



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERÍA
SEDE VILLA CORZO

TESIS

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE
HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA
EL CONTROL DE *Rhipicephalus*
microplus

QUE PARA OBTENER EL GRADO EN
MAESTRO **EN CIENCIAS**
AGROFORESTALES

PRESENTA
ISAAC ESPINOSA VELAZQUEZ

DIRECTOR
DR. VIDAL HERNANDEZ GARCÍA

Villa Corzo, Chiapas

Noviembre 2024



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERÍA

SEDE VILLA CORZO

TESIS

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE *Rhipicephalus* *microplus*

QUE PARA OBTENER EL GRADO EN
MAESTRO **EN CIENCIAS**
AGROFORESTALES

PRESENTA

ISAAC ESPINOSA VELAZQUEZ

COMITÉ TUTORIAL

DR. VIDAR HERNANDEZ GARCÍA (DIRECTOR)

DR. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA (COODIRECTOR)

DR. LUIS ALFREDO RODRÍGUEZ LARRAMENDI (ASESOR)

Villa Corzo, Chiapas

Noviembre 2024



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS AUTÓNOMA

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 04 de noviembre de 2024

Oficio No. SA/DIP/0771/2024

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

C. Isaac Espinosa Velázquez

CVU: 1184499

Candidato al Grado de Maestro en Ciencias Agroforestales

Facultad de Ingeniería

UNICACH

Presente

Con fundamento en la **opinión favorable** emitida por escrito por la Comisión Revisora que analizó el trabajo terminal presentado por usted, denominado **Efectividad biológica de hongos entomopatógenos para el control de *Rhipicephalus microplus*** cuyo Director de tesis es el Dr. Vidal Hernández García (CVU: 166271) quien avala el cumplimiento de los criterios metodológicos y de contenido; esta Dirección a mi cargo **autoriza** la impresión del documento en cita, para la defensa oral del mismo, en el examen que habrá de sustentar para obtener el **Grado de Maestro en Ciencias Agroforestales**.

Es imprescindible observar las características normativas que debe guardar el documento impreso, así como realizar la entrega en esta Dirección de un ejemplar empastado.

Atentamente
"Por la Cultura de mi Raza"


Dra. Carolina Orantes García
Directora



C.c.p. Ing. Mónica Catalina Cisneros Ramos, Directora de la Facultad de Ingeniería, UNICACH. Para su conocimiento.
Dr. Miguel Ángel Salas Marina, Coordinador del Posgrado, Facultad de Ingeniería, UNICACH. Para su conocimiento.
Archivo/minutario.

RJAG/COG/hyh/igp/gtr

2024 Año de Felipe Carrillo Puerto
BENEMÉRITO DEL PROLETARIADO,
REVOLUCIONARIO Y DEFENSOR DEL MAYAB.



Secretaría Académica
Dirección de Investigación y Posgrado
Libramiento Norte Poniente No. 1150
Colonia Lajas Maciel C.P. 29039
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
Tel: (961) 6170440 EXT. 4360
investigacionyposgrado@unicach.mx

Dedicatoria

“A Rebeca, mi compañera incansable y faro de amor, tu apoyo incondicional ha sido mi mayor fortaleza. A Jaanai e Ian, quienes llenan mis días de alegría y motivación. Cada paso en esta travesía académica ha sido iluminado por su amor y paciencia. Gracias por ser mi inspiración constante y por caminar a mi lado en este viaje. Esta tesis es un tributo a su inquebrantable apoyo y amor que han sido mi motor inagotable.”

Agradecimientos

A DIOS. Por su gran bondad y misericordia hacia mi persona por brindarme la vida y las fuerzas espirituales para culminar este grado académico y profesional en mi vida.

A CONACYT por el financiamiento de la beca, sin el apoyo económico este proyecto de investigación no se hubiese logrado.

A la UNICAH, por haberme abierto las puertas de la institución y brindarme una preparación de calidad.

A MI ESPOSA REBECA, MIS HIJOS JANY E IAN, por estar siempre a mi lado en las buenas y en las malas, quienes fueron el motivo de mi superación académica y quienes me expresaron siempre su amor y un apoyo sincero, los amo con todo mi corazón.

AL DR. VIDAL HERNÁNDEZ GARCIA, más que mi director de Tesis un excelente amigo, gracias por su apoyo incondicional en mí formación académica y su paciencia a mi persona. Toda mi admiración, respetos y aprecio.

A DRA. REYNA IVONNE TORRES ACOSTA, por su asesoramiento durante el proyecto de investigación. Toda mi admiración, cariño y respetos.

A MIS SUEGROS, por el apoyo incondicional a mi familia y a mi persona, brindándome siempre ánimos, por sus oraciones y sus consejos.

A MIS PADRES, porque siempre me apoyaron durante mis estudios.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE LA MAESTRÍA, por ser siempre incondicionales en todo, en los mejores momentos de la maestría reímos juntos, en los peores siempre unidos, gracias doy a Dios y a la vida por haberlos conocido. DIOS BENDIGA SIEMPRE NUESTRAS VIDAS.

Índice

Resumen.....	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
OBJETIVOS.....	11
HIPOTESIS.....	11
MARCO TEÓRICO.....	12
La ganadería en México.....	12
Factores que afectan la calidad de los productos del ganado.....	12
<i>Rhipicephalus microplus</i>	13
Estrategias de control de la garrapata.....	13
Control químico.....	13
Control biológico.....	14
Tipos de control biológicos.....	14
Agentes de control biológicos.....	15
Hongos entomopatógenos.	16
Modo de acción de hongos entomopatógenos.....	17
Hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i>	18
Hongo entomopatógeno <i>Metarhizium anisopliae</i>	18
Hongo entomopatógeno <i>Hirsutella</i> sp.	19
RESULTADOS.....	20
Capítulo 1. Artículo. Identificación y efectividad biológica de hongos entomopatógenos en <i>Rhipicephalus microplus</i> en la Región Frailesca, Chiapas.....	21
Constancia de congreso.....	37
Constancia de Retribución Social.....	40
DISCUSIONES GENERALES.....	44
CONCLUSIONES GENERALES.....	47
ANEXOS.....	48
BIBLIOGRAFIA.....	52

Resumen

Los hongos entomopatógenos se consideran grupos muy valiosos e importantes para el control biológico que pueden reducir o eliminar plagas agrícolas y pecuarias. Con el objetivo de determinar la efectividad biológica de hongos entomopatógenos sobre *Rhipicephalus microplus*, se llevó a cabo un estudio en la región Frayleca del estado de Chiapas. Para ello se realizó una descripción macroscópica y microscópica de los hongos entomopatógenos aislados de insectos recolectados de sistemas de producción agrícolas, para posteriormente evaluar su crecimiento radial de cada cepa encontrada; así como una prueba de patogenicidad contra garrapatas. Finalmente se realizó una producción masiva en arroz del hongo entomopatógeno con efectividad biológica sobre garrapata. En los resultados obtenidos se identificaron cinco cepas de hongos entomopatógenos una cepa de *Metarhizium anisopliae* (con clave IE1), tres cepas de *Beauveria bassiana* (con claves IE2, IE3 e IE4) y una cepa de *Hirsutella sp* (IE5). La cepa *Beauveria bassiana* con clave asignada IE2, resultó ser la más efectiva como control biológico contra la garrapata, con una efectividad del 54% de manera *in vitro*.

Palabras claves: Control biológico, patogenicidad, producción masiva

Abstract

Entomopathogenic fungi are considered highly valuable and important groups for biological control, capable of reducing or eliminating agricultural and livestock pests. In order to determine the biological effectiveness of entomopathogenic fungi against *Rhipicephalus microplus*, a study was conducted in the Frayleca region of Chiapas state. This involved a macroscopic and microscopic description of entomopathogenic fungi isolated from insects collected from agricultural production systems. Subsequently, the radial growth of each found strain was evaluated, followed by a pathogenicity test against ticks. Finally, mass production of the entomopathogenic fungus with biological effectiveness against ticks was carried out using rice as a substrate. The results identified five strains of entomopathogenic fungi: one strain of *Metarhizium anisopliae* (designated as IE1), three strains of *Beauveria bassiana* (designated as IE2, IE3, and IE4), and one strain of *Hirsutella* sp (IE5). The *Beauveria bassiana* strain with the designated key IE2 proved to be the most effective as a biological control against ticks, exhibiting an in vitro effectiveness of 54%.

Keywords: Biological control, pathogenicity, mass production

Introducción

La ganadería es la actividad económica más importante en México, permitiendo así satisfacer la demanda de proteína (leche y carne) de la población mexicana. El reto de este sistema es producir mayor cantidad y calidad en menor tiempo posible conservando los recursos naturales (Rodríguez-Ortuideas *et al.*, 2022) México cuenta con 33.8 millones de cabezas de bovinos distribuidos en tres sistemas de producción: el extensivo, el intensivo y el de autoconsumo, de los cuales se derivan productos cárnicos, y derivados de la leche como queso y crema. Los principales estados productores de carne bovina son Veracruz con 249 mil toneladas y Jalisco con 209 mil toneladas de producto (SIAP, 2020).

No obstante, la relación entre consumidores y la producción de alimentos es desequilibrada, lo que genera mayor presión sobre los recursos naturales, y provoca diversos problemas dentro de la ganadería como la deforestación, pérdida de biodiversidad, mayor presencia de plagas y enfermedades, además de la contaminación por productos químicos utilizados en el sistema, todo con el propósito de cumplir las demandas de los consumidores (Nahed *et al.*, 2016; Steinfeld *et al.*, 2006).

En la actualidad, los sistemas ganaderos enfrentan diversos desafíos, entre los que se incluyen la escasez de forraje durante períodos de sequía, la disponibilidad limitada de forrajes con bajos niveles de proteínas y la alta presencia de plagas y enfermedades, ésta última, en particular, representa la problemática más perjudicial en estos sistemas (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2005). En el sureste mexicano, especialmente en Chiapas, la población de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) se mantiene activa a lo largo de todo el año. Este ectoparásito ocasiona pérdidas económicas significativas en los sistemas de producción debido a los elevados costos asociados a su control y a las enfermedades que puede transmitir al actuar como vector de virus, bacterias y protozoos; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

El control químico (acaricidas) es el principal método de control de la garrapata utilizado por los productores pecuarios. Estos compuestos químicos ejercen su efecto sobre el sistema nervioso de los ectoparásitos provocando la muerte de estos y reduciendo la población de la plaga (Miller *et al.*, 2006). Este método de control ha provocado efectos negativos en el sistema pecuario sobre todo en la inocuidad alimentaria, costo de producción y resistencia en este ectoparásito, agravando la problemática y haciendo más difícil su control (Fernández-Salas *et al.*, 2012). Es

por ello, que urge encontrar métodos de control más económicos y amigables al medio ambiente, sin afectar la inocuidad alimentaria y sobre todo evitar la resistencia de estos ectoparásitos a los métodos de control (Rodríguez- Vivas *et al.*, 2014).

Unas de las alternativas del control de la garrapata más eficiente y amigables al medio ambiente son los métodos no químicos, basados en el uso de zootécnicas como el de razas de bovinos resistentes, el manejo de pastizales y el uso de control biológico. Este último se define como el uso de organismos vivos para reducir poblaciones de artrópodo plagas o patógenos (DeBach, 1964). Este método permite la regulación de plagas mediante enemigos naturales exóticos como parasitoides, depredadores, y entomopatógenos esto con la finalidad de reducir el uso de plaguicidas convencionales, preservar el balance ecológico de los agroecosistema y la reducción de los costos de producción (Gallegos, 2003).

Los hongos entomopatógenos son agentes potenciales utilizados en el control bilógico de la garrapata y son estudiados ampliamente en todo el mundo. Existen alrededor de 700 especies reunidas en 100 géneros que tienen la capacidad de infectar a diferentes tipos de artrópodos (Gallegos, 2003). Entre los más comunes se encuentran *Metarhizium anisopliae.*, *Beauveria bassiana*, *Hirsutella sp.*, *Aschersonia*, *Nomuraea*, *Paecilomyces* y *Verticillium*, estos afectan los estadios de vida libre de la garrapata (Ojeda-Chi *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2012).

En los sistemas ganaderos de la región Frailesca del estado de Chiapas, existe poca información sobre el uso del control biológico, principalmente en la aplicación de hongos entomopatógenos como alternativa para el control de la garrapata. Este trabajo de investigación será relevante para el manejo y aplicación de este método de control creando nuevas alternativas, económica y amigable al medio ambiente en base a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue Determinar la efectividad biológica de hongos entomopatógenos nativos sobre *Rhipicephalus microplus*.

OBJETIVOS

Determinar la efectividad biológica de hongos entomopatógenos nativos sobre *Rhipicephalus microplus*

Objetivos específicos.

- 1) Aislar e identificar especies de hongos entomopatógenos de la región frailesca
- 2) Evaluar la efectividad biológica in vitro de los hongos entomopatógenos sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)
- 3) Determinar la efectividad biológica in vivo del hongo entomopatógeno más efectivo ejercida sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)
- 4) Establecer un protocolo de producción masiva de hongos entomopatógenos

HIPOTESIS

H_0 = Los hongos entomopatógenos no tienen ningún efecto biológico sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae).

H_1 = Al menos una cepa de un hongo entomopatógenos aislado en la región Frailesca presentará efectividad biológica letal sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae).

MARCO TEÓRICO

La ganadería en México

La ganadería es fundamental para la seguridad alimentaria pues constituye el sustento y el patrimonio de gran parte de las familias del campo en América Latina y el Caribe (ALC), y de ahí la importancia de impulsar su sustentabilidad, productividad y competitividad y de realizar acciones para mejorar su acción climática en la región, coincidieron en señalar expertos convocados por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y FAO en México (Calzada et al, 2017). Para México la ganadería bovina representa una de las actividades del sector agropecuario y su contribución que esta realiza a la oferta de productos cárnicos, así como su participación en la balanza comercial del país, la carne de bovino es el eje ordenador de la demanda y de los precios de las demás carnes. La producción asciende a 10, 800 millones de litros de leche y de 1.8 millones de toneladas de carne anuales (Espinosa, *et al.*, 2015). Los estados más importantes de producción de carne y leche son Veracruz con 4,549,067 cabezas de ganado, seguidos de Jalisco con 3,430,721 y en tercer lugar con 2,627,827 cabezas de ganado el estado de Chiapas (SIAP, 2021).

En Chiapas la ganadería contribuye con el 6.3 % de la producción nacional (SIAP, 2021), su sistema de producción es de doble propósito, actividad en el medio rural más común por los productores y basa su alimentación en el pastoreo dependiendo proporcionalmente poco de insumos producidos fuera del mismo sistema de producción, es importante mencionar que el material genético depende de cruces de *Bos Taurus* x *Bos indicus* enfocados a la producción de leche y carne (Rivas y Holmann, 2002), este tipo de ganadería se caracteriza por su sencillez, estabilidad, flexibilidad y liquidez diaria, permitiendo hacer frente a las condiciones climáticas, económicas y sociales difíciles que se han presentado con el paso de los años. (Martínez, 2012)

Factores que afectan la calidad de los productos del ganado

En la actualidad los sistemas ganaderos la palabra eficiencia es un concepto clave, pues es necesario producir más con menos insumos, y la calidad de la carne y leche es un parámetro multifactorial que dependen del eslabón cadena de producción, estos factores incluyen las razas, el género, la edad, el peso, los genes y el tipo de fibra muscular, Las enfermedades y plagas en el sector agrícola provocan diversos tipos y montos de pérdidas, e incluso las prácticas de manejo de potreros, alimentación sanidad animal así como plagas y enfermedades (Gutiérrez *et al.*, 1997).

si nos enfocamos en las enfermedades parasitarias es un problema global que limita la salud y el rendimiento productivo del ganado, debido a una cantidad grande de ectoparásitos como: nematodos, cestodos y garrapatas. Estas últimas son el grupo más importantes de patógenos que logran causar diversas enfermedades en los bovinos, animales salvajes y domésticos (Furman y Loomis, 1984)

Rhipicephalus microplus.

La garrapata *R. microplus*, es una especie de gran importancia económica y sanitaria debido a su amplia distribución a nivel mundial, capacidad vectorial, hábitos hematófagos y la diversidad de huésped que esta tiene. Es importante mencionar que a pesar del esfuerzo por controlar este ectoparásito aún sigue siendo una preocupación y una amenaza para la salud animal y humana (Kocan, 2006). Las garrapatas causan daños directos a los animales a través de la piel provocando pérdida de peso al bovino afectando y en los peores de los casos transmiten agentes infecciosos como *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Anaplasma* (Rodriguez-Vivas 2004). Cuando el ganado vacuno adquiere una enfermedad transmitida por la garrapata se empieza a reflejar pérdidas, tanto en mortalidad de los mismo animales o bien pérdidas en la producción de leche o ganancia de peso diario (Delgadillo, 2007).

La garrapata del ganado vacuno tiene tres fases móviles en su ciclo de vida: la minúscula lava de seis patas, la ninfa de ocho patas y el adulto de ocho patas (hembra o macho), el ciclo de vida se completa con la producción de huevo puestas por las hembras, después de la separación del ganado repleta de sangre. Los adultos se aparean, generalmente sobre el huésped y es la hembra quien finalmente cae al suelo para encontrar un lugar húmedo y protegido donde poner sus huevos (Serrano y Zambrana, 1989). Y es en la etapa adulta de la garrapata donde los perjuicios físicos en el ganado se hacen presentes.

Estrategias de control de la garrapata

Control químico

Los problemas relacionados a las garrapatas han creado una creciente demanda de métodos de control y combate de las infestaciones, en México y en otras partes del mundo se han realizado estrategias mediante el uso de diferentes familias químicas, estos productos son sistemáticos, todos los ixodicidas son neurotóxicos, y ejercen su efecto sobre el sistema nervioso de los ectoparásitos (Miller *et al.* 2006) Los acaricidas más empleados en México son: organofosforados (OF), piretroides sintéticos (PS), y Amitraz (Am) (Alonzo-Diaz *et al* 2006). Las lactonas

macrocíclicas (LM) también controlan las infestaciones por garrapata y han sido usadas en los últimos años en todo México (Rodríguez-vivas *et al* 2014). Los productos químicos son concentrados que se venden con diferentes nombres comerciales, pero pueden contener los mismos ingredientes activos. Los concentrados de garrapaticidas además de contener un ingrediente activo contienen disolventes y emulcificantes a este conjunto de compuestos químicos se le denomina agentes formulante (Delgadillo, 2007)

En la actualidad estos productos químicos han intensificado su toxicidad, debido al uso constante de estos insecticidas tal es el caso del grupo de los ixodicidas un compuesto sintético muy efectivo para el control de la garrapata, sin embargo, el uso indiscriminado y constante ha ocasionado la selección de poblaciones de garrapatas resistentes a ciertos ingredientes activos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006). Existen especies de garrapata que son resistentes a productos químicos, una vez que ha obtenido la resistencia, no hay nada que se pueda hacer para volver al estado original de susceptibilidad, pero hay mucho que hacer para demorar el desarrollo de la resistencia a productos químicos, es decir estrategias nuevas para el control de este ectoparásito (Delgadillo, 2007).

Control biológico

Esta disciplina se conoce desde antes de Cristo por los campesinos de origen chino, quienes ocupaban especies de hormigas para el control biológico de orugas dañinas en los cultivos de cítricos. En la era industrial se logra descubrir agente de control biológico denominados microorganismos (Badii, 2006). Es un concepto que ha generado mucha controversia entre científico desde el siglo XIX, cuando naturistas de diferentes países del mundo basados en investigaciones destacaron el importante papel de los organismos entomófagos en la naturaleza (Badii, 2006). Desde entonces se han creado definiciones que englobe este concepto, hoy podemos decir que es “la acción de parásitos, depredadores y/o patógenos para mantener la densidad de población de otro organismo a un nivel más bajo que el que existiría en su ausencia” (DeBach, 1964).

El objetivo de este método de control es el manejo racional y eficaz de las plagas y las enfermedades, denominada también lucha biológica o lucha natural, que es la manipulación deliberada por los nombres de parasitoides, depredadores y agentes patógenos de las especies de la plaga, en relación al agroecosistema, con la única finalidad de reducir las poblaciones plagas a

un nivel que no causen daños económicamente, con un costo económico más bajo que el convencional (Alcázar, 2000).

Tipos de control biológico

Básicamente hay tres tipos de control biológico: conservativo, clásico y aumentativo. El control biológico conservativo establece prácticas y estrategias para mejorar el establecimiento y la proliferación de organismos benéficos propios del lugar, limitando el uso de prácticas que los desfavorezcan e implementando aquellas estrategias que los favorezcan. El control biológico clásico se refiere a la importación al sitio requerido, de agentes de control biológico (ACB) esta necesidad surge a raíz de la ausencia de ACB para una plaga introducida que no cuenta en sitio, con sus propios controladores. El control biológico aumentativo, se refiere a la necesidad de incrementar la presencia de ACB en determinado sitio, debido su escasa presencia o imposibilidad de mantener poblaciones suficientes. Se manejan aquí dos esquemas de uso: aplicación masiva o aplicación inoculativa (Rodríguez *et al.*, 2010).

Agentes de control biológicos

a) Parasitoides

El término se refiere a los insectos que parasitan a otros insectos o artrópodo denominadas plagas, es decir hacen de ellos hospedantes para poder vivir a expensa suya únicamente en su estadio larvario, porque cuando estos llegan a la edad adulta se alimentan de néctar, residuos vegetales o animales (Badii, 2006).

Los principales insectos parásitos perteneces a los órdenes de dípteros e himenópteros en estado adulto principalmente hembras, estas buscan al huésped sobre el que ponen uno o varios huevos, en algunos casos suelen desarrollarse sobre la plaga (parásitos externos) o bien dentro de ella (parasito interno). Cuando las larvas llegan a la madurez pueden llegar a convertirse en pupas dentro o fuera del huésped (Badii, 2006).

b) Depredadores

Estos pueden ser insectos o ácaros depredadores que suelen alimentarse de varias especies de plagas a lo largo de su vida, estos insectos por lo general tienen un tamaño mayor que el de la presa y son oligófagos o polígafos. Podemos definir entonces que estos depredadores realizan un control biológico natural y por lo general necesitan consumir más de una presa para completar su ciclo de vida (Badii, 2006).

c) Entomopatógenos

Se conoce como microorganismos que producen patogenicidad en insectos plagas, con la finalidad de disminuir las densidades poblacionales de las mismas, estos pueden ser bacterias, hongos, virus, nematodos y rickettsia (Álvez, 1986). Los organismos entomopatógenos dentro del control biológico constituyen una alternativa para el control de insectos plagas, pues estos pueden inducir a la formación de epizootias, provocando la muerte de los huéspedes y que la enfermedad se disperse a través de que las poblaciones van infectando y muriendo con la intención de propagar y liberar el inóculo (Garzas, 1997).

Las propiedades que un entomopatógeno deben ser de una elevada virulencia, rango de hospederos, capacidad de dispersión, la persistencia en los medios ambientales de sus hospedero, su cantidad de inóculo y su distribución espacial (Carruthers Hural, 1990)

1.- Virulencia: se refiere a la intensidad de la enfermedad causada por un entomopatógeno, puede dañar el tejido, invadir y matar el hospedero. Un agente de alta virulencia tiene la característica de que la enfermedad es corta y produce grandes cantidades de inóculos, por lo que provoca el incremento rápido de la enfermedad dentro de una población.

2.- Especificidad: los agentes infecciones presentan un amplio rango de hospederos por lo que la posibilidad de persistir en el medio ambiente es alto.

3. Persistencia: es la capacidad de formar estructuras que les permite sobrevivir largos periodos, cuando las condiciones son desfavorables o de ausencia del insecto. Esta persistencia depende de factores ambientales, como temperatura, luz ultravioleta, tipo de suelo, e incluso prácticas agrícolas.

4.- capacidad de dispersión: es muy importante que el agente tenga una rápida dispersión, y puede hacerlo gracias a lluvia, el aire e incluso los insectos micosados y enfermos, quienes pueden transportar el inóculo a diversos lugares.

Hongos entomopatógenos.

Son agentes biológicos que tienen el potencial de ser usados para el control de insectos plagas o ectoparásitos e incluyen aproximadamente 700 especies de hongos entomopatógenos, de los cuales únicamente el 10% es utilizado para el control biológico de insectos plagas, se toma en cuenta que algunos de estos géneros tienen un amplio espectro de hospederos y en muchos casos su rango geográfico son también amplios. Existen numerosas especies de hongos

entomopatógenos reportados en los diferentes grupos taxonómicos, los cuales ofrecen posibilidades de uso en la regulación de insectos plagas, y pertenecen al grupo de los *Eumycota*, que incluye a *Zigomycetos*, *Ascomycetos*, *Basidiomycetos* y *Deuteromycetos* o bien llamados hongos imperfectos quienes se encuentran géneros considerados como promisorios en el control de insectos plagas por ejemplo *Metarhizium spp*, *Cordyceps*, *Beauveria bassiana*, *Aschersonia spp*, *Erynia spp*, *Eryniopsis spp*, *Fusarium spp*, *Hirsutella spp*, los hongos más estudiados a nivel mundial (Kaaya, 2000).

Modo de acción de hongos entomopatógenos.

En cuanto el mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos actúan principalmente por contacto, son capaces de penetrar al insecto e invadirlos por contacto, provocando así la muerte del huésped por micosis. Estos hongos producen una sustancia lítica y toxinas, que facilitan la penetración y a inhibir los mecanismos de defensas de los insectos (Delgadillo, 2007).

Existen 5 etapas en el desarrollo de una micosis que presentan los hongos entomopatógenos (Alves, 1987).

- 1.- Germinación del conidio
- 2.- Formación del apresorio
- 3.- Penetración
- 4.- Colonización
- 5.- Reproducción del patógeno.

Germinación del conidio

Para que el hongo pueda germinar depende de su habilidad para utilizar elementos en función de su agresividad, virulencia, cantidad de esporas, tiempo de germinación y penetración después de la adhesión de la cutícula del hospedero (Rosas, 2000). Una buena germinación ocurre a las 12 horas del inóculo a una temperatura de 23 – 30 °C con una humedad relativa de 80%).

Formación del apresorio

En el extremo del tubo germinativo ocurre una dilatación de hifas que forma una estructura denominada apresorio, es un tubo germinativo que penetra por aberturas naturales del insecto como puede ser tráqueas, poros y regiones intersegmentales (Delgadillo, 2007).

Penetración

Este proceso está dividido en dos fases (Delgadillo, 2007):

- 1) Físico: las hifas rompen áreas membranosas o esclerosadas

2) Químico: el hongo produce enzimas como las proteasas, lipasas y quitinasas facilitando la penetración mediante histólisis.

Colonización

Este proceso se origina a partir de la penetración cuando se forma pequeñas colonias de cuerpos hifales que se van engrosando y ramificando. Iniciando en el hemocele y luego al resto del insecto, y logran colonizar completamente el cuerpo entre 76 – 120 horas dependiendo el patógeno, el insecto y las condiciones ambientales (Delgadillo, 2007).

Reproducción del patógeno

Este proceso se presenta después de 4 o 5 días de la muerte del insecto, las hifas comienzan a emerger por los espiráculos y regiones inter segmentales y después de 24 a 48 horas se inicia la formación de conidias (Delgadillo, 2007)

Hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*

Agostino Bassi en 1834 demostró que un hongo era capaz de provocar una patología en los insectos, tiempo después Bálamo Crivelln lo denomina *Botrytis bassiana*, y finalmente Vuillemin determina a este hongo dentro del género *Beauveria* (Bermeo, 2022).

En todo el mundo se ha reportado su presencia (CABI, 2022), y se han clasificado también como hongos saprofitos, patógenos y simbiote, y por lo consiguiente no es necesario atacar a un insecto para completar su ciclo de vida (Ortiz-Urquiza, 2021). Es un género que tolera rangos amplios de temperatura y humedad relativa, explicando así que es una especie para adaptarse a diferentes áreas edafoclimáticas (Godoy *et al.*, 2007)

Hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*

El género *Metarhizium* fue descrito por Sorokin en 1883 y con base en las características morfológicas se describen las variedades *M. anisopliae* y *M. majus* (Tulloch, 1978).

Las evidencias del ataque de este hongo hacia insectos se describe como “muscardina verde” y tiene como hospedero más de 200 especies de insectos (Veen, 1968). La patogenicidad de este género tiene la capacidad de sintetizar enzimas extracelulares capaces de degradar polímero de la cutícula como proteínas, lípidos y quitina, permitiendo el aprovechamiento de nutrientes para su crecimiento y desarrollo (Leger, 1988). *M. anisopliae* se caracteriza por ser mesófilo, con una

temperatura óptima para germinar y crecer entre 25 a 30 °C, con una máxima de 32 °C y una mínima de 10 a 12 °C (Veen, *et al.*, 1968).

Hongo entomopatógeno *Hirsutella* sp.

Es uno de los hongos entomopatógenos mas abundantes e importantes que pueden ser utilizados en el control de insectos plagas de forma natural (Evans 1974). Este género fue dirigido por Patouillard en 1892, basado en la especie tipo *H. entomophilia pat.* Que fue descrita a partir de un espécimen recolectado en un escarabajo en Ecuador. La mayoría de las especies de *Hirsutella* son sinnematosas, mononematosas y algunas producen sinnematas (Liang *et al.*,2005). Incluyen mas de 90 especies que infectan y parasitan una variedad de especies de invertebrados, como ácaros, nematodos e insectos, muchos de los cuales son plagas económicamente importantes (Seifert y Boulay, 2004).

RESULTADOS

Capítulo I: Artículo

Control de garrapata con Hongos entomopatógenos

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS SOBRE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS*.

Biological effectiveness of entomopathogenic fungi on *Rhipicephalus microplus*

Isaac Espinosa-Velázquez¹ (<https://orcid.org/0009-0003-9974-4500>), Vidal Hernández-García^{1*} (<https://orcid.org/0000-0002-9383-6426>), Miguel Ángel Salas-Marina¹ (<https://orcid.org/0000-0002-4737-2069>) Luis Alfredo Rodríguez Larramendi¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8805-7180>), Claudio Ríos-Velasco² (<https://orcid.org/0000-0002-3820-2156>) y Reyna Ivonne Torres-Acosta³ (<https://orcid.org/0000-0003-4183-4872>)

¹Laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticidas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Facultad de Ingeniería, Sede Villa Corzo. Carretera a Monterrey, Km 3. Chiapas, México. C.P. 30520.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Cuauhtémoc. Avenida Río Conchos s/n, Parque Industrial, Apartado postal 781, C.P.31570, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

³Universidad Autónoma de Tamaulipas- Unidad-Unidad Académica Multidisciplinaria Mante-Centro. Blvd. Enrique Cárdenas González No. 1201 Pte. Col. Jardín, Cd. Mante, Tamaulipas, México. C.P. 89840.

*Autor de correspondencia: vidal.hernandez@unicach.mx

Recibido: xx de xxx 202x

Aceptado: xx de xxx 202x

RESUMEN. Los hongos entomopatógenos son agentes de control biológico que permiten reducir o eliminar gradualmente insectos plagas en los sistemas pecuarios y agrícolas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la efectividad biológica de hongos entomopatógeno sobre la garrapata (*Rhipicephalus microplus*). Los hongos se aislaron de insectos micosados colectados en campos principalmente del orden Coleópteras y Dermaptera, descritas macro y microscópicamente. Se identificaron cuatro cepas de hongos entomopatógenos: una de *Metarhizium anisopliae* (MIE1) y tres de *Beauveria bassiana* (BIE2, BIE3 y BIE4). Además de la identificación morfológica las cuatro cepas fueron identificadas molecularmente utilizando la amplificación del gen marcador ITS con los oligos universales, ITS4 e ITS5. Los productos de secuencias del gen marcador fueron comparadas y registradas en la base de datos del Gen-Bank con los siguientes números de acceso SUB14209317 para *Metarhizium anisopliae* MIE1, SUB14217571 y SUB 14217624 para *Beauveria bassiana* BIE2 y BIE3. La efectividad biológica de estos hongos contra *Rhipicephalus microplus* se realizó en el laboratorio con el objeto de seleccionar la cepa más virulenta y esta producirla masivamente en sustrato solido de arroz para su posterior evaluación en campo. La cepa BIE2 (*Beauveria bassiana*) presentó mayor patogenicidad sobre *Rhipicephalus microplus* con el 54% de efectividad. Los resultados obtenidos son importantes para comprender la diversidad de hongos entomopatógenos en la región Frailesca, estos conocimientos aplicarse en el manejo integrado de plagas agrícolas y pecuarias, contribuyendo así la sustentabilidad de estos sistemas.

Palabras clave: Biodiversidad, control biológico, patogenicidad, gen marcador y sustentabilidad.

ABSTRACT. Entomopathogenic fungi are biological control agents that help reduce or gradually eliminate pest insects in livestock and agricultural systems. The aim of this study was to characterize the biological effectiveness of entomopathogenic fungi on the tick (*Rhipicephalus microplus*). The fungi were isolated from mycosed insects collected in fields, mainly from the orders Coleoptera and Dermoptera, described macroscopically and microscopically. Four strains of entomopathogenic fungi were identified: one of *Metarhizium anisopliae* (MIE1) and three of *Beauveria bassiana* (BIE2, BIE3, and BIE4). In addition to morphological identification, the four strains were molecularly identified using the amplification of the ITS marker gene with the universal primers ITS4 and ITS5. The marker gene sequence products were compared and registered in the GenBank database with the following accession numbers: SUB14209317 for *Metarhizium anisopliae* MIE1, and SUB14217571 and SUB14217624 for *Beauveria bassiana* BIE2 and BIE3. The biological effectiveness of these fungi against *Rhipicephalus microplus* was evaluated in the laboratory to select the most virulent strain, which was then mass-produced on a solid rice substrate for subsequent field evaluation. The BIE2 strain (*Beauveria bassiana*) showed the highest pathogenicity against *Rhipicephalus microplus* with 54% effectiveness. The results obtained are important for understanding the diversity of entomopathogenic fungi in the Frailesca region. This knowledge can be applied to the integrated management of agricultural and livestock pests, thus contributing to the sustainability of these systems.

Key words: biodiversity, biological control, pathogenicity, marker gene and sustainability.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción pecuarias en México permiten satisfacer las demandas de proteínas de la población. Los estados de Chiapas y Veracruz son las entidades con mayor producción de bovino de leche y carne (SIAP 2020). Sin embargo, los sistemas ganaderos son afectadas por diversas limitantes como; escases de forrajes en épocas de estiajes, forrajes de bajo nivel proteicos, además de las altas infestaciones de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) que provocan de forma directa enfermedades al hato ganadero, reduciendo los niveles de producción (carne y leche) e ingresos económicos por los altos costos económicos por su control químico según Rodríguez- Vivas *et al.* (2011).

El control químico es el principal método utilizado por los ganaderos para reducir poblaciones de *Rhipicephalus microplus*, estos compuestos químicos bloquean el sistema nervioso del ectoparásito hasta provocar su muerte, a su vez estas sustancias químicas aplicados en forma subcutánea e intramuscular aplicado a la piel del ganado, repercute en la mala calidad de la carne y leche, además eleva los costos de producción en el sistema y provocan resistencia del ectoparásito haciendo cada vez más difícil su control (Fernando-Salas *et al.* 2012). Debido a esto, es necesario establecer nuevas alternativas de manejo y control que sean más eficientes, económicas, que no provoquen resistencias y que sean amigables al medio ambiente sin afectar la calidad e inocuidad alimentaria de acuerdo a Rodríguez- Vivas *et al.* (2011).

En este sentido, dentro del manejo integrado de plagas (MIP), el control biológico es una estrategia amigables con el medio ambiente; para el manejo de insectos plagas, se basa en la uso de enemigos naturales para regular poblaciones de organismos perjudiciales a la agricultura y ganadería. De ahí que, los hongos entomopatógenos (HE) han ganado una atención significativa debido a su efectividad en el control de plagas agrícolas y pecuarias. Tal es el caso del genero *Metarhizium anisopliae* utilizado para el control biológico de diferentes insectos plagas, así como el género *Beauveria bassiana*, siendo un parásito facultativo para insectos plagas teniendo amplio rango de organismos huésped (Castillo *et al.* 2012). El mecanismo de acción de estos hongos sobre los insectos huéspedes consiste en la germinación de los conidios, e inicia con la formación del apresorio, penetración y finalmente la colonización como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *hirsutella* (Alves *et al.* 1987). El estudio de los HE en la actualidad se centra en su potencial como bioinsecticidas, con la importancia de emplear agentes entomopatógenos nativos de cada región con elevada virulencia, gran rango de hospederos y su capacidad de dispersión, estos aspectos resaltan la relevancia del control biológico dentro de los sistemas de producción pecuaria (Hernandez *et al.* 2019). El objetivo de este trabajo fue identificar y determinar la efectividad biológica de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Rhipicephalus microplus*

MATERIALES Y MÉTODOS

Identificación y caracterización morfológica de hongos entomopatógenos (HE). La recolecta de los HE se realizó durante los meses de agosto a octubre del 2022 con la

técnica de colecta directa de insectos micosados dentro de sistemas agroforestales en las localidades de Emiliano Zapata y la Unidad Experimental de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH) ambas del municipio de Villa Corzo y la localidad de Úrsulo Galván municipio de Villaflores de la región Frailesca, Chiapas. Posteriormente, los insectos fueron trasladados al laboratorio de Bioinsecticida y Biofertilizantes de la UNICACH e incubados en cámaras húmedas.

Los hongos crecidos en las cámaras húmedas se aislaron y purificaron en siembras directas y cultivos monospòrico en medio papa dextrosa agar (PDA) e incubados a 28°C, con un fotoperiodo de 12:12 luz/oscuridad por 15 días. El crecimiento de los hongos se monitoreo cada 24 horas (Allende, 2007). Una vez esporulados los hongos, se identificaron morfológicamente a nivel de género, mediante estructuras de reproducción observadas en un microscopio óptico marca Melab Microscopes INC y a través del software ZEIZZ 3.0 (Blue edition), Se midió la longitud y diámetro de 30 esporas por cada cepa (Hidalgo-Tello 2022). Siguiendo las Claves taxonómicas de Samson 1980, Rombach-Roberts 1989 y Alves 1987.

Para la caracterización macroscópica fueron utilizadas cinco cajas Petri de 90 mm de diámetro con PDA para cada cepa aislada, con la ayuda de una asa de siembra obtuvo el hongo a propagar y sembrándola por técnica de estriado. Las siembras fueron incubadas durante 15 días a 28°C para lograr la esporulación de las colonias. Con la ayuda de un estereoscópico de la marca Z4 ARBiotech se observaron cada colonia esporuladas describiendo su aspecto, textura y coloración de cada hongo entomopatógeno, así como la producción de pigmentos o metabolitos en el anverso y reverso de las cajas de Petri. Siguiendo las claves taxonómicas de Samson 1980, Rombach-Roberts 1989 y Alves 1986.

Identificación molecular de hongos entomopatógenos. La identificación molecular se realizó tomando las diferentes cepas crecidas en cajas petri con PDA, cubriéndolos con celofán estéril por 7 días a 28 °C. El micelio fue cosechado y congelado con nitrógeno líquido. El ADN fue extraído basado en el protocolo de Raeder & Broda (1985). El ADN total fue utilizado para amplificar el espaciador de transcrito interno (ITS) del 18s del rDNA utilizando los primer ITS5 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTT ATTGATATGC-3') con las siguientes condiciones de amplificación; etapa inicial de desnaturalización de 94 °C por 5 min, seguido de 30 ciclos (extensión 94 °C 30 s, alineamiento 60 °C, 30 s, extensión 72 °C, por 45 s) y una extensión final de 72 °C por 10 min, donde el fragmento es de 710 a 850 pb dependiendo la especie del hongo (White *et al.* 1990). Los amplicones de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron secuenciados con el método de Sanger en un secuenciador ABI (Applied Biosystems). Las secuencias fueron comparadas y registradas en la base de datos NCBI usando un logaritmo de BLAST (Altschul *et al.* 1990).

Efectividad biológica de hongos entomopatógenos contra *Rhipicephalus microplus* en laboratorio. En este experimento se evaluó la efectividad biológica de las cepas

Metarhizium anisopliae (MIE1) y de tres cepas de *Beauveria Bassiana* (BIE2, BIE3 Y BIE4) para el control de garrapatas. Se colectaron 300 garrapatas adultas de la especie *Rhipicephalus microplus* de bovinos de las razas cebuinas de diferentes edades con un intervalo de 45 días sin aplicación de garrapaticidas, procedentes del rancho “El pesebre” ubicado en Buenavista, municipio de Villa Corzo, Chiapa con coordenadas 16° 09 '46" N y 93° 09' 29.8" O. Las muestras colectadas manualmente se colocaron en frascos de vidrio tapado con gasa húmeda y se trasladaron al laboratorio de Biofertilizantes y Bioinsecticida de la UNICACH, sede Villa Corzo.

Las garrapatas se lavaron con agua corriente, se secaron con papel absorbente y se eliminaron aquellas unidades que presentaron deformidades, daños físicos o que se encontraban muertas. Posteriormente, cada garrapata fue pesada utilizando una balanza digital. La suma total de los pesos obtenidos se dividió entre el número total de garrapatas pesadas para calcular el peso promedio por grupo. Finalmente, se colocaron diez individuos en cada caja Petri para dar inicio a la fase experimental.

Las garrapatas se inocularon con los conidios de cada una de las cepas de los hongos entomopatógenos a una concentración de 1×10^9 conidios/mL, se aplicó 20 mL de la solución de cada tratamiento mediante cinco disparos, aplicados con un aspersor a una distancia de 10 cm. Se utilizó agua destilada como testigo. Los tratamientos fueron incubados a una temperatura de $28^\circ\text{C} + 1^\circ\text{C}$ con una humedad relativa de 85 % durante 14 días. Durante este periodo los especímenes no se les proporcionaron alimentación (Fernández-Ruvalcaba *et al.* 2010).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con cuatro tratamientos: T1 (Cepa MIE1), T2 (Cepa BIE2), T3 (Cepa BIE3), T4 (BIE4) y TESTIGO (agua destilada) con cinco repeticiones y en cada repetición con 10 especímenes.

El porcentaje de mortalidad se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de mortalidad (garrapatas micosadas)} = \frac{\text{No. de garrapatas muertas}}{\text{No. de garrapatas evaluadas}} \times 100$$

Con datos obtenidos de mortalidad se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación entre medias con la prueba de Tukey (≤ 0.05) con el paquete estadístico Probit®.

Efectividad biológica de hongos entomopatógenos contra *Rhipicephalus microplus* en campo.

La efectividad biológica *in vivo* de los hongos entomopatógenos se realizó en el “Rancho 4 Hermanos”, ubicado en la Colonia Valle Morelos, municipio de Villa Corzo, Chiapas a 560 msnm, en las coordenadas 16° 07' 25.7" N y 92° 59' 11.5" O.

Se estableció un diseño completamente al azar con 4 tratamientos con 3 repeticiones. Los tratamientos fueron los siguientes T1 (MIE1 *Metarhizium anisopliae*), T2 (BIE2 *Beauveria bassiana*), T3 (BIE4 *Beauveria bassiana*) y T4 (Químico Asuntol al 50V%). Cada repetición

consistió en 1 bovino de la raza suizo americano con un peso promedio de 450 kg. Utilizando un total de 12 bovinos utilizados en el experimento.

Los HE utilizados en este estudio fueron producidos masivamente en sustrato sólido de arroz siguiendo el protocolo de Labastida *et al.* (1997) a una concentración de 1×10^{12} conidios/mL, asegurando una dosis adecuada para su aplicación.

Para esta prueba *in vivo* se utilizó 160 grs de entomopatógeno en medio solido de arroz de *Metarhizium anisopliae* y de *Beauveria bassiana* con una concentración de UFC de 1×10^{12} conidios/g, 24 L de agua potable, adicionando 6 mL de aceite comestible. Se utilizaron 3 aspersores convencionales con capacidad de 20 L, 3 cubetas con capacidad de 5 L cada una y un tamiz de plástico.

Procedimiento. Para iniciar el experimento se cuantificó el número de garrapatas presentes en cada bovino antes del tratamiento. Una vez que se tienen los datos se preparó el material biológico necesario para los tratamientos, en primer lugar se colocaron 2 L de agua en una cubeta con 160 g de entomopatógeno en medio sólido de arroz para cada tratamiento. Se realizó el lavado manualmente por 2 o 3 min, posteriormente por decantación y tamizado se transfirió el inóculo a la mochila aspersora. Este lavado se repitió por dos ocasiones con la finalidad de utilizar la mayor parte de esporas de HE. Una vez preparada la solución, se asperjaron de 2 a 3 L de material biológico uniformemente sobre cada bovino (de las repeticiones). Para el testigo se utilizó Asuntol líquido® (Coumafós al 20%) con una proporción 20 mL en 20 L de agua.

Los animales inoculados con HE quedaron en reposo bajo condición de sombra durante 2 horas, con la finalidad de favorecer las condiciones ambientales óptimas para la acción de los entomopatógenos. Se monitoreó a los animales cada 48 horas y se contabilizaron el número las garrapatas por cada repetición.

Las variables que se midieron fue dinámica poblacional de *Rhipicephalus microplus* durante de 14 días bajo la influencia de los tratamientos con HE, registrando el número de garrapatas cada 48 horas.

RESULTADOS

Identificación morfológica. Se identificaron 4 cepas de hongos entomopatógenos HE de diferentes sistemas agroforestales tabla 1

La cepa MIE1 (*Metarhizium anisopliae*) es un hongo que durante su crecimiento vegetativo las cepas jóvenes, presenta tonalidades blancas. No obstante, a medida que llegan a la madurez o etapa reproductiva, adquiere su color característico de color verde debido a la producción de esporas asexuales. Las dimensiones de estas esporas fueron de $5.71 \mu\text{m}$ de largo y $2.63 \mu\text{m}$ de ancho (Figura 1).



Figura 1. Crecimiento de *Metarhizium anisopliae* cepa MIE1 en medio PDA. a) Anverso de la colonias, b) Reverso de la colonia, c) tamaño de una de un conidio.

La cepa BIE2 (*Beauveria bassiana*) su crecimiento se caracteriza por presentar apariencia polvosa de color blanco y una alta capacidad de producción de esporas. Los conidios son redondos y tienen un diámetro de 2.76 μm (Figura 2).



Figura 2. Crecimiento de *Beauveria Bassiana* cepa BIE2 en medio PDA. a) Anverso de la colonias, b) Reverso de la colonia, c) Tamaño de una de un conidio.

La cepa BIE3 de *Beauveria bassiana* forma colonias de color blanco y polvoriento, alta capacidad de esporulación. Los conidios son redondos de un diámetro de 2.47 μm. (Figura 3)

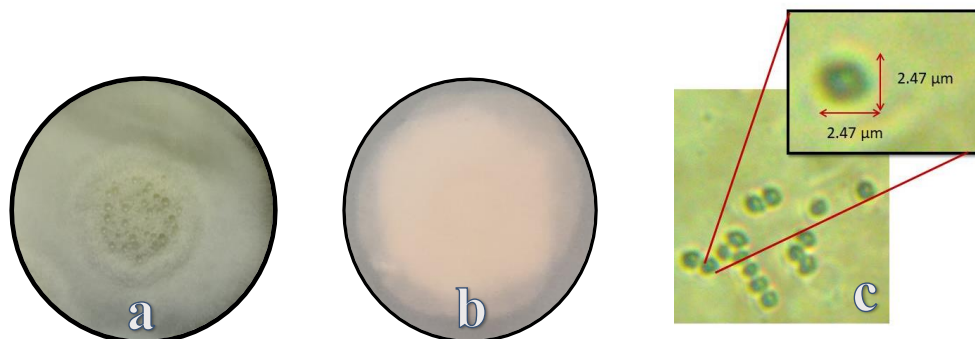


Figura 3. Crecimiento de *Beauveria Bassiana* cepa BIE3 en medio de PDA. a) Anverso de la colonias b) Reverso de la colonia, c) Dimensión una de un conidio.

La cepa BIE4 de *Beauveria bassiana*, se caracteriza por su apariencia esponjosa de color blanco, alta producción de esporas y la presencia de gotas de metabolitos secundarios. Los conidios son redondos de un diámetro de 2.9 μm (Figura 4).

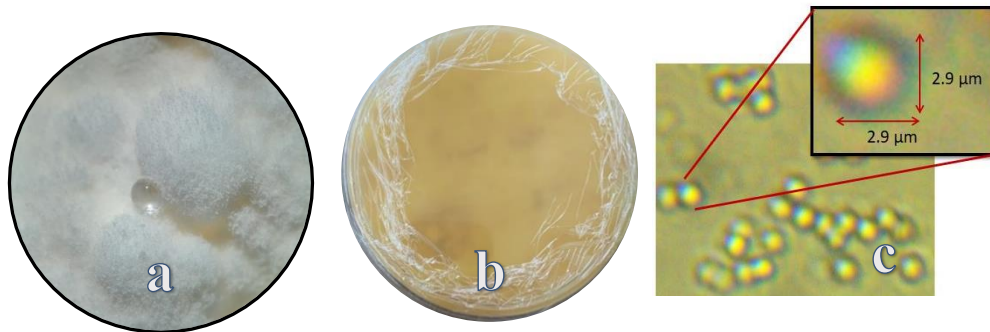


Figura 4. Crecimiento de *Beauveria Bassiana* cepa BIE4 en medio PDA. a) Anverso de la colonia, b) Reverso de la colonia, c) tamaño de una de un conidio.

Cuadro 1. Hongos entomopatógenos aislados de diferentes hospederos y lugar de origen.

Especies	Huésped Orden/familia	Lugar de origen	Acrónimos
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Dermaptera: <i>Forficulidae auriculares</i>	Úrsulo Galván, Villaflores, Chiapas.	MIE1
<i>Beauveria bassiana</i>	Coleoptera: <i>Linogeraeus</i> sp	Unidad experimental UNICACH, Villacorzo, Chiapas.	BIE2
<i>Beauveria bassiana</i>	Coleoptera: <i>Linogeraeus</i> sp	Unidad experimental UNICACH, Villacorzo, Chiapas.	BIE3
<i>Beauveria bassiana</i>	Coleoptera: <i>Linogeraeus</i> sp	Unidad experimental UNICACH, Villacorzo, Chiapas.	BIE4

Identificación molecular de hongos entomopatógenos. El análisis de la secuencia del gen marcador ITS del gen 18s rDNA reveló una alta similitud con las secuencias del GenBank. La secuencia de la cepa MIE1 presentó 100 % de similitud con el género *Metarhizium anisopliae*, la secuencia fue registrada en el GenBank con número de acceso SUB14209317.

De la secuencia de las cepas BIE2 presentó una similitud de 100 % con el género *Beauveria bassiana*, y se registró en el GenBank con número de acceso SUB14217571.

La secuencia de la cepa BIE3, tuvo una similitud del 100 % con *Beauveria bassiana*, la secuencia fue registrada en el GenBank con número de acceso SUB14217624.

Efectividad biológica de hongos entomopatógenos contra *Rhipicephalus microplus* en laboratorio

De acuerdo a los resultados de mortalidad *In vitro* de *Rhipicephalus microplus* por la acción de la virulencia de las diferentes cepas de hongos entomopatógenos, al respecto se encontró que *B. Bassiana* BIE2 (Figura 6) presentaron mortalidad a los cuatro días después de la inoculación (DDI) alcanzando un 54 % a los 14 DDI (Figura 6, 7a). Las garrapatas inoculadas con la cepa *B. bassiana* BIE4 presentaron mortalidad a partir del sexto día DDI alcanzando una mortalidad del 38 % a los 14 DDI (Figura 6 y 7c). En particular, la cepa BIE2 provocó mortalidad a los cuatro días después de la inoculación, mientras que la cepa BIE4 lo hizo a los seis días.

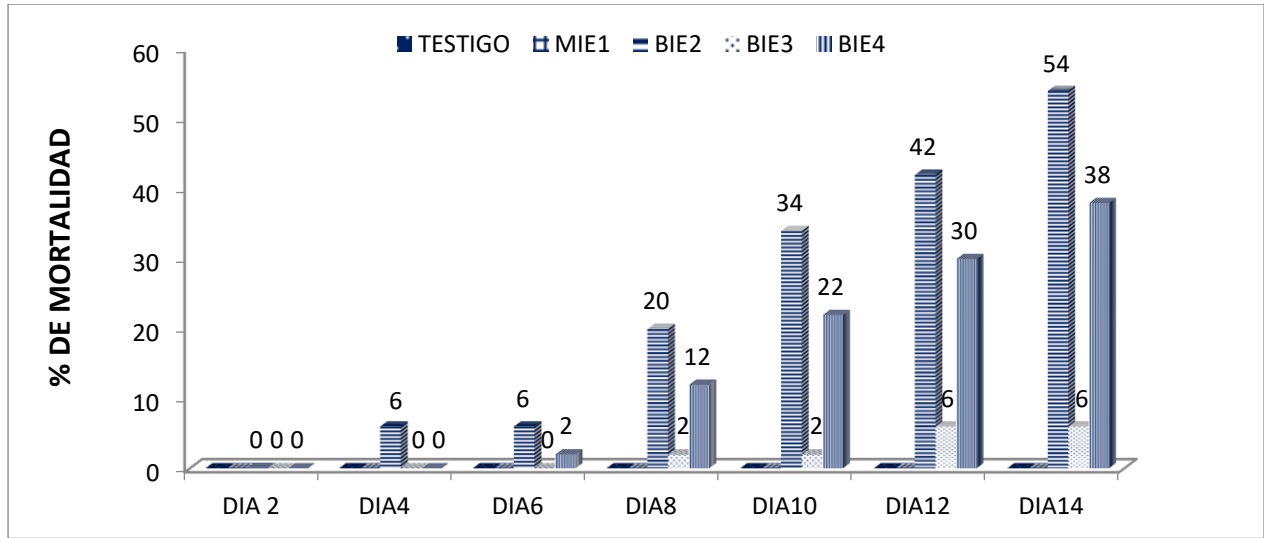


Figura 6. Mortalidad de *Rhipicephalus microplus* por diferentes cepas de hongos entomopatógono

Las garrapatas inoculadas con la cepa *B. bassiana* BIE3 (Figura 7b) presentaron mortalidad a partir de los 8 DDI con un porcentaje máximo de 6 % a los 14 DDI. Las garrapatas inoculadas con la cepa de *Metarhizium anisopliae* MIE1 y el testigo (aguda destilada) no presentaron mortalidad.

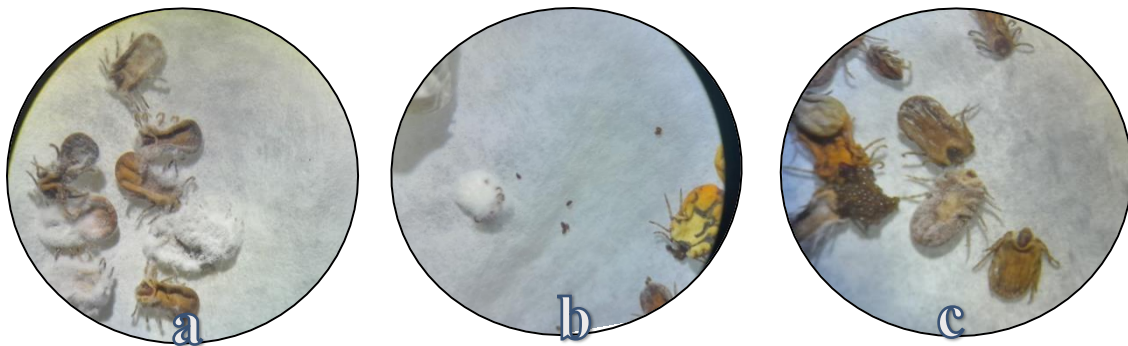


Figura 7. Representación esquemática de las garrapatas micosados por diferentes cepas de *B. bassiana*.

De acuerdo con el análisis de varianza (ANOVA), se observaron diferencias significativas en la efectividad contra *Rhipicephalus microplus*, destacándose las cepas BIE2 y BIE4. Estas cepas demostraron ser significativamente más efectivas en comparación con el grupo de control, que no mostró mortalidad (Figura 8).

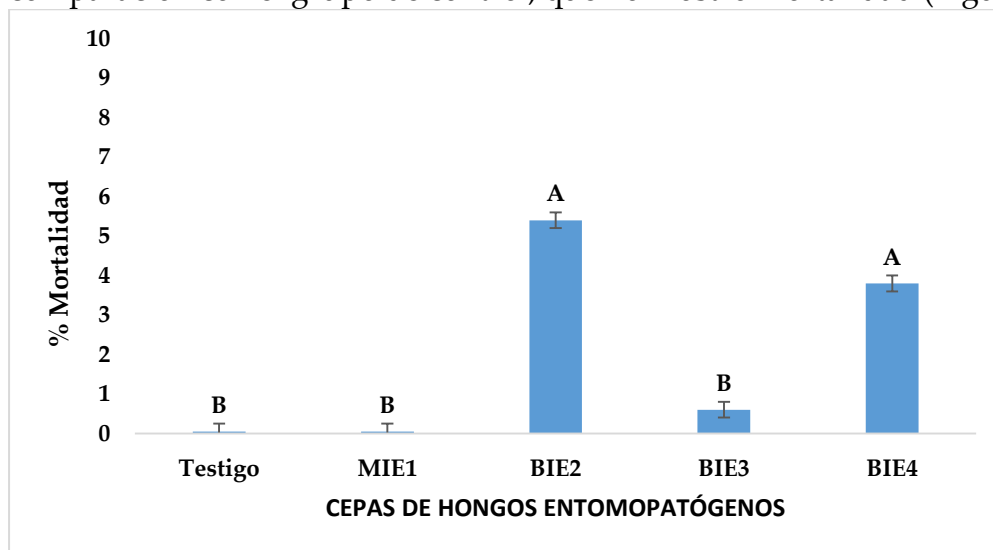


Figura 8. Comparación de medias ANOVA, con respecto al testigo y una prueba de TUKEY ($p < 0.05$) en relación a la mortalidad.

Prueba de patogenicidad *in situ*

Como resultado de la inoculación de HE sobre las garrapatas, estas se desprendieron del animal provocando así que la densidad de población bajara (unidad de garrapata/animal) en los tratamientos. En el tratamiento MIE1 la dinámica de población pasó de 115 a 55 U/animal, en el tratamiento BIE2 la población descendió de 250 a 90 U/animal y en el tratamiento BIE4 de 165 a 80 U/animal respectivamente (Figura 9). Provocado por un efecto antagónico en las poblaciones de garrapatas por animal.

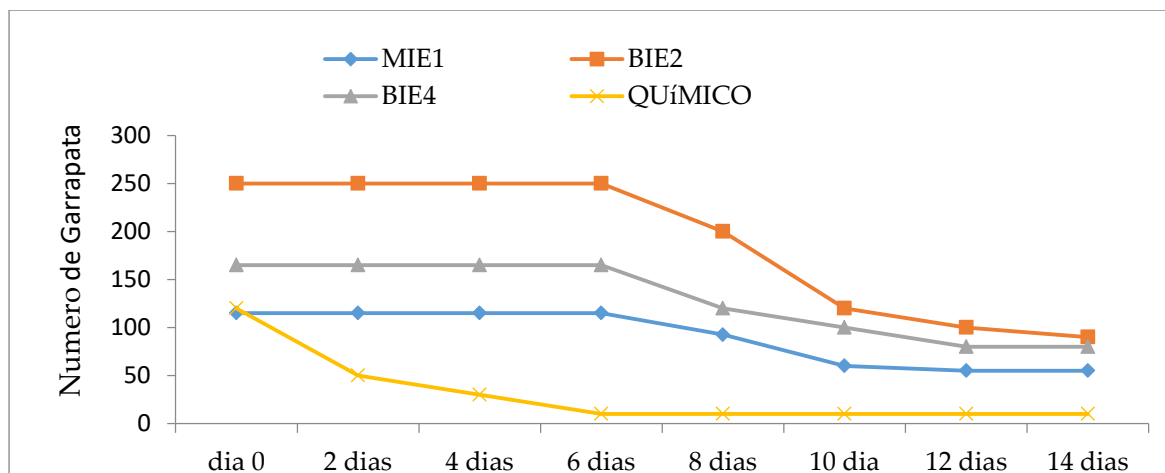


Figura 9. Dinámica poblacional de *Rhipicephalus microplus* con los diferentes tratamientos.

Durante las pruebas *in vitro* con la cepa MIE1 (*Metarhizium anisopliae*), a pesar de no observarse mortalidad (Figura 8), se aplicó en campo y se observó que las garrapatas comenzaron a desprenderse de los animales a partir de los 7 días post-aplicación, alcanzado un 52 % de desprendimiento total al final de los 14 días de evaluación. Estos resultados positivos coinciden con los reportado por Yari *et al* (2021), quien evaluó hongos entomopatógenos para el control de garrapatas y destacó que los efectos positivos sobre esta plaga son inducidos por metabolitos secundarios. Por su parte Ángel *et al.* (2010) reportaron en Colima que *M. anisopliae* sobre *R. microplus* logró una reducción del 67.8 % y 94.2 % de reducción de larvas a los 14 días post-aplicación.

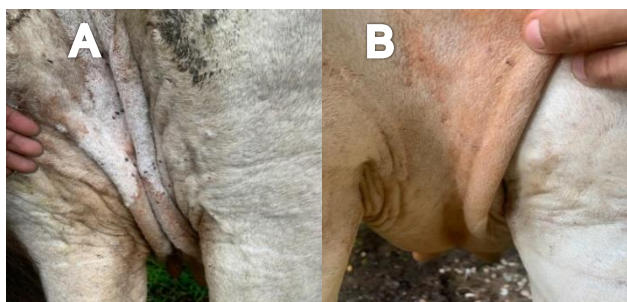


Figura 10. A. Bovino antes de la aplicación HE. Bovino 14 días después de la aplicación, las garrapatas se desprendieron del animal

En el tratamiento con la cepa BIE2 (*Beauveria bassiana*), se observó que las garrapatas comenzaron a desprenderse de los bovinos a partir del séptimo día tras la aplicación. Al finalizar el periodo de evaluación de 14 días, se alcanzó un 64 % de desprendimiento total. El desprendimiento de los ectoparásitos de los animales es una respuesta antagónica provocada por los hongos entomopatógenos, como lo reporta Yari *et al*

(2021). Además, Pérez (2007) indicó que *B. bassiana* disminuyó el número de garrapatas en los animales en pastoreo en un tiempo promedio de 8 días.



Figura 11. A) Bovino antes de la aplicación de entomopatógeno. B) bovino 8 días después de la aplicación, las garrapatas se desprendieron del animal. C) Bovino 14 días después de la aplicación oreja presenta nula infestación y sana.

DISCUSIÓN

Las tres cepas de *Beauveria bassiana* (BIE2, BIE3 y BIB4) fueron aisladas de insectos del orden Coleoptera de la familia Curculionidae y la cepa de *Metarhizium anisopliae* (MIE1) fue aislada de insectos del orden Dermaptera de la familia Labiduridae. En esta búsqueda de hongos entomopatógenos, se encontraron más cepas del orden Coleóptera, esto concuerda con lo reportado por Pedrini *et al.* (2007) quien menciona que la composición y estructura química de los lípidos cuticulares de Coleópteros han sido caracterizadas detalladamente, predominando compuesto de cadena muy larga como, hidrocarburos, alcoholes grasos, ceras, glicéridos, y ácidos grasos libres; que pueden ser degradados por hongos entomopatógenos permitiendo su penetración en el insecto. La cepa MIE1 (*Metarhizium anisopliae*) coinciden con lo reportado por Samson (1980) al presentar producción de conidias de color verde, y de color blancas para el caso de las cepas BIE2, BIE3 e BIE4 y la colonización de la epidermis del ectoparasito por el micelio de los hongos, ocurrió en el cuarto día de producción de conidias, que coincide con lo reportado por Alves (1986). Estas descripciones de cepas nativas de la región Frailesca del estado de Chiapas, son de gran importancia como estrategia en el uso de agentes de control biológico para regular poblaciones de diversos órdenes de insectos plagas (Allende 2007).

Los porcentajes de mortalidad en *Rhipicephalus microplus* fueron del 54% por las cepas BIE2 de *B. bassiana* y del 38 % para la cepa BIE4. Esta efectividad biológica que está relacionada principalmente por la temperatura y la humedad relativa durante el proceso de infección. Estos resultados son superiores a lo reportado por Quiroz *et al.* (1994)

logrando porcentajes de mortalidad no mayores del 30%. Sin embargo, se ha reportado que se considera resultados satisfactorios cuando la esporulación y mortalidad es del 20% del total de artrópodos inoculados.

Las dinámicas poblacionales de garrapatas tratadas con hongos entomopatógenos aplicados en campo, tuvieron un efecto positivo, debido que se detectó desprendimientos de las garrapatas de los animal y la reducción de las poblaciones en un período de 14 días. Los semovientes tratados con *M. anisopliae* MIE1 presentaron un desprendimiento del 52 % de las garrapatas, mientras que los tratados con *B. bassiana* para el tratamiento BIE2 y BIE4 presentaron un 64% y 51% de desprendimiento respectivamente, en comparación al testigo (tratamiento químico) del 91% de mortalidad en 48 horas. Los HE tienen un efecto positivo para el control de esta plaga pecuaria pues provocan el desprendimiento de los ectoparásitos, actuando como un bioinsecticida natural, tal como lo reporta Mejía (2014), donde se evaluó extractos de *Lonchocarpus nicou* para el control de garrapatas produciendo desprendimientos de la misma en el ganado bovino.

Los hongos entomopatógenos tienen un efecto positivo para el control de esta plaga pecuaria, ya que provoca el desprendimiento de los ectoparásitos, actuando como un bioinsecticida natural. Mejía (2014) reportó resultados similares al evaluar extractos de *Lonchocarpus nicou* para el control de garrapatas, produciendo un desprendimiento significativo en el ganado bovino.

CONCLUSIONES

Este estudio proporciona evidencias sólidas sobre la eficacia de las cepas nativas de *Beauveria bassiana* (BIE2, BIE3 y BIE4) y *Metarhizium anisopliae* (MIE1) en el control biológico de *Rhipicephalus microplus*. Los resultados muestran que estas cepas no solo alcanzaron tasas de mortalidad superiores al 50 %, sino que también demostraron un impacto positivo en la dinámica poblacional de garrapatas, promoviendo el desprendimiento de estos ectoparásitos del ganado. Queda demostrado que el uso de hongos entomopatógenos representa una alternativa viable a los tratamientos químicos convencionales, con un gran potencial para mejorar la sostenibilidad en el manejo de plagas agrícolas y ganaderas. La identificación y caracterización de cepas locales son fundamentales para desarrollar estrategias de control biológico más efectivas y adaptadas a las condiciones ambientales específicas de la región, destacando la necesidad de continuar investigando el potencial de los hongos entomopatógenos como herramientas claves en el manejo integrado de plagas.

LITERATURA CITADA

- Allende GL (2007) Evaluación de ocho cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* (Metsch.) Sorokin., para el control de *Aleurothrixus floccosus* Maskell. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Facultad agrónoma.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman JD (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Alves BS (1986) Controle microbiano de insectos. Primera ed. Ed. Manole pp: 409-416, Italia.
- Alves SB (1987) Fungos entomopatógenos, En Alves S.B. (Ed). Editorial Monole. Brasil. Controle microbiano de insecto. 417 p.
- Angel CA, Lezama R, Molina J, Pescador A, Skoda SR, Cruz C, Lorenzoni AG, Galindo E, Frago H, y Foster J (2010) Virulence of mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon *Rhipicephalus: Boophilus microplus* larvae and the efficacy of conidia formulation to reduce larval tick density under field condition. *Vet. Parasitol*, 170, 278-286
- Castillo CE, Cañizalez LM, Valera R, Godoy JC, Guedez C, Olivar R, y Morillo S (2012) Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo – Venezuela. *Revista Academia*, 11 (23), 275 – 28
- Fernández-Ruvalcaba M, Berlanga Padilla AM, Cruz-Vázquez C, Hernández-Velázquez VM (2010) Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la inhibición de oviposición, eclosión y potencial reproductivo en una cepa triple resistente de garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). *Entomotropica*. 25(3):109-115
- Fernández-Salas A, Rodríguez-Vivas RI, & Alonso-Díaz MA (2012) First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 183(3-4), 338–342. doi:10.1016/j.vetpar.2011.07.028 *Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 6(2), 77-90. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.187>
- Hernández TA, Drouaillet B, Rodríguez-Herrera R, Giron J, Patiño-Arellano S, & Osorio-Hernández E (2019) Importancia del control biológico de plagas en maíz (*zea mays* l.). *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 10(4), 803-813. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i4.1665>
- Hidalgo D y Tello C (2022) Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulado. Manual N°128. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santo Domingo. La concordia, Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador. 35 p.
- Labastida Ochoa F, Arrollo MR, & Gurría TF (1997) Memoria del II curso-taller de producción masiva de agentes de control microbiano (92 páginas). Tecmán, Colima: Centro Nacional de Referencias de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Participantes: CINVESTAV-Irapuato, Universidad de Colima, Centro de Ciencias de Sinaloa.

- Mejía AY (2014) Control *In vitro* e *In situ* de garrapata (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) utilizando la raíz pulverizada del barbasco (*KLonchocarpus nicou* (Aublet) DC.). Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana. Folia Amazónica. Vol 23(1). 1-6 pp
- Pedrini N, Crespo R, and Juárez MP (2007) Biochemistry of Insect Epicuticle Degradation by Entomopathogenic Fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 146C(1-2):124-137.
- Pérez LJM (2007) Efecto de diferentes medios biológicos en el control de las garrapatas de bovinos. Tesis de Maestría. Ministerio de Educación Superior Estación Experimental de Pastos y Forrajes. Cuba. 60p. Available from: <https://biblioteca.ihatuey.cu/link/tesis/tesism/juanmaperez.pdf>
- Quiroz I (1994) Disponibilidad de aislado patogénico de hongos entomopatógenos para el manejo de plagas insectiles de importancia en la región. Editado por CATIE-INTA/MIP. (NORAD-ASDI). Informe final del proyecto hongo entomopatógeno Centro Nacional de Diagnostico Fitosanitario, MAG. 1991-1994 Managua Nicaragua.
- Raeder U, Broda P (1985) Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letter in Applied Microbiology* 1: 17-20. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>
- Rodríguez-Vivas RI, Ojeda-Chi MM, Pérez-Cogollo LC, Rosado-Aguilar JA (2011) Epidemiología y control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México. Capítulo 33. En: *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos*. Editores: Quiroz RH, Figueroa CJA, López AME. AMPAVE. pp: 477-504
- Rombach MC and Roberts DW (1989) *Hirsutella* species (Deuteromycotina; Hiphthomycetes) on Philippine insects. *Philipp. Ent.* 7(5) 491 – 518.
- Samson RA (1980) Identification: Entomopathogenic deuteromycetes. En: Burges, H. D *Microbial control of pest and plant diseases 1970 – 1980*.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP)- (10 de enero 2020). Cierre de la población agrícola por estado. Recuperado de <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-producción-agricola-por-estado/>
- White TJ, Bruns T, S Lee and J, Taylor (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky y T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322). Academic Press, New York. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Yari Briones DI, Paredes-Valderrama JR, Milla-Pino ME, Murga-Valderrama NL (2021). Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatoxis en ganado bovino. *Rev. Inv. Vet. Perú* 32(5): e19586. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v32i5.19586>

Constancia de congreso



La Sociedad Mexicana de Control Biológico A. C.

Otorga la siguiente

Constancia

A: **Isaac Espinosa Velázquez**

Por su asistencia al XLV Congreso Nacional de Control Biológico, 26 y 27 octubre de 2023 en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México.



Mariza Araceli Sarmiento Cordero
Coordinadora del Congreso y
Carteles



Miguel Angel Ayala Zermeño
Coordinador del Congreso y
Carteles



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
Y ARTES DE CHIAPAS
FACULTAD DE INGENIERÍA**

otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a

**Ing. Isaac Espinosa Velázquez
Dr. Vidal Hernández García
Dr. Miguel Ángel Salas Marina
Dr. Claudio Río Velazco**

Por su participación como expositor en el concurso de carteles con el tema
“Caracterización morfológica de hongos entomopatógenos de la región
fraillesca, Chiapas” en la XII Semana de Ingeniería “La transversalidad de la
Ingeniería en México”, celebrado los días 11, 12 y 13 de Octubre de 2023.

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 13 de octubre de 2023

ATENTAMENTE

“Por la Cultura de mi Raza”


Ing. Mónica Catalina Cisneros Ramos

Directora



Estancia académica



UAT
Universidad Autónoma
de Tamaulipas



Unidad Académica Multidisciplinaria
Mante


Cd. Mante, Tamaulipas a 10 de enero de 2023.
Número de Oficio: 021-SA/2023
ASUNTO: Aceptación de estancia académica

Dr. Vidal Hernández García
Profesor-Investigador de la Universidad
De Ciencias y Artes de Chiapas

Por este medio envió un cordial saludo, así mismos sirva el presente para manifestar el interés en recibir al estudiante **Isaac Espinosa Velázquez** con matrícula 63122003, alumno del segundo semestre de la Maestría en Ciencias en agroforestales de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas para que realice una Estancia Académica en la Unidad Académica Multidisciplinaria Mante de la Universidad Autónoma de Tamaulipas. La estancia estará a cargo de la **Dra. Reyna Ivonne Torres Acosta** Profesor-Investigador y se realizará en el laboratorio de Biotecnología donde el estudiante trabajará en la línea de investigación de Control Biológico, específicamente con la reproducción de hongos entomopatógenos. Y el control de calidad de cepas de hongos entomopatógenos. Lo anterior servirá para corroborar y afinar las técnicas de purificación de cepas, técnicas básicas de manejo en laboratorio, conservación y producción masiva de hongos entomopatógenos y completar algunos objetivos de su proyecto de investigación titulado: EFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE *Rhipicephalus microplus* (ACARI: Ixodidae).

Me despidió cordialmente agradeciendo este lazo de colaboración académica entre ambas instituciones.

Atentamente
"VERDAD, BELLEZA, PROBIDAD"


M.C. Daniel López Piña
Srio. Académico



c.c.p. Archivo

UNIDAD ACADÉMICA MULTIDISCIPLINARIA
MANTE (831) 233-8100
Bldv. Enrique Cárdenas González (834) 318-1800, ext. 5000
No. 1201 Pte. www.uat.edu.mx
Ciudad Mante C.P. 89810.

Constancia de retribución social



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES,
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Maestría en
Ciencias
Agroforestales

Constancia de actividades de retribución social

Ciudad de México, a septiembre de 2023

A QUIEN CORRESPONDA

Presente.-

En cumplimiento a lo establecido en el **Artículo 19, Capítulo VII. De la Conclusión de la Beca o Apoyo**, del **Reglamento de Becas del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías** y en el marco de la Convocatoria **BECAS CONAHCYT NACIONALES 2022**, hago constar que **el (la) C. Isaac Espinosa Velázquez** con número de **CVU 1181499 beneficiado (a)** con una beca para obtener el grado de **maestro** en el programa **Maestría en Ciencias Agroforestales**, que se imparte en **Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas**, realizó las actividades de retribución social durante el periodo de vigencia de la beca, tiempo en el que fue **alumno (a)** regular de esta Institución.

Asimismo, hago constar que, conforme a lo establecido en la Ley General de Archivos, la coordinación del posgrado organiza y conserva la evidencia documental de dichas actividades en caso de que el CONAHCYT o cualquier otra instancia la requiera.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

DR. MIGUEL ANGEL SALAS MARINA

Coordinador de la Maestría en Ciencias Agroforestales





CONAHCYT

CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Maestría en
Ciencias
Agroforestales

Constancia de actividades de retribución social

Actividad 1. Curso- Taller titulado: "Ganadería sustentable y cambio climático"

Descripción de la actividad: Capacitación y orientación en la conferencia "Técnica de adaptación y cambio climático" donde se destacó la importancia de un buen manejo de componentes en la ganadería. Así mismo se realizó una actividad en campo en la parcela de dicha institución sobre la caracterización y estrategias en sistemas ganaderos

Fecha de inicio: 19 de septiembre de 2023

Fecha de término: 22 de septiembre de 2023

Institución en la que se realizó la actividad: Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario N°42 "Matilde P. Montoya Lafragua" de la ciudad de Villa Corzo, Chiapas.

Nombre del responsable de supervisar la actividad: M.V.Z. Gamaliel Antonio Grajales

Datos de contacto del responsable de la actividad: Numero de celular: 9651054555

Descripción del impacto social de la actividad: Contribuir en la formación de los alumnos de nivel medio superior con temas y conceptos sobre la producción ganadera y el impacto del cambio climático, así mismo puedan adquirir conocimientos para el crecimiento personal y contribuyan de forma positiva en su comunidad.

Isaac Espinosa Velázquez

CVU 1181499



CONAHCYT

CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



Maestría en
Ciencias
Agroforestales

Dr. Vidal Hernández García

responsable de supervisar la actividad
de retribución social en el programa
de posgrado

(Director)

UNICA
FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROFORESTALES
BARRIO VILLACORAZ

Vo. Bo.

Dr. Miguel Ángel Salas Marina

Coordinador de la Maestría en
Ciencias Agroforestales

Dr. Miguel Ángel Salas Marina

responsable de supervisar la actividad
de retribución social en el programa
de posgrado

(Co-director interno / externo)

Dr. Luis Alfredo Rodríguez Larramendi

responsable de supervisar la actividad
de retribución social en el programa de
posgrado

(Co-director interno / externo)



**EL CENTRO DE BACHILLERATO TECNOLÓGICO
AGROPECUARIO No. 42
"MATILDE P. MONTOYA LAFRAGUA"**

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

Ing. Isaac Espinosa Velazquez

Por haber impartido el curso – taller denominado "Ganadería sustentable y cambio climático" que se impartieron a los grupos de IV semestre de Técnicos en Sistema de Producción Pecuaria tutorados por el MVZ. Gamaliel Antonio Grajales, durante los días del 19 al 22 de septiembre del presente año, en las instalaciones y área de producción del plantel.

**Villacorzo, Chiapas
Septiembre, 2023**



Dr. Homeo Arroyo Espinosa
Director del CBTA No. 42
SEP

DISCUSIONES GENERALES

Objetivo 1: Aislar e identificar especies de hongos entomopatógenos de la región frailesca

Se aislaron y analizaron tres cepas de *Beauveria bassiana* (**BIE2, BIE3 y BIB4**) aislados a partir de insectos del orden Coleoptera pertenecientes a la familia *Curculionidae*, así como una cepa de *Metarhizium anisopliae* obtenida de insectos del orden *Dermaptera*, de la familia *Labiduridae*. Se observó que la mayoría de las cepas aisladas provenían de insectos del orden Coleoptera, como reporta Pedrini *et al.* (2007) dicho estudio describe la estructura y composición química de los lípidos cuticulares de los coleópteros, que incluye hidrocarburos, alcoholes grasos, ceras, glicéridos y ácidos grasos libres, presentan largas cadenas que pueden ser degradadas por hongos entomopatógenos, permitiéndoles penetrar en el insecto hospedador.

La presencia de estos hongos entomopatógenos en coleópteros es consistente con estudios previos, donde se menciona que *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* tienen potencial para infectar y controlar poblaciones de insectos plaga. En particular, la cepa **MIE1** *Metarhizium anisopliae* concuerda con las características descritas por Samson (1980), y las cepas **BIE2, BIE3 y BIE4** de *Beauveria bassiana* son coherentes con las observaciones de Alves (1986).

La caracterización de estas cepas nativas en la región de la Frailesca, en el estado de Chiapas, representa una herramienta valiosa para desarrollar estrategias de control biológico. Estos hongos pueden regular las poblaciones de plagas de distintos órdenes de insectos, promoviendo prácticas de manejo integrado de plagas en cultivos o sistemas pecuarios de esta región (Allende, 2007).

Objetivo 2, Evaluar la efectividad biológica in vitro de los hongos entomopatógenos sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus* (*Acari: Ixodidae*)

Se evaluaron los efectos de dos cepas de *Beauveria bassiana* (**BIE2 y BIE4**) sobre la mortalidad de *Rhipicephalus microplus*. Los resultados mostraron que la cepa **BIE2** alcanzó un 54% de mortalidad, mientras que la cepa **BIE4** logró un 38%. Estos niveles de mortalidad sugieren una efectividad biológica que se encuentra por encima de lo reportado en estudios previos, como el de Quiroz *et al.* (1994), donde los porcentajes de mortalidad no superaban el 30% a un que Leucona (1995) establece que una esporulación y mortalidad del 20% ya se consideran resultados satisfactorios en términos de control biológico.

Por lo tanto, los porcentajes de mortalidad alcanzados en este estudio, superiores al umbral establecido por Leucona, sugieren que las cepas **BIE2 y BIE4** de *B. bassiana* poseen un potencial significativo para el manejo biológico de *R. microplus*. Esto proporciona una base alentadora para el uso de hongos entomopatógenos como agentes de control biológico en la lucha contra este ácaro, lo cual podría reducir la dependencia de métodos químicos en el control de plagas, beneficiando tanto la sostenibilidad ambiental como la salud animal.

Objetivo 3 Determinar la efectividad biológica in vivo del hongo entomopatógeno más efectivo ejercida sobre las garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)

El estudio sobre las dinámicas poblacionales de garrapatas en tratamientos con hongos entomopatógenos (HE) en campo reveló resultados alentadores para el manejo biológico de esta plaga en animales de producción. Se observó un efecto positivo, evidenciado por el desprendimiento de garrapatas de los animales tratados y la reducción de sus poblaciones en un periodo de 14 días. Entre los hongos evaluados, *Metarhizium anisopliae* (cepa MIE1) logró un desprendimiento del 52% de las garrapatas, mientras que las cepas BIE2 y BIE4 de *Beauveria bassiana* alcanzaron un 64% y 51% de desprendimiento, respectivamente. Estos resultados coinciden con Yari (2010) y Pérez (2007) donde *R. microplus* tuvieron un proceso de ecdisis y desprendimiento al ser controlados por *B. Bassiana*. El tratamiento químico de referencia mostró una mortalidad del 91% en solo 48 horas, los HE destacaron por su efecto sostenido y menos invasivo. El uso de HE como agentes de control biológico para las garrapatas representa una alternativa natural y sostenible en comparación con los tratamientos químicos convencionales. Como lo señala Mejía (2014), el empleo de extractos naturales (por ejemplo, de *Lonchocarpus nicou*) también ha demostrado eficacia en el desprendimiento de garrapatas, lo cual sugiere que los HE actúan de manera similar, alterando el apego de los ectoparásitos en el hospedador. Estos hongos no solo tienen un efecto letal directo sobre las garrapatas, sino que inducen comportamientos de desprendimiento, lo cual contribuye a una reducción significativa en la infestación.

Objetivo 4. Establecer un protocolo de producción masiva de hongos entomopatógenos

La producción masiva de hongos entomopatógenos en medio sólido de arroz, se presenta como una técnica viable y eficaz para la producción masiva de agentes infecciosos para el control biológico de insectos plagas. La exigencia de altos estándares de calidad en el proceso, incluyendo la inocuidad de los materiales y de los equipos, así como el control riguroso de las temperaturas fundamental para garantizar el éxito de este método (Labastida *et al* 1997).

Este protocolo de producción masiva, es una opción práctica y segura, que ofrece beneficios económicos y rentables para los investigadores, docentes, alumnos e incluso productores que la implementen.

CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados de este estudio confirman la efectividad de los HE *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como agentes de control biológico contra garrapatas, particularmente en la región frailesca del estado de Chiapas. Las cepas nativas como BIE2, BIE3, BIE4 y MIE1, demostraron una capacidad significativa para reducir las poblaciones plagas del orden *Rhipicephalus microplus*. Los porcentajes de mortalidad observados fueron superiores a estudios previos, estos sugieren que la aplicación de estos hongos, bajo condiciones ambientales adecuadas de temperatura y humedad, pueden ofrecer una alternativa eficaz y sostenible frente a los tratamientos químicos convencionales. Esto resalta el potencial de los hongos entomopatógenos como una herramienta biológica para el manejo integrado de plagas, proporcionando beneficios a lo largo para la agricultura y ganadería, así como una reducción del uso de productos químicos perjudiciales para el medio ambiente y la salud.

ANEXOS



Figura 1 *Dermaptera* micosado por *M. anisopliae*



Figura 2 coleóptero micosado por *B. bassiana*

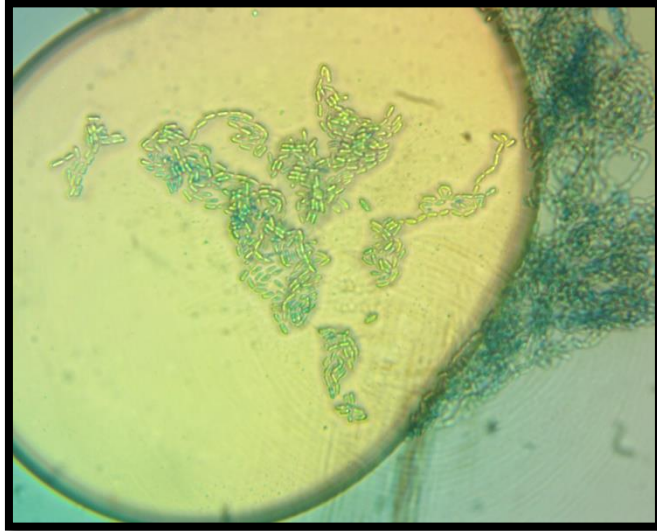


Figura 3.- Macroconidios de *Metarhizium anisopliae* aislado de *Dermaptera* (40x)

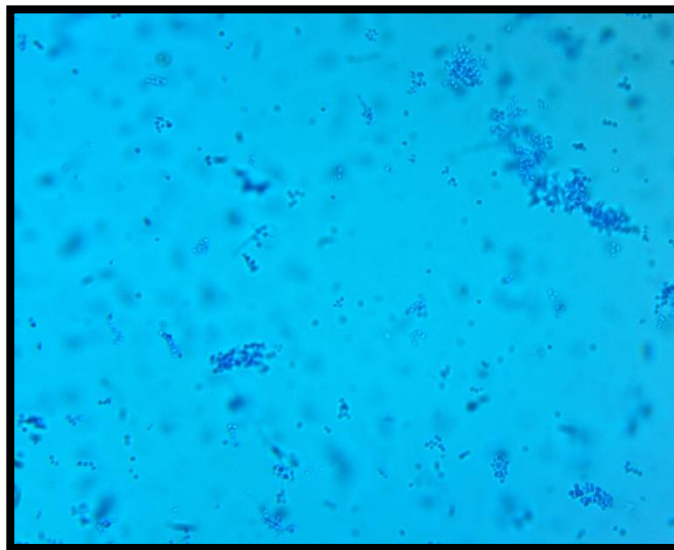


Figura 4.- Macroconidios de *Beauveria bassiana* aislado de *Coleoptera: inogeraeus sp* (40x)

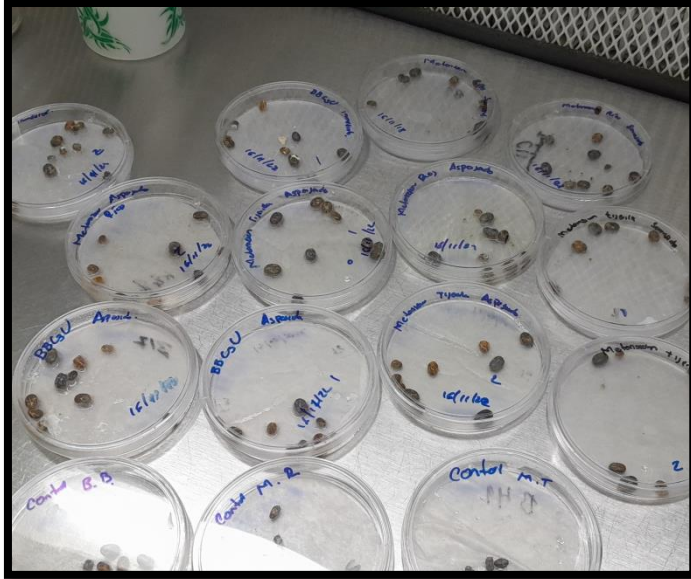


Figura 5. Prueba de patogenicidad *R. microplus* vs *B. bassiana*



Figura 6.- *R. microplus* micosado pro *B. bassiana* (Tratamiento BIE2)



Figura 7 producción masiva de *B. bassiana* en medio solido de arroz



Figura 8. Bovino infestado por *R. Microplus* antes de aplicar tratamiento con HE

BIBLIOGRAFÍA

- Alcázar, M.D., J. E. Belda., P. Barranco & T. Cabello. 2000. Lucha integrada en cultivos hortícolas bajo plástico en Almería. *Vida Rural* 118: 51-55.
- Alonso-Díaz, M.A.; García, L.; Galindo-Velasco, E.; Lezama-Gutiérrez, R.; Ángel-Sahagún, C.A.; Rodríguez-Vivas, R.I. y Fragoso-Sánchez, H. (2007). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Vet Parasitol.* 147(3-4):336–40
- Alonso-Díaz, M.A.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Fragoso-Sánchez, H. y Rosario-Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch Med Vet.* 38(2):105–13
- Álvarez C. (2007). Adultos y ninfas de la garrapata *Amblyoma Cajennense* Fabricus (Acari Ixodidae) En Equinos y Bovinos. *Revista Agronomía Costarricense*, 31(1): 61-69.
- Alves S.B. 1986 Control Microbiano de insectos Editore Manole LTDA, Sao Paulo Brasil.125 p.
- Alves, S.B. 1987. Fungos Entomopatógenos, p.p. 73-126. En: Alves S.B. (Ed). Editorial Manole. Brasil. Controle Microbiano de insecto. 417 p.
- Badii, M. H. 2006. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. *International Journal of Good Conscience*, (ISSN 1870-557X.), p 82-89,
- Badii, M. H. y Abreu, J.L.. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. *International Journal of Good Conscience* 1(1), 82-89. Marzo – Septiembre 2006. Issn 1870-557X.
- Bermeo, Domenica. (2022). “Determinación de la actividad entomopatógena del hongo *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. Sobre el gusano blanco de la papa (*Premonotrypes vorax* H.)”. Ecuador: Universidad politécnica Salesiana sede cuenca.
- CABI. 2022. *Beauveria bassiana* (*White muscardine fungus*). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/8785#todistributionDatabaseTable>
- Calzada J. E., Rocatti M., Galena P., Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, pesca y Alimentacion, INEHRM, Ciudad de Mexico: secretaria de cultura, 2017, ISB: 978 607 9276, 57,7., Biblioteca constitucional.pag 555
- Carruthers, R, I, y Hural, K. 1990. Fungi as naturally occurring entomopathogens. En: *New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Diseases*, pp. 115-138.

- Castro KN, Canuto K, Brito E, Costa Júnior L, Andrade I, Magalhães J, Barros DM, et al. 2018. In vitro efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol* V 27: 203-210. doi: 10.1590/s1984-296120180015
- DeBach, Paul. 1964. Biological control of Insect pests and weeds, p 728. Compañía editorial continental, S. A., México, 1978. 949 p.
- Delgadillo, Manuel. 2007. Evaluación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para la regulación de la poblaciones de garrapatas (*Boophilus microplus*) del ganado bovino de la hacienda la Esperanza municipio Mina del Limón del departamento de León en el periodo de abril de 2006 a agosto 2007. Nicaragua: Universidad Autónoma de Nicaragua
- Espinel, C., Torres, L., Villamizar, L., Bustillo, A., Zuluaga. M., y Cotes, A. (2018). Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros. Capítulo 6. Hongos entomopatógenos para el control biológico de insectos plaga. Mosquera – Colombia.
- Espinosa, J.A.G., Góngora, S.F.G., García, A.M., Cervantes, F.E., Moctezuma, G.L., Mancilla, M.E.R., Rangel, J.Q., Cuevas, V.R., Dávalos, J.L.F., Villegas, A. De Gante, Velázquez, L.F. 2015. Aspectos socioeconómicos de la ganadería bovina tropical. In Estado del arte sobre investigación e innovación tecnológica en ganadería bovina tropical. Red de Investigación e Innovación tecnológica para la ganadería bovina tropical (REDGATRO). Méxic
- Fernandes EKK, Bitencourt VREP, Roberts DW (2012) Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of tick. *Experimental Parasitology* 130: 300-305.
- Furman, D.P., Loomis, E.C. (1984). The Ticks of California (Acari: Ixodida). University of California Publications, Bulletin of the California Insect Survey, Vol. 25. University of California Press, California, pp. 1-35
- Garza, G. E. 1997. Combate bilógico de mosca blanca de los cítricos, *Dialeurodes citrifolii* por el hongo entomopatógeno *Aschersonia aleyrodes* en el Estado de Colima. V Reunion Ncional de Control Biológico.
- George, J.E. (2000). Present and future technologies for tick control. *Annals of the N. Y. Academy of Sciences*, 916:583-588

- Godoy, J., Valera, R, C. Guédez, L. Cañizalez, C. Castillo, 2007. Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria Bassiana*. Revista de la Facultad de Agronomía, 24(3), 415 – 425.
- Guevara, F., L. A. Rodríguez, J. Ovando, H. Gómez, M. D. J. Ocaña, y T. C Camacho, 2013. Implicaciones socioeconómicas y energéticas del uso y manejo de rastrojo en la región Frailesca, Chiapas. En L. Reyes, T. C. Camacho y F. Guevara (Primera edición), Rastrojos: manejo, uso y mercado en el centro y sur de México (pp. 37–91). Aguascalientes: Editorial INIFAP.
- Gutiérrez J.P., Cañón J., Goyache F. (1997). Estimation of direct and maternal genetic parameters for preweaning traits in the Asturiana de los Valles beef cattle breed through animals and sire models. Journal of Animal Breeding and Genetics 114, 261-266.
- Gutiérrez, M., Castañeda, S., Torres, E. 1995. Escalamiento de procesos con fermentación sólida, notas para: Curso Avanzado sobre Procesos Biotecnológicos. Instituto de Biotecnología UNAM. Cuernavaca, Mor. pp29-36.
- Hidalgo, D., y Tello, C. 2022. Manuel para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulado. Manual N°128. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santo Domingo. La concordia, Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador. 35 p.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2023). Ciudad Victoria, Tamaulipas. (Mapa). <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=28041#collapse-Resumen>
- Kaaya, G., S. Asan, 2000. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. Experimental and Applied Acarology 24 (12): 913-926.
- Kocan, J., and K. M. (2006). Strategies for development of vaccines for control of ixodid tick species. Parasite Immunol. 28, 275–283
- Leger, R. J., P. K. Durrands, A. K Charnley, R. M. Cooper, 1988. Role of extracellular chemoelastasa in the virulence of *Metarhizium anisopliae* for *Manduca sexta*. Journal of Invertebrate Pathology 52: 285-293.
- Lezama, G., Molina J. Y Rebolledo, D., “Evaluación de hongos entomopatógenos para el control de insectos plagas de importancia agrícolas”, en memoria del XX Congreso Nacional de Control bilógico, 1997, pp220-226.

- Liang Z Han Y Liu A Huang J . 2005. Algunos hongos entomogénicos de las reservas naturales de Wuyishan y Zhangjiajie. Tres nuevas especies del género *Hirsutella*. *Mycotaxon*94: 349–355. Seifert KA Boulay H . 2004. *Hirsutella uncinata*, un nuevo hipómico de Australia. *Mycologia*96: 929–934.
- Martínez García C.G., Dorward P., Thair R. (2012). Farm and socioeconomic characteristics of small-holder milk producers and their influence on the technology adoption in Central México. *Tropical Animal Health and production*, (publicación en línea); doi: 10. 1007/s11250-011-0058-0.
- Miller, R. J., Li, A. Y., Davey, R. B., George, J.E. “2006”. The use for the determination of the mechanisms of acaricide resistance in the southern cattle tick, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) Simposium Internacional de Resistencia a pesticidas en Artropodos: un enfoque toxicológico y molecular, Manzanillo, Colima, Mexico. Mayo 2006. Pp 29-35
- Nahed, J., D. Grande, D., J.R. Aguilar, J.R., Sánchez. B. 2016. Possibilities for converting conventional cattle production to the organic model in the Grijalva River Basin, Mexico. *Cogent Food & Agriculture*, 2: 1153767. <http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2016.1153767>
- Ojeda-Chi MM, Rodríguez-Vivas RI, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R, Cruz-Vázquez R (2011) Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2 (2): 177-192
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1991. Directrices para reforzar los servicios de sanidad animal en los países en desarrollo. Roma: FAO. Serie de Informes Técnicos. [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/U2200S/U2200S00.htm>
- Ortiz- Urquiza, A. 2021. The Split Personality of *Beauveria bassiana*: Understanding the Molecular basis of Fungal Parasitism and mutualism. *Msystems*, 6(4).
- Rivas L. y F. Holmann. 2002. Sistemas de doble propósito y su viabilidad en el contexto de los pequeños y medianos productores en América latina tropical. In: Curso y Simposium Internacional. Actualización en el manejo de ganado bovino de doble propósito. UNAM. Martínez de la Torre, Veracruz. México. pp. 13-53

- Rodríguez, A. 2010. Aspectos a Considerar sobre el Control Biológico. Proyecto Demostrativo con Implementación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en el Cultivo de Banano. Artículo técnico. <https://www.agrotransfer.org/index.php/articulo-tecnico/771-proyecto-demostrativo-con-implementacion-de-buenas-practicas-agricolas-bpa-en-el-cultivo-del-banano>
- Rodríguez-Vivas R., Quiñones A., Fragoso S. (2005). Epidemiología y control de la garrapata *Boophilus* en México. En: Rodríguez-Vivas R. (ed.). Enfermedades de importancia económica en producción animal. México D.F. McGraw-Hill-UADY. pp. 571-592.
- Rodríguez-Vivas R.I, Mata M.Y, Pérez G.E, Wagner G. (2004). The effect of management factors on the seroprevalence of *Anaplasma marginale* in *Bos indicus* cattle in the Mexican tropics. *Trop Anim Health Prod*; 36(2): 135-143
- Rodríguez-Vivas RI, Ojeda-Chi MM, Pérez-Cogollo LC, Rosado-Aguilar JA (2011) Epidemiología y control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en México. Capítulo 33. En: Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Editores: Quiroz RH, Figueroa CJA, López AME. AMPAVE. pp: 477-504
- Rodríguez-Vivas RI, Rodríguez-Arevalo F, Alonso-Díaz MA, Fragoso-Sánchez H, Santamaría VM, RosarioCruz R (2006b) Amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms from the state of Yucatan, Mexico: Potential risk factors. *Preventive Veterinary Medicine* 75: 280-286.
- Rodríguez-Vivas, roger. (2014). CONTROL INTEGRADO DE GARRAPATAS EN LA GANADERÍA BOVINA. *Ecosistemas y Recursos Pecuarios*, (3), 295-308,
- Rombach, M.C. and D.W. Roberts. 1989. *Hirsutella* especies (Deuteromycotina; Hiphomycetes) on Philippine insects. *Ent.* 7(5) 491-518.
- Rosas J. Hongo entomopatógeno. Curso internacional de patología, Ciudad Victoria, Tamaulipas, 2000
- Seifert KA Boulay H . 2004. *Hirsutella uncinata*, un nuevo hipómico de Australia. *Mycologia*96: 929–934
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., De haan., C. 2006. *Livestock's Long Shadow. Environmental Issues and Options.* Initiative for Livestock, Environment, and Development. United Nations Food and Agriculture Organization. Rome, Italy.
- Tanada, Y and, K.H. Kaya. 1993. *Insect pathology.* Academic press Inc. p. 407-411.

- Tanada, Y., and Kaya., H. K. 1993. In “Insect Pathology”, Academic Press, INC. San Diego, California. 666 p.
- Tulloch, M. The genus *Metarhizium*. *Micología y Fitopatología* 66 (3): 407-411. 1978
- Veen, K. H. Recherches sur la maladie due à chez le criquet pèlerin. Wageningen, H. Veenman & Zohen, N.V., 1968. 78p. (Mededelingen Landbouwhogesschool 68-5) (Veen, 1968) 68-5) (Veen, 1968).
- Vinturelle R, Mattos C, Meloni J, Nogueira J, Nunes MJ, Vaz IS Jr, Rocha L, et al. In vitro evaluation of essential oils derived from *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Citrus limonum* (Rutaceae) against the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Biochem Res Int* 2017: 5342947. doi: 10.1155/2017/5342947
- Zimmermann, G. 1986. The “Galleria” bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of Applied Entomology*, 102: 213-215.