

# EVALUACIÓN DE LA *Beauveria bassiana* EN EL CONTROL DE *Boophilus microplus* IN VITRO EN EL DEPARTAMENTO DE MADRE DE DIOS

## EVALUATION OF *Beauveria bassiana* THE CONTROL OF *Boophilus microplus* IN VITRO IN THE MADRE OF DIOS OF REGIÓN

Laura Y. Cahuiri-Parisaca <sup>1\*</sup> Roberto J. Lope-Huaman<sup>2</sup>, Paul J. Pacheco-Palma <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman, Av. Miraflores S/N, Miraflores -Tacna

<sup>2</sup>Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Amazónica de Madre De Dios - Av. Dos de Mayo 960 - Tambopata - Tambopata - Madre de Dios

<sup>3</sup>Camal Frigorífico Manu EIRL, Carretera BajoTambopata Km 1.7 Tambopata - Tambopata - Madre de Dios

\*e-mail: lauraparisaca@gmail.com

---

### RESUMEN

La necesidad de métodos más seguros y menos agresivos para el medio ambiente, ha estimulado la búsqueda de nuevo productos de control de hongos entomopatógenos. Así se evaluó la efectividad de la *Beauveria bassiana* en el control del *Boophilus microplus* in vitro, provincia de Tambopata (Madre de Dios, Perú). El estudio se realizó en setiembre del 2015 a julio del 2016, mediante la selección de garrapatas adultas de los cuatro establos, se colecto 400 garrapatas, se estimó la dosis letal media (DL50) en laboratorio de parasitología – MVZ - UNAMAD. A través de un diseño completo al azar (DCA) la fase in vitro se aplicaron 431, 120, 56, 46, 32,18, 11, 9 y 2 conidias/ml 9 tratamientos y un testigo, con 4 repeticiones *Beauveria bassiana* aplicadas a garrapatas adultas, se determinó el tiempo de acción y mortalidad de garrapatas in vitro. Se analizó estadísticamente con análisis de varianza ANVA. En los resultados la cepa *Beauveria bassiana* tiene una dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de 431 ppm ( $4.31 \times 10^2$  conidias/mL) para control de *Boophilus microplus*, se afirma con un 99% de certeza podemos afirmar que la dosis de 120 C/gr, 56 C/gr, 9 C/gr y 46 C/gr de *Beauveria bassiana*, producen mayor mortalidad de *Boophilus microplus* en condiciones de laboratorio, Se concluye que los tratamientos 2, 3, 8 y 4 producen mayor mortalidad in vitro.

**Palabras clave:** control biológico, *Beauveria bassiana*, *Boophilus microplus*, Tambopata, Madre de Dios, Perú.

### ABSTRACT

The need for safer and less aggressive to the environment, methods has stimulated the search for new control products entomopathogenic fungi. So the effectiveness of *Beauveria bassiana* in the control of *Boophilus microplus* in vitro province of Tambopata (Madre de Dios, Peru) was evaluated. The study was conducted in September 2015 to July 2016, by selecting adult ticks of the four stables, 400 ticks were collected, and the median lethal dose (DL50) was estimated parasitology laboratory - MVZ-UNAMAD. Through a complete random design (DCA) in vitro phase 431, 120, 56, 46, 32,18, 11, 9 and 2 conidia / ml and a witness 9 treatments with 4 repetitions *Beauveria bassiana* applied to ticks were applied adult, time of action and in vitro tick mortality was determined. It was statistically analyzed with analysis of variance ANOVA. In the results the strain *Beauveria bassiana* has a median lethal dose (LD50) of 431 ppm ( $4.31 \times 10^2$  conidia / mL) for controlling *Boophilus microplus*, it states with 99% certainty we can say that the dose of 120 C / gr 56 C / g, 9 C / g and 46 C / g *Beauveria bassiana*, produce increased mortality of *Boophilus microplus* in laboratory conditions. It concludes that treatments 2, 3, 8 and 4 produce higher mortality in vitro.

**Key words:** biologic control, *Beauveria bassiana*, *Boophilus microplus*, Tambopata, Madre de Dios, Perú.

## INTRODUCCIÓN

Las garrapatas y las enfermedades que transmiten, representan uno de los principales problemas que afectan a la ganadería bovina a nivel mundial (Polar et al. 2005). Además la disminución de la calidad de los cueros. La picadura de la garrapata y estos " cueros picados" tienen precios 25% menores a los cueros sanos. (INTA 2001)

Se considera que en el mundo las garrapatas son los parásitos externos que más pérdidas económicas ocasionan en la producción ganadera. De la disminución de la producción de bovinos infectados. En Australia y México se han hecho estimaciones de pérdidas de peso de hasta 50 kg/ animal/ año en zonas infectadas y una disminución de la producción de leche del 15%.

Se calcula que cada garrapata adulta succiona de 2 a 3 ml de sangre durante su vida parasitaria (con 50 garrapatas adultas que se desprenden por día, el bovino pierde 1,5 l de sangre/mes.) (Cetra 2001).

Son un grupo de parásitos artrópodos hematófagos causantes de una enfermedad parasitaria (Babesiosis o piroplasmosis y Anaplasmosis) externa que afecta a los bovinos en todas sus edades, causándoles una anemia perjudicial para la producción de leche y carne, irritación y malestar (Drugueri, 2004)

El principal método de control de las garrapatas es la aplicación de acaricidas químicos, sin embargo, el uso frecuente e indiscriminado de estos productos puede favorecer el desarrollo de cepas de garrapatas resistentes a los acaricidas y tener efectos secundarios sobre el medio ambiente así como influir en la presencia de residuos químicos en los alimentos de origen animal (Fernández et al. 2008)

Los métodos de control químico traen consigo peligros para la salud de las personas, de los animales y del ambiente, lo que abre paso a métodos alternativos de control.

Por otro lado el control biológico de *Boophilus microplus*, mediante el uso de hongos entomopatógenos, ha sido sugerido por diversos investigadores como una de las alternativas con mayor futuro para el control de las garrapatas en los bovinos (Fernández et al. 2004)

Dentro de estos el hongo *Beauveria bassiana* ha mostrado mayor patogenicidad contra *Boophilus*

*microplus* bajo condiciones de laboratorio y el campo (Ojeda, 2007)

*Beauveria bassiana* es un controlador biológico efectivo de muchas plagas, entre ellas las garrapatas y no tiene los problemas asociados con el uso de productos químicos.

Se estudió la susceptibilidad de garrapatas al hongo entomopatógeno *B. bassiana* en condiciones de laboratorio. Las pruebas de laboratorio se llevaron a cabo con garrapatas adultas no tratadas con acaricidas obtenidas de animales infectados

Este trabajo nos brindó información sobre la concentración letal media adecuada para controlar el problema de ectoparásitos *Boophilus microplus* in vitro presente en bovinos de trópico, además el resultado del tiempo de acción de la *Beauveria bassiana* sobre el control de *Boophilus microplus*.

Los beneficiarios son los pequeños, medianos y grandes productores de bovinos en el sistema extensivo en el departamento de Madre de Dios.

La necesidad de encontrar nuevas opciones y alternativas de lucha, que eliminen el carácter tóxico de las formas tradicionales y permitan un uso racional de los acaricidas químicos para lograr menos daños directos y colaterales a la producción y el medio ambiente. (Parra et al. 2002).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El lugar de estudio fue en el distrito de Tambopata, provincia de Tambopata, en el departamento de Madre de Dios, ubicado en la amazonia sur del Perú entre las coordenadas de altitud: 186 m.s.n.m, latitud sur: 120 35' 36", longitud oeste: 69 10' 36", con una temperatura ambiental y precipitaciones anuales promedio de 24 °C y 2200 mm, con una área de 22 218,561 km<sup>2</sup>, El estudio se realizará en los meses de setiembre 2015 a agosto del 2016.

La muestra estuvo conformada por 400 garrapatas *Boophilus Microplus* recolectadas de 4 establos, las cuales se identificaron en laboratorio y se realizó la inoculación con hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*.

## Metodología

Diseño completo al azar (DCA o DCR).

Para la ejecución del experimento se colectaron 400 garrapatas adultas, las cuales se distribuyeron de 10 en 10 en cada placa Petri en nueve concentraciones distintas y un testigo, las concentraciones aplicadas las hallamos con la línea base teniendo en cuenta el producto comercial a usar.

### a) colección de garrapatas:

Se realizó la colecta de 400 garrapatas adultas al momento del ordeño de las vacas, de los 4 establos de la zona de estudio, estas fueron colocadas dentro de frascos de plástico herméticos y algodón humedecido adecuado para su transporte y en el laboratorio se procedió a la identificación de las garrapatas del género ***Boophilus microplus*** utilizando las claves taxonómicas recopiladas por (García 2011 y Bazán 2002) Anexo 2. Se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% sumergiéndolas por un minuto y se colocaron en una hoja de papel toalla para retirar el exceso de humedad (esto se realizó con la finalidad de retirar cualquier resto de algún producto químico que nos pueda dar un falso positivo)

### b) Viabilidad de las esporas:

la viabilidad de un producto es la medida de la cantidad de unidades infectivas (conidios o esporas) que tiene la capacidad de germinar y se expresa en porcentajes y el estándar recomendado para la utilización de hongos entomopatógenos como agentes de control microbiano es una viabilidad > 90%.

Las esporas o conidios de los hongos entomopatógenos son entidades vivas, por lo que su viabilidad o proporción de conidios vivos disminuye con el tiempo, dependiendo de las condiciones en las cuales son almacenados lo cual se recomienda sea a 4 °C, la prueba se realizó a diferentes intervalos de tiempo durante el periodo de almacenamiento (Alatorre, 2009). Para evaluar la viabilidad de las esporas o el porcentaje de germinación se realizó la siguiente metodología:

- ✓ Se prepararon placas Petri de 60 mm de diámetro con medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud (ADS), se agregó 12 a 15 ml del medio de cultivo.
- ✓ Se preparó en una suspensión de  $2.6 \times 10^8$  conidios/ml de espора se agito hasta obtener una suspensión homogénea. Se realizaron diluciones, tomando 1 ml de la

solución de esporas y se colocaron en un frasco con 9 ml Tween 20 al 0.03 %.

- ✓ Se colocaron en 50 µl de solución de esporas en cinco puntos de la placa Petri con ADS, evitando que queden cerca de los bordes.
- ✓ Se incubó en la placa petri previamente inoculada con el hongo a  $27 \pm 1$  °C por 12 a 24 h.

Posteriormente se observó con el microscopio óptico en el objetivo 40X. Se agregó una gota de lactofenol azul con un algodón para parar el desarrollo de las conidias y se contaron las esporas germinadas y no germinadas; el criterio a considerar un conidio como germinado es que su tubo germinativo sea igual o mayor que el tamaño del conidio (Alatorre, 2009). Se contó un total de 8 placas por aislamiento dando un total 16 placas evaluadas.

Posteriormente se realizó un promedio y se calculó el porcentaje de germinación con la siguiente fórmula. Se realizó esta prueba a los 6, 12, 18 y 24 horas.

Fórmula:  $a / (a+b) \times 100 = \%$ germinación

Dónde:

a = conidios germinados

b = conidios no germinados.

Cuadro 01: conidios germinados y no germinados evaluados en 6, 12, 18 y 24 horas.

pruebas a horas	germinados	no germinados
6	12	5
12	23	3
18	35	2
24	47	1
suma	117	11
promedio	29.25	2.75

Fuente: elaboración propia 2016.

$$\% \text{ germinación} = \frac{29.25}{29.25+2.75} \times 100$$

$$\% \text{ germinación} = 91.4\%$$

### c) Establecimiento de línea base.

De las cepas aisladas de ***Beauveria bassiana*** se realizaron nueve concentraciones de esporas para evaluar la virulencia de la garrapata, para ello se realizó una solución de esporas, se realizó la contabilización de conidias en la cámara de Neubauer, donde se obtuvo una concentración de 431 conidios/ml a partir de esta concentración obtenida, se realizaron las diluciones de esporas en donde se obtuvo la concentraciones requeridas para hallar nuestra DL<sub>50</sub>.

Se prepararon nueve dosis diferentes de cada cepa de ***Beauveria bassiana*** en escala

logarítmica, un testigo que consistió en agua destilada estéril. Las conidias/ml, que se evaluaron por cepa de acuerdo al conteo que se realizó a la solución del producto de SENASA. (Considerados las recomendaciones de lo realizado de bioensayos con entomopatógenos)

Se obtuvo la dosis que requeriremos, preparamos una solución madre 400 ml; a continuación se tomaron 111 ml de esta solución que se mezclara con 182ml. de agua estéril para obtener 400 ml. de solución que tuvo a una concentración menor a la solución madre y se procedió de la misma manera hasta obtener la menor concentración y (9 concentraciones y un testigo con agua estéril) (Fernández 2006)

Con cada una de las diluciones obtenidos se procedió a inocular y acomodar las garrapatas en los frascos con tapa de gasa con temperatura ambiente, con 4 repeticiones por cada concentración utilizados un total de 400 garrapatas.

d) Inoculación:

Se realizaron por inmersión de las garrapatas durante 10 minutos en el inóculo preparado. Se colocaron una cantidad suficiente de garrapatas

en un tubo de ensayo vacío y se rellenó con el inóculo. Al cabo de 10 minutos se vació el inóculo junto con las garrapatas en un vaso vacío con una gaza estéril de modo que escurriera el agua, seguidamente se colocaron en papel toalla para absorber la humedad. Seguidamente, las garrapatas se colocaron en cámaras húmedas, preparadas con placas Petri con un trocito de algodón húmedo en la estufa a t° ambiente.

Se colocaron 10 garrapatas en cada placa Petri y se selló con parafilm para mantener la humedad, cada cámara es una repetición. Se realizaron cuatro repeticiones por cada concentración de cada cepa más el testigo usando 400 garrapatas. Según la metodología descrita por Fernández 2006)

e) Dosis diagnóstica

Se estimó la DL50 se procedió a realizar una prueba de la concentración obtenida. Se realizó 04 repeticiones del tratamiento con sus respectivas 04 repeticiones del testigo. La inoculación y el ordenamiento de las garrapatas se realizaron siguiendo los mismos procedimientos descritos anteriormente; utilizando un total de 400 garrapatas.

Actividades de Laboratorio

Foto 1. Capacitación por el laboratorio control biológico SENASA – Lima.



Fuente: Cahuari L. 2016.

Foto 2. (PDA) Papa 125 gr, dextrosa 9 gr y agar agar 10gr más 500 ml de agua destilada.



Fuente: Cahuari L. 2016.

Foto 3.  
(PDA) Papa 125 gr, dextrosa 9 gr y agar agar 10gr más 500 ml de agua destilada.



Fuente: Cahuari L. 2016.

Foto 4.  
Siembra del hongo *Beauveria bassiana* en agar PDA laboratorio de parasitología – C.P. M.V.Z – UNAMAD.



Fuente: Cahuari L. 2016.

Foto 5.  
Los 9 tratamientos de *Beauveria bassiana* y un testigo con 4 repeticiones en un diseño completo al azar, con 400 unidades experimentales *Boophilus microplus*.



Fuente: Cahuari L. 2016.

Foto 6.  
Esporulación a los 7 días post exposición.



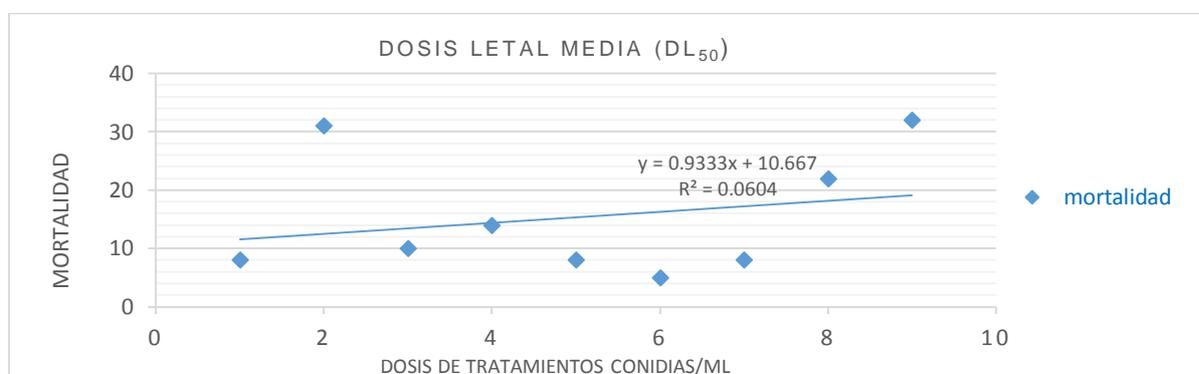
Fuente: Cahuari L. 2016.

## RESULTADOS

Dela concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de *Beauveria bassiana* para el control de *Boophilus microplus* in vitro.

Evaluaron tres diluciones las pruebas lo realizaron en laboratorio y campo estimaron la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) fueron altamente susceptibles a *Beauveria bassiana* con mortalidades de 90% en todos los tratamientos (Fernández J. 2006; Pérez 2007), con respecto a los resultados se observó una mortalidad medianamente considerable.

Grafica 01: línea de regresión obtenida en la prueba de estimación de la DL<sub>50</sub> de *Beauveria bassiana* sobre la garrapata *boophilus microplus*.



Fuente: elaboración propia, 2016.

Según la tabla 02 y gráfico 01 en laboratorio existe un mediana capacidad de la cepa de hongo *Beauveria bassiana* para infectar garrapatas adultas de *boophilus microplus*. Según (Arguedas M. 2008), el efecto letal de las concentraciones 109 se observó a partir del día

Cuadro 02: porcentaje de mortalidad y esporulación en garrapatas adultas *boophilus microplus* después de 10 días de aplicación y dosis letal media (DL<sub>50</sub>).

Tratamiento	Mortalidad (%)	Infección (%)
dosis 431 ppm 4.31x10 <sup>2</sup> con/ml	34.5	17.7

Fuente: elaboración propia, 2016.

5 y otras dosis altas 1010 a partir del día 3, a mayor concentración existe una rápida efectividad del hongo mientras que en la presente investigación se observó una mortalidad a partir del 7 día de las aplicaciones.

Determinar el tiempo de acción de la *Beauveria bassiana* en el control *Boophilus microplus* in vitro.

Cuadro 03: diseño completo al azar (DCA), mortalidad de garrapatas *Boophilus microplus* (09 tratamientos con concentraciones de 431 a 2 conidias por ml.

Repeticiones	Tratamientos conidias/gramos										
	T1 431c/ml	T2 120c/ml	T3 56c/ml	T4 46c/ml	T5 32c/ml	T6 18c/ml	T7 11c/ml	T8 9c/ml	T9 2c/ml	T10 testigo	
R1	5	8	10	2	2	1	2	2	5	0	
R2	0	9	8	4	1	1	2	5	1	0	
R3	2	9	7	4	3	2	2	10	3	0	
R4	1	6	6	4	2	1	2	5	1	0	
<b>sumatoria</b>	<b>8</b>	<b>32</b>	<b>31</b>	<b>14</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>22</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>138</b>
<b>promedio</b>	<b>2.00</b>	<b>8.0</b>	<b>7.8</b>	<b>3.50</b>	<b>2.00</b>	<b>1.25</b>	<b>2.00</b>	<b>5.50</b>	<b>2.5</b>	<b>0.00</b>	<b>3.45</b>

Fuente: elaboración propia, 2016.

En el cuadro 02 se observa en cada repetición la mortalidad de garrapatas *Boophilus microplus* inoculadas con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* a los 15 días, en tratamiento dos y en repetición uno se observa la mortalidad de las diez unidades experimentales. Las diferentes concentraciones de hongos que lograron los siguientes autores, (Cardona y Vergara 1987; Espinoza 2005) lograron

encontrar un control de 79% a 100% de mortalidades del parásito en condiciones de laboratorio y en campo entre 75 y 80% con hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*). Sin embargo en la presente investigación muestra una mediana mortalidad de 34.5% y una infección 17.7%, lo cual explicaría en la aplicación en campo igual o menos con respecto a la mortalidad.

Cuadro 04: análisis de varianza de diseño completo al azar (DCA).

Fuente variación	Suma cuadrados	Grados de libertad	C. medio de error	Formula calculada	Probabilidad 1%	Valor crítico 5%
tratamiento	269.4	9	29.93	11.44	3.087	4.72 **
error	78.5	30	2.62			
Total	347.9	39				
CV	46.89					

Fuente: elaboracion propia, 2016.

Como "F calculado" es mayor a "F tabulado" tanto al 5% y como al 1%, entonces se concluye que un 99% de certeza podemos hallar diferencias altamente significativas entre tratamientos, rechazándose la hipótesis nula bajo el mismo nivel de significación.

El coeficiente de variabilidad nos muestra un valor bajo (46.22%), hecho que nos demuestra que los datos están dentro de la distribución normal, y que podemos continuar con los análisis.

Determinar la mortalidad de garrapatas in vitro producida por la *Beauveria bassiana*.

Tabla 03: prueba de tukey al 5% y 1%, comparación de diferencias entre promedios de dosis aplicados en los tratamientos.

Tratamientos	dosis/conidias/gramos	promedio mortalidad	significación de	
			5%	1%
T2	120 C/gr	8.0	a	a
T3	56 C/gr	7.8	a b	a b
T8	9 C/gr	5.5	a b c	a b c
T4	46 C/gr	3.5	c d	a b c d
T9	2 C/gr	2.5	c d	c d
T1	431 C/gr	2.0	c d	c d
T5	32 C/gr	2.0	c d	c d
T7	11 C/gr	2.0	c d	c d
T6	18 C/gr	1.3	d	c d
T10	testigo	0.0	d	d

Fuente: elaboracion propia, 2016.

Con un 99% de certeza podemos afirmar que la dosis de 120 C/gr, 56 C/gr, 9 C/gr y 46 C/gr de *Beauveria bassiana*, producen mayor mortalidad de *Boophilus microplus*, al mismo

tiempo dichos promedios son estadísticamente iguales.

Por otro lado, la mortalidad promedio más bajo se observó en el testigo (18 C/gr y 0 C/gr).

## CONCLUSIONES

El hongo entomopatógeno la cepa ***Beauveria bassiana*** tiene una dosis letal media

(DL<sub>50</sub>) de 431 ppm ( $4.31 \times 10^2$  conidias/mL) para control de ***Boophilus microplus***.

El hongo entomopatógeno infecta y controla de manera efectiva las garrapatas ***Boophilus microplus***, en condiciones de laboratorio se observó una mortalidad mediana de 34.5 % de la cepa con un infectividad de 17.7%.

Existe que a mayor concentración y exposición de hongo ***Beauveria bassiana*** hubo mayor mortalidad e infectividad y en menos días de 5 a 7 días lo que explicaría una mortalidad baja en las aplicaciones con menor dosis. En cuanto al precio unitario de ***Beauveria bassiana*** es inferior al del producto químico utilizado en laboratorio pero a mayor número de aplicaciones implica un gasto mayor de producto y de mano de obra para las aplicaciones. Pese a ello, es una alternativa de control biológico.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los productores; Emilio Mercado Roque, Jose Martin Pérez Aragón por permitirnos realizar el estudio en sus establos, a los amigos de la escuela académica profesional de Medicina Veterinaria Zootecnia - UNAMAD July R. Nina Condori, Juan C. Mercado y a Yuber Huamán Suarez. Por las colaboraciones brindada durante el proyecto de investigación en campo y laboratorio.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

Aguirre DH, Gaido AB, Cafrune MM, Castelli ME, Mangold AJ, Guglielmone AA. *Eprinomectin pour-on for control of Boophilus microplus (Canestrini) ticks (Acari: Ixodidae) on cattle*. Vet Parasitol 127: 157-163., 2005.

Arguedas, Miguel. *Eficacia del hongo entomopatógeno Metharrizium anisopliae en el control de Boophilus microplus (Acari: Ixodidae)*. Costa Rica: Agronomía Costarricense 32(2): 137-147. ISSN:0377-9424, 2008.

Barradas, Jose Antonio Aguilar. *termo tolerancia eficacia in vitro del hongo entomopatogeno metarhizium anisopliae (Ma 14) sobre el control de las larvas de Riphecepalus*

*Boophilus Microplus*. Veracruz - Mexico: Universidad Veracruzana, 2010.

Barriga, Omar. *Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en América Latina*. Santiago de Chile: Germinal. 247 p., 2002.

Brasil, Ministério da Agricultura. *Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários*. Brasil: Diário Oficial, 22 jan. 1990, séc. 1, col. 2., 1989.

Broglio1, Sônia Maria Forti. *Evaluación del control de Rhipicephalus (Boophilus) microplus in vivo con Metarhizium anisopliae y extracto de Annona muricata*. Rio Largo-AL, Brasil: 1Universidade Federal de Alagoas, 2014.

Broglio-Micheletti1, Sônia M. F. *Evaluation of entomopathogenic fungi as biological control agents Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)*. Brasil: Universidade Federal de Alagoas, 2012.

CAÑEDO, VERÓNICA. *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Lima - Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP), 2004.

Cetrá, Bibiana. *GARRAPATA COMÚN DEL BOVINO*. Argentina: INTA Mercedes Sitio Argentino de Producción Animal, 2001.

Díaz, M A Alonso. *Resistencia de la garrapata Boophilus microplus a los ixodícidias*. Mexico: Arch. Med. Vet. 38, Nº 2 - CENID-Pavet, México, 2006.

Díaz, R. *Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos Rhipicephalus microplus*. Colombia: Colombiana de Ciencia Animal 5: 72-81., 2012.

Faccini JLH, Barros-Battesti. *Aspectos gerais da biologia e identificação de carrapatos*. En: *Carrapatos de Importancia Medico-Veterinaria da Região Tropical: Um guia Ilustrado para Identificação de especies*. São Paulo - Brasil: Vox/ICCTTD-3 butantan 5-10 p., 2006.

Fragoso SH, Martínez IF. *Control de garrapatas Boophilus y resistencia a los acaricidas*. Nuevo Leon - Mexico: Segundo Simposium sobre Enfermedades que afectan a los Bovinos en el Sistema Vaca /Becerro Nuevo León México. 66 -71 p., 2005.

León, Juan Manuel Pérez. *Efecto de diferentes medios biológicos en el control de las*

*garrapatas de bovinos*. MINISTERIO DE EDUCACION SUPERIOR, 2007.

Llacuachaqui, Cesar Roberto Del Castillo. "EVALUACIÓN DE TRES FORMULACIONES COMERCIALES DE APLICACIÓN *pour on* BAJO CONDICIONES DE CAMPO Y SU EFECTO *In vitro* EN EL CONTROL DE *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE), EN BOVINOS DE CEJA DE SELVA". Lima – Perú: UNMSM - FMV, 2014.

M., Alonso Díaz. *Prevalencia de ranchos con garrapatas Boophilus microplus resistentes a piretroides y organoclorados y factores de riesgo asociados a su presentación en el estado de Yucatán, México*. Yucatan - Mexico: Universidad Autónoma de Yucatán, 2002.

OJD., Gutiérrez. *Identificación de órganos blanco en garrapatas de la especie Boophilus Microplus para anticuerpos-antigarrapata de bovinos inducidos por el inmunógeno Tick-Vac MK® del laboratorio Limor de Colombia S.A mediante métodos de inmunoperoxidasada*. Bogota - Colombia: Bogotá: Facultad de Microbiología industrial. Pontificia Universidad Javeriana, 2006.

Oliveira PR, Calligaris IB, Roma GC, Bechara GH, Pizano MA, Camargo MI. *Potential of the insect growth regulator, fluazuron, in the control of Rhipicephalus sanguineus nymphs*. Experimental Parasitology 131: 35–39., 2012.

Tondelli, Jaime Alfredo Fernández. *Evaluacion de la eficiencia del control de garrapatas (boophilus microplus) con tres frecuencias de aplicacion de Bazam Beauveria Bassiana*. Zamorano, Honduras: CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA, Noviembre 2006.

*Tratamiento y control de garrapata boophilus microplus atraves de la combinacion de Fluzuron/Fipronil pour on en bovinos de tropico, Pucallpa Peru*. Pucallpa - Peru: Centro de Investigacion IVITA - Pucallpa, 2009.