eficacia del hongo biocontrolador, *Verticillium lecanii* en el tratamiento contra garrapatas en perros.

ESPECIFICOS:

- ✚ Demostrar la patogenicidad del hongo *Verticillium lecanii* en el control de garrapatas invitro en los diferentes estadios de esta.
- ✚ Evaluar la actividad del hongo *Verticillium lecanii* en el control de garrapatas en perros.
- ✚ Desarrollar una Metodología de Aplicación de un controlador biológico para garrapatas sobre los perros.

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.

- ✚ El Hongo *Verticillium lecanii* tendrá un efecto letal sobre la población de garrapatas en perros.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA.

2.1. Generalidades de las Garrapatas.

Las garrapatas son ácaros cosmopolitas, pertenecen al orden Acarina de la clase Arácnida que también comprende formas tan diversas como las arañas y escorpiones. Son ectoparásitos temporales obligados de reptiles, aves o mamíferos. Por su gran tamaño (al menos en el estado adulto) resultan observables a simple vista. Las especies conocidas se dividen en dos familias, Ixodidae (garrapatas duras) y Argasidae (garrapatas blandas) a las que hay añadir una tercera, Nuttalliellidae que vive en África y comprende una sola especie, la *Nuttalliella namaqua*. (Cordero del Campillo 1999 y Georgi 1994).

Las garrapatas tradicionalmente se han considerado como unos organismos conservadores porque a pesar de su antigüedad (se piensa que aparecieron hace unos doscientos millones de años, a finales del Paleozoico), presentan una morfología biología muy uniforme, sin apenas desviaciones respecto al modelo que se estableció en las formas ancestrales de las que derivan. (Cordero del Campillo, 1999)

Debido a que las garrapatas están difundidas por toda la tierra causan graves problemas tanto para las explotaciones ganaderas; así también para los hogares donde existe un animal de compañía como los caninos o felinos, debido a que por la actividad hematófaga de la garrapata, intervienen como trasmisoras de agentes patógenos o servir como reservorios de infección para el hombre y los animales domésticos.

2.1.1. Clasificación Taxonómica.

Reino: Animal

Phylum: Artropoda

Sub-phylum: Chelicerata

Clase : Aracnida (arañas, cangrejos, escorpiones, garrapatas y ácaros)

Grupo : Parasitiformes

Orden : Acarina (garrapatas y ácaros)

Sub-orden : Ixodoidea (garrapatas)

Familias : Ixodidae (garrapatas duras) - Argasidae (garrapatas blandas)

Géneros : *Amblyoma* *Ornithodoros*

Boophilus *Otobios*

Dermacentor

Hyaloma

Ixodes

Rhipicephalus

Anocentor.

- Especies: *Amblyoma Americanum* (garrapata de la estrella solitaria)
- Amblyomma cajennense* (garrapata de cayenas)
- Amblyomma hebraicum* (garrapata bont)
- Amblyomma maculatum* (garrapata de la costa del golfo)
- Amblyomma variegatum* (garrapata bont tropical)
- Anocentor nitens*
- rocosas) *Dermacentor andersoni* (garrapata de los bosques de las montañas)
- Dermacentor variabilis* (garrapata americana del perro)
- Dermacentor reticulatus*
- Boophilus microplus* (garrapatas azules)
- Boophilus annulatus*
- Ixodes ricinus* (garrapatas de las ovejas)
- Ixodes canisuga* (garrapata británica del perro)
- Ixodes hexagonus* (garrapata del erizo)
- Ixodes holocyclus* (garrapata de la parálisis australiana)
- Ixodes pacificus* (garrapata de patas negras de California)
- Ixodes persulcatus* (garrapata de la taiga)
- Ixodes scapularis* (garrapata de patas negras)
- perreras) *Rhipicephalus sanguineus* (garrapata parda del perro o garrapata de las)
- Rhipicephalus appediculatus*

(Georgi 1994, Cordero del Campillo 1999)

2.1.2. Distribución geográfica y presentación.

La distribución de las garrapatas es diferente para cada género, pero se encuentran en cualquier lugar en el que abunden hospedadores adecuados y en el que las condiciones ambientales sean favorables. Del género *Amblyoma* son, principalmente, parásitos de mamíferos pequeños y grandes que se distribuyen en las áreas tropicales y subtropicales del continente Americano y en el África al sur del Sahara. Las garrapatas del género *Boophilus* son parásitos del ganado vacuno, y excepcionalmente de otros herbívoros, que se distribuyen en las zonas tropicales a templadas de todo el mundo. La garrapata del género *Dermacentor* son parásitos de roedores y mamíferos grandes que se distribuyen desde la zona tropical de América Latina hasta el Canadá. Las garrapatas del género *Hyalomma* son principalmente parásitos de los animales domésticos que se distribuyen en el Viejo Mundo. Las garrapatas del género *Ixodes* son parásitos de aves y mamíferos pequeños, así como de mamíferos grandes, y son cosmopolitas. *Rhipicephalus* son garrapatas de una variedad de animales de África, *R. sanguineus* conocida como la garrapata de las perreras o garrapata parda del perro, es cosmopolita, ha viajado por todo el mundo con los perros domésticos. Actualmente está establecida en edificios de países situados tan al norte como Canadá y los países escandinavos y tan al Sur como Australia. En África, el Oriente Próximo y partes del Sur de Europa. (Soulsby 1987 y Borchert 1962)

2.1.3. Morfología.

Las garrapatas duras de la familia *Ixodidae*, en comparación a las garrapatas blandas de la familia *Argasidae*, presentan un escudo o caparazón dorsal. Este escudo cubre toda la superficie dorsal del macho y sólo la porción dorsal anterior de las hembras, ninfas y larvas. Los ojos, en el caso de estar presentes, se sitúan uno a cada lado de los márgenes del escudo a la altura aproximada del segundo par de patas. En los adultos, por la cara ventral, se observan dos aberturas; la anterior es la genital y la posterior el ano. Las garrapatas tienen forma oval, no están segmentadas y cuando están en ayuno son aplanadas, la ingestión del alimento conduce a un aumento del tamaño, que guarda relación con la cubierta corporal, que forma pliegues. Esta es tan extensible en los Ixodidos que pueden ingerir varias veces el peso de su cuerpo en sangre. (Cordero del Campillo 1999).

Lo que parece ser una cabeza es simplemente una serie de piezas bucales articuladas sobre un segmento basal. Estas son un hipostoma, dos quelíceros y dos palpos articulados en la base del capitulum. El aparato completo se denomina Capitulum.



Figura 1: Morfología de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, vista dorsal, tomada de www.clubmascotas.cl

En las hembras, en la base del capitulum por la cara dorsal, se hallan las denominadas áreas porosas, que contienen las aberturas de unas glándulas cuya secreción intervienen en la impermeabilización de los huevos, operación que también corre a cargo del órgano de Gené (órgano oculto, situado en la región anterior del idiosoma, que se invagina en el momento de la puesta). **El hipostoma** está armado con dientes curvos y sirve para permitir el anclaje de la garrapata en la dermis. **Los quelíceros** están dispuestos a lo largo de la línea de las pinzas dentadas y presentan denticulos móviles en las puntas, denominadas **quelas**, los cuales sirven para perforar el orificio en el que la garrapata introduce el hipostoma. **Los palpos** son estructuras sensoriales que permanecen en la superficie de la piel. En relación con los pedipalpos obsérvese, por ser distintos de las garrapatas blandas, su estructura rígida sirve de estuche a los quelíceros e hipostoma. Durante la toma de sangre se apartan a los lados, no interviniendo en la perforación de los tejidos. La longitud total de las piezas bucales, las longitudes relativas de los tres primeros segmentos de los palpos (el cuarto segmento es una pequeña protuberancia próxima al extremo distal del tercer segmento), la denticulación del hipostoma y la forma de la base del capitulo son importantes criterios de diagnóstico. (Georgy 1994 y Cordero del campillo 1999)

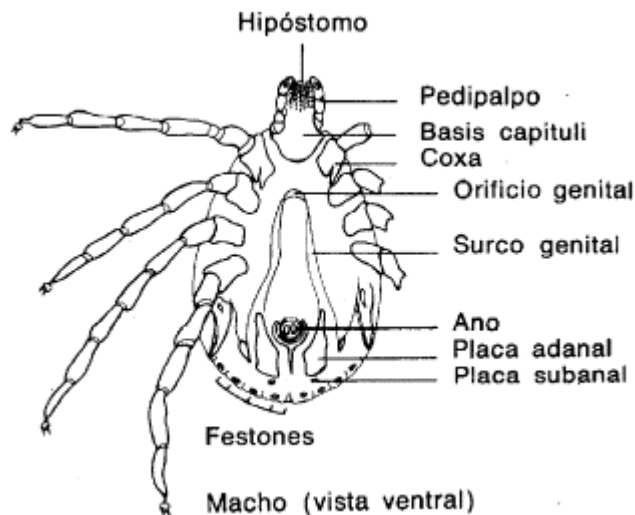


Figura 2. Morfología de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, vista ventral, tomado de www.Wikipedia.org



Figura 3. Hipostomas de la garrapata, tomado de forum de Mikroskopia

Los machos de *Rhipicephalus*, *Boophilus* y *Hyaloma* tienen uno o dos pares de placas prominentes a ambos lados del ano. Los machos de *Ixodes* presentan siete placas que casi llegan a cubrir el vientre pero no son prominentes, es decir, no se proyectan por encima de la superficie. La morfología de estas placas es muy variable y se encuentran una a cada lado del cuerpo detrás del último par de patas. De estas, las del primer par, además de tener una función locomotora tiene también otra sensorial haciendo las veces de antenas. Para ello llevan en el tarso el llamado órgano de Haller, en la que se encuentran varios tipos de setas (pelos) que perciben la temperatura, humedad, olor y vibraciones, entre otros estímulos. Los machos de otros géneros carecen de placas ventrales. La forma y la presencia o ausencia de pinchos en las coxas son también de interés diagnóstico. (Georgy 1994 y Cordero del Campillo 1999)

El borde posterior del cuerpo de algunos géneros como *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Amblyoma*, *Hyaloma* está adornado por series regulares de 7-11 áreas rectangulares denominadas **festones** por su similitud a una guirnalda decorativa (de flores u hojas) de las que cuelgan formando curvas entre dos puntos. Los géneros *Ixodes* y *Boophilus* carecen de festones. Pocas especies de garrapatas están demasiado especializadas para atacar exclusivamente al perro y la lista completa es demasiado larga. (Georgy 1994).

2.1.4. Identificación de los géneros de garrapatas.

La identificación de las garrapatas es un factor determinante para las operaciones de control y erradicación.

Las larvas de garrapatas tienen seis patas y las ninfas y adultos ocho. Los adultos tienen un poro genital entre el segundo par de coxas en la superficie ventral del cuerpo y las ninfas carecen de él. (Georgy 1994)

La única larva que puede recabar probablemente la atención de los clínicos veterinarios es la de *Rhipicephalus sanguineus* debido a que ésta es la única especie cuyas larvas se alimentan en los perros, e incluso en este caso las larvas son tan pequeñas que fácilmente pasan desapercibidas. Las ninfas de *R. sanguineus* y de determinadas especies de *Ixodes*, especialmente *I. dammini*, también se alimentan de los perros, pero lo más frecuente es que los ejemplares que se recolectan y envían para su identificación sean adultos. Los criterios para la identificación de los géneros de garrapatas son los que se exponen a continuación. (Georgy 1994)

El género *Ixodes* presenta un surco en su tegumento ventral que forma un gracioso arco desde el borde posterior del cuerpo sobre un lateral, alrededor de la porción frontal del ano y por detrás del borde posterior del cuerpo en el otro lado. Otros géneros de garrapatas carecen de surco anal o presentan un pequeño surco semicircular por detrás del ano. El surco anal de *Ixodes* se aprecia mejor en ejemplares no aclarados observados con microscopio o con lupa de iluminación oblicua. El escudo de *Ixodes* es no ornamentado y carece de ojos. El borde posterior del cuerpo no presenta festones. En todo el mundo existen unas 200 especies de *Ixodes*. Solo en Norteamérica se detectaron 41 y desde este estudio se han detectado otras especies, incluyendo *I.dammini*. (Georgy 1994).

El género *Rhipicephalus* tiene la base del capitulo hexagonal y presenta ojos y festones. El escudo es no ornamentado. Los machos tienen pares de escudos salientes adanales y accesorios a los dos lados del ano, si bien los escudos accesorios son difíciles en algunos ejemplares. (Georgy 1994).

El género *Boophilus* se parece a *Rhipicephalus* por presentar la base del capitulo hexagonal, el escudo no ornamentado y escudos adanales y accesorios en los machos, pero se diferencia de este género por carecer de festones. Los palpos de *Boophilus* presentan crestas dorsales y laterales. (Georgy 1994).

Dermacentor y *Rhipicephalus* son los géneros más frecuentes en perros en Norteamérica, siendo *Ixodes* el tercero en importancia en algunas zonas; *Dermacentor* se diferencia de *Rhipicephalus* e *Ixodes* por su escudo ornamentado y lo más destacado de *Ixodes* es su surco anal característico. (Georgy 1994).

Cuadro 1: Características diagnosticas de garrapatas adultas de géneros aislados en perros.

Género	Surco Anal	Ojos	Ornamentación Del escudo	Festones	Base del capitulo	Escudos anales	Palpos
<i>Ixodes</i>	Anterior	Ausente	No ornamentado	Ausente	Variable	Ausente	Variable
<i>Haemaphysalis</i>	Posterior	Ausente	No ornamentado	Presente	Rectangular	Ausente	Cónicos
<i>Rhipicephalus</i>	Posterior	Presente	No ornamentado	Presente	Hexagonal	Presente	Cortos
<i>Boophilus</i>	Ausente	Presente	No ornamentado	Ausente	Hexagonal	Presente	c/cresta
<i>Dermacentor</i>	Pos/aus	Presente	Ornamentado	Presente	Rectangular	Ausente	Cortos
<i>Amblyomma</i>	Posterior	Presente	Ornamentado	Presente	Variable	Ausente	Largos
<i>Hyalomma</i>	Posterior	Presente	No ornamentado	Irregular	Triangular	Presente	Largos

(Georgy 1994)

2.1.5. Ciclo de Vida.

Todas las garrapatas pasan en su ciclo biológico por las fases de huevo, larvas, ninfas y adulto de uno u otro sexo. Las hembras Ixodidas ingieren toda la sangre que precisan para producir miles de huevos de una sola vez. El hinchamiento producido por un volumen tan grande determina una enorme distensión del cuerpo, la cual sería imposible si todo el dorso de la hembra estuviera cubierto por un escudo inelástico como el de los machos. Las garrapatas Ixodidas se alimentan muy lentamente; las larvas, las ninfas y las hembras de diversas especies necesitan 5 días a varias semanas para alimentarse y atiborrarse completamente de sangre. Las larvas y las ninfas realizan la toma de sangre para pasar la fase evolutiva siguiente. Hasta 24 horas antes del desprendimiento, la sangre ingerida es digerida y asimilada y el cuerpo va creciendo lentamente, pero sin alcanzar el tamaño de una garrapata repleta de sangre. Los machos Ixodidos pueden alimentarse durante períodos de tiempo más prolongados incluso, pero no se hinchan. (Soulsby 1987 y Cordero del Campillo 1999)



Figura 4: Morfología de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* macho y hembra, tomado de www.laopiondemalaga.es

Las hembras una vez repletas de sangre, repliegan sus piezas bucales, caen al suelo y se escabullen hasta un lugar oscuro con sus cortas y gruesas patas. La puesta de huevos comienza unas dos semanas después. La hembra yuxtapone la superficie ventral del Capitulum a la superficie ventral de su cuerpo y el órgano glandular de Gene es empujado hacia fuera entre la base del capitulum y el escudo. En este momento los huevos hacen su aparición a través del orificio genital y son recubiertos por un material céreo secretado por el órgano de Gene para protegerlos de la desecación, siendo depositados formando una masa inmediatamente por delante de la hembra. Una vez finalizada la ovoposición la hembra muere. Las larvas eclosionan de los huevos después de varias semanas o meses, dependiendo de la especie de garrapata y de la temperatura ambiental. (Georgy 1994 y Cordero del Campillo 1999).

Las finas larvas hexapodan y están listas para alimentarse aproximadamente una semana después de la eclosión y trepan a las hierbas y a otras plantas para esperar la aparición de un hospedador. Como las ninfas y adultos no alimentados, estas larvas se sujetan a los tallos con sus extremidades intermedias y posteriores, dejando sus patas delanteras libres al aire, actitud denominada “de espera” bien adaptada para engancharse a un hospedador que pase cerca. Las pistas que permiten el reconocimiento del hospedador son el dióxido de carbono, los olores, las vibraciones, el ocultamiento de la luz, las corrientes de aire, el calor y la humedad. Una vez sobre

el hospedador, que probablemente será un roedor, otro mamífero de pequeño tamaño o una ave que anide en el suelo, excepto en el caso de *Rhipicephalus sanguineus* y *Boophilus microplus*, especies de las que todos los estadios se alimentan en los perros, la larva puede vagar por varios días sobre el hospedador antes de alcanzar su localización predilecta y enclavarse en ella para alimentarse. Una vez alimentada, las larvas de las especies de garrapatas que se encuentra comúnmente en los perros, caen al suelo para encontrar una zona oscura y tranquila en la que mudan al estadio de ninfa en un periodo de tiempo de una a varias semanas. Las larvas del parásito canino ocasional *B. microplus* permanecen en el perro y mudan a ninfa tras un leve letargo. (Georgy 1994 y Quiroz 1999)

Las garrapatas Ixodidas tienen un solo estadio de ninfa. Las ninfas siguen el mismo curso que las larvas, pero tienden a vivir más tiempo y pueden seleccionar diferentes hospedadores. Los machos o hembras adultas de garrapatas Ixodidas, una vez abandonada la piel de la ninfa, trepan de nuevo a la vegetación, las tapicerías u otros objetos relativamente verticales que les sirvan de apoyo adoptando una actitud de espera. Los adultos no alimentados pueden sobrevivir durante varios meses o incluso durante años, de hecho muchos más que las larvas o las ninfas. Una vez en el perro, los machos y las hembras incrustan sus piezas bucales y se fijan para alimentarse. Las hembras copulan una sola vez, la cópula puede realizarse sobre el huésped o fuera de éste, durante o después de la repleción alimenticia; quedando dispuestas para convertir la sangre del perro en huevos de su especie. En condiciones favorables la postura tarda dos días, pero en climas fríos se prolonga por semanas o meses. Los huevos al ser puestos son cubiertos por una sustancia que los protege de la deshidratación y los mantiene unidos en racimos. Las hembras *Ixodidae* ponen varios miles de huevos en una postura después de la cual mueren. El período de incubación se determina en gran parte por la temperatura y varía de 2 semanas a 7 meses. Los machos, sin embargo, tienden a permanecer en el hospedador durante periodos mas prolongados y copular con nuevas hembras, aunque los machos de algunas especies mueren tras la cópula. (Lapage 1968 y Soulsby 1987)

Las especies que completan sus dos mudas sobre el hospedador se denominan garrapatas de un solo hospedador (*Boophilus microplus* y *Dermacentor nitens*), las que completan la muda de la larva a ninfa sobre el hospedador para la de ninfa a adulto en el suelo se conocen como garrapatas de dos hospedadores (*Rhipicephalus evertsi* y *Hyalomma marginatum*) y que las completan sus dos mudas en el suelo se denominan garrapatas de tres hospedadores (*Amblyoma ssp*, *Ixodes ssp* y *Rhipicephalus sanguineus*) (Georgy 1994)

Los ciclos vitales de las diferentes garrapatas muestran interesantes variaciones temporales.

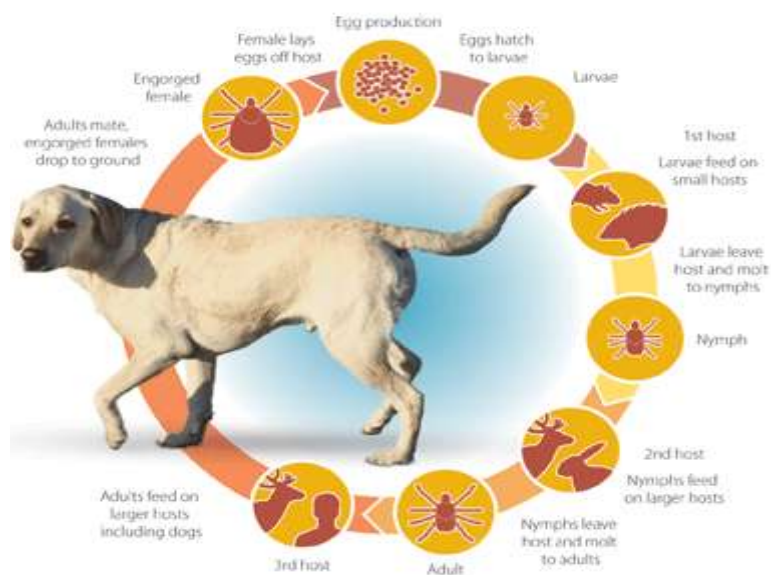


Figura 5: Ciclo evolutivo de la garrapata del genero *Rhipicephalus sanguineus* en perros.

Cuadro 2: Cronología del Ciclo evolutivo de *Rhipicephalus sanguineus*, garrapata de tres huéspedes.

La hembra pone más o menos.....	4,000	huevos
Periodo de pre-oviposición.....	3 a 83	días
Incubación de los huevos.....	8 a 67	días
Alimentación de la larva.....	3 a 7	días
Muda de la larva.....	6 a 23	días
Alimentación de la ninfa.....	4 a 9	días
Muda de la ninfa.....	12 a 129	días
Alimentación de la hembra.....	6 a 50	días
Supervivencia de la larva en ayuno.....	253	días
Supervivencia de la ninfa en ayuno.....	183	días
Supervivencia del adulto en ayunas.....	568	días

En condiciones favorables el ciclo se desarrolla en 63 días y puede sobre pasar los 253 días, en zonas con clima caliente se puede desarrollar varias generaciones en un año. (Soulsby 1987)

2.2. Hábitat y ecología

Las garrapatas se encuentran en cualquier lugar en el que abunden los hospedadores adecuados y en que las condiciones de humedad sean más favorables. No obstante, los pequeños reservorios de vida silvestre que se encuentran incluso en las ciudades en forma de parques, jardines, praderas, riberas de corrientes de agua y cualquier zona suficientemente húmeda para su supervivencia. En estas zonas se encuentran ratones y otros mamíferos de tamaño pequeño y medio que pueden servir como hospedadores de las larvas y ninfas de género como *Ixodes*, *Dermacentor* y *Amblyomma* y además los perros adoran visitar estos oasis en los que encuentran garrapatas ninfas y adultas hambrientas esperándolos.



Figura 6: Hábitat natural de la garrapata, tomado de www.cuidadomimascota.es

Rhipicephalus sanguineus ha dado un paso más a su adaptación a la vida moderna de las regiones templadas. Aunque la especie tropical es incapaz de sobrevivir a los rigores del invierno, *R sanguineus* ha alcanzado una distribución mundial a expensas de que sus tres estadios evolutivos se alimenten en los perros, muchos de los cuales permanecen durante la mayor parte del invierno en el interior de edificios calentados. Las clínicas veterinarias, las perreras y las tiendas de animales de compañía son importantes fuentes de *R sanguineus* y el perro de la familia es la agencia de transporte habitual de este agente a los hogares. (Georgy 1994)

2.2.1. Epidemiología.

La parasitosis de la garrapata sobre los hospederos que ataca, provoca entre otras cosas, disminución en la albumina sérica, bajo índice de hematocrito, los linfocitos y eosinófilo aumentan, los neutrófilos disminuyen y, se inhibe la síntesis proteica; todo ello repercute en un bajo desarrollo muscular, afecta el sistema enzimático y altera la producción de progesterona (Munderloh y Timothy 1995, según Bazán Tenes 2002).

2.2.2. Daños causados al hospedador.

Un número reducido de garrapatas parasitando a un perro pueden pasar desapercibidas para él y, frecuentemente, para su propietario. El proceso de succión de sangre (1 a 3 ml) y aumento de volumen generalmente es indoloro y la cantidad de sangre ingerida por cada garrapata aisladamente ínfima. Sin embargo, una sola garrapata puede transmitir una bacteria, virus, rickettsia mortal, un protozoo, o bien inyectar la toxina paralizante de la parálisis de las garrapatas o toxicosis de las garrapatas. Además la succión simultánea de sangre por un elevado número de garrapatas puede debilitar e incluso matara a un perro. (Cole 1965)

2.2.2.1 Daños directos.

a. Acciones mecánicas e irritativas.

La lesión de fijación de la garrapata es el comienzo de intercambios importantes entre el hospedador y el parásito. El daño inicial causado por la fijación depende del grosor de la epidermis y la dermis del hospedador y de la longitud del aparato bucal de la garrapata.

La perforación de la piel la realizan con el segmento distal dentado de los quelíceros; según algunos autores, en el proceso intervienen enzimas segregadas por las glándulas salivales. A medida que los quelíceros rasgan la piel, el hipostoma se introduce en la misma y queda en contacto directo con los tejidos. La rotura de capilares no está claro si se debe a solo a la acción de los quelíceros o si en ella intervienen también componentes líticos de la saliva (Cordero del campillo 1999)



Figura 7. Tomado de www.petsymas.com

La respuesta cutánea inmediata se caracteriza por una zona eritematosa que rodea el punto de fijación, en forma nodular con bordes bien definidos. Trascorridas 96 horas, tanto el eritema como el nódulo pueden triplicar sus dimensiones. Si la garrapata es arrancada de forma inadecuada, las partes bucales que quedan en la piel favorecen a la formación de abscesos y supuraciones. (Cordero del Campillo 1999)



Figura 8: Acción mecánica e irritativa de la garrapata sobre el huésped, tomado de www.clubmascota.com

Microscópicamente, el lugar de fijación está rodeado por una pequeña área de tinte eosinófilo que corresponde a la substancia cementante producida por la misma garrapata. La lesión es de tipo ulceroso, crateriforme y sugiere que la epidermis ha

sido destruida tras la penetración de las piezas bucales. También se puede apreciar engrosamiento de la dermis alrededor de la picadura, consecutivo a la reacción inflamatoria (infiltración celular, edema intracelular e intracelular). La destrucción de fibras colágenas da lugar a la formación de una cavidad en la dermis (1 -1.5mm, aunque varía según la fase evolutiva implicada). Tras el desprendimiento de la garrapata, la lesión aparece infiltrada por grandes células fibroblásticas, macrófagos y algunas células plasmáticas. (Quiroz y Cordero del Campillo 1999)

b. Reacciones de hipersensibilidad cutánea.

Los fenómenos de hipersensibilidad cutánea se manifiestan en animales previamente expuestos a picaduras de garrapatas.

Inicialmente tienen lugar los fenómenos de hipersensibilidad de tipo I (reacciones alérgicas vasculares determinadas por anticuerpos).

Macroscópicamente, la reacción se caracteriza por una zona, eritematosa y pruriginosa, debida a la liberación de aminas vasoactivas contenidas en basófilos y mastocitos, principalmente histamina. En los perros, son frecuentes las reacciones granulomatosas en lugares de las picaduras, lesión que puede aumentar de tamaño y adoptar un aspecto ulceroso. La localización interdigital de garrapatas puede dar lugar a una pododermatitis. (Cordero el Campillo 1999)

La lesión cutánea producida por la picadura puede ser puerta de entrada de otros agentes patógenos como bacterias y larvas de moscas. (Soulsby 1987)



Figura 9: Granuloma ocasionado por la fijación de una garrapata y a la citología se observaron numerosos histocitos activados., tomado de www3.unileon.es

c. Acción hematófaga.

Las garrapatas se alimentan exclusivamente de sangre y estas someten la sangre a un proceso de concentración, eliminando agua de la misma que devuelve al hospedador y un elevado número de estos parásitos puede provocar pérdidas importantes de sangre hay debilidad en animales afectados, debido a que una garrapata hembra adulta puede ingerir hasta 2 - 4cc de sangre en dos a cuatro horas motivo por el cual el animal sufrirá una anemia aguda que puede llegar al extremo de causar la muerte. (Georgy 1994 y Leguia 2002)

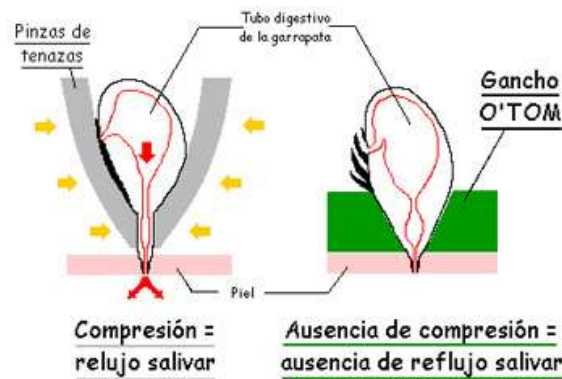


Figura 10: Acción hematófaga de la garrapata sobre su huésped, tomado de www.facilisimo.com

d. Acciones tóxicas

Las garrapatas pueden desarrollar acciones patógenas específicas llamadas toxicosis por picadura. Las toxinas son inoculadas con la saliva del artrópodo, no circunscriben sus efectos al lugar de la picadura y puede actuar sobre ciertos tejidos del hospedador. Aunque las toxicosis por garrapatas son cosmopolitas, solo unas pocas especies de garrapatas suelen ser causantes de estos síndromes. (Leguia 2002).

e. Las parálisis por garrapatas.

Aunque la parálisis por picadura de garrapatas puede ser producida por 46 especies de Ixódidos y Argasidos, cinco especies son especialmente importantes como agentes causales. Estas son: *Ixodes holocyclus*, *Ixodes robicundus*, *Ripicephalus evertsi*, *Dermacentor andersoni* y *Ripicephalus sanguineus*. La mayor parte de las veces es causada por la hembra en fase de alimentación, aunque larvas y ninfas de algunas especies pueden desarrollarlo. (Cordero del Campillo 1999)

El síntoma predominante es la interrupción de la coordinación motora, que se manifiesta como una parálisis flácida ascendente. Tras un breve periodo de incubación (5 – 7 días), se afecta inicialmente los miembros posteriores, que manifiestan una parálisis flácida, ataxia, debilidad y falta de reflejos. De forma progresiva se ven involucrados los miembros anteriores y finalmente, la parte superior del cuerpo. La parálisis de los músculos torácicos conduce a la muerte por insuficiencia respiratoria. Durante todo el proceso, la temperatura se mantiene dentro de los márgenes fisiológicos (38.5°C a 39.0°C), y los perfiles hemáticos no sufren modificaciones. (Soulsby 1987 y Cordero del Campillo 1999).

2.2.2.2. Daños indirectos

a. Transmisión de enfermedades.

Las garrapatas actúan como vectores de un gran número de virus, rickettsias, hongos, bacterias, protozoos y helmintos (filarias). En cuadro 3 incluye una lista de enfermedades transmitidas por las garrapatas, el agente etiológico y la especies responsables. (Cordero del Campillo y Leguia 2002).

Cuadro 3: Enfermedades transmitidas por garrapatas.

Enfermedad	Agente etiológico	Garrapatas/vectoras
Erlichosis canina (pancitopenia tropical canina)	<i>Erlichia canis</i>	<i>Ripicephalus sanguineus</i>
Trombocitopenia cíclica infecciosa	<i>Erlichia platys</i>	<i>Ripicephalus sanguineus</i>
Hepatoxoonosis canina	<i>Hepatozoon canis</i>	<i>Ripicephalus sanguineus</i>
Piroplasmosis canina	<i>Babesia canis, B. gibsoni</i>	<i>Ripicephalus sanguineus,</i> <i>Dermacentor reticulatus</i>
Filariosis	<i>Dipetalonema drancunculoide</i> <i>y grassi</i>	<i>Ripicephalus sanguineus</i>
Fiebre Q	<i>Coxiella burneti</i>	<i>Ripicephalus sanguineus,</i> <i>Dermacentor andersoni,</i> <i>Ixodes ricinus, Amblyomma</i> <i>americanun</i>
Haemobartonelosis canina	<i>Haemobartonella canis</i>	<i>Ripicephalus sanguineus</i>
Fiebre botonosa	<i>Rickettia conorii</i>	<i>Ripicephalus sanguineus</i>
Parálisis por picadura de garrapata	Toxinas neurotropas	<i>Ripicephalus sanguineus,</i> <i>Dermacentor andersoni,</i> <i>Ixodes holocyclus, otras.</i>
Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas	<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Dermacentor andersoni, D</i> <i>variabilis, Amblyomma</i> <i>americanum</i>
Tularemia	<i>Francisella tularensis</i>	<i>Dermacentor andersoni,</i> <i>Amblyomma americanum</i>
Borreliosis de Lyme	<i>Borrelia burgdorferi sensu</i> <i>lato</i>	<i>Ixodes scapularis, I.pacificus,</i> <i>I. ricinus, I persulcatus</i>

(Cordero del Campillo 1999)

b. Riesgo Para el hombre.

Las garrapatas causan daño directamente mediante picaduras y succión de sangre, ya que producen alergias por la inoculación de toxinas y transmiten las infecciones, se ha encontrado que las garrapatas producen depresión de la respuesta inmune. Las piezas bucales que quedan en la herida al arrancar la garrapata puede ocasionar un granuloma que se ve como pústula y que dura varias semanas, hay informes de reacciones eritematosas hasta lesiones ulcerativas y hasta casos de choque anafiláctico. (Georgy 1994)

Tanto en animales como en seres humanos, se ha descrito una parálisis. Los pacientes experimentan una parálisis flácida simétrica ascendente que causa parálisis respiratoria luego alrededor de una semana de evolución; la enfermedad se detiene con la remoción del artrópodo, pero la recuperación es lenta. (Quiroz 1999)

Debe tenerse mucho cuidado al quitar las garrapatas del perro para no contaminarse con los microorganismos responsables de enfermedades presentes en los fluidos orgánicos y las heces de las garrapatas, especialmente en las zonas endémicas de enfermedades de Lyme, Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas y enfermedades similares. Para evitar la contaminación de los dedos con los agentes infecciosos, deben utilizarse guantes de látex o tocar solamente las garrapatas con pinzas. (Cordero del Campillo 1999)

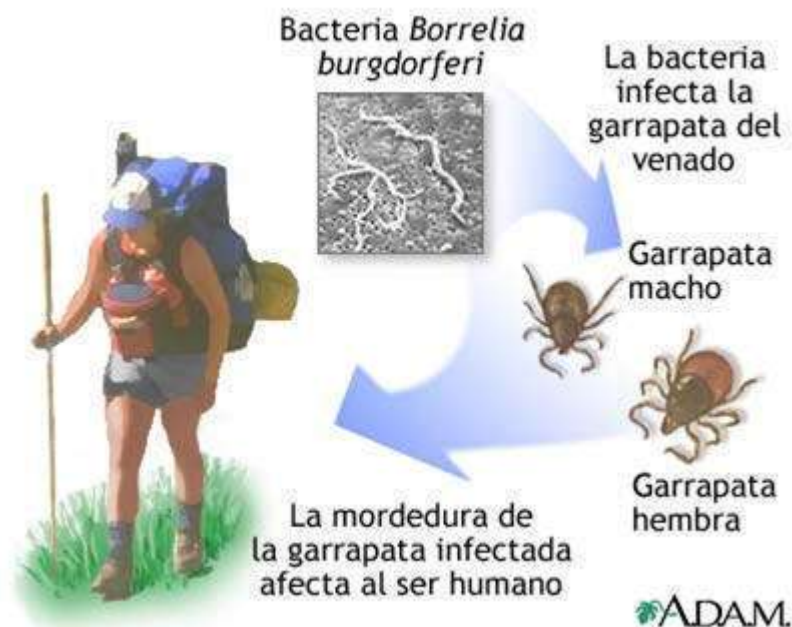


Figura 11: Ciclo de la garrapata en la transmisión de enfermedades al hombre, tomado de www.lafuertonademuriel.com

2.2.2.3. Diagnóstico de las infestaciones por garrapatas.

Tradicionalmente se ha realizado mediante la observación directa de los parásitos sobre los animales. Orejas, Cara, Cuello, Dorso, Pliegues de la Región Perianal e Inguinal, y en ocasiones las Patas (interdigitales), son los lugares preferidos de fijación. (Cordero del Campillo 1999)

2.2.3 Erradicación.

Para proceder al saneamiento integral de territorios afectados se ha recomendado las más diversas medidas, pero su ejecución depende de factores locales y de numerosas circunstancias externas, y de otra naturaleza económica. Así, pueden atacarse más o menos las poblaciones de garrapatas mediante la quema de la vegetación, la conversión de los terrenos en tierra de labor, las mejores y cuidados sistemáticos a los pastos. Una medida que tiene grandes limitaciones económicas, pero que es muy eficaz, consiste en luchar en terreno abierto contra las garrapatas con ayuda de pulverizaciones, aspersiones o nebulizaciones de insecticidas de contacto. Pero con ello pueden producirse envenenamientos de los animales de caza, aves, abejas, peces incluso los animales de pastoreo. (Borchert 1962 y Soulsby 1987)

2.2.4. Métodos de control

2.2.4.1. Control mecánico por extracción de la garrapata.

La técnica recomendada para retirar las garrapatas fijadas en el animal consiste en sujetar con una pinza, lo más cerca posible de la piel del hospedador. A continuación ejercer una tracción suave mantenida, en la misma dirección del eje de fijación, hasta que la garrapata se suelte. Hay que tener cuidado de no aplastar la garrapata durante la extracción, pues ello puede causar la inoculación de sustancias y agentes patógenos desde el cuerpo de la garrapata hasta el hospedador. (Georgy 1994 y Cordero del Campillo 1999)

Una vez realizada la extracción se debe desinfectar la herida y las manos del manipulador, y colocar la garrapata en un recipiente con alcohol al 70%. Este método puede ser efectivo en caso de un número reducido de garrapatas adultas (Cordero del Campillo 1999)

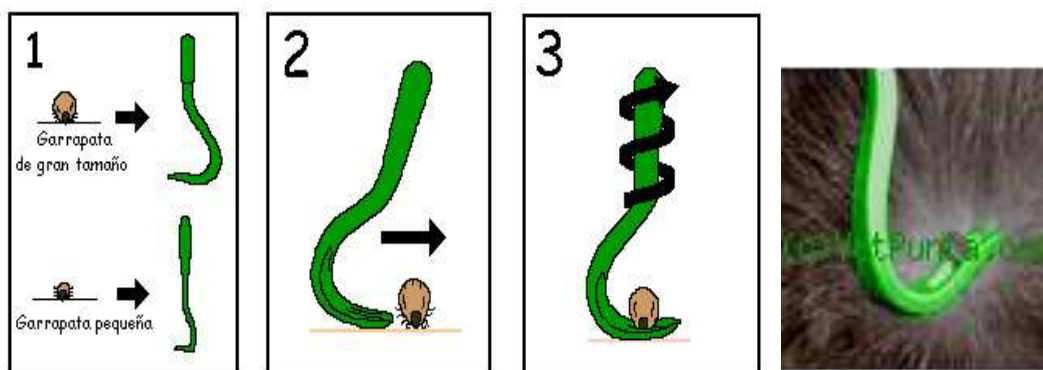


Figura 12: Técnica de extracción de garrapata con pinzas, tomado de www.facilísimo.com

2.2.4.2. Tratamiento y Control Químico.

Un número reducido de garrapatas adultas puede ser eliminado con seguridad mecánicamente, pero el perro debe ser examinado a fondo para garantizar que no quede ninguna. Las infestaciones por garrapatas en el interior de los edificios deben de controlarse con acaricidas/insecticidas de acción residual y prolongada, pertenecientes a cualquiera de las grandes clases en las que se dividen esos compuestos, de acuerdo con su naturaleza química. Órgano-clorados, Organo-fosforados, Carbamatos, Piretroides, y análogos, Formamidinas, Lactonas macrocíclicas, Avermectinas. (Georgy 1994 y Cordero del Campillo 1999)

Tanto en garrapatas como en otros ectoparásitos, los compuestos anteriores son neurotóxicos. Sus dianas más importantes son los canales axonales del sodio (DDT y piretrinas), la Acetilcolinesterasa (Organofosforados y Carbamatos), los receptores de la octopamina (formamidinas) y los receptores del ácido gamma-aminobutírico (HCH/Ciclodienos y Avermectinas). Salvo las Avermectinas que se aplican vía subcutánea, los demás son productos esencialmente de uso externo; se presentan bajo diversas formulaciones como: polvos, en emulsiones, soluciones y aerosoles, etc. (Cordero del Campillo 1999)

Los compuestos de arsénicos fueron los primeros fármacos utilizados en el control de las garrapatas, pero debido a los problemas de toxicidad, pérdida de efecto residual fueron reemplazados por los Organoclorados en los años 40. Pero, la contaminación ambiental, la presencia de Organoclorados en los alimentos y los fenómenos de resistencia descritos en los consumidores y en las garrapatas se elevaron a niveles no aceptables, así que fueron reemplazados por los Organofosforados en los años 60. Se utilizaron numerosos compuestos organofosforados como el Carbamato y el Butocarb, pero en la actualidad se utilizan otros fármacos como la Formamidina, el Amitraz y los Piretroides sintéticos. La Ivermectina o el Closantel administrados por vía parenteral se ha demostrado que son muy útiles en el control de *Boophilus*, una garrapata de un solo hospedador.

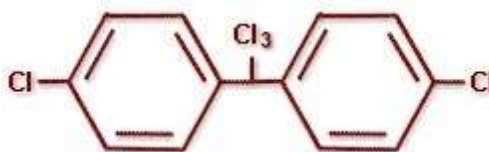


Figura 13: Fórmula molecular del DDT, tomado de www.Wikipedia.org

2.2.4.3. El compuesto Organoclorado por excelencia es el **DDT (dicloro-difenil-tricloroetano)**, históricamente el primer insecticida orgánico sintético de amplio espectro. Había sido ya sintetizado a finales del siglo XIX, pero su efecto insecticida contra parásitos externos humanos, agrícolas y del ganado fue descubierto en 1939 por el químico suizo Paul Hermann Müller, que más tarde recibió el Premio Nóbel por ello. Tuvo una importancia crucial en la Segunda Guerra Mundial para proteger a las fuerzas aliadas del tifus y de la malaria en la campaña del Pacífico.

En la agricultura y la ganadería, el **DDT** permitió sustituir a productos plaguicidas mucho más tóxicos como los arsénicos.

Pero en los años 50 se descubrió que es considerablemente tóxico para muchas aves y se acumula en la cadena alimenticia. Es decir, lo que entra en un ser vivo, incluido el hombre p.ej. si lo que come contiene residuos de DDT-, apenas si se excreta o descompone por el metabolismo, sino que permanece almacenado y se va acumulando si continúa el aporte. Todo esto llevó a una paulatina prohibición en todo el mundo para usos sobre el hombre, en agricultura o en ganadería. Hoy en día la OMS sigue recomendándolo para el control de los mosquitos (zancudos) en zonas de malaria endémica.

Los Organoclorados son lipofílicos; se absorben a través de la piel y se acumulan en tejido adiposo desde donde son liberados lentamente en la sangre y otros líquidos biológicos (leche). Por acumulación pueden dar origen a un estado de envenenamiento crónico, motivo, entre otros, por el que hoy tienen uso restringido.



Figura 14: Fórmula molecular del Diclorvos, tomado de Winkipedia.org

2.2.4.4. Los Organofosforados son ésteres orgánicos del ácido fosfórico. Esta clase química ya se conocía desde el siglo XIX, aunque no su efecto contra los ectoparásitos. En 1930 se descubrieron algunos compuestos altamente tóxicos que se usaron como gases tóxicos para uso bélico. Los compuestos ectoparasitidas, insecticidas y/o acaricidas, útiles para la agricultura y para el ganado bovino, ovino porcino y aviar se descubrieron sólo en 1950.

Los Organofosfatos se emplean como insecticidas. Su mecanismo de acción consiste en inhibir la actividad acetilcolinesterasa, a nivel de las terminaciones colinérgicas, con la consiguiente acumulación de acetilcolina y un aumento en la actividad parasimpática. Este efecto es retardado en el caso de algunos compuestos. La inhibición es reversible cuando se trata de carbamatos e irreversible en el caso de Organofosfatos. El cual tiene un pronóstico reservado a malo, dependiendo de la intensidad de los signos.

Numerosos organofosforados tienen un **amplio espectro** de acción y actúan por **contacto**, tanto contra los adultos, como contra los estadios inmaduros de moscas, garrapatas, ácaros y piojos y otros ectoparásitos.

El **poder residual** es muy variable para cada compuesto y depende mucho del hospedador sobre el que se aplica y del parásito en cuestión. Algunos organofosforados son muy volátiles con apenas unos días de poder residual (p.ej. el **Diclorvos**).

Los organofosforados muestran casi siempre **resistencia cruzada con los Carbamatos**, es decir, cuando un parásito se ha hecho resistente a los Carbamatos,

es muy probable que también se haya vuelto más o menos resistente a los organofosforados, y viceversa.

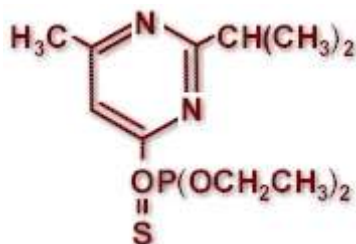


Figura 15: Fórmula molecular del Diazinón, tomado de [www. Winkipedia.org](http://www.Wikipedia.org)

Los organofosforados resultan **problemáticos para el medio ambiente**. No tienden a acumularse en los seres vivos, pero se descomponen con más facilidad que los Organoclorados, tanto en el medio ambiente, como en el metabolismo de los animales y del hombre. Pero son especialmente tóxicos para las aves. Es bien conocido el efecto nocivo que su uso extendido en baños garrapaticidas produjo en las poblaciones de las aves que se alimentan de las garrapatas.

Siguiendo estrictamente las recomendaciones de uso, el ganado tolera bien los tratamientos con los organofosforados autorizados como garrapaticidas, mosquicidas, piojicidas, sarnicidas, etc. Pero es muy importante **almacenar los productos correctamente** y **nunca utilizarlos tras su vencimiento**, pues algunos organofosforados se descomponen y dan lugar a productos mucho más tóxicos si se ven sometidos a condiciones extremas de almacenamiento (altas temperaturas, humedad, etc.).

Para algunos productos, una vez abierto el envase debe consumirse en un periodo de tiempo relativamente corto (varias semanas o pocos meses). La razón es que, expuesto al aire o a la humedad, se acelera el proceso de descomposición.

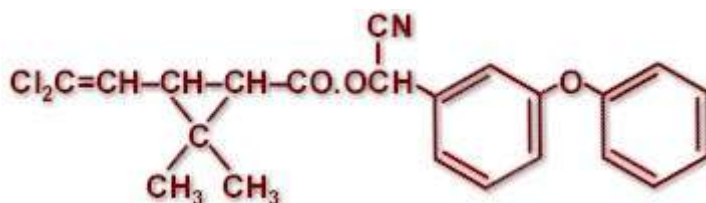


Figura 16: Fórmula molecular de la Cipermetrina., tomado de www.Wikipedia.org

2.2.4.5. Los Piretroides, también llamados piretroides sintéticos, son **análogos sintéticos** de las Piretrinas naturales, con amplio espectro antiparasitario. Las Piretrinas se extraen de los crisantemos (*Pyrethrum*, *Chrysanthemum*), tienen propiedades insecticidas y son también repelentes de los insectos (para ver artículo sobre las **Piretrinas** y otros parasiticidas naturales).



Figura 17: Flores de *Pyrethrum* spp.

Se cree que tanto las Piretrinas, como varios insecticidas piretroides actúan mediante el incremento de conducción normal del ion sodio a través e la membrana nerviosa. Se conocen dos clases de Piretroides, según los signos clínicos que provocan en animales con intoxicación aguda.

El síndrome toxico Tipo I esta provocado por piretroides que carecen de un grupo alfa-ciano (piretrina, remetrina). Este síndrome se caracteriza por ataxia, hiperexcitabilidad, convulsiones y temblores).

Los signos tipo II están producidos por compuestos con grupo alfa-ciano (Fenvalerano, Deltametrina, Cipermetrina).

En mamíferos el grupo alfa-ciano potencia tanto las propiedades insecticidas como la toxicidad. Se cree que los signos clínicos observados en el síndrome de tipo II resultan de la inhibición del acido gamma aminobutírico (GABA), un inhibidor de la transmisión del impulso nervioso; consiste en incoordinación, convulsiones, salivación profunda y temblores groseros en todo el cuerpo.

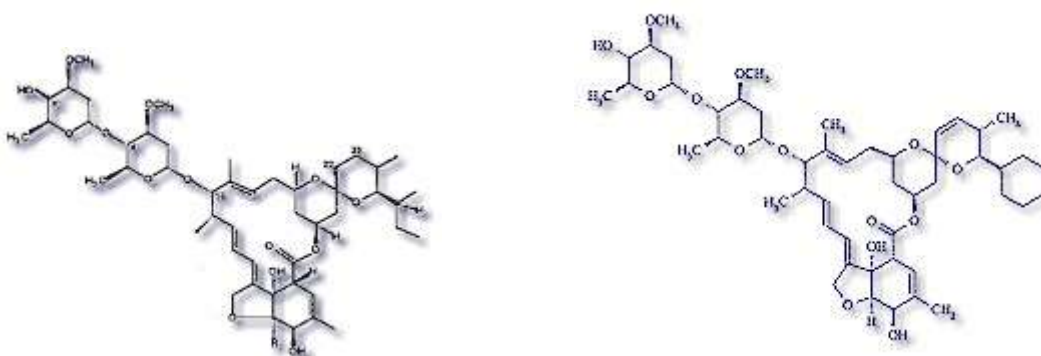


Figura 18: Fórmula molecular de la Ivermectina Tomado de [www. Winkipedia.org](http://www.Wikipedia.org)

Fórmula molecular de la

2.2.4.6. Los Endectocidas (Ivermectina, Moxidectina, Doramectina, etc.) son antiparasitarios que pertenecen al grupo de las **lactonas macrocíclicas**, derivadas de productos naturales obtenidos por **fermentación** de organismos del suelo del género *Streptomyces*.

La mayoría no se fabrican por síntesis química clásica, sino que primero se producen en grandes cantidades los *Streptomyces* por fermentación, de ellos se extrae el precursor de las sustancias activas, y este precursor se purifica y enriquece o se modifica químicamente hasta convertirlo en la sustancia activa.

El primer antiparasitario Endectocida introducido en el mercado para uso en el ganado bovino, ovino y porcino fue la **Ivermectina**

Los Endectocidas tienen **acción sistémica** (actúan a través de la sangre del hospedador), de **contacto** e incluso por **ingestión**, según cómo se aplican. La denominación *Endectocida* deriva del hecho que, además de controlar muchos ectoparásitos, también son altamente eficaces contra numerosos parásitos internos o endoparásitos, sobre todos helmintos nematodos (gusanos internos).

Los Endectocidas actúan sobre los **receptores GABA** de las células del sistema nervioso: bloquean la transmisión del impulso nervioso lo que conduce a la parálisis y muerte del parásito. Los Endectocidas tienen un **espectro muy amplio de acción** ectoparasiticida.

Aunque la sustancia activa pueda ser en sí bastante tóxica –y de hecho algunas lo son, las concentraciones a las que se usan en el ganado son comparativamente mucho menores que las de los insecticidas clásicos.

El peligro para el **medio ambiente** que puede suponer el uso de Endectocidas también es menor que el que implica el empleo de insecticidas clásicos.

La resistencia a los piretroides, tanto en la ganadería como en la agricultura y la higiene pública apareció a los pocos años de iniciarse su comercialización, más rápidamente de lo que se esperaba. Tal vez por cierta resistencia cruzada con los Organoclorados, pues su mecanismo de acción es similar. En cualquier caso, hoy en día la resistencia de algunos moscas, garrapatas, piojos, ácaros y otros ectoparásitos a los piretroides está muy extendida en todo el mundo: las especies más afectadas por la resistencia a los Piretroides son las **garrapatas *Boophilus***, las **moscas domésticas** y las **moscas de los cuernos (*Haematobia irritans*)**, las **pulgas** de los perros y gatos (*Ctenocephalides felis*), los **piojos de la ovejas (*Damalinea ovis*)** y los **Dermanisos de las gallinas (*Dermanyssus gallinae*)**.

Los piretroides son relativamente **poco tóxicos para las aves y los mamíferos**, incluido el hombre, pero son **muy tóxicos para los peces**. Una contaminación de aguas fluviales con piretroides puede causar una verdadera catástrofe en la fauna piscícola río abajo.



Figura 19: Fórmula molecular del Fipronil, tomado de [www. Winkipedia.org](http://www.Wikipedia.org)

2.2.4.7. Los fenilpirazoles son una clase química de insecticidas y acaricidas cuyo representante principal es el **fipronil**, introducido en el mercado ganadero en los años 90 del siglo XX. Se usa en el ganado para el control de parásitos externos (moscas, garrapatas) sobre todo en bovinos, pero no está disponible en todos los países. En cambio se usa muchísimo en mascotas, sobre todo perros, para el control de pulgas y garrapatas, y también en la agricultura.

El **fipronil** es un antiparasitario externo con actividad insecticida y acaricida de amplio espectro que actúa por contacto y tiene un largo poder residual. Su mecanismo de acción consiste en **bloquear los canales de cloro regulados por GABA** en la membrana celular de las células del sistema nervioso central. Los insectos afectados muestran hiperexcitación y acaban muriendo. El bloqueo parece que es más estable en insectos que en vertebrados y mamíferos, en los que se dan también este tipo de mecanismo.

Se usa abundantemente en la agricultura, en cebos contra cucarachas, en productos contra las termitas y para el control de pulgas y garrapatas en perros y gatos: de hecho es el pulguicida más vendido en el mundo en la actualidad.

Otro Fenilpirazol con efecto parasitocida es el **Piriprol** (o *pyriprole*), recientemente introducido en Europa (2007) y otros países para el control de pulgas y garrapatas en mascotas, sobre todo en perros. Hasta la fecha no ha sido introducido para uso en el ganado, ni hay indicaciones de que esto vaya a ocurrir próximamente.

Por lo que se refiere al **medio ambiente**, en la actualidad hay científicos que relacionan el amplio uso de estos productos en la agricultura (sobre todo el **Imidacloprid** y el **Fipronil**) con el problema de la mortalidad progresiva de las poblaciones de abejas y sus consecuencias para la agricultura pues se reduce la polinización y con ello la productividad de numerosos cultivos (Ej. frutales). Pero está lejos de haber sido demostrado. No obstante, algunos productos agrícolas con estas sustancias activas han sido retirados del mercado en varios países (EE.UU., Francia, etc.).

Hay reportes que confirman la **resistencia cruzada del fipronil con organoclorados** en poblaciones naturales resistentes de **mosca doméstica** y de **cucarachas** (*B. germanica*). A pesar de usarse desde hace relativamente poco tiempo, se han reportado ya casos puntuales de resistencia de **garrapatas** *Boophilus* al **fipronil** en Uruguay.

Cuadro 4. Grupos de insecticidas, modo de acción y fecha de introducción.

Lugar y modo de acciones principales	Tipo de insecticidas	Ejemplos comunes	Primer uso
Inhibidores de acetilcolinesterasa	Carbamatos	Aldicarb, Bendiocarb, Carbaril ,	1956
Bloquean la acción de la enzima acetilcolinesterasa,	Organofosfatos	Acefato, Clorpirifos, Diazinon, Dimetoato, Metamidofos, Monocrotofos, Paration	1950
interrumpiendo la transmisión de impulsos entre las			
Células nerviosas.			
Antagonistas del canal de cloruro regulado por GABA:	Ciclodieno organoclorados	Clordano , Endosulfan, gamma-HCH (lindano)	1945
Interfieren con los canales de cloruro en la membrana			
nerviosa, interrumpiendo la transferencia de iones y la	Finilpirazoles (fiproles)		
transmisión de impulsos entre las células nerviosas	Fipronil		1993
Moduladores del canal de sodio	Organoclorados.	DDT	1945
Interfieren con los canales de sodio en la membrana			
nerviosa interrumpiendo la transferencia de iones y la	Piretroides	Alletrin , Bifentrina, Ciflutrina,	1952
transmisión de impulsos entre las células nerviosas		Lambda-Cialotrina, Cipermetrina,	1977
		Deltametrina , Fenvalerate, Permetrina,	
	Piretrinas	Piretrinas (piretrum)	1850s
Activadores del canal de cloruro			
Se adhieren y activan los canales de cloruro en la	Avermectin	Abamectin, Emamectin benzoato	1985
membrana nerviosas interrumpiendo la transferencia			
de iones y la transmisión de impulsos entre las células			
Nerviosas			

El desarrollo de resistencia, por parte de las garrapatas, a todos los acaricidas determina una grave amenaza. Por tanto, se necesita urgentemente que se desarrollen nuevos métodos de control contra las garrapatas de dos y de tres hospedadores, que se localizan en el hospedador durante largos períodos de tiempo.

2.2.5. Otras medidas de control.

- Los métodos tradicionales como la quema de los pastos han sido ampliamente utilizados después de las lluvias en la época seca, cuando las garrapatas están inactivas. Este método se utiliza en amplias zonas geográficas donde se realiza ganadería y está condicionada a la recuperación de la hierba mediante la utilización de semilla que regeneren el pasto al comienzo de la época lluviosa.
- El cultivo de la tierra y el drenaje de algunas áreas ayudan a reducir la población de garrapatas y pueden ser usados en las zonas en las que llevan a cabo métodos de explotación extensiva de ganado. Esto para el caso de explotaciones ganaderas.

Pero para el caso de infestaciones en perros los métodos son los siguientes.

- Fumigación del medio donde el perro permanece más tiempo en reposo con insecticidas de buena acción residual, cada 15 días, hasta erradicar el parásito.
- Los acúmulos de tierra o arena deben ser removidos y tratados con insecticidas. También se recomienda la incineración de la cama del perro o casas para perro.

2.3 Efecto de los insecticidas químicos en el medio ambiente.

El uso de Ciclodienos, Carbamatos y Organofosforados más antiguos y más tóxicos están disminuyendo lentamente, al menos algunos de ellos han sido prohibidos en muchos países, pero en general mantienen un 50% de la cuota del mercado internacional. En la actualidad los piretroides sintéticos-introducidos a finales de 1970, representan el 20% de las ventas globales de insecticidas y tienen una toxicidad enormemente mejorados para mamíferos y aves con relación a sus predecesores.

Otras clases nuevas de insecticidas, algunos de los cuales tienen una actividad muy específica contra un orden particular de artrópodos, han sido introducidas en los últimos quince años. Este desarrollo es el resultado de una conciencia ambiental cada vez mayor, la pelea por la credibilidad ambiental entre las corporaciones y los procesos de registro, armonización y evaluación del riesgo cada vez más rigurosos.

Estos nuevos insecticidas tienen algunas ventajas sobre las clases más antiguas. La baja toxicidad en mamíferos permite un intervalo corto.

Los insecticidas de amplio espectro suelen tener efectos inmediatos, pero predominantemente de corto plazo (dos a tres meses) en insectos que no son el objetivo. Se ha observado que el escurrimiento de insecticidas (el desplazamiento de sustancias químicas hacia áreas que no son el objetivo con ayuda del viento y la temperatura) y el contacto directo con los piretroides reduce el número de insectos que no son el objetivo en penínsulas que no han sido tratados con insecticidas, en parcelas de sub-campos y en pruebas de campo a escala. Asimismo, se debe observar que

existe una considerable variación entre la susceptibilidad de diferentes grupos que no son el objetivo.

Uno de los ejemplos más comunes de cómo los insecticidas trastornan los ecosistemas de los artrópodos, es cuando su uso produce un aumento del número de plagas (“resurgimiento”) y la aparición de nuevas especies de plagas al eliminar a los depredadores y los parasitoides de dichas plagas. Esto es claramente una consecuencia de los efectos directos que los insecticidas pueden tener en las especies que no son el objetivo y ha sido observado muchas veces en pruebas de campo experimentales y a escalas mayores en insecticidas de amplio espectro.

Los insecticidas “altamente tóxicos” son la principal categoría de pesticidas en uso en muchos de los países más pobres y más de 50 de los 60 países en vías de desarrollo que respondieron un cuestionario de la FAO en 1993, reportaron que no estaban estudiando los efectos de los pesticidas en el medio ambiente. Los estudios del impacto de los insecticidas en los países en vías de desarrollo son raros sin embargo, como es lógico, ya se han observado los efectos en el suelo, el agua de ríos y aguas costeras, los peces y animales de pastoreo. Muchos países en vías de desarrollo ya están usando pesticidas en tasas de aplicación que exceden a aquellas relacionadas con los principales daños ecológicos en Europa y América del Norte. Esto es estimulado por la disponibilidad de insecticidas baratos, genéricos y producidos de manera local. En esta era de comercio agrícola cada vez más libre, condiciones bajo las cuales se producen las fuentes de alimento y fibras es un asunto de importancia universal. Por lo tanto, sería deseable lograr un consenso, incluso únicamente para asegurar la igualdad de la seguridad ambiental entre los países desarrollados y los países en vías de desarrollo.

2.3.1. Garrapatas y el cambio climático.

Se prevé que el cambio climático tenga consecuencias a largo plazo para la salud humana. La salud pública depende de suficientes alimentos, agua potable segura, viviendas seguras, buenas condiciones sociales y un entorno ambiental y social adaptado para controlar las enfermedades infecciosas. Todos estos factores pueden verse afectados por el clima.

En un mundo más cálido, los mosquitos, las garrapatas y los roedores podrían expandir sus zonas de distribución a latitudes y altitudes más elevadas. Los modelos de impacto del cambio climático indican que los principales cambios en las posibilidades de transmisión del paludismo han de producirse en los bordes (en lo que se refiere a la altitud y latitud) de las actuales zonas expuestas al riesgo del paludismo; en general las poblaciones de estas zonas fronterizas no habrán desarrollado la inmunidad a la enfermedad. La transmisión estacional y la distribución de muchas otras enfermedades que se transmiten por los mosquitos (dengue, fiebre amarilla) y las garrapatas (enfermedad de Lyme, síndrome pulmonar hantavirus, encefalitis transmitida por las garrapatas) también podrían verse afectadas por el cambio climático. Además, los cambios inducidos por el clima en la formación y persistencia del polen, las esporas y algunos contaminantes podrían promover más enfermedades asmáticas, desordenes alérgicos y enfermedades cardiorrespiratorias.

www.cambioclimatico.org.

En los últimos años se ha producido un incremento "brutal" de las enfermedades provocadas por la picadura de garrapatas, principalmente debido al cambio climático.

Bajo el lema "Las garrapatas pueden transmitir enfermedades a tu perro y a tu familia", los especialistas pretenden informar a la población sobre el riesgo que suponen las garrapatas y concienciarla de la necesidad de tomar las medidas oportunas para prevenirlas y evitar su propagación.

Expertos entomólogos atribuyen este desplazamiento al cambio climático, puesto que con el aumento de las temperaturas los insectos pueden sobrevivir en latitudes superiores.

Los últimos años, ha cambiado el modo de vida y hay un abandono del medio rural. El calentamiento de la tierra y la pérdida del equilibrio de algunos hábitats, lo que influye en el aumento de las enfermedades transmitidas por las garrapatas. www.ecdc.europa.eu.

Se registran casos en Europa, Asia, Australia y especialmente en el norte de América. Según la revisión publicada en 'Canadian Medical Association Journal', están aumentando los casos y un claro ejemplo de ello es Canadá, donde se han identificado nuevas zonas endémicas. "Esto se debe a la expansión de las garrapatas de los ciervos (*Ixodes scapularis*) en las provincias del este y del centro de América del Norte, un proceso que se acelera con el cambio climático". www.asambleaecologista.org

Ixodes scapularis se ha extendido por Nueva Escocia, el Sur de Ontario y de Quebec y el sudeste de Manitoba. Mientras tanto, las *Ixodes Pacificus* han conquistado otras zonas como el Sur de Columbia Británica. www.ops.org.

La población de garrapatas se está manteniendo casi al mismo nivel durante todo el año. Con inviernos suaves, el frío ya dejó de ser un enemigo y los brotes infecciosos se están dando en meses del año que antes era imposible ver casos, lo cual ha caído muy bien a los fabricantes de collares antipulgas, pero fatal a los animales y sus dueños, los primeros desesperados por las picaduras y los segundos paranoicos por una posible invasión de insectos. www.ecologiablog.com.

2.4. Control Biológico.

Otro aspecto del control de plagas que en los últimos años ha ganado popularidad, es el control biológico.

De acuerdo con Lecuona (1996), el USDA define el control biológico como: "El uso o manejo de enemigos naturales nativos, introducidos o genéticamente modificados (predadores, parasitoides y patógenos de plagas) y otros organismos benéficos seleccionados (antagonistas, competidores y alelopáticos) y sus productos, para reducir las poblaciones y los efectos de las plagas." un concepto un poco más sencillo lo presenta Cave (1994), quien define el control biológico como "la acción de los enemigos naturales (depredadores, parásitos, parasitoides y patógenos) para mantener la población de un organismo a un promedio inferior al que existiría en su

ausencia". Así mismo, afirma que "Los enemigos naturales no erradican la población de su presa u hospedante porque así eliminarían su fuente de alimento y reproducción". Hay individuos presas y hospedantes que escapan a la depredación, parasitismo, infección, los cuales se reproducen para mantener la fuente de alimento y reproducción de los enemigos naturales. (Lecuona 1996).

2.4.1. Control microbiano.

Las limitantes formas de control, la alternativa con el uso de los agentes de control biológico, no está completamente desarrollada. El control biológico tiene como finalidad, minimizar el uso excesivo de productos químicos (Popham y Garris, 1991), con la utilización de microorganismos y así modificar las prácticas comunes de control de plagas y enfermedades (Kaaya, 1992). Los agentes de control biológico están constituidos por microorganismos patógenos, tales como: bacterias, virus, protozoarios, nematodos y hongos.

2.4.1.1. Hongos.

Los hongos entomopatógenos se usan frecuentemente para el control de plagas en los cultivos agrícolas (Roddam y Rath, 1997; Ferron, 1981) y se considera una práctica ordinaria en algunos países como: Brasil, Inglaterra, Francia, China y EUA (Zimmerman, 1993); sin embargo, existen pocos estudios sobre este tema para el control de garrapatas, aunque se sabe que 17 especies de hongos fueron probados en ellas (Samsinakova *et al.*, 1995).

Se informa que los hongos son los principales patógenos de las garrapatas debido a su gran dispersión, por su amplio espectro y su capacidad para acceder a través de la cutícula.

Entre los hongos entomopatógenos que infectan y matan garrapatas se encuentran: *Verticillium lecanii* (Zim), *Metarhizium anisopliae* (Metch), *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize), *Aspergillus parasiticus* Spare, *Beauveria bassiana* (Bals), *Cephalosporium coccorum* (Petch), *Aspergillus niger* (Van Tiegh).

2.4.1.2. Nematodos.

Entre adultos *Mermithidae I. ricinus*, garrapatas colectas en Dinamarca, el 6% fueron infectadas con nematodos mermitidos. Estos nematodos nunca han sido reportados como parásitos de las garrapatas en la naturaleza. Sin embargo, en 1990 se demostró la manera eficiente de matar hembras ingurgitadas de *Boophilus annulatus* en cajas de Petri y también de otras especies fueron asesinadas por estos nematodos.

En general, los más susceptibles a los nematodos son los adultos sin alimentar y hembras repletas.

2.4.1.3. Otros depredadores naturales.

2.4.1.4. Artrópodos.

Hormigas (Hymenoptera)

Se cree que las hormigas son asesinos importantes de garrapatas como *B. microplus*, *annultus*, *Otobius megnini*, *moubata*. Duffy, encontró una correlación negativa entre las hormigas y las garrapatas. En México, *Solenopsis geminata* consume entre el 63 – 100% de las hembras ingurgitadas de *B. microplus*.

La introducción de *S. invicta* en Estados Unidos redujo significativamente el número de Anaplasmosis seropositivo en el ganado vacuno en Louisiana. Una invasión de *S. invicta* redujo las poblaciones de *Amblyomma americanum* de 56 a 0.3 garrapatas /unidad de superficie.



Figura 20: *Solenopsis richteri*, tomado de www.discoverlife.org

El control de las hormigas *Solenopsis richteri* con cebo de hormiga Merix, aumento drásticamente la supervivencia de huevos y larvas *A. americanum* congestionados.

2.4.1.5. Anfibios.

Sapos: *Bufo paracnemis*, sapo que ingieren garrapatas en Estados Unidos y en Brasil. Se utilizaron garrapatas hembras ingurgitadas como cebo y fácilmente fueron consumidas las garrapatas adultas por *B. paracnemis*.



Figura 21: *Bufo paracnemis*, tomado de www.scserp.com

Tortugas: *Subrufa pelomedusa* tortuga de agua, se observó que eliminaba garrapatas del Rinoceronte negro en el lecho de un arroyo.



Figura 22: *Subrufa pelomedusa*, tomada de www.cbtaiwan.com

2.4.1.6. Aves:

Las aves son generalmente consideradas como las principales depredadoras de garrapatas, se ha basado principalmente por las observaciones esporádicas, con excepción del Picabueyes. 14 especies de aves demostraron tener garrapatas en sus mollejas. Los Picabueyes son las únicas aves que se especializan en alimentarse de las garrapatas, pero muchas otras especies de aves las consumen por avidez.



Figura 23: picabueyes africano (*Buphagus* spp.), tomado de www.parasitosdelganado.com

Garzas en Bueyes. *Bubulcus ibis* (*ardeola ibis*) tienden a alimentarse cerca de los grandes animales, las garrapatas son una parte importante de la dieta de las garzas.



Figura 24: Garcilla bueyera (*Bubulcus ibis*) tomado de www.Wikipedia.org

Aves de corral domésticos: *Gallus domesticus*. Es un omnívoro que con frecuencia percibe a las garrapatas en el suelo y puede eliminar las garrapatas del cuerpo del animal.



Figura 25: *Gallus domesticus*, tomado de www.birding.in

En Kenia se confinaron pollos hambrientos en un área de 42 m² con 10 bovinos en descanso con garrapatas, consumiendo los pollos todas las garrapatas en menos de 3

horas. Los pollos parecen preferir *R. appendiculatus* que se concentran cerca de las orejas y ojos del bovino. [www. arjournals. Annualreviews.org](http://www.arjournals.annualreviews.org)

Otras aves:

Además del Picabueyes, garzas y aves de corral, algunas 43 especies también se alimentan de garrapatas. Entre ellas 29 especies que pertenecen a la orden de aves canoras (paseriformes) y algunas de 1 – 4 que pertenecen cada uno a seis ordenes de otro tipo (*Charadriiformes*, *Coraciformes*, *Cuculiformes*, *Galliformes*, y *Tinammiformes*). El valor de las aves como supresoras de las poblaciones de garrapatas en la naturaleza es difícil de evaluar Parece ser que el inmóvil garrapatas ingurgitadas son una presa fácil y sabrosa de muchas aves, que de este modo ayuda a reducir la población de garrapatas. Los cuervos comieron entre 1-29 garrapatas / ave y 24 aves Picabueyes consume el 5% de las garrapatas hembras. Verissimo informa de que el tubo digestivo de un pequeño halcón en Brasil sólo se llenó con garrapatas.



Figura 26: *Charadriiformes*, tomado de [www. en.academic.ru](http://www.en.academic.ru)



Figura 27: *Coraciformes*, tomado de [www. en.academic.ru](http://www.en.academic.ru)



Figura 28: *Cuculiformes*, tomado de [www. tetrabrazil.org.br](http://www.tetrabrazil.org.br)



Figura 29: Tinammiformes, tomado de www.eeb.cornell.edu



Figura 30: Galliformes, tomado de www.canariasmedioambiente.com

2.5. Antecedentes del control biológico.

Desde la remota antigüedad (1700 a.c.) se conocía en China las enfermedades que afectan al gusano de seda (*Bombix mori*) y fue a partir de 1835 que Agostino Bassi, por primera vez, demostró que el agente causal de la enfermedad que ataca al gusano de seda era un hongo: *Beauveria bassiana*. Así se pensó en la posibilidad de emplear microorganismos en la lucha contra insectos plaga. (De Solano, 1996).

Durante la edad media se conocía en Europa ciertas enfermedades de las abejas. En 1870, Luis Pasteur realizó investigaciones muy exitosas sobre las dos enfermedades que afectan al gusano de seda: la Pebrina y la Flacheria. Los resultados de esas investigaciones permitieron salvar a la industria de la seda francesa de la ruina. (De Bach 1964, citado por Estrada, 1991)

En los años 1911 y 1912, d` Herelle, estudió las enfermedades que afectaban a las langostas o chapulines que llegaban a Yucatán procedentes de Guatemala. Los movimientos masivos de chapulines (mangas) se extinguían en México como resultado de una enfermedad que les producía diarreas, las cuales las debilitaban y causaban la muerte. El organismo que causaba esta muerte se conoció como *Coccobacillus acridiorum*, que de acuerdo a la moderna nomenclatura pertenece a *Cloaca cloacea var acridiorum* (De Bach 1964, citado por Estrada, 1991).

Juan Antonio Alvarado reporto en 1939 en la localidad de Santa María de Jesús en Guatemala una enfermedad que causaba gran mortandad en larvas defoliadoras de los pinos. Por la descripción aparenta tratarse de un virus de poliedrosis nuclear (VPN), (Alvarado 1993, citado por Estrada, 1991)

Según Estrada (1991), en la región algodонера de Tiquisate, Guatemala, durante los trabajos demostrativos del Control Integrado de Plagas del Algodonero realizados por ICAITI y el Consejo Nacional del Algodón, se recolectaron larvas muertas de "gusano soldado" (*Spodoptera exigua*), las cuales, al ser examinadas microscópicamente, resultaron con viriosis poliédrica (VPN). Se aplicó sobre un área de 50 manzanas, el macerado de 5, 000 larvas aproximadamente; desencadenando una epizootia que

barrió literalmente a la población de larvas de soldado, aunque no afecto a las otras especies de lepidópteros presentes. También asegura que, al final de la estación lluviosa, en las plantaciones de soya y algodón, se encuentran grandes cantidades de larvas lepidópteras muertas a consecuencia de grandes enfermedades producidas por hongos como *Spicaria (Nomurea rileyi)*. En el caso del gusano peludo (*Stigmene acrea*), las poblaciones son diezgadas por el hongo *Entomophthora grylli*. También se presentan epizootias muy severas en las poblaciones de gusanos falsos medidores *Trichoplusia ni* y *Pseudoplusia includens*, causadas por virus de la poliedrosis nuclear (VPN). Además la "chinche salivosa" (*Aenolamia postica*) presenta verdaderas epizootias naturales al final de la estación lluviosa, causadas por los hongos *Entomophthora coronata* y *Metarhizium anisopliae*. Así también, en la producción cafetalera, la plaga de la broca del cafeto *Hypothenemus hampei* es afectada durante la estación lluviosa por el hongo *Beauveria bassiana*. (Monterroso 1983, citado por Estrada, 1991).

Uno de los primeros intentos en usar microorganismos para el control de insectos fue hecho por un ruso, Elie Metchnikoff, en 1879, cuando uso el hongo *Metarhizium anisopliae* contra *Anisoplia austriaca*. Posteriormente, un estudiante inicio la reproducción masiva del hongo para uso contra ciertas plagas del suelo: y una preparación comercial del hongo estuvo disponible en Paris en 1891. (Según de Solano 1996).

Actualmente se conocen alrededor de 700 especies de hongos entomopatógenos y aproximadamente 100 se han estudiado con cierta profundidad; pero solamente 6 especies han sido registradas para uso en el control de plagas

La agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos tiene registrados 20 pesticidas microbiales; de los cuales 5 están constituidos por hongos. También, en Guatemala, el fabricante formulador "Agrícola El Sol" distribuye un producto a base de *Metarhizium anisopliae* llamado Met 92 y recomienda utilizarlo en caña de azúcar contra el barrenador del tallo (*Diatrea lineolata*), chinches salivazo (*Aenolamia sp* y *Prosapia sp*), gallina ciega (*Phyllophaga sp*), y gusano de alambre (*Conoderus sp*, y *Agriotes sp*) minador de la hoja (*Leucoptera coffeella*), broca (*Hypothenemus hampei*) y en banano puede ser utilizada contra el picudo (*Cosmopolites sordidus*) (de Solano, 1996)

En la República de Cuba se han desarrollado diversos productos biológicos para el control de plagas a escala nacional. Entre ellos se pueden mencionar; **Thurisav – 24** (*Bacillus thuringiensis*) var. Kurstaki Cepa LBT- 24, altamente efectivo contra *Plutella xylostella* (Polilla de la col), *Trichoplusia ni* (falso gusano medidor), *Erinnys ello* (primavera de la yuca) *Spodoptera frugiperda* (palomilla del maíz), *Spodoptera spp*, (mantequillas prodenias), *Ascia monuste eubotea* (gusano de la col), y *Diaphania hyalinata* (gusano de los melones); **Thurisav - 13** (*Bacillus thuringiensis*) Cepa LBT – 13, utilizado contra *Ployphagotarsonemus latus* (acaró blanco), *Phyllocoptruta oleivora* (acaró del moho), y *Tetranychus tumidus* (acaró rojo)

Thurisav – 21 (*Bacillus thuringiensis*) var. Kurstaki Cepa LBT- 21 empleado en el control de *Heliothis virescens* (cogollero del tabaco) y *plutella xylostella* (polilla de la col); **Thurisav – 1** (*Bacillus thuringiensis*) var. Kurstaki, contra *Mochis latipes* (falso

medidor) y *Plutella xylostella* (polilla de la col) **Thurisav – 57** (*Verticillium lecanii*) Cepa Y – 57, muy eficaz en el control de *Bemisia tabaci* (mosca blanca), *Myzus persicae* (áfidos) y *Boophilus microplus* (garrapatas); **Basisav – 1** (*Bauveria bassiana*) Cepa LBB – 1 para el control de *Cylas formicarius* (tetuán del boniato), *cosmopolites sordidus* (picudo negro), *Pachnaeus litus* (picudo verde azul), *Diatraea saccharalis* (bórer de la caña), y *Lissorhoptrus brevisrostris* (picudo acuático); Metasav- 11 (*Metarhizium anisopliae*) Cepa LBM – 11, altamente eficaz contra *Lissorhoptrus brevisrostris* (picudo acuático), *cosmopolites sordidus* (picudo negro), *Mocis spp.* (Falso medidor), y *Monecphora bicineta fraterna* (salivita); **Paecisav- 1** (*Paecilomices lilacinus*) Cepa LBP- 1 es eficaz en el combate de *Meliodogyne spp.* (Nematodos formadores de agallas), *Globodera spp.* (nematodos formadores de quistes), *Rotylenchulus reniformis* (nematodos arriñonados), *Tylosenchulus semipenetrans* (nematodos de cítrico), *Radopholus similis* (nematodos barrenadores), y *Cactodera cacti* (nematodos de los cactus); **Tricosav – 34** (*Trichoderma barzianum*) Cepa A – 34 utilizado en el control de *Rhytophthora capsici* (marchitez del pimiento), *Phytophthora parasítica* (pudrición del tallo), *Rhizoctonia solani* (pudrición de la base del tallo o "damping off"), *Phythium aphanidermatum* (pudrición de la base del tallo o "damping off"), *Sclerotium rolfsii* (tizón de la base del tallo o del sur) y **Bibisav – 2** (*Bauveria bassiana* (Bals) vuill) Cepa MB - 1, el cual controla *Atta insularis* y *Acromyrmex octospinosus* (hormigas cortadoras de hojas).

2.5.1. Ventajas, desventajas y beneficios del control biológico.

El control biológico cuando funciona posee muchas ventajas (Tejada, 1982; Summy and French, 1988) entre las que se pueden destacar:

- Poco o ningún efecto nocivo colateral de los enemigos naturales hacia otros organismos incluido el hombre.
- La resistencia de las plagas al control biológico es muy rara.
- El control biológico con frecuencia es a largo término pero permanente.
- El tratamiento con insecticidas es eliminado de forma sustancial.
- La relación costo/beneficio es muy favorable.
- Evita plagas secundarias.
- No existen problemas con intoxicaciones.

2.5.1.1 Entre las limitaciones que tiene el control biológico se pueden citar:

- Ignorancia sobre los principios del método.
- Falta de apoyo económico.
- Falta de personal especializado.
- No está disponible en la gran mayoría de los casos.
- Los Controladores biológicos son muy susceptibles a los plaguicidas.
- Los enemigos naturales se incrementan con retraso en comparación a las plagas que atacan, por lo cual no proveen una supresión inmediata.

2.5.1.2. Alcance y futuro del control biológico.

A pesar de los problemas que continúan enfrentando los ecólogos para la aplicación exitosa de programas de control biológico, en el futuro el uso de control biológico como parte del Manejo de plagas debe ir en ascenso debido al incremento en el número de plagas resistentes a los insecticidas, contaminación del medio ambiente y el incremento de las regulaciones que prohíben el uso de productos químicos (Summy and French, 1988).

También los programas de control biológico clásico continúan siendo necesarios debido a que las plagas exóticas continúan expandiéndose por el mundo debido al auge del comercio y los enemigos naturales exóticos pudieran ser utilizados para el control de plagas nativas (Hoy, 1985).

En los países en desarrollo, donde es altamente elevado el costo de los insecticidas y muy frecuente la resistencia de las plagas a estos, el control biológico tiene una aplicación especial que no ha sido ampliamente explotado. Por lo tanto, el control biológico constituye para América Latina el método de control de plagas más viable, ecológicamente recomendable y autosostenido (Altieri et al, 1989).

El control biológico no se aplica únicamente para plagas agrícolas, también tiene uso en artrópodos que causan daño en humanos y animales.

2.5.2. Hongos Entomopatógenos.

Los hongos Entomopatógenos son un grupo de microorganismos ampliamente estudiados en todo el mundo, existiendo más de 700 especies reunidas en 100 géneros. Ellos tienen la particularidad de parasitar a diferentes tipos de artrópodos (insectos y ácaros) y de encontrarse en los hábitats más variados, ya sea acuático o terrestre, y dentro de estos, en cultivos anuales, semiperennes y perennes. Asimismo, los hongos pueden jugar un papel muy importante en la salud humana y animal, ya que algunas especies son muy virulentas. Finalmente, su característica de penetrar al hospedante vía tegumento no es muy común entre el resto de los Entomopatógenos, (Papierok, 1991, citado por Lecuona, 1996).

Dentro de la clasificación taxonómica, la diversidad de hongos Entomopatógenos se ubican en su mayoría en la clase de los **Deuteromycetes**, como por ejemplo los géneros: ***Verticillium***, ***Beauveria***, ***Metarhizium***, ***Paecilomyces***, ***Nomuraea***, ***Aschersonia***, ***Aspergillus***, etc. Otros se ubican en la clase Ascomycetes (*Cordyceps* y *Torrubiella*), y en menor cantidad en las clases Chytridiomycetes (*Coelomyces* y *Entoderma*) y Zygomycetes (*Entomophthora*). (Parada Jaco y de Serrano, 1998)

Los Deuteromycetes se caracterizan porque su micelio es tabicado y la reproducción se realiza por conidios solamente, y carecen de estructuras sexuales. Los géneros del orden Moniliales se caracterizan porque las conidias se pueden producir directamente

en el micelio o en las células esporogéneas separadas, o en conidióforos, los cuales pueden estar agrupados en racimos o paquetes. (Kuno et. al., 1982).

2.5.2.1. Modo de Acción y Ciclo de Vida de los Hongos Entomopatógenos.

De manera general, el desarrollo de una micosis se inicia por la adhesión al tegumento y la germinación de los conidios o esporas sobre este, y se puede separar en seis fases principales: (Lecuona 1996.)

- **Adhesión:** es un fenómeno que permite la fijación de los propágulos o unidades infectivas sobre la superficie física. La adhesión es un paso importante en el proceso patogénico y ha sido correlacionada con la especificidad hospedante-patógeno.
- **Germinación** la espora produce un tubo germinativo sobre la cutícula del insecto. Eso ocurre en un mínimo de 12 horas y depende de la humedad ambiental, la temperatura y, en menor grado, de la luz y ambiente nutricional.
- **Formación de apresorios** (dilatación de las hifas en la extremidad del tubo germinativo) **y estaquilla de penetración.** Los apresorios y estaquilla de penetración (que se forma en la parte inferior del opresorio y penetra la epicutícula del insecto) no se forman cuando la penetración se da por aberturas naturales.
- **Penetración.** Esta penetración, de acuerdo a información proporcionada durante el curso de Control Biológico de CATIE (Turrialba, Costa Rica, 1995), puede ocurrir de dos formas: por un proceso físico o por un proceso químico. Durante el proceso físico, la penetración se da por presión de las hifas que rompen las áreas membranosas o esclerosadas.

En el proceso químico se da la producción de enzimas (proteasas, lipasas y quitinasas) que facilitan la penetración mecánica.

La penetración generalmente se da a través de la cutícula del insecto, sin embargo, diversos autores citados por Robert y Yendol (1971) y Vega (1997), reportan casos aislados de invasión del hongo a través del tracto respiratorio o digestivo del hospedante específico.

- **Producción de toxinas.** No todos los hongos o todas las cepas de una misma especie fúngica producen toxinas. Estas son sustancias que pueden originar la muerte del insecto debido a sus propiedades insecticidas pero además, ellas actúan como inhibidoras de las reacciones de defensa del hospedante. Por alteraciones de los hemocitos y retardo en la agregación de las células de la hemolinfa. Las toxinas pueden ser de dos tipos: Macromoléculas proteicas (son enzimas extracelulares secretadas en cantidades significativas en el interior del insecto y son Proteasa y Quitinasa) y Sustancias de bajo peso molecular (es una propiedad genética de cada hongo y las principales son Ciclopeptidos, protodextrinas y dextrinas).

- **Colonización.** La hifa al penetrar se engrosa y ramifica en el tegumento y luego en el hemocele formando pequeñas colonias. Según Robert y Yendol (1971) y Robert (1981), existen algunas cepas de hongos entomopatógenos que producen suficientes toxinas en esta etapa como para causar la muerte, aunque ningún órgano principal haya sido invadido.

Después de la muerte el hongo crece dentro del cadáver y todos los tejidos internos son penetrados por hifas filamentosas. No hay desintegración del cuerpo del insecto porque el patógeno libera sustancias antibacterianas (Curso Control Biológico, CATIE, Turrialba, Costa Rica, 1995). Así se da un proceso de momificación del cuerpo del insecto.

La secuencia de la colonización es la siguiente: primero los cuerpos grasos, sistema digestivo, tubos de Malpighi, hipodermis y sistema nervioso, músculos y tráquea. El tiempo de colonización del hongo varía entre 76 a 120 horas.

- **Emergencia del hongo hacia el exterior:** el hongo se encuentra formando una gran masa miceliar en el interior del hospedante, manteniendo intacto el tegumento. Puede permanecer bajo esta forma en cuanto las condiciones de humedad relativa sean bajas. En cambio, en ambientes húmedos y cálidos logrará atravesar nuevamente el tegumento pero esta vez desde el interior del insecto. Generalmente, emerge por las regiones menos esclerosadas del tegumento, como las membranas inter-segmentales o los espiráculos, pero esto dependerá del hospedante y su estado de desarrollo.
- **Esporulación:** una vez que las hifas atraviesan el tegumento, ellas pueden quedar en esta etapa vegetativa o pasar a la reproductiva dentro de 24 a 48 horas, con formación de conidios o esporas, si las condiciones de humedad relativa son altas.
- **Diseminación:** los conidios o esporas formados sobre el insecto se diseminan por acción del viento, agua, el propio hombre o de otros microorganismos.
- **Reproducción del hongo.** La muerte del insecto ocurre a los 4 o 5 días; 48 a 60 horas después de la muerte, las hifas comienzan a emerger por los espiráculos, a través de las áreas más delgadas (regiones intersegmentarias). Después emergen por la cutícula más gruesa por medio de presión mecánica. A las 24 ó 48 horas después de la emergencia de las hifas ocurre la producción de conidios y este proceso requiere una atmosfera (Vega, 1997). La figura x muestra una garrapata infectada por *Verticillium lecanii*, donde es fácil observar el micelio del hongo creciendo sobre el cuerpo del artrópodo.

Cada uno de estos pasos es importante, no solo para provocar la muerte del hospedante, sino también para la posterior diseminación en el hábitat. Se puede afirmar que las tres primeras etapas; adhesión, germinación y penetración, son fundamentales para iniciar un proceso patogénico y son las que más influyen sobre la especificidad entre el patógeno y el hospedante. (Lecuona 1996). Según Roberts (1981), muchos hongos entomopatógenos

sobreviven a sus hospederos únicamente después de cierto crecimiento en el hemocele; así que presume que las toxinas producidas por el hongo pueden llegar a causar la muerte del hospedero.

Obviamente, aquellos hongos que no pueden completar de manera satisfactoria las primeras etapas de la micosis tendrán baja virulencia a pesar de poseer una alta capacidad para sintetizar toxinas.

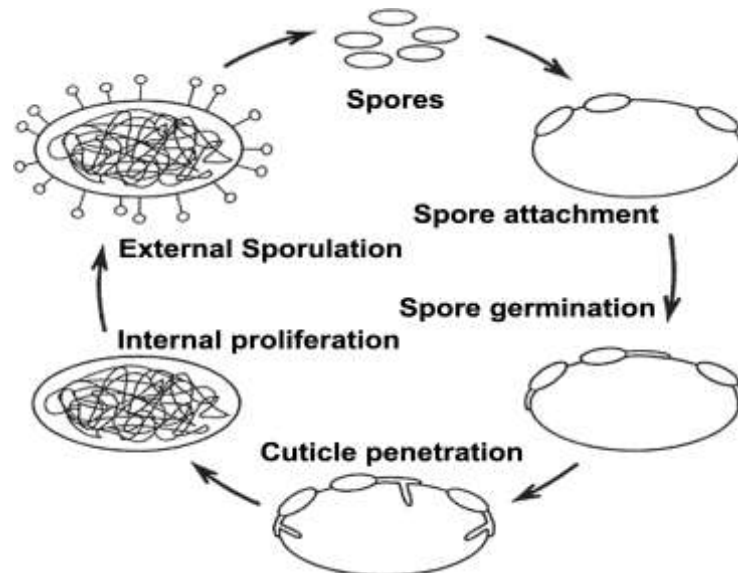


Figura 31. Ciclo generalizado de la infección de hongos que matan a insectos

2.5.2.2. Parámetros de evaluación de Entomopatógenos.

El éxito del control de una plaga mediante el uso de enemigos naturales depende de ciertos factores que estos deben poseer. Un enemigo natural exitoso debe tener una tasa de reproducción alta, habilidad para encontrar o entrar en contacto con su hospedero; debe poseer especificidad en relación a su hospedero, adaptabilidad a diversas condiciones ambientales y poseer cierto nivel de sincronización con su hospedero (Hoffman y Frodsham, 1993)

Mahr (1999) menciona que algunos factores que afectan la adopción y aceptación de las prácticas de control de plagas es que estos deben tener un costo económico efectivo, su empleo debe ser relativamente sencillo y seguro para el ser humano, el agroecosistema y medioambiente. Para desarrollar un agente de control eficiente, debe desarrollarse protocolos de evaluación específicos basados en la plaga, el enemigo natural y como este es empleado, el cultivo y los factores ambientales que afectan todo esto.

Existen, así mismo, ciertos parámetros para la producción comercial y uso exitosos de hongo entomopatógenos. Primero, un agente para producción, virulencia hacia los

individuos plaga. En segundo lugar, el costo de producción debe ser mínimo para lograr competir en el mercado con los plaguicidas o insecticidas convencionales y en

tercer lugar, los productos comerciales deben ser formulados para controlar diferentes plagas con aspectos biológicos distintivos.

Para la evaluación apropiada de enemigos naturales se necesita un entendimiento de los ciclos de vida tanto del enemigo natural como de la plaga, lo cual incluye la habilidad para reconocer los diferentes estadios vitales de ambos. (Mahr, 1999)

A pesar de los muchos parámetros de evaluación que deben ser tomados en cuenta y las muchas ventajas mencionadas en relación al control biológico, la característica más importante que este debe poseer es que **debe funcionar**. Inútil es, si un agente de control biológico no funciona sobre los animales, extendiéndose también en virtud desde el punto de vista económico, la seguridad ambiental y la seguridad para el ser humano. (Mahr, 1999)

2.5.2.3. Seguridad en el empleo de hongos.

En relación con la seguridad que ofrecen los hongos entomopatógenos para el hombre y otros animales, se puede decir que ellos no causan ningún perjuicio ya que, entre otras cosas, difícilmente logran desarrollarse dentro de la temperatura normal de los mamíferos.

Los posibles problemas alérgicos pueden ser debido a la inhalación de partículas fúngicas, que varían con la predisposición de cada persona, así como ocurre con el polen de ciertas flores.

2.5.2.4. Técnicas Empleadas con Hongos Entomopatógenos

Hay que destacar el cuidado en las condiciones de asepsia con que se debe trabajar (flameo, esterilización, etc.) propias de cualquier laboratorio de microbiología o fitopatología. Se remarca que el uso de una cámara de flujo laminar vertical es imprescindible para los trabajos relacionados con los hongos entomopatógenos; la corriente o flujo de aire debe ser vertical pues en las horizontales, el operador puede correr el riesgo de inhalar partículas perjudiciales para las vías respiratorias (Lecuona. 1996.)

2.5.2.5. Aislamiento.

Esta es la primera etapa importante la de Laboratorio y de su éxito dependerán las actividades posteriores. Por lo tanto, se recomienda trabajar bajo las condiciones más asépticas posibles.

Los hongos entomopatógenos pueden ser aislados por diferentes procedimientos. El más aconsejable es el aislamiento por dilución decimal seriada, también llamado Monosporico. (Lecuona. 1996)

Se parte de un insecto bien esporulado, lo cual se logra después de 24 a 48 horas de permanencia en una cámara húmeda, según el estado del insecto y del patógeno. El espécimen es colocado en un recipiente conteniendo 10ml de agua destilada estéril con 0.01% de tween 80. Este producto, facilita la separación de los conidios dando una suspensión más homogénea.

Luego de una agitación considerable, los conidios son desprendidos del cuerpo del insecto, formándose una suspensión concentrada del inóculo.

Una segunda forma de obtención de cepas, no tan recomendada como la primera, consiste en tomar con un asa bacteriológica una porción del hongo presente sobre el insecto y pasarla sobre una caja de Petri con medio nutritivo solidó, en forma de estrías. De este modo, se consigue diluir la concentración conidial a medida que avanza con las estrías, lográndose un crecimiento en masa al inicio y colonias separadas al final.

En los caso en que las muestras estén demasiado sucias, es posible realizar una limpieza externa del insecto antes de colocarlo en una cámara húmeda, para esto se sumerge el espécimen en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) del 3 al 5% durante 3 minutos. Luego se enjuaga en tres baños sucesivos de agua destilada estéril para eliminar el exceso de hipoclorito de sodio. (Lecuona. 1996.)

2.5.2.6. Medios de Cultivo.

Medio de cultivo es toda sustancia o solución que permite el crecimiento de uno o más organismos; mientras que Cultivo es el producto del crecimiento de un organismo.

Los medios de cultivo empleados pueden ser tanto simples como complejos. Ellos deben de suministrar los elementos necesarios para la correcta multiplicación del hongo; en ciertos casos, estos requerimientos varían con las distintas especies fúngicas. Los medios pueden ser sólidos o líquidos.

En la literatura se podrán hallar distintos tipos de medios, solo se citarán a continuación los más empleados en patologías de insectos. (Lecuona 1996.)

Papa Dextrosa Agar (PDA), Sabouraud Dextrosa Agar (SDA)

Modo de acción: la infusión de carbohidratos y papa promueven el crecimiento de levaduras y mohos, mientras el bajo valor de Ph inhibe parcialmente del crecimiento de los acompañantes de la flora normal. (Merck Microbiology Manual 12th Edition)

Existen medios que son más ricos en sustancias nutritivas que son llamados Medios Completos.

Sabouraud Maltosa Agar Levadura (SMAY), Sabouraud Dextrosa Agar – Yema de Huevo.

2.5.2.7. Coloraciones para Observación Microscópica.

Los colorantes utilizados cumplen la función de realzar o tornar más visibles a los patógenos para poder identificarlos con mayor facilidad.

Para observación microscópica de estructuras vegetativas se pueden utilizar varias coloraciones, de las cuales se mencionan los más simples y más utilizados como: **Azul de Metileno y Lactofenol Azul Algodón.** (Lecuona1996.)

2.5.3. Conservación.

Los cultivos microbianos son muy vulnerables y se pueden contaminar, mutar o morir si ellos no son preservados adecuadamente, teniendo en cuenta que el almacenamiento de los entomopatógenos es extremadamente afectado por la humedad.

Existen varios métodos para conservar un hongo entomopatógeno, los cuales dependen de las facilidades con que dispone cada laboratorio y de sus objetivos. No existe un método universal de preservación, incluso pueden existir diferentes comportamientos entre cepas de un mismo hongo. Generalmente, lo que hace todo laboratorio es emplear dos métodos distintos de conservación para evitar cualquier posible pérdida de material fúngico

Dejando de lado el procedimiento de almacenamiento, es conveniente, antes de comenzar su reactivación pasándola por su insecto hospedante y verificar su viabilidad y pureza. Esta precaución está basada en que ciertas cepas pueden perder alguna característica importante durante su conservación. (Lecuona 1996.)

2.5.3.1 Reducción del Metabolismo.

✓ Temperaturas bajas.

Es el método más tradicional de conservación que consta de transferencias periódicas de cultivos, repiques, para un nuevo medio, generalmente en tubos de ensayo con bisel; con posterioridad a su esporulación, son almacenados a 4°C.

El intervalo de transferencia varía con el microorganismo y el medio, mientras más complejos o ricos éste, mayor frecuencia en los repiques, pudiendo oscilar entre 6 a 18 meses. Este tiempo puede ser mayor de 4 a 5 años, si se lo almacena a temperaturas próximas a -20°C, la cual favorece la dormancia de las esporas.

Este método tiene la ventaja de ser económico y no requiere de equipos especiales; para pequeñas colecciones, no demanda tiempo y además, es rápida la reutilización de la cepa para iniciar cualquier ensayo en estudio. Sin embargo, la transferencia periódica del cultivo presenta riesgos de pérdidas de cepas y de su patogenicidad modificaciones de sus características morfológicas, introducción de contaminantes, generar mutantes demanda mano de obra, tiempo y espacio. (Lecuona 1996)

✓ Inducción de dormancia.

a) Secado sobre sílice.

Como sustrato para secar los conidios de los hongos se tiene sílice (SiO_2) purificada, tiene la desventaja de los riesgos de contaminación por sucesivas manipulaciones pero, no requiere de equipo especializado y se puede disponer de varios inóculos de un mismo tubo o colonia fúngica.

a) Liofilización.

Este método de secado a frío es muy eficiente para la conservación por periodos largos, 20 o más años. Si bien es un procedimiento simple, sus aspectos teóricos son complejos, pues en la liofilización se retira el agua de una suspensión fúngica congelada por medio de la sublimación bajo presión, es decir, que el agua congelada es evaporada sin pasar por la fase líquida. La liofilización puede ser por congelamiento o por centrifugación.

b) Nitrógeno líquido.

El almacenamiento a temperaturas ultra bajas preserva la viabilidad, pureza y estabilidad de las cepas por periodos muy largos (20 años o más). El método más empleado es a través del uso del nitrógeno líquido que permite obtener temperaturas de -196°C .

Este método por congelamiento, si es bien realizado, elimina los riesgos de contaminación, manteniendo los microorganismos en condiciones estables. (Lecuona 1996).

2.5.3.2. Epizootiología.

La epizootiología estudia la dinámica de las enfermedades en las poblaciones de insectos presentes en un ecosistema, un proceso de múltiples interacciones dentro y entre poblaciones tanto de los insectos como de los microorganismos. Esta ciencia no solo comprende el estudio de las enfermedades infecciosas sino también, el de las no infecciosas que son el resultado de diferentes causas: nutricionales, genéticas, fisiológicas, físicas, etc. (Lecuona 1996)

La enfermedad puede ser **epizoótica** cuando un gran número de insectos en un periodo corto sufre una caída abrupta de su población por un determinado patógeno, presentando niveles con variaciones aleatorias y extremas. Por otro lado, se llama de **Enzoótica** cuando las características de la enfermedad se repiten anualmente, existiendo una baja incidencia sobre los insectos, pero estando constantemente presente en la población. (Lecuona 1996)

a. Factores Ambientales: los factores ambientales cumplen una función esencial en la iniciación y desarrollo o en la prevención y supresión de las epizootias naturales afectando las condiciones fisiológicas del hospedante, su densidad y distribución espacial y temporal. Ellos forman un complejo de factores que interactúan entre sí y entre los otros componentes del ambiente, siendo los más estudiados la temperatura y humedad relativa.

b. Temperatura: La temperatura puede afectar la estabilidad de los patógenos en el almacenamiento, durante las aplicaciones en el campo y en su ocurrencia natural en el agroecosistema. Como los entomopatógenos no poseen condiciones biológicas para defenderse de las graves variaciones de temperatura, este factor puede ser, muchas veces, limitantes para varios microorganismos.

Por otro lado, siendo los insectos poiquiloterms, una rápida variación en la temperatura, por debajo de 15°C o superior a 38°C, puede actuar como un factor estresante y tornarlos así más sensible a los entomopatógenos. De modo general, la baja favorable de temperatura para los diferentes grupos de entomopatógenos varía entre 20 y 30 °C. Sin embargo, existe una temperatura ideal para cada patógeno y para cada fase del ciclo de las relaciones entre este y los hospedantes.

La temperatura es uno de los factores abióticos más importantes para los hongos entomopatógenos, ya que puede afectar la germinación de las esporas, el desenvolvimiento y penetración del tubo germinativo y la colonización y reproducción. Las exigencias térmicas de los hongos son variables en función de la especie, cepa y fase del desarrollo. El desarrollo de la enfermedad fúngica en los insectos puede ser perjudicado por temperaturas superiores a 30°C. (Lecuona 1996)

c. Humedad relativa y precipitación. La humedad relativa es un factor de gran importancia, tanto para el hospedante como para el patógeno. Ella es necesaria para las diferentes fases del ciclo de las relaciones entre ambos organismos. Así, ella actúa sobre la germinación, penetración y es indispensable para la reproducción de los hongos entomopatógenos. Por otro lado, mientras que la temperatura afecta la velocidad del proceso de la enfermedad, la falta de humedad adecuada puede perjudicar a una epizootia. (Lecuona 1996)

En relación con los hongos, se ha observado que a medida que la humedad relativa disminuye, puede aumentar la temperatura media letal para los conidios.

En general varios patógenos no toleran humedades elevadas durante la fase de almacenamiento. La forma y el momento de liberación de los inóculos al medio pueden jugar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad a campo, estando influenciados por factores climáticos como la humedad relativa y la luz.

d. Radiación solar y fotoperiodo. La sensibilidad de los patógenos a la radiación ultravioleta puede variar en función de la especie y cepa del patógeno. Muchos estudios indican que los entomopatógenos presentan gran sensibilidad a la radiación solar. (Lecuona 1996)

En líneas generales, el fotoperiodo no constituye un factor limitante para la producción de hongos entomopatógenos.

f. Agroquímicos: la susceptibilidad de los entomopatógenos a los agroquímicos puede variar de acuerdo con el grupo y cepa del patógeno, con la naturaleza química del producto y con la dosis empleada. Existen sustancias que son letales para los microorganismos, otras poseen efecto fúngico o bacteriostático y finalmente productos a dosis normales y/o sub-letales pueden favorecer su crecimiento, reproducción y virulencia.

g. La Temperatura y la humedad relativa son también dos factores que juegan un papel muy importante sobre los entomopatógenos en el campo. La primera esta íntimamente relacionada con la radiación solar y es posible que se pueda incorporar a las formulaciones de sustancias que disipen el calor. En relación a la

humedad y las precipitaciones, se sabe que estas pueden limitar el desarrollo de las enfermedades, sin embargo, excesos de lluvia pueden inhibir este proceso por el lavado de conidios transportados por el viento. (Lecuona 1996.)

2.6. Generalidades de los hongos.

Los hongos se consideraron originalmente como plantas inferiores en la categoría de Criptógamas y en la división (*Phylum*) Thallophytas. Desde 1969, Whittaker los colocó en el reino Fungae y agrupó a los seres vivos en cinco reinos en la escala biológica.

Los hongos constituyen un complejo y fascinante grupo de organismos, tan grandes que se calculan entre 100 a 300,000 especies, viven en los medios muy variados y solo alrededor de 100 son necesariamente patógenos para mamíferos, pero también hay patógenos de vegetales, insectos (entomopatógenos) o de hongos (microparásitos), unos pocos cientos de hongos son oportunistas. (Arena, 2004)

Los hongos tienen como característica común la ausencia de clorofila, por tanto no pueden realizar fotosíntesis y deben nutrirse a partir de materias orgánicas ya elaboradas. Pueden descomponer organismos muertos o sus productos (saprofitos o saprótofos) y obtener el nutriente de otros organismos vivos o huésped (parásitos). Cuando el parásito ocasiona una enfermedad declarada en cualquier individuo expuesto, se llama patógeno. (Arena, 2004)

Los hongos tienen una ecología estratégica que les permite llenar sus requerimientos nutricionales junto con su ambiente físico como temperatura, actividad acuosa y aerofilia. Los hongos patógenos son especies zootrópicas que requieren de tejido vivo para el crecimiento, al menos durante una parte de su ciclo, en cambio los hongos oportunistas son necrotróficos o sapotróficos, es decir utilizan componentes orgánicos producidos por vertebrados o compuestos orgánicos de no vertebrados. (Arena, 2004)

Los hongos tienen gran importancia para conservar el equilibrio de la naturaleza, pues desintegran o reciclan casi todos los restos orgánicos; intervienen en la producción del humus del suelo, muy importante para su fertilidad; a esto se le denomina biodesintegración y es indispensable en la biosfera, pero también participan de manera indeseable en el biodeterioro.

A. Características fundamentales de los hongos.

- Todos son heterótrofos (quimioorganótrofos) por lo que tienen que alimentarse de materia orgánica preformada que utilizan como fuente de energía y de carbono.

Son Eucaritas, es decir presentan un núcleo diferenciado con membrana bien organizada

- Tienen una pared celular formada por polisacáridos, polipéptidos y quitina; esta pared es rígida, por lo que no pueden fagocitar alimentos sino que absorben

nutrientes simples y solubles que obtienen al desintegrar polímeros mediante enzimas extracelulares llamadas despolimerasas.

- La estructura fúngica consta de un complejo llamado talo o micelio, que a su vez está constituido por múltiples filamentos o hifas (hifomicetos o mohos) o, menos a menudo, por estructuras unicelulares o levaduras (blastomicetos); estas últimas se reproducen por gemación y muy rara vez por fisión binaria.

El talo está constituido por dos partes: a) talo vegetativo que asegura el desarrollo, la nutrición, fijación y edificación de la parte reproductora, b) talo reproductivo, donde se forman los órganos de reproducción. Puede estar presentado por hifas, levaduras o pseudohifas (blastosporas que no se separan). (Arena, 2004)

Si el talo está disociado se producen colonias de levaduras de crecimiento rápido, consistencia cremosa y que se re-siembran como las bacterias en puntos o estrías. Si el talo es filamentososo da lugar a colonias de mohos de crecimiento centrifugo, con filamentos aéreos entremezclados, más o menos largos, o agrupados de manera compacta, con superficie clara recubierta de vello fino; el crecimiento es lento salvo en los hongos oportunistas. (Arena, 2004)

La hifa es un tubo de longitud variable formado por una pared celular rígida, en el que fluye protoplasma. El diámetro varía de 1 a 30 micras; termina en punta, misma que constituye la zona de extensión representa la región de crecimiento.

Los hongos superiores muestran tabiques transversales que se denominan septos y forman el micelio tabicado; tiene poros que permiten el paso del citoplasma y el núcleo, de ahí que las hifas no constan de células sino de compartimientos. Los hongos inferiores que tienen un micelio continuo o cenocítico, carecen del tabique (septos) o tienen muy pocos y solo se presentan para aislar las partes viejas o las reproductoras. (Arena, 2004)

Los núcleos tienen membrana doble y nucléolo; los organelos citoplasmáticos incluyen mitocondrias, retículo endoplásmico, vacuolas, ribosoma 80S (las bacterias tienen 70S) y aparato de Golgi relacionado con la producción de vesículas secretoras, cuerpos lipídicos, inclusiones cristalinas (ergosterol) y micro-cuerpos; también puede haber hileras de microtúbulos y glucógeno. (Arena, 2004)

B. Estructura de los hongos.

Las hifas tienen capacidad de anastomosarse en los puntos de contacto, principalmente en hongos superiores, y de esta manera pueden intercambiar citoplasma y núcleos. Las ramificaciones son sucesivas, lo que da a la colonia una forma circular que recuerda una tiña del cuerpo.

En los hongos mucedínáceos las hifas son incoloras o hialinas, y en los negros o dematiáceos, de color oscuro por la presencia de pigmentos de tipo melanina. Estos pigmentos son complejos que confieren tolerancia contra estrés ambiental y contra oxidantes antimicrobianos que se producen durante la defensa del huésped.

Las paredes fúngicas están formadas por varias capas: polisacáridos como glucanos (polímeros de glucosa), mananos (polímeros de manosa) y polímeros de glucosamina, proteínas (de algunas de las cuales son permeasas); lípidos (el ergosterol es un esteroles esencial); componentes fibrilares como la quitina, y rara vez, celulosa.

En el ápice de las hifas hay vesículas que forman un complejo interno de membrana y contiene enzimas que sintetizan y desintegran la pared; también partículas denominadas quitomosa, cuya función no se conoce en definitiva. (Arena, 2004).

C. Necesidades fisiológicas de los hongos.

Los hongos deben de encontrar en los medios de cultivo lo necesario para su crecimiento y desarrollo: a) materia s nitrogenadas como peptona, b) azúcares como glucosa o maltosa, que son indispensables; c) un soporte sólido como la gelosa, que permite a los hongos filamentosos desarrollar micelio aéreo con órganos de fructificación, d) conviene más un pH ácido (de 5 a 6). Muchos hongos necesitan vitaminas, estas se encuentran en las impurezas de la peptona y del azúcar. (Arena, 2004)

D. Reproducción de los hongos.

Para conservar su capacidad de adaptación, los hongos deben reproducirse fácilmente. Las hifas se desarrollan a partir de una espóra por emisión de un tubo germinativo, la forma más simple ocurre crecimiento apical de las hifas, no existe crecimiento intercalar pero las células no terminales pueden emitir ramificaciones.

La reproducción se realiza por medio de esporas y puede ser sexuada (teleomorfa) o asexuada (anamorfa). Los hongos que presentan ambas formas se llaman holomorfos. La reproducción sexuada o perfecta se produce por la unión de dos núcleos, en tanto que la asexuada o imperfecta (hongos mitospóricos), se da a partir de un micelio aéreo o reproductor, sin fusión de los núcleos. (Arena, 2004)

2.6.1. *Verticillium lecanii* (Zimmerman)Viegas.

En el año de 1898, en la isla de Java Zimmerman descubrió el hongo denominado *Cephalosporium lecanii* sin embargo, en el año de 1939 el mismo hongo fue reportado como *Verticillium lecanii* por Viegas, quien se refirió al característico "halo blanco" debido al micelio blanco formado por éste sobre el insecto *Coccus viridis* (Green) (Samsom y Rombach 1985).

El hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* es cosmopolita por su amplia distribución y puede provocar epizootias de gran magnitud en regiones de clima tropical y subtropical, así como en los ambientes cálidos y húmedos de invernadero.

2.6.1.1 Clasificación Científica.

Reino: Fungi (Hongos)

Filo: *Ascomycota anamórfico Hypocreales*

Clase: *Deuteromycetes*

Género: *Verticillium*

Especie *lecanii*

2.6.1.2. Taxonomía.

Durante los últimos años *Verticillium lecanii* junto a otros géneros, ha sido sujeto de múltiples investigaciones; en las cuales se busca esclarecer su ubicación fitogenética, así como el origen de sus atributos como arma para el control de plagas. Todo esto debido a que la agrupación de los diferentes géneros de entomopatógenos, según sus características morfológicas, coloniales, miceliales y de formación de sus conidias, no necesariamente refleja la relación fitogenética entre ellos (Goettel, et. al; 2001).

El género se puede dividir en tres grupos basados ecológicamente en 1) Mycopatógenos 2) Entomopatógenos (Zare y Gams, 2001) y 3) Los agentes patógenos de plantas y las formas convexas de Saprofitos (Barbara y Clewes, 2003).

Un ejemplo de esta constatación búsqueda lo constituye la lista larga de sinónimos que posee como entomopatógeno y muchos de ellos se deben al descubrimiento de nuevas características o propiedades, las cuales fueron consideradas en su nueva y constante clasificación, la cual aún no ha concluido por la Colección Española de Cultivos Tipo. (Zare y Gams, 2000; Zare y Gams, 2001)

Nombres anteriormente conocidos como: *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas y *Cephalosporium lecanii* Zimmermann (Zare y Gams, 2001). *Lecanicillium lecanii* es el nombre aprobado hasta hoy en día.

Se encontraba ubicado en la División Deuteromycota, Subdivisión Deuteromycotina en la cual se agrupaban aquellos organismos a los cuales no se les había asociado todavía una fase de reproducción sexual o perfecta (Zare y Gams, 2001; Catalogo de vida, 2005)

En esta subdivisión se le ubicaba en una clase denominada *Hyphomicetes*, caracterizándose por poseer esporas asexuales; denominadas conidios, que crecían a partir de células conidiogénicas especializadas y que pueden formarse a partir de hifas

simples o bifurcadas llamadas conidióforos; que con frecuencia pueden formar agregados de estos llamados synnemata o esporodoquios (Goettel, et. al; 2001).

En vista de que no se había comprobado o que no se conocía la forma sexual, se propuso una teoría sobre los determinantes genéticos que relacionan las diferentes especies, la cual exponía la existencia en este género, de forma de combinación de material genético denominado heterocariosis, la cual ubica a los organismos, dentro de los que se denominan Grupos de compatibilidad vegetativa (VCG, del inglés Vegetative Compatibility Groups).

Estas se definen como agrupaciones subespecíficas, dentro de la cuales, los aislamientos pueden fusionar sus hifas para formar estructuras denominadas "heterocariones" y así se lleva a cabo un intercambio de información genética. Lo anterior es respaldado por el análisis de algunos aislamientos de cepas altamente virulenta de *V. lecanii* mediante RAPD, usando el mismo marcador de grupo, que llevaron a su identificación como vegetativamente compatibles (Leslie, 1993)

2.6.1.3. Descripción del Género *Verticillium*.

Características Morfológicas/Diagnósticas

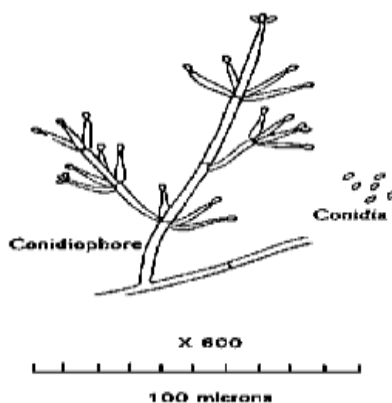


Figura 32: Morfología de *Verticillium lecanii*, tomado de [www. fda. gov](http://www.fda.gov)

A. Los conidióforos de las especies *Verticillium* son poco diferenciados de las hifas vegetativas y de las células conidiógenas. Pero de trecho en trecho sostienen a las fiálides. El Conidióforo es grande o alto, erecto y septado, lleva fiálides solas o en grupos de 2-8.

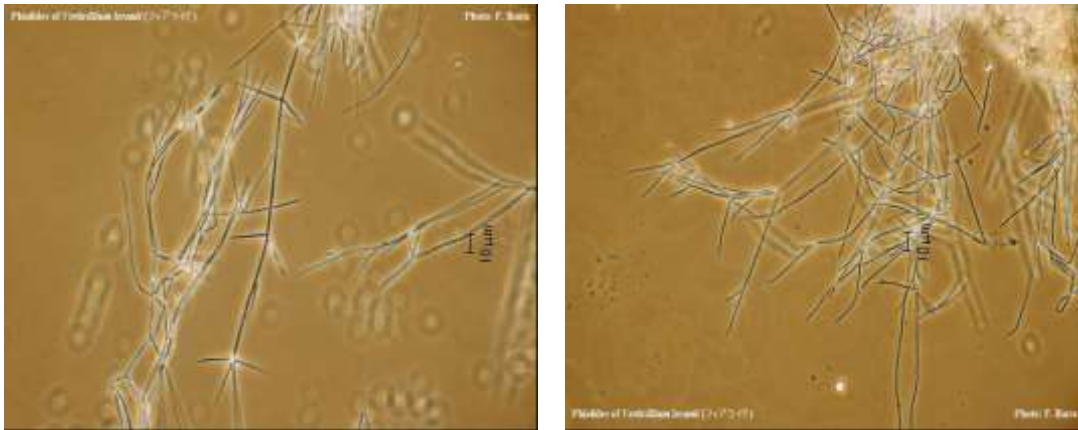


Figura 33: Morfología del conidióforo y fiálides de *Verticillium lecanii* visto microscópicamente

B. Las conidias de *V. lecanii* son pequeñas, y salen del extremo de las fiálides en un grupo formando cabezuelas. Son hialinas cilíndricas o elipsoidales y redondeadas en sus extremos, con medidas que varían de 2.3 – 10.0 milimicras de largo por 1.0 a 2.5 milimicras de ancho. Estas conidias nacen en forma de gotas filamentosas o en cadenas. (Samsom y Rombach 1985).

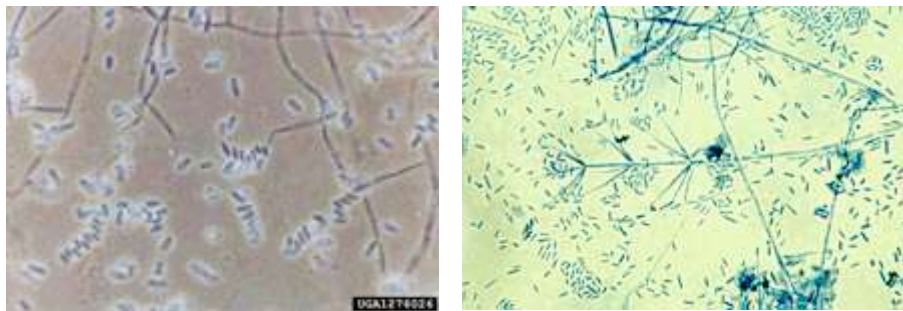


Figura 34: Morfología de las conidias de *Verticillium lecanii* vista microscópicamente.

C. Fiálides (células conidiógenas): Están erectas, en forma de verticilios o de punzón, son hialinas y lisas; con medidas de 11.9 a 14.3 μm de largo por 1.6 a 2.4 μm de ancho. Generalmente están en grupos de dos a seis o en algunos casos están solitarias sobre hifas o apicalmente sobre cortas ramificaciones, son ligeramente anchas en la base y terminan en una punta delgada por donde salen las conidias. (fig. 13) (Samsom y Rombach 1985).



Figura 35: Fiálides de *Verticillium lecanii*, tomada de [www. agrociencia-panamenci.com](http://www.agrociencia-panamenci.com)

D. Las colonias: Hall (1981), en trabajos realizados plantea que *Verticillium lecanii* crece bien en un medio de cultivo a base de agar malta, harina de avena o papa dextrosa agar, en los cuales se desarrolla un micelio delgado blanco o crema, que forma colonias blancas con apariencia algodonosa que mide de 18 a 22 mm y con menos color o de color amarillento al inverso del cultivo se observa la formación de una especie de halo, debido a que las hifas se desplazan concéntricamente sobre el medio de cultivo; respecto al sitio de inoculación, en busca del mejor aprovechamiento de los nutrientes, adhesión y diseminación sobre el sustrato (Orozco, M., 2005). Las colonias de *V. lecanii* crecen con un micelio aéreo, pulverulento, hifas moderadamente bifurcadas, septadas de pared lisa y hialina de 1.6 – 2.4 μm de diámetro. (Ver fig.34) (Rodríguez y del Pozo, 2003).



Figura 36: Colonias de *Verticillium lecanii*, foto tomada por Irma Argueta

2.6.1.4. Mecanismo de Acción del Hongo *Verticillium lecanii*.

El micelio del hongo de la *V. lecanii* produce una toxina llamada. ciclodepsipéptido bassianolide, que ha demostrado matar a los gusanos de seda. El hongo produce otras toxinas insecticidas, como el ácido dipicolínico y el ácido oxálico. La actividad de *V. lecanii* depende de la cepa del hongo. Las cepas de *V. lecanii* con esporas pequeñas infectan a los áfidos, mientras que las cepas de hongos con esporas grandes, infectan a la mosca blanca. Ciertas cepas también han sido reportadas a los hongos patógenos de la roya.

En la horticultura y en la agricultura, a veces es utilizado un entomopatógeno (infecta a insectos) para controlar las plagas de insectos como las avispas, ácaros y áfidos. Los insectos se infectan cuando entran en contacto con el pegajoso de esporas del hongos que crecen y luego invade el cuerpo y órganos internos y los consume, dando

lugar a los insectos la muerte. El hongo crece en el tiempo a través de la cutícula y esporula en el exterior del cuerpo. Los insectos infectados aparecen de color blanco a amarillento semejando partículas de algodón. Los insectos enfermos suelen aparecer en 7 días. Sin embargo, debido a las condiciones ambientales, puede haber un retraso en tiempo considerable desde la infección hasta la muerte de los insectos. *V. lecanii* funciona mejor a temperaturas de 15 a 25 ° C y una humedad relativa de 85 a 90%. El hongo necesita humedad alta, por lo menos 10 a 12 horas para tener un buen desarrollo sobre su huésped; las esporas de *V. lecanii* son dañadas por la radiación ultravioleta.

La virulencia depende de la densidad de esporas y la tasa de esporulación, que depende de las condiciones ambientales. La virulencia fúngica varía con el método de producción de conidios. Menos virulentas las conidias se obtienen de los medios fermentados en comparación con los medios líquidos o sólidos. La formulación a partir de la producción de conidios puede durar hasta 1 año. Estos productos son fáciles de diluir para la fumigación. Además, el hongo puede adherirse a la superficie de las hojas y los insectos.

2.6.2. Antecedentes del uso de *Verticillium lecanii*.

Rivas et al, (1996), reporta que el hongo *Verticillium sp* se ha encontrado en áreas tropicales y subtropicales, parasitando insectos, royas y otros hongo superiores; es un habitante común del suelo, donde sobrevive saprofiticamente en restos de plantas y otros tipos de materia en descomposición. No obstante Monzón (1992), lo ha señalado principalmente como un hongo entomopatógeno muy importante para controlar plagas de cultivos, tales como áfidos y escamas y se han observado epizootias en las regiones tropicales y subtropicales, así también Romero & Camón, (1995), lo reportan como parásito de la mosca blanca, (Shaw, 1988) también reporta que lo encontró en Nueva Guinea en escamas de cóccidos del café y en una palomilla.

V. lecanii ha estado disponible comercialmente en Europa para el control de áfidos (Vertalec®) y la mosca blanca (Mycotol®). Vertalec® ha sido utilizado para controlar el pulgón verde del duraznero, *Myzus persicae*, en los crisantemos en invernaderos en Inglaterra. Además, el pulgón del melón, *Aphis gossypii*, ha sido controlada con aplicaciones de *V. lecanii*. Mycotol® ha sido utilizado para controlar las moscas blancas en margaritas, pepinos y tomates.

V. lecanii es compatible con la mayoría de los artrópodos parásitos y depredadores. Aunque el hongo puede matar *Encarsia formosa* inmaduros parasitando mosca blanca de invernadero, el hongo no tiene ningún efecto en los adultos. Como resultado, *V. lecanii* puede ser fácilmente incorporado en los programas de manejo de plagas que utilizan los agentes de control biológico.

Se ha informado de que los principales agentes patógenos de las garrapatas son los hongos, debido a su amplia dispersión, su amplio espectro y su capacidad de entrar a través de la cutícula.

Al comparar la hembra de *Ixodes ricinus* en producción de huevos y la viabilidad de sus huevos en los diferentes hábitats que se indica en un bosque biotopo, las

poblaciones de garrapatas son bajas debido a la presencia de hongos. Estudios en Europa indican que la infección por hongos puede causar la muerte de hasta un 50% de *Dermacentor*, *Ixodes* y otras garrapatas.

Se conocen alrededor de 57 géneros de hongos entomopatógenos, de los cuales se sabe que 6 de ellos atacan a las garrapatas

En la naturaleza, 11 especies de *Aspergillus*, 3 especies de *Beauveria*, 3 especies de *Fusarium*, 1 especie de *Paecilomyces*, y 3 especies de *Verticillium* se asocian con las garrapatas. Los Hongos entomopatógenos requieren de alta humedad para la germinación; a bajas temperaturas y baja humedad pueden parasitar la garrapata a través del ano y las hifas del hongo invaden a la garrapata a través del poro genital por lo que la garrapata se ve afectada por el micelio del hongos, así como por sus micotoxinas. (www.annualreviews.org)

En 1996 El Instituto Nacional de Sanidad Vegetal de la República de Cuba (INISAV) llevo a cabo una investigación sobre el Control Biológico de *Boophilus microplus* donde se evaluó la patogenicidad de diferentes cepas de hongos entomopatógenos, donde fueron tratadas por inmersión durante un minuto los estadios de *B. microplus* en suspensiones acuosas de 10^7 conidiosporas/ml. de las diferentes cepas. Entre los hongos evaluados más eficientes estuvieron las cepas N° 1 Y 2 de *Verticillium lecanii*, la LBBb14 de *Bauveria bassiana*, y la 127 de *Metarhizium anisopliae* de origen Brasileño. (Rijo y Pedrea 1996)

En 1998, El Instituto Nacional de Sanidad Vegetal de la República de Cuba (INISAV) realizo un estudio titulado: Biopesticida a base de *Verticillium lecanii* para el control de garrapatas y con los aislados del hongo *V. lecanii*, se hicieron ensayos en condiciones de campo y se evaluó el efecto de varios biopreparados sobre los estadios parasíticos del ectoparásito *B. microplus* en novillos estabulados y se obtuvo en el primer baño una reducción de garrapatas que oscilo entre el 47.5 al 78.7%, disminución que aumento con el número de tratamientos y después del cuarto tratamiento la efectividad técnica estuvo entre el 92 y 98.7%. Las garrapatas muertas se recogieron y se llevaron al laboratorio donde fueron colocadas en cámara húmeda. Se pudo detectar en las mismas, la presencia de hifas del hongo *Verticillium lecanii*. (Vitorte y Lujan 1998)

El Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA-CUBA-10) realizó un estudio en 2004, donde mostro la caracterización química de un producto obtenido a partir de efluentes de la fermentación del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*, utilizando un medio compuesto por miel final de caña y fosfato dibásico de amonio. Donde el producto obtenido tiene una humedad de 5% y una actividad proteolítica de 3.32 mg/g, siendo estable en el tiempo hasta un año a temperatura ambiente, los resultados mostraron que a partir de la hora 16 de fermentación los caldos libres de las células presentan actividad proteolítica, lipolítica y antimicrobiana, incrementándose el diámetro del halo de hidrólisis e inhibición respectivamente a medida que transcurre el tiempo de fermentación. La caracterización química del producto por electroforesis en geles de poliacrilamida mostró que las enzimas proteolíticas se encuentran en un rango de 43 a 68 kDa, así como otros compuestos polipeptídicos con propiedades antibióticas y un amplio perfil de ácidos fenólicos. (Gómez y Hernández 2004)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Metodología de laboratorio.

3.1.1 Instalaciones del laboratorio

La instalación en la cual se realizó la fase de laboratorio fue en el edificio del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), el cual proporcionó los materiales y equipo que se detallan a continuación.

- ✓ Materiales y Equipo.
- Cajas de Petri
- Tubos de ensayo
- Erlenmeyer
- Probetas
- Beakers
- Agua destilada
- Alcohol 70%
- Espátulas
- Asas y agujas bacteriológicas
- Laminas porta y cubre objetos
- Papel kraft, algodón, papel parafilm
- Balanza semianalitica digital
- Hot-plate (con agitadores)
- Autoclave (incluyendo canastas de acero inoxidable)
- Cámara de flujo laminar (con lámpara UV).
- Mecheros de alcohol y bunsen
- Secadora
- Microscopio de campo claro
- Refrigeradora

3.1.2. Obtención de la cepa del hongo entomopatógeno.

La cepa del hongo *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas de origen monospórico cubana, fue proporcionada por el Laboratorio de Investigación y Diagnostico del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ya que dicho Laboratorio cuenta con un banco de cepas.

3.1.3. Elaboración del medio de cultivo (PDA).

Se elaboró medio de cultivo PDA + ácido láctico según especificaciones técnicas dadas por la casa comercial (Merck). Para verter el medio de cultivo se utilizaron caja de Petri y Tubos de ensayo (medio en forma de bisel).

3.1.4. Reactivación y Aislamiento de la cepa *Verticillium lecanii*.

La primera fase que se llevó a cabo fue a nivel de laboratorio con la Prueba invitro y consistió en la reactivación de la cepa del hongo *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas como Biocontrolador de garrapatas en perros (*Canis domesticus*). El primer paso para llevar a cabo la reactivación de la cepa fue pasarla a un hospedero, que fueron garrapatas vivas, recién extraídas de perros parasitados, con el fin de que la cepa recuperara su virulencia, ya que después de mucho tiempo de almacenamiento esta se mantiene en estado de dormancia.

Para la reactivación se utilizaron 10 garrapatas vivas del género *Rhipicephalus sanguineus* adultos entre hembras y machos, extraídas de perros parasitados. Las garrapatas se colocaron en cajas de Petri, en la base de la caja se colocó papel filtro estéril, para propiciar una cámara húmeda, luego la garrapata fue asperjada con la ayuda de una bomba aspersora de mano con la solución de *Verticillium lecanii*, que se obtuvo del raspado del cultivo directo de la caja de Petri. Estas cajas se envolvieron con papel de empaque, almacenándose en un lugar fresco y oscuro. Pasados 5 días las garrapatas presentaron crecimiento de micelio en todo el cuerpo.

El procedimiento para el aislamiento de la cepa crecida en el cuerpo de la garrapata en medio de cultivo PDA se inició con la descontaminación la garrapata que estaba envuelta con el micelio del hongo, puesto que estas deben de estar libres de contaminantes antes de ser sembradas en el medio de cultivo PDA+ ácido láctico.

La purificación de la garrapata se realizó haciendo lavados: el primer paso fue pasar la garrapata en un solución de hipoclorito de sodio al 5%, seguidamente se pasó la garrapata por tres depósitos con agua destilada estéril y luego se extrajo el exceso de humedad con un papel filtro o papel toalla estéril, y como último paso se colocó la garrapata en el medio de cultivo (PDA+ ácido láctico). Al cabo de 3 a 5 días aproximadamente se observó crecimiento micelial del hongo.

3.1.5. Observaciones macro y microscópicas.

Luego de observar las características macroscópicas del hongo en crecimiento, se procedió a realizar la observación microscópica para determinar que el hongo que se había aislado en efecto era *Verticillium lecanii*. Para ello se tomó una pequeña porción de micelio y se colocó en una gota de Lactofenol Azul Algodón sobre un porta objeto, sobre la muestra se colocó una lámina cubre objeto y luego se procedió hacer el

montaje al Microscopio de campo claro, donde se visualizó primeramente con el objetivo 4x hasta llegar al objetivo 40x.

3.2. Cultivo de hongo para la elaboración del preparado en arroz.

Luego de obtener crecimiento de la cepa en estudio en medio de cultivo PDA, se procedió a la elaboración del preparado de arroz. En dicho procedimiento se colocaron 100g de miga de arroz crudo en frascos de vidrio y se sellaron con tapón de algodón y papel kraft o papel de aluminio con el fin de evitar problemas de contaminación, luego fueron esterilizados durante 30 minutos a un 1 bar de presión y a 121°C en un autoclave.

Una vez esterilizados y enfriados los frascos de vidrio con miga de arroz, se procedió a la inoculación de la cepa en cada frasco, utilizando 20ml de agua destilada estéril y nuevamente eran sellados; al hacer este procedimiento se necesitó realizarlo en una cámara de flujo laminar previamente limpiada con alcohol al 70% y expuesta a rayos UV, para evitar que las muestras fueran contaminadas. Los frascos eran almacenados en un lugar fresco y oscuro dentro del laboratorio y se colocaban en posición horizontal para que los granos de arroz sean dispersados y exista una mejor colonización del hongo, luego a diario los frascos eran agitados vigorosamente para evitar que el arroz forme una masa y así proporcionar mayor superficie de contacto para el crecimiento del hongo.

Esto, además, permite que al final se tenga un preparado más suelto que se disuelva con mayor facilidad en el agua.

Al cabo de 8 a 12 días se colocó el preparado en bandejas de aluminio para su secado. Las bandejas fueron cubiertas con papel kraft o papel de empaque previamente, para que el exceso de humedad se evapore durante 72 horas y además para proteger el preparado de contaminantes del aire.

3.2.1 Formulación del Biopreparado.

La formulación del biopreparado se realizó tomando 1 gr de material fúngico crecido en arroz y se colocó en 10 ml de agua destilada estéril con el agregado de una gota de tween 80 al 1% el cual se agito para su mejor homogenización.

Para contar el número de propágulos presentes se utilizó una cámara de Neubauer, esta cámara tiene un diagrama específico que delimita los campos donde se hacen los recuentos (esto por tratarse de conidios pequeños). Luego, el número promedio de conidios por campo se multiplica por el factor correspondiente, que en este caso es (10^5), dando así la concentración de la solución madre o inicial.

Ejemplo del procedimiento para contar la cantidad de conidios presentes.

1gr del material fúngico crecido en arroz

10ml de agua destilada estéril en un tubo de ensayo

1 gota de tween 80 al 1%

Agitar vigorosamente para que las conidias se desprendan.

1 cámara de Neubauer. (Los campos utilizados fueron 5 y estos fueron los campos de los extremos y el del centro).

Resultados:

Primer campo: 320 conidias

Segundo campo: 235 conidias

Tercer campo: 431 conidias

Cuarto campo: 548 conidias

Quinto campo: 458 conidias

Total: 1,992 conidias.

Fórmula:

(Número de propágulos) (10^5) x dilución

(Número por campo)

La suma de los cinco campos 1,992 conidios se dividen entre 5 para tener un promedio

$1,992 \text{ conidios} / 5 = 398.4 \text{ conidios} \times 10^5 / \text{ml}$.

Esta suspensión madre se encontrara muy concentrada para contar los conidios con un minino error. Por lo tanto debe de realizar una o dos diluciones decimales seriadas.

A continuación se calculara el volumen inicial de la suspensión madre que se sustrajo para llevarlo a 250ml finales.

$3.98 \times 10^2 \times 10^5 = 3.98 \times 10^7 / \text{ml}$

$3.98 \times 10^7 \times 10^1 = \mathbf{3.98 \times 10^8 / ml}$

Fórmula:

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f \quad V_i = \frac{C_f \times V_f}{C_i}$$

C_i : concentración inicial: 3.98×10^8

C_f : concentración final: 1×10^7

V_f : volumen final: 250ml

V_i : volumen inicial: ¿?

$$V_i = \frac{1 \times 10^7 \times 250 \text{ml}}{3.98 \times 10^8} = \mathbf{6.28 \text{ml}}$$

Para hacer la dilución final

Tendremos

100 gr del material fúngico-----1000ml de agua

6.28 ml extraído de la suspensión madre-----250ml de agua

3.3. Metodología de campo

3.3.1 Ubicación del Área de Estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Asociación Protectora de Animales de Santa Ana (APROASA) un refugio para perros sin hogar, ubicado en final colonia Méndez, tercera calle oriente, Municipio de Santa Ana, Departamento de Santa Ana.

3.3.1.1 Instalaciones.

Los perros en estudio estuvieron alojados en una galera de construcción mixta completamente techada de lámina, con piso de cemento y con un drenaje adecuado el en la parte central de la galera el cual evita que el agua se acumule en los diferentes compartimientos. La galera posee 10 compartimientos con divisiones de hierro y malla y lamina. Cada compartimiento tiene una dimensión de 4x4 m², haciendo un área de 16 metros cuadrados donde se mantuvieron los diferentes grupos de perros.

3.3.1.2. Equipo.

Para la realización de las prácticas de manejo de la investigación se hizo uso del siguiente equipo: aspersores plásticos de capacidad de 500 y 1000 ml para hacer las aplicaciones, jeringa de 10ml para efectuar las dosificaciones, guantes de látex, frascos plásticos con tapadera para muestreo de garrapatas, shampoo para realizar los baños a los perros antes de aplicar el biocontrolador.

3.3.1.3. Selección de unidades experimentales y formación de grupos.

Se seleccionaron e identificaron dentro de todos los perros los que tenían presencia de garrapatas en sus cuerpos, dentro de ellos hay perros de diferentes edades, sexo y pelaje. Siendo una población total de 52 perros y la muestra con que se contó fue de 14 perros con garrapatas.

3.3.1.4. Identificación de garrapatas presentes.

Se realizó la identificación de las especies de garrapatas presentes en el lugar, para lo cual se hizo un muestreo en los perros escogidos, tomando una garrapata al azar. (Siendo un total de 14 garrapatas). Se colectaron manualmente en estado adulto de las diferentes partes del cuerpo del animal, teniendo cuidado de no dañar las piezas bucales de la garrapata, para evitar un daño al animal y estas garrapatas fueron depositadas en frascos plásticos con tapadera de rosca para poder trasladarlas y evitar la pérdida de estas en el camino. Se trasladaron al laboratorio de Investigación y Diagnostico del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias

Agronómicas de la Universidad de El Salvador, donde se realizó la identificación. Las garrapatas se extrajeron del frasco con una pinza y se colocaban en una caja de Petri; con ayuda de un Estereoscopio y las claves ilustradas de los géneros de garrapatas adultas, se pudo identificar que género de garrapata estaba presente y se identificó que el género presente en los perros era *Rhipicephalus sanguineus* (garrapata parda del perro).

3.3.2. Fase experimental.

Esta fase tuvo una duración de 58 días (dos meses) comprendidos entre el 13 de junio al 08 de Agosto del 2010, en las que se realizaron las siguientes actividades.

3.3.2.1. Manejo

El manejo utilizado para los perros en estudio fue igual al del resto de los perros, excepto en el control de garrapatas. Respecto a su alimentación todos tenían sus mismas raciones y mismo horario y respecto a los baños todos normalmente eran bañados (cada 8 o 15 días), usando champú para perros. Cada grupo de perros estaban en sus respectivos cubículos y a la hora de convivencia o esparcimiento y toma del sol a una hora determinada todos los perros ubicados en esa galera participaban conjuntamente.

3.3.2.2. Control de garrapatas en los perros en estudio.

Las aplicaciones del hongo biocontrolador se realizaron por medio de baños de aspersión con aspersores plásticos de 500 y 1000 ml con intervalos de 8 y 15 días, siendo 8 aplicaciones para los que se realizaron con intervalos de cada 8 días y 4 para los que se realizaron con intervalos de cada 15 días. Estos intervalos de baño se definieron en base a la cantidad de garrapatas presentes en el cuerpo de cada perro y porque en el mercado los productos químicos utilizados para fumigar y bañar a los perros con garrapatas son recomendados hacerlos con un intervalo de cada 8 días y es también la recomendación dada por los veterinarios en sus clínicas a los propietarios de perros que presentan infestación por garrapatas. Para realizar las aplicaciones fue necesario primeramente bañar a los perros antes de aplicar el biocontrolador para tener una piel y un pelaje limpio y proporcionar una humedad que es indicada para que el hongo entomopatógeno en estudio tenga un microclima adecuado para su mejor desarrollo y actué atacando a las garrapatas, luego de esto se asperjaba con el biopreparado con la dosis establecida en las diferentes regiones del cuerpo donde estaban alojadas las garrapatas.

3.3.2.3. Áreas de aplicación en el animal.

Las áreas donde se efectuaron las aplicaciones fueron en las diferentes regiones corporales de los perros: Orejas (parte interna y vestigio del pabellón externo), Base de las orejas, cuello, región lumbar, axilas, región inguinal, patas (región interdigital). Áreas que la literatura menciona como de mayor preferencia por las garrapatas para alojarse y alimentarse. (Cordero del Campillo 1999)

3.3.3. Toma de datos.

Los datos obtenidos consistieron en el conteo de las poblaciones de garrapatas vivas por animal y tratamiento a lo largo del ensayo, y se detalla a continuación.

Para determinar el grado de infestación de garrapatas que tenían los perros, se tuvo que establecer un parámetro el cual se describe de la siguiente manera: infestación leve, infestación moderada, infestación grave e infestación severa.

Se estableció como infestación leve de 0-5 garrapatas

Infestación moderada de 5- 15 garrapatas

Infestación grave de 15 – 25garrapatas

Infestación severa de 25 a más garrapatas

Para recopilar estos datos se tuvo que hacer el conteo de garrapatas presentes en todo el cuerpo de los perros tomando en cuenta las áreas de predilección de estas para alojarse.

Se decidió utiliza este parámetro no habiendo referencia técnica para establecerlo, y por un acuerdo personal y de los asesores de este trabajo.

3.3.3.1. Recuento de garrapatas.

El recuento se realizó por la mañana tiempo antes de bañar a cada perro en estudio y luego se le aplicó el biopreparado; se contaron las garrapatas vivas en estado de ninfa y adultas en las regiones antes mencionadas, para luego anotar el dato obtenido en una hoja de control que se elaboró para cada perro.

3.3.3.2. Frecuencia de recuentos.

El primer recuento se realizó previo a la aplicación del Biopreparado, para lo cual fue necesario que los animales no hubieran recibido tratamiento para el control de garrapatas antes de montar el ensayo. Inmediatamente después del recuento se anotó el dato en la hoja de control de cada perro. Luego se procedió a bañar a los perros con agua y champú libre de químico para el control de garrapatas y pulgas; para después aplicarles el biopreparado en las áreas donde estaban alojadas las garrapatas. Los recuentos siguientes se realizaban siempre antes de aplicar el producto en estudio según el intervalo de aplicación establecido cada 8 días y cada 15 días.

3.3.4. Análisis Estadístico.

El diseño experimental utilizado fue Descriptivo, utilizando únicamente la Media, Varianza y Desviación estándar. Como unidades experimentales se consideró a cada perro infestado por garrapatas, siendo un total de 14 unidades experimentales (perros).

La evaluación se realizó cada semana y se contabilizaron las garrapatas vivas, ya que el efecto del hongo sobre la garrapata era desintegrarla, por lo que no se encontraron garrapatas muertas envueltas con el micelio del hongo o disecadas.

- ✓ El modelo estadístico se define de la manera siguiente.

Media aritmética- Varianza-Desviación estándar

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro 5. Garrapatas muertas por semana de aplicación con el Biopreparado de *Verticillium lecanii* del grupo 1 de perros tratados.

Perros Semanas	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Total
Brayni	13	5	2	20
Coca	22	10	3	35
Mota	18	19	3	40
Cherry	11	3	1	15
Rocko	8	2	2	12
Lobo 1	29	11	10	50
Lobo 2	27	11	7	45

Cuadro 6. Calculo estadístico utilizado para determinar los promedios de garrapatas muertas por semana de aplicación con el Biopreparado de *Verticillium lecanii* para el grupo 1 de perros tratados

Medidas de tendencia central	Día 1	semana 1	semana 2	semana 3
media	31	18.28	8.71	4
máximo	15.10	8.47	6.46	4.02
desviación	14.10	7.47	5.46	3.02
minino	13.10	6.47	4.46	2.02

Interpretación

En el primer grupo de perros tratados con el Biocontrolador *Verticillium lecanii* a la concentración de 10^7 conidias/ml, aplicado a 7 perros infestados por garrapatas, tuvieron un promedio de 31 (+/- 14) garrapatas por perro; a la semana 1 post aplicación del biopreparado a los perros, se obtuvo un promedio de 18 (+/- 7.47) garrapatas; a la semana 2 post aplicación se realizó otro conteo de garrapatas teniéndose un promedio de 8 (+/- 5.46) de garrapatas y a partir de semana 3 post aplicación donde se realizó otro conteo de garrapatas a los perros tratados para determinar si el índice de infestación había disminuido o se mantenía, por lo que dio un resultado muy favorable donde se apreció y se cuantificó que el promedio de garrapatas muertas era de 4 (+/- 3.02), indicado así que el índice de infestación había disminuido en un 87%, determinando que a partir de la tercera semana de aplicación del biopreparado de *Verticillium lecanii* a la concentración ya mencionada, es efectivo en el control de garrapatas.

Cuadro: 7. Conteo de garrapatas muertas según la semana de aplicación con el Biopreparado *Verticillium lecanii* del grupo 2 de perros tratados.

Perros Semanas	Semana 1 post aplicación	Semana 2 sin aplicación	Semana 3 post aplicación	Total
Aquiles	4	1	0	5
Licha	8	2	0	10
Zeus	8	2	0	10
Prances	14	6	5	25
Keyri	13	7	3	23
Bandido	3	0	0	3
Coqueta	8	2	0	10

Cuadro 8. Cálculo estadístico utilizados para determinar los promedios de garrapatas muertas según las semanas de aplicación con el Biopreparado de *Verticillium lecanii* para el grupo 2 de perros tratados

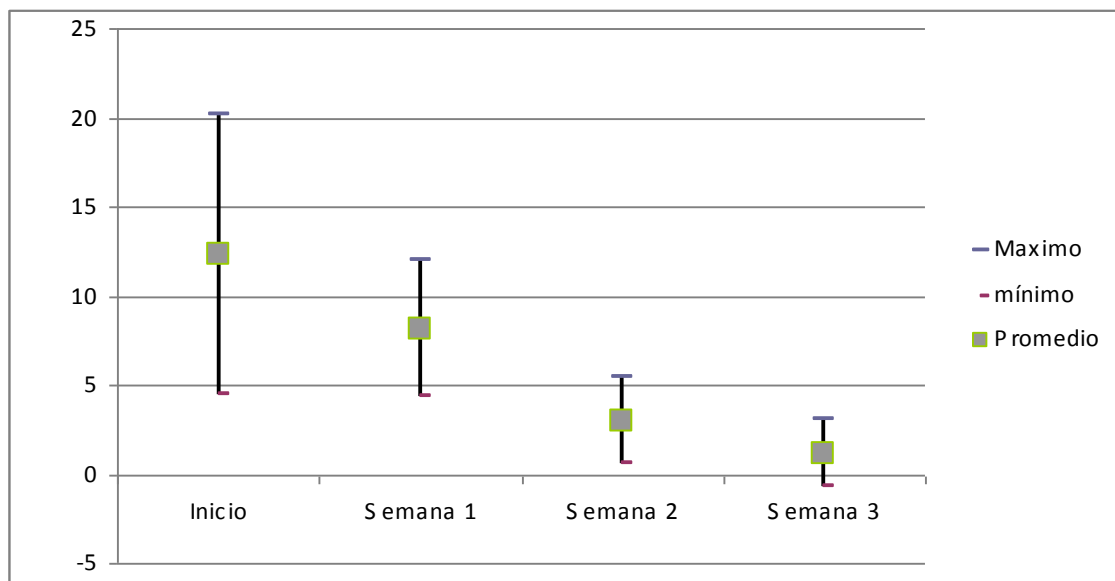
Medidas de Tendencia Central	Día 1 antes de aplicar	Semana 1 post aplicacion	Semana 2 sin aplicacion	Semana 3 post aplicacion
Media	12.28	8.14	3	1.14
Máximo	8.85	4.83	3.39	2.88
Desviación	7.85	3.83	2.39	1.88
Mínimo	6.85	2.83	1.39	0.88

Así mismo, comparando los resultados que se obtuvieron con el hongo de *Verticillium lecanii* aplicado a los perros con una frecuencia de cada 15 días tenemos que al inicio el promedio de garrapatas por perros fue de 12 (+/- 7.85); y que a la semana 1 post aplicación hubo un promedio de 8 (+/- 3.83) garrapatas muertas por perro; a la semana 2 del recuento de garrapatas sin aplicación del biopreparado se tuvo un promedio de 3 (+/- 2.39) garrapatas muertas por perro y a la semana 3 los resultados fueron también favorables teniendo un promedio 1.14 (+/- 1.88) garrapatas muerta; por lo que se observó que el efecto del biopreparado de *Verticillium lecanii* es similar o igual, en ambas frecuencias de aplicación, ya que en ambos grupos el biopreparado actuó controlando las garrapatas desde la 3 semana.

Estos datos demuestran que el biopreparado es efectivo en el control de garrapatas independientemente del intervalo de tiempo de aplicación ya que fue capaz de controlar, eliminándolas en su totalidad en las primeras tres semanas de aplicación.

Dentro de los perros tratados con el biopreparado para el control de garrapatas, hubo perros que tuvieron afecciones en su piel como piodermatitis, en las zonas de la cabeza, cuello y zonas lumbares, así como pododermatitis afecciones interdigitales. Muchos de estos perros presentaron prurito intenso y estos no fueron tratados con antibióticos, ni antialérgicos, ni cremas cicatrizantes y el único producto que se les aplicó fue el biopreparado de *Verticillium lecanii*. Observándose que el prurito disminuía marcadamente así como las lesiones cicatrizaban rápidamente. Y a medida se realizaron las aplicaciones en cada perro se notaba un cambio en el aspecto del pelo y la piel, observándose un pelaje suave y brillante y piel más saludable.

Grafico 1. Representación de los cálculos estadísticos utilizados para determinar los promedios de garrapatas muertas por semana de aplicación con el Biopreparado de *Verticillium lecanii* para el grupo 1 de perros tratados



5. CONCLUSIONES.

1. De acuerdo a los resultados se concluye que el hongo *Verticillium lecanii* es eficaz en el control de garrapatas del genero *Ripicephalus sanguineus* en perros
2. Los Resultados obtenidos en el laboratorio sobre la Prueba invitro, determinaron que la concentración 10^7 conidias/ml obtenida del hongo *Verticillium lecanii*, fue efectiva, demostrando que puede parasitar cualquier estadio evolutivo de la garrapata.
3. Tomando en consideración los porcentajes de mortalidad de las garrapatas, se concluye que el hongo *Verticillium lecanii* tiene una actividad letal y que esta acción es notoria a partir de la primera semana de aplicación del biopreparado.
4. Los datos finales de esta investigación determinan que la eficacia del hiperparasitismo de *Verticillium lecanii* sobre las garrapatas se obtienen en un corto tiempo, teniéndose en tres semanas el control de garrapatas en perros.
5. La Metodología de aplicación del biopreparado empleada para el control de garrapatas en perros mostró ser eficaz siendo este asperjado en todo el cuerpo del animal, independientemente del intervalo de tiempo de aplicación; ya que los porcentajes de mortalidad son similares.

6. RECOMENDACIONES.

1. Realizar pruebas Enzimáticas y Toxicológicas al hongo *Verticillium lecanii* para determinar que producto metabólico elimina por completo a la garrapata.
2. Investigar que productos metabólicos o enzimas de *Verticillium lecanii* actúan eliminando Piodermas o afecciones agregadas en los perros tratados con el biopreparado.
3. Investigar que efecto puede tener el hongo *Verticillium lecanii* en perros afectados con ácaros y otros problemas que afectan la piel y el pelo como la Piodermatitis y eczemas húmedos en perros.
4. Investigar si el hongo *Verticillium lecanii* a la concentración utilizada para el control de garrapatas puede actuar como antagonista en los problemas de Dermatocosis en perros y gatos.
5. Realizar otros estudios que permitan utilizar este hongo biocontrolador en conjunto con otras sustancias que permitan al hongo permanecer por largo tiempo en el cuerpo del animal sin causar reacciones que perjudiquen a este para el control de garrapatas.
6. Se recomienda a la Facultad de Ciencias Agronómicas reproducir a escala al entomopatògeno *Verticillium lecanii*, para comercializarlo y dar a conocer el beneficio de este como controlador de garrapatas.
7. Aunque el hongo se considera inocuo en peces, insectos benéficos y vertebrado incluyendo a los humanos. Se recomienda tomar las correspondientes medidas de bioseguridad para su manejo.

7. BIBLIOGRAFÍA.

ALEAN, C. I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongo entomopatogenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus sociales* bondar (Homomtera:Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero, Tesis maestría, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. Disponible: www.ciat.cgiar.org

Annu. Rev. Entomol. 1999, pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. Disponible: www.AnnualReviews.org

ARENA, R. 2004. Micología médica ilustrada, 2^{da} Edición. McGraw-Hill Interamericana, México. 11-24.p

CATIE. 1995. Curso de control biológico. Material didáctico de apoyo, s.n.t. Turrialba, Costa Rica. (Tomado de Evaluación de la eficiencia de diez cepas nativas del hongo *Paecilomices sp.* Como controlador biológico de “mosca blanca” (*Bemisia tabaci*), a nivel de laboratorio, por Solano Ávila, María Gabriela)

CAVE, R. D (ed.) 1995. Manual para la Enseñanza del Control Biológico en América Latina. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. (Tomado de Evaluación de la eficiencia de diez cepas nativas del hongo *Paecilomices sp.* Como controlador biológico de “mosca blanca” (*Bemisia tabaci*), a nivel de laboratorio, por Solano Ávila, María Gabriela)

COLE, M.M. 1965. Biological Control of Ticks by the use of Heminopterous parasites.

CORDERO DEL CAMPILLO, M. & F. A. ROJO VASQUEZ. 1999. Parasitología Veterinaria. 1^a ed. en español. España. S.A.U. Interamericana McGraw-Hill.134-150/420-429.p

BORCHERT, A. 1962. Parasitología Veterinaria. 3^a ed. Traducida del alemán por el Dr. Miguel Cordero del Campillo, Editorial Acribia Zaragoza, España. 432-441.p

De Solano, B. D. 1996. Aislamiento, Identificación y Evaluación de Hongos Entomopatógenos. Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de El Salvador, San Salvador. 6p (trabajo inédito).

ESTRADA, R.E. 1991. Enseñanza del Control Biológico en Universidades de América Latina. Curso corto de EAP – University of Florida. Agrícola “El Sol”, Guatemala.10p.

GEORGI, J.R. & M.E.GEORGI. 1994. Parasitología en Clínica Canina. 1^a edición. Interamericana McGraw-Hill. 35- 46p.

GOETTEL, M. & INGLIS, G. D. 2001. Fungi Hyphomycetes, En: Lawrence Lacey (ed.). Manual of techniques in insect pathology. USDA, ARS. Great Britain Academia Press. 213- 249p.

GÓMEZ, S.E; ALVAREZ. R & HERNANDEZ J. 2004. Metabolitos producidos por el hongo entomopatógeno *verticillium lecanii*. ICIDCA-CUBA-10. La Habana Cuba.

HALL, R.A. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. *In* Burguer H.D. (Ed). Microbial Control of Pests and Plants Diseases. Academic Press, New York. 483-498p. (tomado de Aislamiento, Reproducción y Evaluación del Hiperparasitismo del hongo *Verticillium sp* como controlador biológico de la Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), Cuellar Pérez, Angelina Victoria).

HANSON, P. 1993. Control Biológico de Insectos. CATIE. Turrialba. Costa Rica.16-22p

HOFFMANN, M. P. & A. C. FRODSHAM. 1993. Natural enemies of vegetable insect pests. Cooperative extensión, Cornell University, Ithaca, N. Y. 63p. (Tomado de Evaluación de la eficiencia de diez cepas nativas del hongo *Paecilomices sp*. Como controlador biológico de “mosca blanca” (*Bemisia tabaci*), a nivel de laboratorio, por Solano Ávila, María Gabriela)

INISAV. sa. Biasav, productos biológicos para la sanidad vegetal. Hoja informativa. La Habana, Cuba. Disponible: www.inisav.cu/fitosanidad/2008.

KUNO, G. J. MULETT & M, DE HERNANADEZ. 1982. Patología de insectos con Énfasis en las enfermedades Infecciosas y sus Aplicaciones en el Control Biológico, 2^a ed. Estación Experimental de Biología, Sección de Entomología, Departamento de Biología, Universidad del Valle. Cali. 212p. (Tomado de Evaluación de la eficiencia de diez cepas nativas del hongo *Paecilomices sp*. Como controlador biológico de “mosca blanca” (*Bemisia tabaci*), a nivel de laboratorio, por Solano Ávila, María Gabriela)

LAPAGE, G. 1968. Parasitología Veterinaria. Trad. Roberto Carrasco Ruiz. México, D.F. Compañía Editorial Continental.491-517p.

LECUONA, R. E. Control microbiano, utopía o realidad. *In*. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga, Buenos Aires, Argentina.13-15p.

LECUONA, R.; S. ALVES, 1996. Epizootiología. *In*. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga, Buenos Aires, Argentina.18-28p.

LECUONA, R. B. PAPIEROK & G. RIBA. 1996. Hongos Entomopatógenos. *In*. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga, Buenos Aires, Argentina.35-60p.

LECUONA, R. E. 1996. Técnicas Empleadas con Hongos Entomopatógenos *In*. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga, Buenos Aires, Argentina.143-146p.

LEGUIA, G. P. 2002. D.M.V.M. Sc en Parasitología Animal. Enfermedades Parasitarias, Epidemiología y Control de Perros y Gatos. 2ª edición.121-126p.

MAHR, D. 1999. Evaluating Biological Controls. Midwest Biological Control News. 6 (12). Disponible: [www. Entomologoly.wisc.edu/mbcn/mbcn612.html](http://www.Entomologoly.wisc.edu/mbcn/mbcn612.html).

MERCK & CO., INC. 2000. Manual Merck de Veterinaria, 5ª ed. Edit. Grupo Océano, S.A. Barcelona, España.763-766p.

Merck Microbiology Manual 12th Edition, 2002. Darmstadt, Germany. 398-424p.

MONZON, J.A.1992. Distribución de *Verticillium sp* en tres zonas cafetaleras en Nicaragua y evaluación de dos aislamientos del hongo como agente de control biológico de la roya (*Hemileia vastatrix*) del café (*Coffea arabica L.*) Tesis MAG se, Turrialba, Costa Rica. CATIE.66p. (tomado de Aislamiento, Reproducción y Evaluación del Hiperparasitismo del hongo *Verticillium sp* como controlador biológico de la Roya del café (*Hemileia vastatrix*), Cuellar Pérez, Angelina Victoria).

PARADA JACO, R.Y. & R.F. de SERRANO. 1998. Hongos Entomopatógenos: Una Alternativa para controlar Insectos, sin contaminar el medio ambiente. Laboratorio de Parasitología Vegetal. Gerencia de Servicios Técnicos. CENTA/MAG. El Salvador, 27p. (Tomado de Evaluación de la eficiencia de diez cepas nativas del hongo *Paecilomyces sp*. Como controlador biológico de “mosca blanca” (*Bemisia tabaci*), a nivel de laboratorio, por Solano Ávila, María Gabriela)

PLUNKETT, SIGNE. J.DVM, 1995. Emergency Animal Clinic, Ltd. INTERAMERICANA- McGRAW-HILL, Phoenix, Arizona.149-152p.

- QUIROZ, R. H., 1999. Parasitología y Enfermedades Parasitarias, UTEHA, Noriega Editores, Baldera, México, DF, novena reimpresión.712-719p.
- RIJO, C. E.; PEDRERA, DIAZ. F. 1996. Recopilación de datos sobre el control biológico en plagas agrícolas, la Habana Cuba INISAV/MINAG.55-69p.
- RIVAS. Z.; S. LEGUIZAMON C, J. & PONCE. D. C. 1996. Estudios histológicos, anatómicos y morfológicos de *Verticillium lecanii* y *Talaromyces wortmanii* con *hemileia vastatrix*. Cenicafe 47. 16-31p. (tomado de Aislamiento, Reproducción y Evaluación del Hiperparasitismo del hongo *Verticillium sp* como controlador biológico de la Roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), Cuellar Pérez, Angelina Victoria).
- ROBERTS, D. W. & W. G. YENDOL.1971. Use of fungi for microbial control of insects. *In* Microbial Control of Insects and Mites (Burges, H. D. & N. W. Hussey. Eds.) Academic Press. London.129p.
- ROBERTS, D. W. 1981. Toxins of Entomopathogenic Fungi. *In*.Microbial Control of Pests and Plant Diseases. 1970-1980. (Burges, H. D. Ed.). Academic Press. London. 441-464p. (Tomado de Evaluación de la eficiencia de diez cepas nativas del hongo *Paecilomices sp*. Como controlador biológico de “mosca blanca” (*Bemisia tabaci*), a nivel de laboratorio, por Solano Ávila, María Gabriela)
- ROMERO, A & CAMON, G. 1995. Patogenicidad de *Verticillium lecanii* sobre la roya de frijol en condiciones de invernadero. Fitopatología.1-6p.
- SAMSOM, R. & ROMBACH. M. 1985. Biology of the fungin *Verticillium lecanii* and *Aschersonia*. *In*: Biological pest control. The glasshouse experience. Blandford press. England. (2). 34-42p.
- SAMISH, M. & REHACEK. J. 1999. Pathogens and Predators of ticks and their potential in biological control. Annu. Rev. Entomol. Disponible en:
[www. arjournals. Annualreviews.org](http://www.arjournals.annualreviews.org)
- SHAW, D.E 1988. *Verticillium lecanii*: un hiperparásito del patógeno de la roya del café en Papua Nueva Guinea. Australasian Plant Pathology. Australia. 23p.
- SOULSBY. E.J.L. 1987(MA, PhD, MRCVS, DVSM). Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª edición, Interamericana, S.A. de C.V.
- URQUHART, G. M. & J. ARMOUR. 2001. Parasitología Veterinaria, 2ª edición. Editorial Acribia, S, A. Zaragoza, España. 207-216p.VEGA, F. E. 1997. Know your

friends: The Entomopathogen *paecilomyces fumosoroseus*. Midwest Biological Control News. Disponible en: www.entomology.wis.edu. VITORTE, S.E, RIJO. C.E & LUJAN. M.M. 1998. Biopesticida a base de verticillium lecanii para el control biológico de garrapatas. La Habana Cuba INISAV/MINAG.

ZARE, R. & GAMS, W. 2001. A revisión of *Verticillium* sect. *Prostata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplificillium* gen nova. Nova Hedwigia. Vol. 71-329-337p. Disponible en: www.orton.catie.ac.cr

www.irac-online.org Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas

www.cambioclimatico.org.

www.ecdc.europa.eu.

www.asambleaecologista.org

www.ops.org.bo/cgi/sys/s2a.xic

www.ecologiablog.com

8. ANEXOS.

A-1. Cuadro de los perros seleccionados con la frecuencia de aplicación cada 8 días.

Nombre	Sexo	Edad	Grado de infestación inicial	Cantidad de garrapatas antes de aplicar el Biopreparado	Frecuencia de aplicación	Repeticiones	Número de garrapatas final
Aquiles	Macho	8 años	Leve	5	Cada 15 días	4	0
Licha	Hembra	2 años	Moderada	10	Cada 15 días	4	0
Zeus	Macho	5 años	Moderada	10	Cada 15 días	4	0
Bandido	Macho	7 años	Grave	25	Cada 15 días	4	0
Pranses	Macho	4 años	Grave	23	Cada 15 días	4	0
Keiry	Hembra	2 años	Leve	3	Cada 15 días	4	0
Coqueta	Hembra	1 año	Moderada	10	Cada 15 días	4	0

A- 2. Cuadro de los perros seleccionados con la frecuencia de aplicación de cada 15 días.

Nombre	Sexo	Edad	Grado de infestación inicial	Cantidad de garrapatas antes de aplicar el Biopreparado	Frecuencia de aplicación	Repeticiones	Número de garrapatas final
Brayni	Hembra	6 meses	Grave	20	Cada 8 días	8	0
Coca	Hembra	6 meses	Severa	35	Cada 8 días	8	0
Mota	Hembra	7 meses	Severa	40	Cada 8 días	8	0
Cherry	Hembra	6 meses	Moderada	15	Cada 8 días	8	0
Rocko	Macho	6 meses	Moderada	12	Cada 8 días	8	0
Lobo	Macho	3 años	Severa	50	Cada 8 días	8	0
Lobo	Hembra	3 años	Severa	45	Cada 8 días	8	0

A-3. Hoja ficha del protocolo de aplicación del Biopreparado de *Verticillium lecanii* en perros cada 8 y 15 días.

Hoja de control por perro.

Nombre:

Edad:

Frecuencia de aplicación del bio-preparado.

✓ Control de la cantidad de garrapatas encontradas semanalmente

Día 1	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8
total								

Observaciones.

A-4 Cantidad de Garrapatas después de cada Aplicación en cada perro

Fechas de aplicación	Brayni	Coca	Mota	Cherry	Roc ko	lobo	Lobo	Aquiles	Lich a	Zeus	Pran ses	Key ri	Ba nd id o	Coque ta
13/6/10	20	35	40	15	12	50	45	5	10	10	25	23	3	10
20/6/10	7	10	10	4	4	23	16	1	2	2	11	10	0	3
27/6/10	2	1	3	1	2	12	5	0	0	0	5	3	0	0
04/7/10	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
11/7/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18/7/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
25/7/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
01/8/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

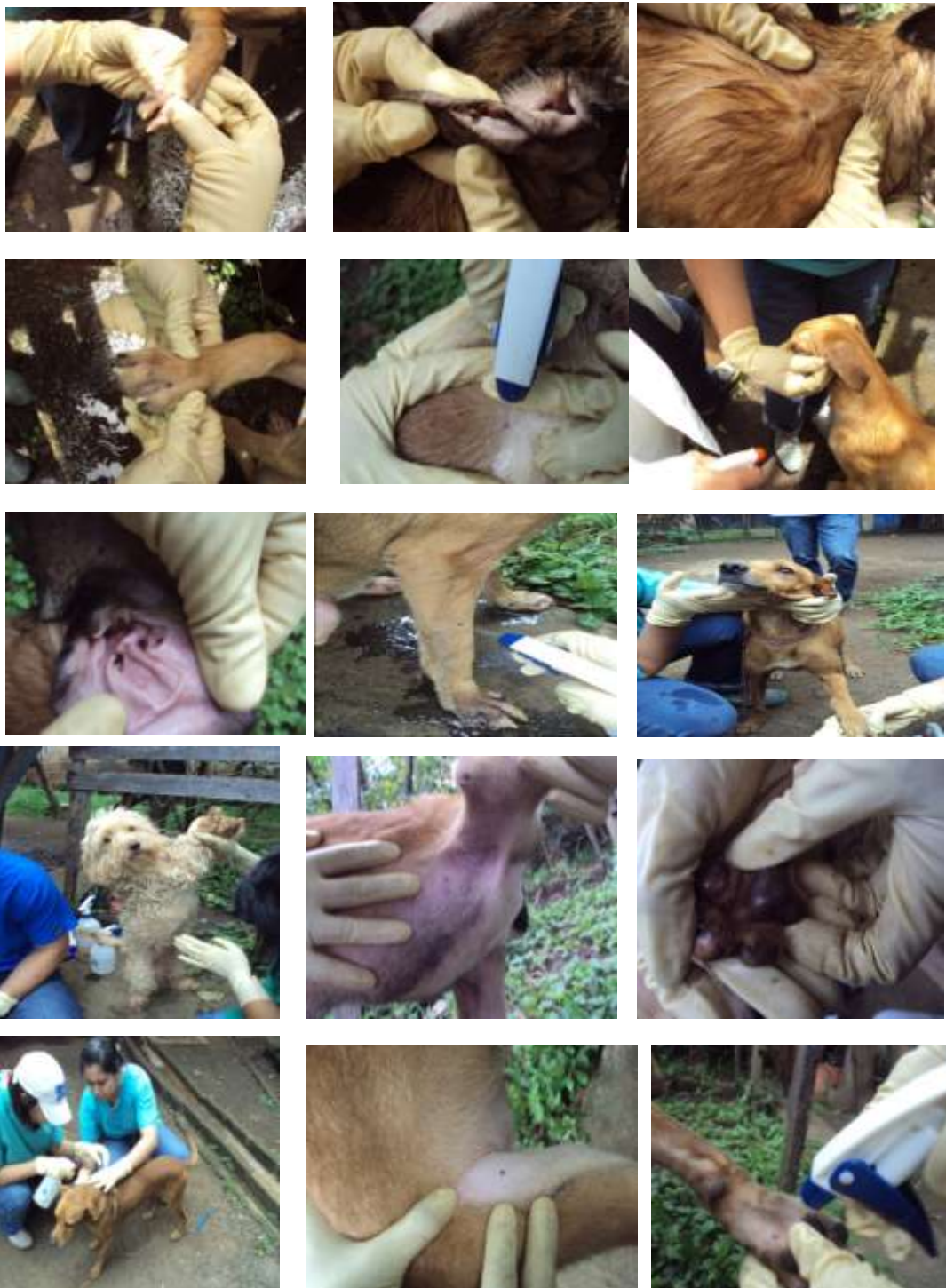
Color rojo: fecha de inicio, cantidad de garrapatas que cada perro tenia antes de iniciar el tratamiento.

Color celeste: fechas de aplicaciones, cada 15 días

Color negro: fechas de aplicación, cada 8 días

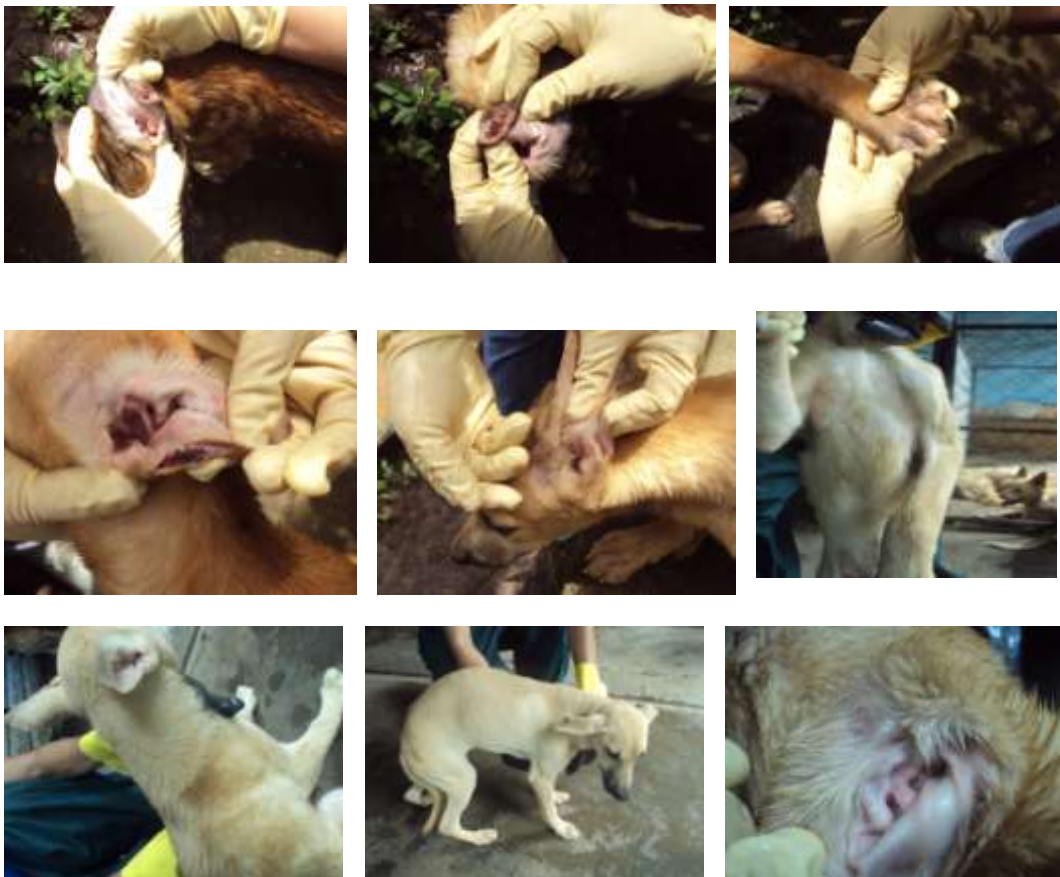
Color verde: fechas en las cuales no les tocaba aplicación

A-5. Imágenes de los perros tratados con el Biocontrolador *Verticillium lecanii*, con presencia de garrapatas en las diferentes áreas del cuerpo.





A-6. Imágenes de los perros tratados con el biocontrolador *Verticillium lecanii*.





A-7. Equipo y materiales utilizados para aplicar el Bio-preparado a los perros.



A-8. Instalaciones de APROSA.



A-9. Equipo y materiales utilizados en el Laboratorio.



A-10. Material utilizado para reproducir el hongo en arroz.



A-11. Crecimiento de micelio del hongo *Verticillium lecanii* en de arroz



A-12. Vista microscópica de la morfología de *Verticillium lecanii*.



A-13. Imágenes de garrapatas infectadas con *Verticillium lecanii* en la prueba in-vitro.



9. GLOSARIO.

Absorción: Penetración de cualquier elemento líquido como en una esponja.

Antisepsia: Operaciones o técnicas encaminadas a crear

un ambiente que impida el desarrollo de los microorganismos e incluso pueda matarlos.

Asepsia: Técnicas empleadas para impedir el acceso de microorganismos al ambiente de trabajo.

Biopreparado: Son sustancias naturales que ayudan a repeler el ataque de plagas

Células conidiógenas: Células que producen conidias.

Conidias: Estructuras propagativas no motiles de los hongos, producidas al extremo de un conidióforo.

Conidióforo: Hifa especializada, en cuyo extremo apical se insertan los conidios.

Desinfección: Proceso de destrucción de los agentes infecciosos.

Desinfectantes: Aquella sustancia química que mata las formas vegetativas y no necesariamente las formas resistentes de los microorganismos patógenos.

Dormancia: Es un período en el ciclo biológico de un organismo en el que el crecimiento, desarrollo y, en los animales la actividad física se suspenden temporalmente

Entomopatógenos: Patógenos tales como virus, bacterias, nematodos y hongos, que causan enfermedades a diferentes tipos de insectos.

Esporangióforo: Hifa especial en cuyo extremo apical se forma un esporangio.

Esporangio: Estructura en forma de bolsa que contiene esporas.

Esporangiospora: Espora producida dentro de un esporangio.

Esporas: Unidad reproductiva de los hongos, que se forma dentro de un esporangio.

Esporulación: Proceso que ocurre en los hongos y está relacionado con la producción de esporas, conidias, etc.

Esporodoquio: Masa de tejido fungoso que contiene conidióforos y conidias.

Esterilización: Es el proceso de destrucción de toda forma de vida microbiana.

Estroma: Masa de hifas vegetativas sobre las cuales se forman las conidias.

Fase imperfecta: Fase Asexual de los hongos.

Fase Perfecta: En los Eumicetos, fase sexual.

Fiálide: Células conidiógenas en forma de botella, donde forman las conidias.

Filarias: Término que agrupa a nematodos tisulares filiformes

Garrapatas: Son ectoparásitos hematófagos y vectores de numerosas enfermedades infecciosas, son los ácaros de mayor tamaño.

Hematófagos: Son los animales que se alimentan de sangre

Hialino: Transparente.

Hifa: Cada uno de los filamentos tubulares que constituyen el micelio en todo su espesor, lo cual confiere un aspecto no estratificado.

Hongos: Microorganismos cuya nutrición es por ósmosis, se reproducen sexual y asexualmente viven y como saprófitos, como parásitos o en asociación con otros organismos formando micorrizas.

Hospedante: Organismos que permite el desarrollo de patógenos, ya que actúa como sustrato o fuente de energía para otro organismo (huésped).

Huésped: Vegetal o animal parasitado por otro organismo

Inóculo: Cualquier porción de patógeno capaz de producir infección.

Inoculación: Proceso mediante el cual un patógeno y un hospedante entran en contacto.

Metabolismo: Actividad bioquímica que ocurre en los seres vivos para llevar a cabo los procesos esenciales para su supervivencia.

Micelio: Estructuras vegetativas de los hongos, constituida por filamentos llamados hifa.

Microbicidas: Sustancias que matan las formas vegetativas, pero no necesariamente las esporas de un microorganismo (bactericida, fungicidas, etc)

Microorganismo: Organismo vivo que vive en diferentes medios.

Monospórico: Aplicado a los basidios, el que solo produce una espora

Morfología: Estudio de la forma y estructura externa de los seres vivos.

Patógeno: termino que se aplica a cualquier elemento que causa enfermedades. Organismo que causa una enfermedad.

Parálisis: Es una pérdida o disminución de la motricidad, o de la contractibilidad de uno o varios músculos, debido a lesiones de las vías nerviosas o de los músculos

Propágulo: Parte de un microorganismo que puede reproducirse y diseminarse.

Queliceros: Son apéndices o piezas bucales utilizados para la defensa y el ataque de algunos artrópodos; pueden tener forma de pinzas o garras.

Septo: Tabique transversal que divide a las hifas

Sustrato: Material solido distinto del suelo, natural o de síntesis, mineral u orgánico que, colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radicular, desempeñando por tanto un papel de soporte para la planta. Se denomina así la material sobre el que se propaga un organismo.

Synema: Conidioma más o menos compacto, de hifas vegetativas erectas, que sostiene a las conidias.

Tabicado: Septado. Dividido en compartimientos por medio de paredes transversales (septos)

Teleomorfo: Estado sexual o perfecto de un hongo.

Tóxico: Aquello que tiene un efecto dañino y mortal.

Toxina: Compuesto que producen los microorganismos y que es venenoso para las plantas y para los animales.

Tween 80: Polisorbato 80 N.F, Monooleato de Sorbitán polioxietilénico 80

Vector: En Epidemiología y Ecología se llama vector a un mecanismo, generalmente un organismo, que transmite un agente infeccioso desde los individuos afectados a otros que no que aún no portan ese agente.

Zigospora: Espora de sobrevivencia. Propia de hongos Zygomycetos.

Zoospora: Espora asexual provista de flagelos que se movilizan en medio líquido.