



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CAMPECHE

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN AGRÍCULTURA TROPICAL

SUSCEPTIBILIDAD DE *Menopon sp.* (PHTHIRAPTERA: MENOPONIDAE) A
LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *Metarrizium anisopliae* Y *Beauveria
bassiana* EN GALLINAS DE CORRAL EN EL ESTADO DE CAMPECHE.

ALEJANDRO DAVID CASTILLO SOLÍS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

SIHOCHAC, CHAMPOTÓN, CAMPECHE 2017

ESTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN FUE FINANCIADO POR EL COLEGIO DE POSGRADUADOS CAMPUS CAMPECHE, A TRAVÉS DEL APOYO A ACTIVIDADES ACADÉMICAS, POR LO QUE DOY MI AGRADECIMIENTO.

LA PRESENTE TESIS TITULADA: **“SUSCEPTIBILIDAD DE *Menopon* sp. (PHTHIRAPTERA: MENOPONIDAE) A LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *Metarrizium anisopliae* Y *Beauveria bassiana* EN GALLINAS DE CORRAL EN EL ESTADO DE CAMPECHE”** REALIZADA POR EL ALUMNO: ALEJANDRO DAVID CASTILLO SOLÍS BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR INDICADO, HA SIDO APROBADA POR EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

“MAESTRÍA EN CIENCIAS EN AGRICULTURA TROPICAL”

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO Y DIRECTOR: DR. JOEL LARA REYNA _____ 

ASESOR: DR. JESÚS ARREOLA ENRÍQUEZ _____ 

ASESOR: M.C FRANCISCO SÁNCHEZ REBOLLEDO _____ 

ASESOR: DR. GABRIEL OTERO COLINA _____ 

Sihochac, Champotón, Campeche, 08 de mayo de 2017.

SUSCEPTIBILIDAD DE *Menopon sp.* (PHTHIRAPTERA: MENOPONIDAE) A LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *Metarhizium anisopliae* Y *Beauveria bassiana* EN GALLINAS DE CORRAL EN EL ESTADO DE CAMPECHE.

Alejandro David Castillo Solís

Colegio Posgraduados, 2017.

RESUMEN

Los piojos masticadores o malófagos de las aves son plagas de importancia de las aves en todo México; sin embargo, no se tienen estadísticas a nivel nacional del nivel de daño económico de estos ectoparásitos. Un total de 14 cepas de hongos entomopatógenos (HE) pertenecientes a las especies *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* fueron evaluadas en laboratorio y campo para determinar su infectividad hacia los malófagos ectoparásitos *Menopon sp.*, presentes en aves de corral de las comunidades de Sihochac y Santo Domingo Kesté (Champotón, Campeche). La susceptibilidad de los malófagos a HE se evaluó mediante bioensayos gruesos, donde resultaron altamente infectivas nueve cepas de *B. bassiana* (HBb005, HBb014, HBb016, HBb018, HBb019, HBb020, HBb021, HBb022, HBb023) y cuatro de *M. anisopliae* (HMa003, HMa004, HMa005, HMa014). Todas las cepas evaluadas fueron infectivas hacia las dos especies de malófagos, por lo que se seleccionaron dos aislamientos con base en sus antecedentes de patogenicidad y virulencia mostrada en otras especies de insectos previamente evaluadas en el laboratorio. Mediante bioensayos finos se evaluaron las dos cepas (*B. bassiana* Bb005 y *M. anisopliae* Ma005) para obtener el valor individual de CL₅₀ sobre *Menopon sp.* Las CL₅₀ para las cepas evaluadas fueron de 361 y 496.8 conidios/ml para *B. bassiana* (HBb005) y *M. anisopliae* (HMa005), respectivamente.

Se elaboraron tres diferentes formulados para evaluar la efectividad en campo de las cepas HMa005 y HBb005, se utilizaron como inertes talco industrial, bentonita cálcica y diatomita, a una concentración de 1×10^6 conidios/mg. En campo con las tres formulaciones mostraron altos niveles de control, con mortalidades mayores al 90% sobre *Menopon Gallinae*.

Palabras clave: malófagos, hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*.

SUSCEPTIBILITY OF *Menopon sp.* (PHTHIRAPTERA: MENOPONIDAE) TO THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *Metarhizium anisopliae* AND *Beauveria bassiana* IN BACKYARD HEN'S'S IN THE STATE OF CAMPECHE.

Alejandro David Castillo Solis
Colegio Posgraduados, 2017.

ABSTRACT

The chewing lice or birds mallophagos are importance pests of birds in Mexico; however, no statistics are available to the level national of economic damage from these ectoparasites. A total of 14 strains of entomopathogenic fungi (HE), the species belong to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* were evaluated in laboratory and field to determine its infectivity on ectoparasites mallophagos *Menopon sp.*, Present in poultry from communities Sihochac and Santo Domingo Kesté (Champotón, Campeche). The susceptibility of mallofagos to HE was evaluated by thick bioassays, which were highly infective nine strains of *B. bassiana* (HBb005, HBb014, HBb016, HBb018, HBb019, HBb020, HBb021, HBb022, HBb023) and four of *M. anisopliae* (HMa003, HMa004, HMa005, HMa014). All strains tested were infective to the two species of Mallophaga, so two isolates were selected based on their history of pathogenicity and virulence shown in other insect species previously evaluated in the laboratory. Through fine bioassays the two strains were evaluated (*B. bassiana* Bb005 and *M. anisopliae* Ma005) to get the individual value of CL₅₀ on *Menopon sp.* The CL₅₀ for the strains tested were 361 and 496.8 conidia/ml for *B. bassiana* (HBb005) and *M. anisopliae* (HMa005), respectively.

They were prepared three different formulated to evaluate effectiveness strains in field HMa005 and HBb005, were used as inert Industrial talc, calcium bentonite and diatomite, at a concentration of 1×10^6 conidia/mg. In field with three formulations showed high levels of control, 90% higher mortalities on *Menopon Gallinae*.

Key words: mallophagos, entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*.

AGRADECIMIENTO A:

EL PESENTE TRABAJO DE TESIS ES EL RESULTADO DE UN TRABAJO EN CONJUNTO EN EL CUAL HAN INTERVENIDO INSTITUCIONES Y PERSONAS A QUIENES LES PRESENTO MI MÁS SINCERO AGRADECIMIENTO.

AGRADEZCO A COLEGIO DE POSGRADUADOS POR DARME LA OPORTUNIDAD DE ESTUDIAR Y PROVEERME DE LAS HERRAMIENTAS NECESARIAS PARA MI FORMACIÓN PROFESIONAL.

A MI DIRECTOR DE TESIS Y CONSEJERO, EL DR. JOEL LARA REYNA, POR SU ESFUERZO Y DEDICACIÓN, QUIEN, CON SUS CONOCIMIENTOS, SU EXPERIENCIA, SU PACIENCIA Y SU MOTIVACIÓN HA LOGRADO EN MÍ QUE PUEDA CONCLUIR ESTA FORMACIÓN PROFESIONAL CON ÉXITO.

Y POR SUPUESTO, EL AGRADECIMIENTO MÁS PROFUNDO Y SINCERO A MIS PADRES Y MI FAMILIA PORQUE HAN FORMADO PARTE FUNDAMENTAL EN MI VIDA PROFESIONAL, LES AGRADEZCO SU APOYO INCONDICIONAL E INFINITA CONFIANZA

CONTENIDO

CONTENIDO	Pág.
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. REVISIÓN DE LA LITERATURA	4
3.1. La producción avícola en el país y la producción en el sureste mexicano	4
3.2. Daños ocasionados por los ectoparásitos sobre las aves de corral	6
3.3. Orden Phthiraptera	6
3.4. Control químico de piojos de las aves	8
3.5. Hongos entomopatógenos en el control de plagas	9
3.5.1. Modo de acción de hongos entomopatógenos	13
3.6. Factores que determinan la efectividad de hongos los entomopatógenos	14
3.6.1. El patógeno	15
3.6.2. El hospedante	15
3.6.3 La humedad ambiental	16
3.6.4. La radiación ultravioleta	17
3.6.5. La temperatura	17
3.7. Parasitismo de hongos entomopatógenos sobre insectos y ácaros	18
3.7.1 Control de los malófagos mediante hongos entomopatógenos	19
4. OBJETIVOS	20

5. MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1. Obtención del material biológico	21
5.2. Obtención de piojos	21
5.3. Ubicación de las aves de corral para su experimentación	22
5.4. Conteo de esporas para su uso en bioensayos	23
5.5. Susceptibilidad a la infección por hongos entomopatógenos sobre malófagos adultos	24
5.5.1. Susceptibilidad de larvas y adultos de malófagos a hongos entomopatógenos	25
5.5.3. Evaluación en campo con hongos entomopatógenos en aves de corral adultas	26
5.5. 2. Formulado y pesado de productos a base de talco, bentonita cálcica, diatomita y conteo de esporas de los hongos entomopatógenos HMa005 y HBb005	27
6. RESULTADOS	29
6.1. Selección de aislamientos	29
6.2. Susceptibilidad a la infección por hongos entomopatógenos	30
6.3. Selección de aislamientos	31
6.4. Bioensayos con aislamientos más agresivos	32
6.5. Bioensayos finos evaluando dosis intermedias	33
6.6. Evaluación de formulados	36
6.7. Aplicación de formulados con base en conidios y talco industrial, bentonita y diatomita como inertes	38
7. DISCUSIÓN	40
8. CONCLUSIONES	43
9. LITERATURA CITADA	44

LISTA DE CUADROS

CUADRO	Pág.
Cuadro 1. Características generales de las principales especies menores	5
Cuadro 2. Mortalidad registrada en laboratorio mediante bioensayo grueso evaluando las cepas HBa005 y HMa005 en contra de especímenes de <i>Menopon</i> sp. traídos de campo	33
Cuadro 3. Mortalidad registrada en bioensayo fino en laboratorio evaluando las cepas referidas. El valor de “0” corresponde al control negativo	34
Cuadro 4. Cuadro comparativo de análisis probit para calcular las DL₅₀ teórica	35
Cuadro 5. Cuadro comparativo de análisis probit (repeticiones) para calcular las DL₅₀ teórica de los aislamientos HBb005 y HMa005 en contra de <i>Menopon</i> sp	36
Cuadro 6. Mortalidad registrada en malófagos que parasitan gallinas de traspatio en la comunidad de Santo Domingo Kesté, evaluando formulaciones en polvo con tres materiales inertes y dos cepas	39

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Pág.
Figura 1 Representación gráfica de dos de los géneros más comunes de malófagos encontradas en aves de corral	7
Figura 2. Lista de las 20 especies de artrópodos (<i>Top 20</i>) que presentan resistencia al mayor número insecticidas químicos (izquierda). Lista de los 20 países con el mayor número de reportes de resistencia a productos químicos en piojos (derecha), (Mota-Sánchez y Whalon, 2016. www.pesticideresistance.org . Acceso abril 2016)	10
Figura 3. Ave infestada con malófagos (arriba). Los ectoparásitos se encuentran alojados en la base de las plumas donde se alimentan. Dependiendo de la densidad de individuos, provocan grandes daños a las plumas al utilizar sus piezas bucales (abajo)	11
Figura 4. Hifa conidiógena, conidioforo y conidios de <i>B. bassiana</i> , una de las principales especies de hongos entomopatógenos utilizadas en programas de control biológico en el mundo	12
Figura 5. Ciclo de vida esquemático del proceso de infección de un hongo entomopatógeno, ejemplificado en <i>Beauveria bassiana</i> (modificado a partir de https://www.ars.usda.gov/ SP2 UserFiles/person/13239/ Jaronski_291296.pdf)	15
Figura 6. Aspiradora utilizada en la recuperación directa de malófagos en aves de traspatio. El filtro interior (abajo, derecha) y la potencia permitieron obtener los ectoparásitos sin daño físico	22
Figura 7. Producción de traspatio en Santo Domingo Kesté, Champotón (Campeche)	23
Figura 8. Sección de la retícula correspondiente a un hematocitómetro de Neubauer o cámara cuenta células. Al centro de cada cámara se encuentra un milímetro central subdividido en 25 cuadros que es donde se realiza el conteo	24

- Figura 9. Marcaje de gallinas durante el ensayo de efectividad del producto en campo. Cada gallina fue marcada con un cintillo plástico de dos colores diferentes con el que se identificó cada tratamiento (cepa). El ensayo se realizó en la comunidad de Santo Domingo Kesté** 26
- Figura10. Recuperación de esporas a partir del sustrato (arroz) madurado (esporulado). Se utilizó un juego de tamices de diferente tamaño de malla (izquierda), para permitir la disgregación del sustrato y la recuperación de los conidios en el tamiz final** 28
- Figura 11. Malófagos presentes en aves de traspatio de la comunidad de Santo Domingo Kesté, Champotón, Campeche. Se lograron identificar a nivel de género dos especies: *Menopon* sp., y *Lipeurus* sp** 29
- Figura 12. Malófagos colectados en gallinas de traspatio en Santo Domingo Kesté infectados con *B. bassiana* (arriba izquierda y derecha), y *M. anisopliae* (Abajo, izquierda)** 31
- Figura 13. Mortalidad total registrada en especímenes de *Menopon* sp infectados con cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Todos los individuos fueron expuesta a una solución de conidios a una concentración de 1×10^6 con/ml. Cinco aislamientos generaron mortalidad por encima del 90%** 32
- Figura 14. Individuos del genero *Menopon* infectados con *B. bassiana* HBb005 (arriba izquierda) y *M. anisopliae* HMa005 (abajo derecha). La confirmación de la muerte por el entomopatógeno se verificó mediante micosis y la generación de conidios (arriba derecha y abajo izquierda)** 34
- Figura 15. Grafica de dosis/mortalidad para *Menopon* sp., en contra de las cepas HBb005 y HMA005. Se muestran en la gráfica los datos experimentales obtenidos para ambas cepas, y el valor teórico obtenido a través de análisis probit (HBb005 esfera en amarillo, HMa005 esfera gris), así como la fórmula de la línea de tendencias** 35
- Figura 16. Aplicación de formulados con base a un inerte (talco industrial, diatomita y bentonita) y los aislamientos HBb005 y HMa005 de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Marcado de aves de acuerdo al tratamiento (arriba izquierda); aplicación de producto formulado (arriba derecha y abajo izquierda); malófagos presentes en el cuerpo del ave (abajo derecha)** 37

1. INTRODUCCIÓN

En México una gran proporción de la población humana padece desnutrición, en especial los niños de las zonas rurales. El 77% de las personas con alto grado de desnutrición y de pobreza se encuentra en el medio rural (Zapata-Pérez, 2009), lo que ha motivado a diversos organismos de los tres niveles de gobierno desde hace años a impulsar los sistemas de producción de traspatio de especies menores, particularmente aves para la producción de huevo y carne. Estos proyectos se caracterizan porque cada familia desarrolla su propia unidad productiva, utilizando los recursos materiales e insumos disponibles en su comunidad. Sin embargo, en estas condiciones las aves generalmente muestran niveles productivos y reproductivos relativamente bajos, debido a deficiencias en la alimentación y en el control de las enfermedades (García, 2001).

En el estado de Campeche actualmente la cría de aves de traspatio representa uno de los principales recursos del medio rural y es uno de los principales productos con valor de cambio y de uso que se generan en el huerto familiar campesino. Es así que una de las mayores preocupaciones sentidas por personas dueñas de solares versa respecto a la salud de sus aves, así como la manera de prevenir y tratar enfermedades que puedan ir en decremento de su población, y por ende afectar el nivel socioeconómico de las familias. Un problema grave en las enfermedades de las aves de traspatio es el originado por ectoparásitos conocidos como piojos de las aves (Zapata, 2009).

Aproximadamente 45 especies de piojos de aves han sido registradas en México, y este número ha aumentado en los últimos años (Zapata, 2009). Los piojos masticadores (orden Phthiraptera, subórdenes Ischnocera y Amblycera) son ectoparásitos permanentes, principalmente de aves, que se alimentan de plumas y escamas de piel. Estos piojos pueden ser perjudiciales para hospedantes domésticos o silvestres, ya que deterioran la calidad del plumaje, provocan pequeños agujeros en las plumas (que disminuyen la capacidad de termorregulación) y aumentan la rotura de las plumas (Booth *et al.*, 1993; Kose y Møller, 1999; Vas *et al.*, 2008). Hasta la fecha, más de 4000 especies de piojos de aves han sido identificadas en todo el mundo (Price *et al.*, 2003).

Muy pocos trabajos se reportan en la literatura con respecto al control de malófagos a través de la utilización de hongos entomopatógenos (Pablo *et al.*, 2009;). En este estudio, presentamos una opción que calificamos como altamente viable y muy prometedora para su uso en el control de ectoparásitos de aves de corral.

2. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la agricultura requiere grandes esfuerzos de la comunidad científica para solucionar problemas por bajos rendimientos y pérdidas económicas provocadas por factores bióticos y abióticos del ambiente. La mayor demanda de alimentos nutritivos e inocuos exige su producción orgánica, así como programas de inocuidad y reducción de agroquímicos en la generación de productos específicos y estratégicos para las economías locales, regionales o internacionales. En este sentido, el uso de insecticidas naturales más compatibles con el medio ambiente se debe traducir en la reducción de agroquímicos. En un balance general, aplicar insecticidas naturales, no dañinos al ser humano y animales superiores, reduce los costos de producción e incrementa el valor de los productos. A partir de ahí, la investigación puede coadyuvar al control de plagas utilizando microorganismos entomopatógenos se ha convertido en una opción viable, segura y efectiva.

En la actividad avícola son numerosas las posibilidades de diversificación, sobre todo teniendo en cuenta el difícil momento por el que atraviesa el sector agropecuario; por lo tanto, la producción alternativa complementa los ingresos familiares y emerge como una posible solución al problema de la seguridad alimentaria en el país. La avicultura de traspatio es una actividad complementaria muy importante en toda la región sureste del país para la economía familiar. Debido a ello, la cría intensiva de aves de corral tiene gran aceptación entre los pequeños y grandes productores desde hace años. Entre las especies utilizadas en traspatio están los pavos silvestres, las gallinas, los patos, las palomas y los gansos. En todas estas especies, el daño que ocasionan los piojos de las aves no se ha estimado (Soulsby, 1987).

El uso de tratamientos químicos en el control de los ectoparásitos en aves de corral es un riesgo para la salud al acumularse residuos tóxicos en los productos y subproductos de las aves. Por lo anterior, alternativas como el uso de hongos entomopatógenos, que no han sido evaluados contra estas especies de ectoparásitos, se presentan como una opción altamente viable.

3. REVISIÓN DE LA LITERATURA

3.1. La producción avícola en el país y la producción en el sureste mexicano.

Las especies menores de animales domésticos y semidomésticos son una opción de producción con gran potencial, en especial en los países en desarrollo. Las especies menores pueden jugar un papel destacado dentro de los sistemas mixtos de producción debido a sus características particulares entre las que se destacan las siguientes: bajo nivel relativo de inversión inicial y de costos de producción, independencia de la escala de producción, flexibilidad de instalaciones y manejo, rápido crecimiento de número de animales, valor y demanda de los productos (www.fao.org/fileadmin/templates/lead/pdf/02_article03_es.pdf).

En términos generales, las especies menores requieren mayor atención y cuidado por cabeza o por unidad de producción, comparado con las grandes especies de animales, y debido a la disponibilidad de mano de obra familiar, incluyendo mujeres, ancianos y niños, son más adecuadas para la crianza en el hogar, sea rural o periurbano (Wilson, 2012).

En México las especies menores más comunes son las aves de corral, cerdos, ovejas, cabras, abejas y abejas con y sin aguijón (entre otras), cada una con importancia relativa dependiendo de la región del país (Cuadro 1). Con la implementación de las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA), se ha fomentado la producción de otras especies menores de los sistemas de producción de pequeña escala como conejos, codornices, patos y palomas (González Marín *et al.* 2003).

Las especies menores comerciales (gallinas de postura, pollos de engorda, pavos, cerdos, etc.) representan una oportunidad de vinculación con la industria y son el medio más apropiado para impactar de manera sustantiva en diversos aspectos de la economía pecuaria (y por consecuencia familiar), la salud pública y el ambiente. Se reconoce la importancia que estas líneas comerciales representan para la economía nacional y de la región, ya que la Península de Yucatán tiene un papel destacado en su producción comercial al ocupar en 2009 el 5° lugar nacional en porcicultura, 10° lugar nacional en avicultura, 1^{er} lugar nacional en meleagricultura en 2006, y 5° lugar nacional en producción de huevo para plato en 2002 (SAGARPA 2013).

Cuadro 1. Características generales de las principales especies menores.

Nombre Común	Producto	Características
Mamíferos		
Cabra	Carne, leche, piel	Rusticidad, prolificidad, aceptación, alto rendimiento de las razas lecheras, aún en condiciones tropicales
Cerdo criollo	Carne	Rusticidad, aceptación, valor potencial de productos cárnicos
Conejo	Carne, pelo, piel	Prolificidad, aceptación generalizada
Cuy	Carne	Rusticidad, facilidad de crianza, alta calidad de la carne
Oveja de pelo	Carne, piel	Prolificidad, rendimiento de carne, alta demanda de la carne
Tepezcuintle	Carne	Alto valor de la carne
Aves		
Avestruz	Carne, piel, plumas	Omnívoro, alta prolificidad, rápido crecimiento, variados productos
Gallina criolla	Carne, huevo	Rusticidad, aceptación, valor de los productos
Gallina de Guinea	Carne	Rusticidad, aceptación
Paloma	Carne	Facilidad de crianza, adaptación
Pato americano	Carne, huevo	Rusticidad, facilidad de manejo
Pavo criollo (de raza no comercial)	Carne	Rusticidad, alta demanda estacional
Otros		
Rana	Carne, piel	Alta reproducción, alto valor de los productos
Caracol	Carne	Alta conversión, alto valor comercial
Iguana	Carne, piel, animal vivo	Alta demanda comercial como mascota y para carne
Lagartos	Piel, carne	Alta demanda de la piel
Abejas melíferas	Miel, cera, polen, jalea real	Beneficios a la agricultura, alto valor de los productos, complementariedad con la agricultura
Abejas sin aguijón	Miel	Beneficios a la agricultura, alto valor de la miel

3.2. Daños ocasionados por los ectoparásitos sobre las aves de corral

La especie *Gallus gallus* es parasitada por una gran diversidad de especies de malófagos en comparación con cualquier otra especie de ave conocida (Frasen, 1990). En todo el mundo hay más de 40 especies de ectoparásitos que afectan a las aves de corral y muchas de estas especies son cosmopolitas. En las gallinas, es común que se encuentren al mismo tiempo infestaciones con varias especies de malófagos. Estas infestaciones de piojos se conocen técnicamente como pediculosis. Todas las gallinas padecen los ataques de ectoparásitos; sin embargo, en traspatio se les da una importancia menor ya que la mayoría de las veces no se conoce el nivel de afectación en la producción de los gallineros (Cordero, 1999).

3.3. Orden Phthiraptera

Estos insectos, a pesar de llamarse colectivamente piojos o piojos masticadores, no son tales, pertenecen dentro de la clasificación zoológica al orden Phthiraptera, que incluye a los subórdenes Amblycera, Ischnocera, Rhynchophthirina y Anoplura (piojos verdaderos), los tres primeros conocidos como piojos masticadores o malófagos (Price *et al.* 2003). Se ha demostrado que estos parásitos tienen un impacto negativo en sus hospederos, ya que los malófagos pueden ser vectores de diversos patógenos como rickettsias, protozoos, filarias y virus (Bowman, 2014).

El nombre de los insectos comúnmente denominados como piojos de las aves, o malófagos, proviene del griego “devorador de lana” (a pesar de que no comen lana); sin embargo, viven en la superficie de la piel de animales mamíferos, así como entre las plumas de las aves, donde se alimentan de escamas de piel y las cubiertas de plumas (Figura 2), y/o incluso lamen la sangre de su huésped (Zlotorzycza *et al.*, 1974, Clayton *et al.*, 2005). Con respecto a su hábitat, hay dos grupos básicos: los que viven en el pelo de los mamíferos y los que viven en las plumas de las aves. Con respecto a la disposición de sus partes bucales (mandíbulas) y los segmentos de sus antenas hay dos grupos (subórdenes): Amblycera, que poseen antenas en su mayoría con cinco segmentos, que se extienden en una ranura a lo largo de los lados de la cabeza ancha y sus mandíbulas muerden de forma horizontal; en el caso del suborden Ischnocera, las antenas tienen de tres a cinco segmentos y son claramente visibles; las mandíbulas muerden de manera vertical (Al-Quraishy *et al.*, 2012).

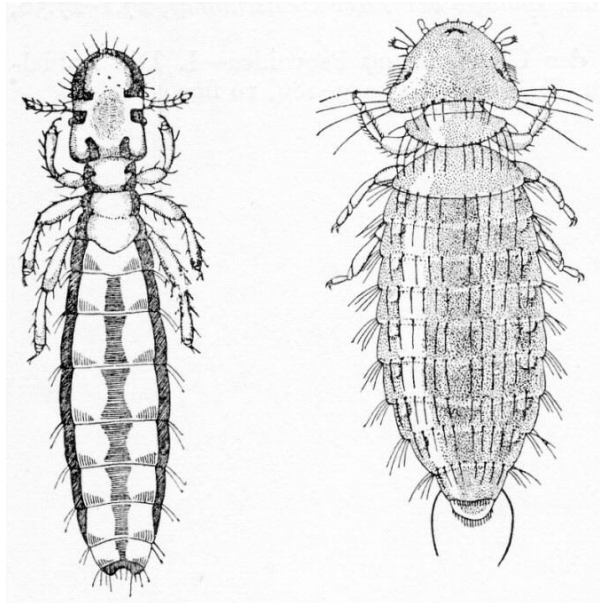


Figura 1. Representación esquemática de dos de los géneros más comunes de malófagos encontrados en aves de corral. *Lipeurus* (der.) y *Menopon* (izq.). Tomada de <http://delta-intkey.com/britin/images/mall01.jpg>

Los piojos pasan toda su vida sobre las gallinas. El ciclo de vida de estos insectos (que incluye huevo, tres estados ninfales y adulto) es completado sobre el cuerpo del hospedero. Las hembras adultas ponen huevos (liendres) en la base de las plumas o sobre la piel del hospedador, a menudo en forma de masas blanquecinas reconocibles a simple vista. Las ninfas emergen cuatro a siete días después y se desarrollan progresivamente a ninfas y adultos. El ciclo vital dura entre tres y cinco semanas. La vida de los piojos dura varios meses, pero fuera del hospedador no sobreviven más de una semana. Aunque los piojos de las gallinas son parásitos relativamente benignos, cuando se presentan en grandes números pueden causar decaimiento en la calidad del plumaje, pequeños hoyos en las plumas o rompimiento de estas. Estas condiciones pueden causar cambios en los patrones de vuelo, capacidad termorregulatoria, masa corporal, supervivencia y selección sexual del hospedero (Booth *et al.*, 2008). Por otra parte, las aves infestadas se tornan inquietas, no duermen bien y se autolesionan debido al prurito provocado por el caminar de los parásitos sobre su cuerpo (Pinto *et al.*, 2001).

3.4. Control químico de piojos de las aves.

El Departamento de Inocuidad de Alimentos, Zoonosis y Enfermedades Transmitidas por Alimentos (FOS) de la Organización Mundial de la Salud reporta que aproximadamente 1.5 millones de personas, la mayoría niños, mueren cada año debido a enfermedades diarreicas ocasionadas por el mal manejo de productos químicos en alimentos, además de intoxicaciones en el campo (Arrebola, MJP. 2007). Asimismo, cada año se liberan cinco millones de toneladas de plaguicidas en todo el mundo (Pronczuk y Ginebra, 2004). Aunque estos datos no establecen cuanto de los químicos son dirigidos al control de ectoparásitos de importancia pecuaria, es claro que la rama de producción pecuaria también presenta problemas de residualidad.

En México se tienen registrados 1462 plaguicidas, de los cuales 795 son insecticidas (que incluye a los utilizados para el control de ectoparásitos (Varelas, 2003). El problema general en todas las plagas insectiles sigue siendo la selección de resistencia por el continuo y desmesurado uso de agroquímicos. México ocupa el lugar número 10 entre los países que más casos de resistencia se reportan (<http://www.pesticideresistance.org/>). El control de piojos de las aves se realiza exclusivamente con productos químicos; sin embargo, en la literatura consultada no se encontraron datos de especies ectoparásitos de aves que presentan algún tipo de resistencia. La figura 3 se presenta como ejemplo de esta; en ella se presenta la lista de las 20 especies de artrópodos (*Top 20*) que desarrollaron resistencia al mayor número insecticidas químicos (izquierda), así como la lista de los 20 países con el mayor número de reportes de resistencia a productos químicos (derecha).

Los piojos permanecen siempre sobre el hospedador, por lo que el control químico se realiza directamente sobre las gallinas infectadas (aspersión, baño de inmersión o con polvos). Los polvos permiten tratar a las gallinas indirectamente, dejando a las gallinas que se empolven ellas mismas. No obstante, los piojos suponen una fuente de infestación constante en el gallinero. Es muy escasa la literatura que evalúa productos químicos sobre piojos de las aves; sin embargo, la poca encontrada (y muy antigua) recomienda el uso de organofosforados, piretroides y piretrinas para combatir varias especies de piojos en gallinas ponedoras, las deben ser tratadas con frecuencia (Strother, 2008). More (1952), hizo de las primeras evaluaciones de plaguicidas químicos midiendo la susceptibilidad a lindano. El lindano fue aplicado en dos formulaciones (polvo y vapores), a un total de 4,404 gallinas. Las especies encontradas en las poblaciones de gallinas

fueron *Eomenacanthus stramineus*, *Menopon gallinae* y *Goniocotes hologaster* (en orden de mayor a menor densidad poblacional). Sus resultados mostraron alta efectividad del producto en ambas formulaciones en las tres especies. Previamente Roberts y Peterson (1947), mencionan entre los antecedentes a su trabajo la aplicación de fumigantes como fluoruro de sodio y sulfato de nicotina, con resultados pobres. Estos autores evaluaron hexaclorociclohexano (HCCH) como fumigante obteniendo mortalidades del 100% sobre poblaciones de *E. stramineus* y *G. hologaster*. Posteriormente se declaró que el HCCH como el lindano tiene efecto en la reducción de las oviposturas y deja residuos en la carne (Saha y Burrage, 1976, citado en FAO/WHO, 2003). Varios de estos productos, sobre todo organofosforados, pueden ser notablemente tóxicos para las gallinas y el ser humano al tener alta residualidad (FAO/WHO, 2003) (Pesticide residues in food—2003, Evaluations Part I – Residues).

Uno de los mayores problemas en el mundo de la avicultura es la infestación de los malófagos, que además transmiten enfermedades a las aves. El control de estas plagas por lo general se basa en el uso de insecticidas químicos como el Gallonil® Spray (ingrediente activo fipronil), que proporciona un control efectivo sobre pulgas, piojos y ácaros en gallinas desde la primera semana de edad, a pesar de que son efectivo, puede causar intoxicación en las aves (De las Casas *et al.*, 1972).

3.5. Hongos entomopatógenos en el control de plagas.

No hay datos en México sobre las pérdidas económicas provocadas como consecuencia del control de los ectoparásitos presentes en aves de corral (Lomelí y Rodríguez, 2002), no importando su naturaleza (ácaros, piojos, malófagos). Una de las alternativas más viables en el manejo de plagas es el uso de organismos entomopatógenos virus, (hongos, bacterias, protozoarios y nematodos), los cuales tienen la capacidad de reducir las poblaciones de potenciales plagas presentes en campo.

Según la clasificación taxonómica hecha por Ainsworth (1973), los hongos se separan en dos divisiones: Myxomycota que forman plasmodios y Eumycota que no los forman y son frecuentemente miceliales. Los hongos entomopatógenos se encuentran en la división Eumycota y en las subdivisiones: Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina (Tanada y Kaya, 1993).

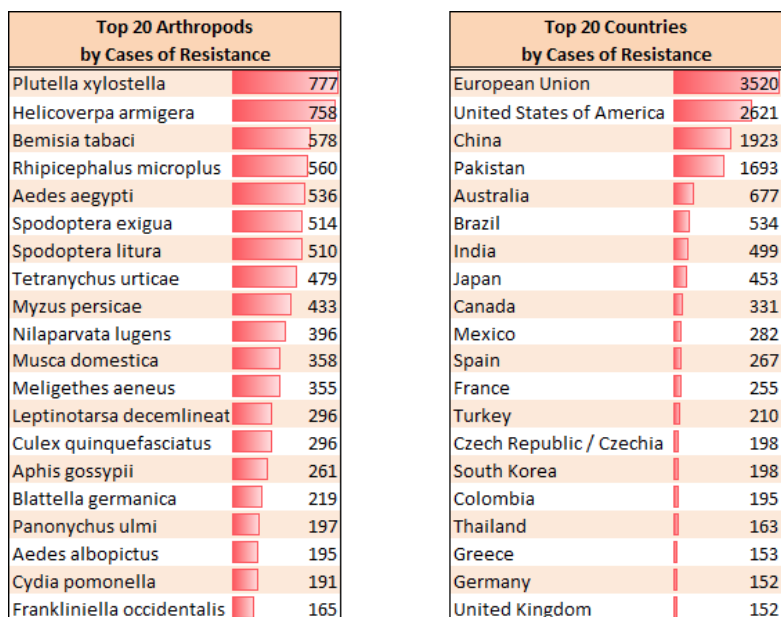


Figura 2. Lista de las 20 especies de artrópodos (*Top 20*) que presentan resistencia al mayor número insecticidas químicos (izquierda). Lista de los 20 países con el mayor número de reportes de resistencia a productos químicos en piojos (derecha), (Mota-Sánchez y Whalon, 2016. www.pesticideresistance.org. Acceso abril 2016).

Los hongos entomopatógenos (HE) son microorganismos que producen enfermedades a diferentes órdenes de insectos y en muchas especies no se ha reportado que causen daño al ser humano, otros vertebrados y plantas. En condiciones naturales requieren de humedad, pH y temperatura adecuados para cada especie de hongo. Actúan por contacto en los diferentes estadios de la plaga, penetrando al cuerpo y produciéndole disturbios a nivel digestivo, nervioso, muscular, respiratorio, excretorio, etc. Es decir, el insecto se enferma y al tercer o cuarto día muere, dependiendo de la especie y estadio del insecto (Bidochka *et al.*, 2000).



Figura 3. Ave infestada con malófagos (arriba). Los ectoparásitos se encuentran alojados en la base de las plumas donde se alimentan. Dependiendo de la densidad de individuos, provocan grandes daños a las plumas al utilizar sus piezas bucales (abajo).

Los HE constituyen un grupo aproximadamente de 100 géneros y más de 750 especies que pueden infectar insectos (Clayton *et al.*, 2005). La mayoría de estos hongos pertenecen a las divisiones Zygomycota (Entomophthorales), Deuteromycota (Hufhomycetes) y Ascomycota y se

encuentran comúnmente en la naturaleza (Milner, 2000). Sin embargo, sólo algunas especies de hongos entomopatógenos han sido estudiadas extensamente. Entre los géneros más estudiados (y utilizados), se encuentran *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Himenostilbe*, *Paecilomyces*, *Lecanicillium* y *Verticillium* (Figura 4).

Los HE infectan individuos en todos los órdenes de insectos; la mayoría son de los órdenes Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera y Orthoptera. (David, 1967; Tanada y Kaya, 1993). En algunos órdenes de insectos, los estados inmaduros (ninfas o larvas) son más a menudo infectados que los maduros o estado adulto, pero en otros puede suceder lo contrario. Los estados de huevo y pupa no son frecuentemente infectados por los hongos (Tanada y Kaya 1993).

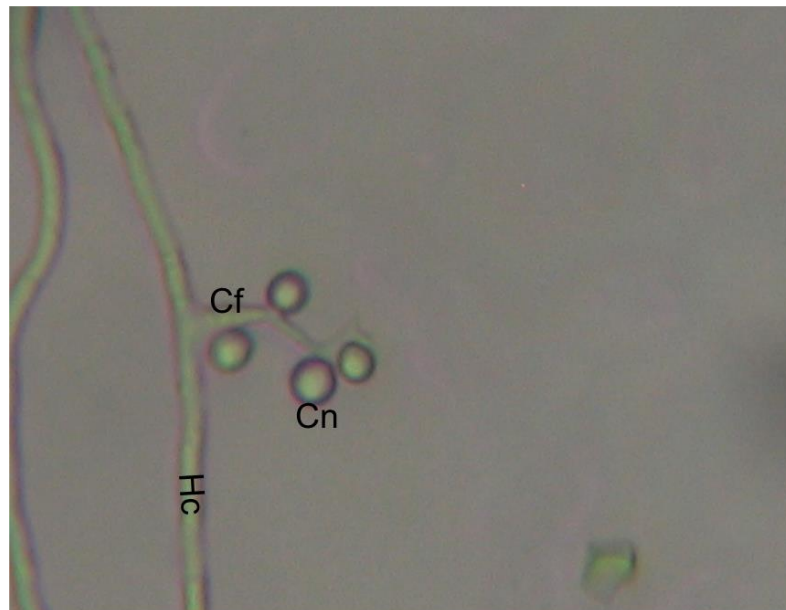


Figura 4. Hifa conidiógena, conidióforo y conidios de *B. bassiana*, una de las principales especies de hongos entomopatógenos utilizadas en programas de control biológico en el mundo.

Se han investigado métodos alternativos como el extracto de plantas de neem (*Azadirachta indica*), con el objetivo de reducir el uso de insecticidas químicos, ya que el uso continuo de estos puede desarrollar resistencia ante los malófagos, lo que provocaría una mayor infestación. Una alternativa es el control biológico con hongos entomopatógenos, ya que son

inocuos para los vertebrados (Abdel-Ghaffar, 2008).

Además, la temperatura, la humedad relativa y el suelo de las granjas y traspatios avícolas proveen de un ambiente adecuado para la supervivencia de hongos entomopatógenos. Meyling y Eilenberg (2007) afirman que para su utilización como control biológico son necesarias prácticas agrícolas en las que se manipule el ambiente para beneficiar las poblaciones de entomopatógenos. Para lograr lo anterior se requiere conocer aspectos ecológicos de los hongos, tales como la humedad relativa, temperatura, patogenicidad, virulencia y hospederos a los que infectan activamente. Se han obtenido resultados satisfactorios en el control biológico de plagas de ectoparásitos, como es el caso de Najera *et al.* (2010), quienes trabajaron sobre la virulencia de *B. bassiana* y *M. anisopliae* contra ninfas de *Menopon gallinae*; mostraron que *B. bassiana* generó una mortalidad de más del 90% sobre este insecto, mientras que *M. anisopliae* provocó una mortalidad del 92% en la misma plaga. Cabe mencionar que *Menopon sp.* Está presente en las granjas avícolas del país, pero no existen reportes sobre el control de ninfas o adultos de este insecto, por lo que es necesario iniciar con un estudio tendiente a evaluar el potencial de uso que pueden tener los hongos entomopatógenos y así contar con una alternativa diferente al uso de los insecticidas químicos.

3.5.1. Modo de acción de hongos entomopatógenos.

Actualmente, se han identificado y estudiado diversas especies de hongos que afectan plagas de cultivos de importancia económica; muchos de ellos son utilizados exitosamente en programas de control biológico, esto debido a que algunos de estos entomopatógenos, por ser facultativos, son reproducidos en forma masiva y se venden comercialmente. Estos hongos se encuentran en la naturaleza en rastrojos de cultivos, estiércol, en el suelo, las plantas, etc. Logran un buen desarrollo en lugares frescos, húmedos y con poco sol. Los hongos entomopatógenos (HE) constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plagas ya que prácticamente todos los insectos son susceptibles a algunas de las enfermedades causadas por ellos. Se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos. Entre los más importantes géneros están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Paecilomyces*,

Verticillium y *Lecanicillium* (Lara-Reyna, 2008).

En general, las fases que desarrollan los hongos sobre sus hospedantes son: germinación, formación de apresorio, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción. El inóculo o unidad infectiva está constituido por las estructuras de reproducción sexual y asexual; es decir, las esporas y los conidios (Motta-Delgado *et al.*, 2011).

El proceso de infección se inicia cuando una espora o conidio se adhiere a la cutícula del insecto; luego se produce un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. En la penetración participan un mecanismo físico y uno químico; el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan descomposición del tejido en la zona de penetración, lo que facilita la penetración física (Samish y Rehacek, 1999) (Figura 5).

Después de la penetración, la hifa se ensancha y ramifica dentro de los tejidos del insecto, colonizando completamente la cavidad del cuerpo de éste. A partir de la colonización se forman pequeñas colonias y estructuras del hongo, lo que corresponde a la fase final de la enfermedad del insecto.

3.6. Factores que determinan la efectividad de hongos los entomopatógenos

Las principales características de interés de los hongos entomopatógenos son, entre otras, que tienen medios de dispersión propia, infectan principalmente insectos (Ferron, 1978; Roberts y Humber, 1981) y algunos otros artrópodos, así como el hecho de que diariamente se citan nuevos aislamientos (St. Leger *et al.*, 1992).

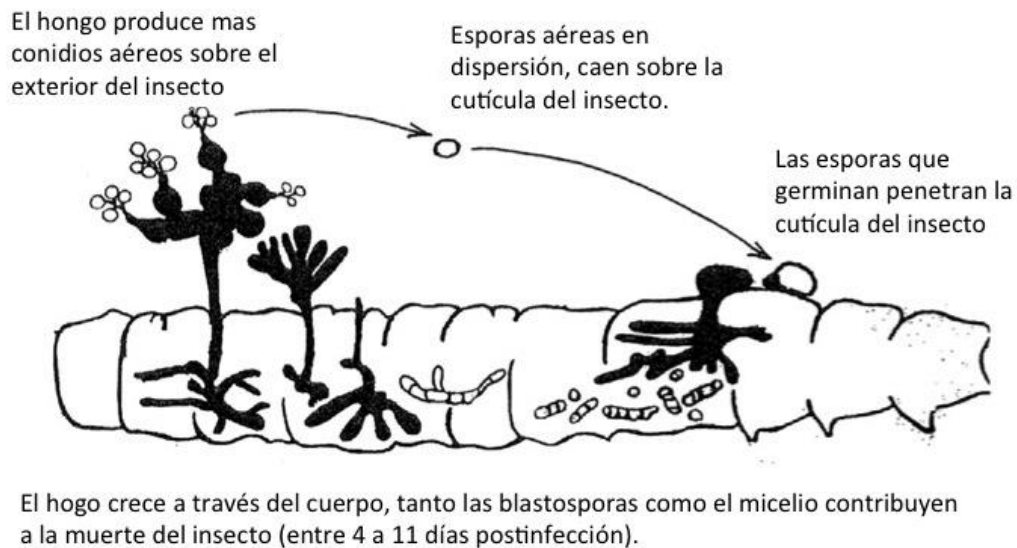


Figura 5. Ciclo de vida esquemático del proceso de infección de un hongo entomopatógeno, ejemplificado en *Beauveria bassiana* (modificado a partir de [https://www.ars.usda.gov/SP2 UserFiles/person/13239/ Jaronski_291296.pdf](https://www.ars.usda.gov/SP2/UserFiles/person/13239/Jaronski_291296.pdf))

3.6.1. El patógeno

Un factor determinante a considerar en la selección de un patógeno es la virulencia porque de ésta depende la cantidad del propágulo a aplicar. De un aislamiento altamente virulento se requerirá una baja cantidad de propágulo para causar alta mortalidad, y viceversa. Un aislamiento debe ser lo suficientemente agresivo para ser considerado como potencial agente de control microbial. Otro atributo a considerar es la capacidad para persistir en el ambiente, porque de ella dependerá el contacto del hospedante con el inóculo y por ende el inicio de la enfermedad (Inglis *et al.*, 2001).

3.6.2. El hospedante

Una compleja serie de factores fisiológicos tales como el comportamiento, la edad, la genética y la nutrición influyen en la susceptibilidad del hospedante hacia el hongo entomopatógeno. Un paradigma importante es que los animales estresados son más susceptibles

que los que no lo están. La nutrición del hospedante es otro factor muy importante en la regulación de la susceptibilidad hacia el patógeno; una inadecuada alimentación frecuentemente incrementa la susceptibilidad del hospedante (Inglis *et al.*, 2001).

La edad es otra variable que influye en la susceptibilidad del insecto porque cada especie es más o menos susceptible en determinado estado de desarrollo; por ejemplo, larvas de *Ostrinia* de los primeros estadios son más susceptibles a *B. bassiana* que larvas del último estadio (Feng *et al.*, 1985) En un contraste, adultos de *Frankliniella occidentalis* son más susceptibles que los inmaduros a *V. leacanii* (Vestergaard *et al.*, 1995).

El comportamiento del hospedante es otro factor importante, sobre todo en insectos sociales como la termita *Reticulitermes flavipes*, la cual es muy resistente a *B. bassiana* no por poseer defensas endógenas sino como resultado de un complejo comportamiento social que incluye la remoción de individuos infectados dentro de la colonia (Boucias *et al.*, 1996).

3.6.3 La humedad ambiental

La esporulación de los hongos entomopatógenos es altamente dependiente de las condiciones climáticas. Es ampliamente conocido que la humedad ambiental es el factor más importante en el desarrollo y esporulación de estos microorganismos (Benz, 1987; Carruthers y Soper, 1987; Ferron *et al.*, 1991; Hajek y St. Leger, 1994; Hall y Papierok, 1982).

La humedad relativa y la temperatura combinadas son factores que influyen sobre el proceso de morfogénesis de los hongos; dichos factores activan mecanismos de recepción y reconocimiento en la pared celular del hongo, la cual a su vez actúa en el desencadenamiento de promotores de la síntesis de componentes celulares. Así se desencadenan las respuestas metabólicas que intervienen en la extensión de la pared celular dando inicio a la germinación de la espora. Mientras tanto, el complejo vesicular continúa con la secreción de mucílago para mantener la adhesión del conidio y proporcionar la humedad necesaria para su desarrollo (Wessels, 1994; Harold, 1999).

En la primera etapa de crecimiento de los hongos la humedad relativa es fundamental para el hinchamiento de la espora y el desarrollo del tubo germinativo, el cual, junto con secreciones

mucilaginosas, forma parte de la cubierta que permite a la espora mantener humedad frente a una eventual deshidratación (Maheshwari *et al.*, 2000). En el caso de *B. bassiana* se ha demostrado que para la germinación de los conidios se requiere más de 90% de humedad relativa; por lo tanto, es necesario que los periodos de humedad sean largos durante la iniciación de la infección. Éste es el principal factor informativo de la geminación y la infección (Hallsworth y Magan, 1999; Maheshwari *et al.*, 2000), pues el potencial epizoótico de los hongos entomopatógenos depende tanto de su infectividad como de la producción de conidios en el cadáver de su hospedante (Luz y Fargues, 1998).

3.6.4. La radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV), en longitudes de onda de 285 a 315 nm, ha sido frecuentemente identificada como uno de los factores que reduce la eficiencia de los agentes de control biológico, debido a la inactivación rápida de los conidios (Braga *et al.*, 2001). Por ejemplo, la tolerancia de *Metarhizium* sp. a la luz UV disminuye al incrementarse la latitud, y la disminución de la germinación es directamente proporcional a la intensidad y tiempo de exposición a dicha luz (Braga *et al.*, 2001). Fargues *et al.* (1996) observaron que los conidios de *B. bassiana* son más tolerantes a la luz UV, mientras que los conidios *Metarhizium anisopliae* toleraron menos luz UV.

La luz UV provoca que los conidios se inactiven muy rápido, lo que ha motivado esfuerzos hacia la protección de dichos propágulos, debido a que la inactivación ha sido para muchos la limitante para la comercialización exitosa de los hongos entomopatógenos. Como resultado de esos esfuerzos se han desarrollado bloqueadores solares que se han incluido en formulaciones de micoinsecticidas (Inglis *et al.*, 2001).

3.6.5. La temperatura

Entre los factores que más influyen en el desarrollo y la patogenicidad de los hongos, así como el desarrollo de la enfermedad a nivel epizoótico, además de la humedad relativa está la temperatura (Hall, 1993), variable que en muchos casos difiere de la óptima requerida por su hospedante (Ferron, 1978, Fuxa, 1987; Fransen, 1990) y además es uno de los principales factores

de éxito o fracaso del desarrollo de los hongos entomopatógenos. Así este factor es determinante y fundamental para el crecimiento de los hongos (James *et al.*, 2003). Según McDonald *et al.* (1995), al incrementarse la temperatura, el tiempo de muerte de los insectos se reduce dentro de los límites permisibles para el desarrollo de hongo.

3.7. Parasitismo de hongos entomopatógenos sobre insectos y ácaros

Un experimento inicial en donde se evaluó un hongo contra un ácaro fue la aplicación de *B. bassiana* para controlar a *Tetranychus urticae* por Dresesner en 1949 (Van Der Geest *et al.*, 2000), quienes aplicaron un polvo con 5% de esporas del hongo sobre ejemplares de la especie anotada colocados en hojas de *Canavallia enisiformis* a 25°C 70% de humedad relativa y 12 h de fotoperíodo; como resultado obtuvieron una mortalidad de 71%. Tamait *et al.* (1999) aplicaron aislamientos de *B. bassiana* sobre individuos de *T. urticae* y consiguieron una mortalidad entre 35 y 95% al aplicar concentraciones de 5×10^6 a 1×10^9 conidios/mL. Ejemplares de *T. urticae* tratados con otro aislamiento de *B. bassiana* enriquecido con *Saccharomyces* disminuyeron su población en 42.8% al aplicárseles una concentración de 10^7 conidios/mL, y en 45% cuando se utilizó una suspensión de conidios sin la levadura (Alves *et al.*, 2002).

En los últimos años las aplicaciones de hongos entomopatógenos han sido diversificadas hacia otros ácaros plaga como los hematófagos del ganado (donde lo ácaros de los bovinos han sido importante tema de investigación), esto no sólo por los daños directos que los ácaros causan a sus hospedantes sino también por ser vectores en enfermedades bacterianas y virales. Se ha demostrado que aislamientos de *Metarhizium* y *Beauveria* son patógenos de *Boophilus microplus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma cajennense* y *Anocentor nitens*, pues afectan sus diferentes estados de desarrollo, así como la eclosión de los huevecillos de las generaciones siguientes (Bittrncourt, 2000). De acuerdo con Castro *et al.* (2000), Sindeney *et al.* (2001), Barbosa *et al.* (1997) y Zhioua *et al.* (1997), la mortalidad de larvas de ácaros por hongos entomopatógenos, sobre todo de *M. anisopliae*, es directamente proporcional a la concentración aplicada y al tiempo del tratamiento. Así, entre más alta es la concentración mayor es el porcentaje de mortalidad, lo que aplica también a la eclosión de huevecillos. En el caso de ácaros adultos, aun cuando se hayan aplicado concentraciones de 1×10^8 , la mortalidad sólo ha sido de 20% (Sindeney *et al.*, 2001).

Las especies *B. bassiana* y *M. anisopliae* produjeron de 80% a 100% de mortalidad de los ácaros *B. annulatus*, *Hyaloma excavatum* y *R. sanguineus* cuando el tratamiento fue aplicado sobre estados inmaduros no alimentados (Gindin *et al.*, 2002).

Los ácaros del ganado menor como las ovejas y los conejos no han quedado fuera de trabajos donde se han evaluado de forma preliminar aislamientos de *Hirsutella thompsonii*; los *Menopon gallinae* tratados con este patógeno no mostraron diferencia significativa en la mortalidad, comparados con los del testigo tratados sólo con Tween 80 a 0.03%. En contraste, todos los ácaros murieron tres días después de haberlos sumergido en una suspensión de *M. anisopliae*; de ellos, 60% eran hembras adultas, 10% adultos machos y 30% ninfas, las cuales presentaban hifas desde la superficie de la cutícula. Con una concentración de 1×10^7 conidios/mL se alcanzó 71% de mortalidad en 2.7 días, pero cuando los ácaros fueron expuestos a 1×10^8 conidios/mL el porcentaje de mortalidad fue 90% (Smith *et al.*, 2000).

3.7.1. Control de malófagos por hongos entomopatógenos.

Price *et al.* (2003) evaluaron especies de *Beauveria* y *Metarhizium* para controlar a los malófagos en aves de corral y concluyeron que los hongos mencionados infectan a dichos insectos. Un punto importante a considerar es el hecho de que las aves de corral son un beneficio socio-económico muy importante del cual dependen muchas familias; por ello, cualquier intento de control biológico debe garantizar la inocuidad hacia las aves de corral, ya que las pérdidas económicas son cuantiosas. Sin embargo, aunque no existe a la fecha en la literatura un aporte de alguna epizootia con hongos entomopatógenos generalistas dentro de los corrales en aves, cualquier exceso de precaución está justificado.

4. OBJETIVOS

General.

Evaluar cepas de hongos entomopatógenos con base en su infectividad y agresividad sobre el ectoparásito *Menopon sp.* como alternativa de control efectiva en aves de corral.

Específicos.

1. Evaluar la susceptibilidad de *Menopon sp.* hacia 14 cepas de hongos entomopatógenos, en condiciones de laboratorio.
2. Seleccionar, con base en bioensayos de laboratorio, las cepas más agresivas en contra del ectoparásito *Menopon sp.*
3. Proponer una formulación efectiva que permita el control efectivo en aves de corral.
4. Validar un producto formulado en un ensayo de campo, para su recomendación en el control de *Menopon* en aves de corral.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Obtención del material biológico

En este estudio fueron evaluados 14 cepas de hongos entomopatógenos del Laboratorio Microbiología y Control Microbiano del Campus Campeche del Colegio de Postgraduados: nueve cepas de *B. bassiana* (HBb005, HBb014, HBb016, HBb018, HBb019, HBb020, HBb021, HBb22 y HBb023), y cinco cepas de *M. anisopliae* (HMa005, HMa003, HMa004, HMa006 y HMa014). Todas las cepas antes mencionadas se prepararon en medio de cultivo PDA (agar dextrosa papa), utilizando 19.5g/l; una vez que el medio fue esterilizado y vaciado en cajas Petri (25 ml/caja), se procedió a recuperar las cepas de los hongos entomopatógenos a partir del cepario. Las cepas se recuperaron en condiciones de laboratorio y sembraron dentro de una campana de flujo laminar. La incubación se llevó a cabo a una temperatura de 28°C, durante varios días (tiempo variable, que depende la maduración de cada cep) y se almacenaron para su uso posterior.

5.2. Obtención de piojos.

Los piojos utilizados en este estudio, al ser parásitos que viven permanentemente en sus hospedantes, se obtuvieron directamente de gallinas parasitadas. En la comunidad de Santo Domingo Kesté, con los distintos comunitarios residentes fueron localizadas aves que tuvieran problemas de parasitosis. Se evaluaron diferentes métodos para la obtención de piojos en cantidad suficiente, y que a su vez la metodología seleccionada no ocasionara un daño físico que impidiera utilizar a los piojos recuperados.

Después de la valoración de diferentes métodos (obtención manual, cepillado, baño y aspirado), se optó por la recuperación de la manera siguiente: se utilizó una aspiradora portátil marca Koblenz®, modelo CAR VAC®, la cual fue pasada por todo el cuerpo del ave. El modelo de aspiradora fue seleccionado porque tiene un filtro intermedio de tela de poros finos que no permitía que los malófagos recuperados escaparan de la cámara para polvo (Figura 6). Así mismo, se verificó que la presión ejercida al momento de recuperar por aspiración a los malófagos no ocasionara daño mecánico a los mismos. Esto se verificó días después, ya que al recuperar los

malófagos (la mayoría de adheridos al filtro) se mantuvieron en observación, verificando su mortalidad durante una semana, comparada con individuos recuperados con un aspirador casero de boca.



Figura 6. Aspiradora utilizada en la recuperación directa de malófagos en aves de traspatio. El filtro interior (abajo, derecha) y la potencia permitieron obtener los ectoparásitos sin daño físico.

Así mismo hay que resaltar que la proporción de los piojos individuos recuperados a partir del huésped, siempre fue muy disímil, ya que el número de individuos recuperados de *Menoponidae* era muy superior a *Lipereus*, por lo que se decidió realizar los ensayos únicamente con organismos del género *Menopon*.

5.3 Ubicación de las aves de corral para su experimentación

Las gallinas utilizadas fueron proporcionadas por personas de la comunidad de Santo Domingo Kesté que contaban con gallinas bajo producción de traspatio.



Figura 7. Producción de aves en traspatio en Santo Domingo Kesté, Champotón (Campeche).

5.4. Conteo de esporas para su uso en bioensayos.

Los conidios se recuperaron a partir de cultivos esporulados utilizando 10 ml de una solución de agua destilada con Tween al 0.5%; se recuperaron con una espátula de vidrio y con solución Tween, en un tubo Eppendorf; se removió la suspensión en un agitador mecánico, observando en el microscopio hasta no observar agrupaciones de conidios. Se realizaron diluciones seriales con un factor de 10, hasta alcanzar la dilución deseada.

Se tomaron 10 μ l de la solución de conidios para colocar en una de las cámaras del hematómetro (Figura 8), cubriendo con un cubreobjetos. Para el conteo, se usó un microscopio de contraste de fases (Leica, Mod. DME). Se contaron cinco cuadros del milímetro central y se obtuvo el promedio de los cinco cuadros. Para cada muestra se realizaron un total seis conteos.

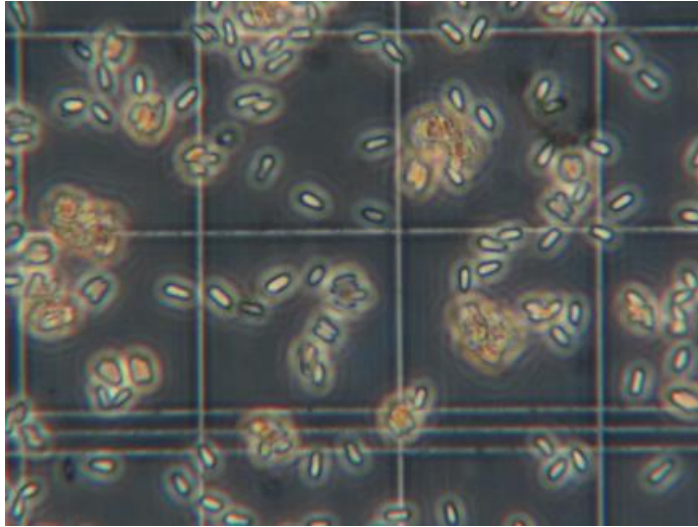


Figura 8. Sección de la retícula correspondiente a un hematocitómetro de Neubauer o cámara cuenta células. Al centro de cada cámara se encuentra un milímetro central subdividido en 25 cuadros que es donde se realiza el conteo.

Para calcular la concentración final se utilizó la siguiente fórmula, de acuerdo al fabricante:

$$C = \frac{(X)(1 \times 10^6)(DIL)}{80}$$

Dónde:

C= conidios/ml

X= promedio del conteo de los cinco cuadros

DIL: dilución

5.5. Susceptibilidad a la infección por hongos entomopatógenos sobre malófagos adultos.

Los malófagos a evaluar se colectaron directamente de la piel de las gallinas. Una vez madurados los hongos entomopatógenos y ocurrida la conidiogénesis en las cajas Petri, se cortó (con una espátula estéril) aproximadamente 1 cm² de medio de cultivo con micelio esporulado por cada caja Petri y se puso dicho corte de un cm² en cada una de las 10 cajas Petri; enseguida se colocaron con palillos de madera dentales cinco individuos adultos de malófagos en cada caja Petri

que contenía la cepa a evaluar y se permitió que caminaran directamente sobre el cultivo esporulado por un minuto para que tomaran contacto con el hongo. En esta fase se trató de manipular lo menos posible a los piojos para evitar daño físico que contribuyera al desarrollo de la infección. Posteriormente los malófagos fueron colocados en cajas Petri, sobre plumas desinfectadas con alcohol al 70% como alimento, adicionando un algodón húmedo y posteriormente las cajas fueron colocadas a 28°C en incubadora. Se revisó la mortalidad diariamente durante cinco días.

5.5.1. Susceptibilidad de ninfas y adultos de malófagos a hongos entomopatógenos

Para ninfas y adultos se determinó primeramente la susceptibilidad mediante bioensayos gruesos a través de la evaluación, tres concentraciones denominadas "alta", "media" y "baja", que correspondieron a las siguientes dosis: 1×10^8 , 1×10^6 , 1×10^4 conidios/individuo, respectivamente. Posteriormente se realizó la ventana de respuesta biológica al hongo; esto es, el intervalo de dosis entre las cuales se encontraban las que causaban 0 y 100% de mortalidad. Para ello se preparó la suspensión de 1×10^8 conidios/mL, a partir de la cual se realizaron diluciones con un factor 1/10 en tubos Eppendorf de 2 ml de capacidad; se utilizó agua destilada estéril como diluyente hasta ajustar la concentración deseada a evaluar (1×10^1 hasta 1×10^7). Se utilizaron en promedio 20 individuos por dosis, los cuales se colectaron directamente de las gallinas de acuerdo al procedimiento mencionado. Las ninfas y adultos se colocaron en cajas Petri, se incubaron por 24 h para desechar aquellas en mal estado, y posteriormente con una micropipeta se les aplicó la dosis en volúmenes de suspensión que fueron de 1 μ l por individuo. Una vez aplicado el tratamiento, los individuos se incubaron a 30° C y 71.2% de humedad relativa, y se registró la mortalidad durante las primeras 72h. Se seleccionaron los aislamientos que causaron los más altos porcentajes de mortalidad de ninfas y pupas. Para determinar las concentraciones intermedias a ser utilizadas en los bioensayos finos, con los datos obtenidos se graficó el porcentaje de mortalidad contra el logaritmo de la concentración. El análisis de los datos obtenidos de cada bioensayo se realizó a través del programa SAS 3.0. Se realizaron tres bioensayos para cada aislamiento. Una vez obtenidos los datos, se obtuvo el promedio de las CL_{50} 's, las desviaciones estándar (S) y el coeficiente de variación (C.V.). El testigo consistió en un grupo al que se le aplicó agua, y se añadió de igual forma Tween al 100%.

5.5.2. Evaluación en campo con hongos entomopatógenos en aves de corral adultas.

Se identificó un corral exclusivo en la comunidad de Santo Domingo Kesté para la aplicación de los hongos entomopatógenos a las gallinas en la validación de campo. Para la diferenciación en los animales tratados se les identificaba mediante un cincho color negro para el HBb005 y un cincho en color blanco para el HMa005 (Figura 3). Cada ave se sujetaba por las alas, tanto para el marcaje como para la aplicación. La aplicación se realizó espolvoreando el producto a base de tres vectores inertes, talco industrial, diatomita, bentonita cálcica y esporas de hongos entomopatógenos de las cepas antes mencionadas, dicho producto se espolvoreaba sobre el cuerpo de la gallina en la zona donde ya previamente se había observado prefieren estar los ectoparásitos. Previamente a la aplicación, se realizó un conteo en las aves para determinar la población promedio de malófagos por individuo, del que resultó una media estimada de 92 malófagos por gallina. Las aves tratadas se revisaron durante cinco días a partir del tercer día.



Figura 9. Marcaje de gallinas durante el ensayo de efectividad del producto en campo. Cada gallina fue marcada con un cintillo plástico de un color con el que se identificó cada tratamiento (cepa). El ensayo se realizó en la comunidad de Santo Domingo Kesté.

5.5.3. Formulados y pesado de productos a base de talco, bentonita cálcica, diatomita y conteo de esporas de los hongos entomopatógenos HMa005 y HBb005.

Para la formulación de hongos entomopatógenos se procedió en primera instancia a tamizar los materiales que funcionarían como inertes para eliminar grumos y tener una mezcla homogénea. De este modo se tamizó el talco, la bentonita cálcica, y la diatomita con un tamiz del número 16. Los materiales seleccionados (talco, bentonita y diatomita) ya han sido evaluados previamente en otros trabajos y recomendados su uso como materiales inertes (Ignacio Segura, 2004). Cada uno de los materiales se mezcló con conidios de las correspondientes cepas de hongos como se describe a continuación: Cada una de las cepas a ser formuladas se obtuvo a partir de bolsas de polipapel que contenían 250 gramos de arroz con hongo madurado, y que fueron sembrados tres semanas con anterioridad. Las bolsas con los cultivos madurados fueron producidas en la Unidad de Producción de Bioinsecticidas (UPBIO®) del Campus Campeche, con la asesoría del personal especializado que ahí labora. Las esporas fueron recuperadas con un tamizador automático para suelos de marca Proo Litest, Modelo Contribs, con dimensiones de 64cm de alto por 48cm de ancho. Las bolsas que contenían el hongo madurado (esporulado) se rompieron con una navaja, y se les agregaron 50 gramos de material inerte (talco, bentonita o diatomita). El equipo al agitar va mezclando el inerte con el arroz y los conidios se van separando y mezclándose con el inerte (Figura BB). Se ajustó la concentración a 1×10^7 conidios/g. Después de ser tamizados se envasaron en frascos y se marcaron para su posterior verificación de la homogeneización y concentración mediante conteo de esporas en el laboratorio. El ajuste de conidios por gramo de producto inerte se hizo pesando un gramo del producto formulado y se vertiendo en un tubo Eppendorf de 2 mL del homogenizado con tritón al 0.01% preparado con agua destilada estéril. Para su conteo se tomaron 10 μ l del tubo Eppendorf y se colocaron entre el portaobjetos y el hematocitómetro para obtener así la concentración de conidios por gramo de inerte. En caso de tener una concentración menor se agregaron conidios obtenidos directamente a partir de las bolsas utilizando el mismo método. Los formulados se elaboraron dos días antes su evaluación en campo para evitar problemas de pérdida de viabilidad (porcentaje de germinación).



Figura10. Recuperación de esporas a partir del sustrato (arroz) madurado (esporulado). Se utilizó un juego de tamices de diferente tamaño de malla (izquierda), para permitir la disgregación del sustrato y la recuperación de los conidios en el tamiz final. Para la mezcla con material inerte en el primer tamiz se agregaron 50 g de inerte por cada bolsa de arroz.

6. RESULTADOS

6.1. Identificación de ectoparásitos presentes en gallinas de traspatio en Santo Domingo Kesté.

Durante la recuperación de los ectoparásitos presentes en las aves de corral presentes en la comunidad de Santo Domingo Kesté, se obtuvieron individuos cuya morfología correspondió claramente a dos especies diferentes (Figura 11). Se utilizó la clave sugerida por Borrer *et al.* (1989), para la identificación a nivel género. No se pudo contar con apoyo de un especialista en el grupo para lograr la identificación a nivel de especie, por lo que nos referimos a los organismos encontrados sólo a nivel de género. Sin que se hiciera conteo para determinar con exactitud la proporción entre ambas especies, en una apreciación cualitativa los individuos pertenecientes al género *Menopon* dominaban mayoritariamente.



Figura 11. Malófagos presentes en aves de traspatio de la comunidad de Santo Domingo Kesté, Champotón, Campeche. Se lograron identificar a nivel de género dos especies: *Menopon* sp., y *Lipeurus* sp.

No hay ningún trabajo que haga referencia a la presencia e identificación de especies de Phthiraptera en la Península de Yucatán. De acuerdo a la revisión realizada, hay trabajos muy antiguos sobre piojos de las aves en México (Ancona, 1935; Zavaleta, 1944, 1946; Barrera, 1961), encaminados más hacia la biología que a la distribución (con excepción de los trabajos de Zavaleta) que hacen referencia a especies colectadas en el estado de Chiapas y en el Distrito Federal. No obstante que no se realizó una identificación taxonómica a nivel especie, la aportación para el conocimiento de la distribución en el país, aunque menor, queda para el registro.

6.2. Susceptibilidad a la infección por hongos entomopatógenos.

Todos los aislamientos que corresponden a las especies de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (14 en total) fueron evaluados bajo la metodología señalada en la sección 5.5.1 de materiales y métodos. Todos los aislamientos resultaron infectivos sobre las dos especies encontradas en las aves de traspatio, por lo que se realizó una selección con base en aquellas cepas que previamente habían sido evaluadas en otras plagas por el laboratorio. Puesto que esta evaluación se hizo infectando directamente por la metodología mencionada (ver materiales y métodos), no se evaluó ninguna concentración en específico por lo que el único resultado es la alta susceptibilidad de los individuos evaluados a todas las cepas (ver Figuras 12 y 13).



Figura 12. Malófagos colectados en gallinas de traspatio en Santo Domingo Kesté infectados con *B. bassiana* (arriba izquierda y derecha), y *M. anisopliae* (Abajo, izquierda).

6.3. Selección de aislamientos.

Todos los aislamientos fueron evaluados a una concentración de 1×10^6 conidios/ml, todos provocaron una mortalidad por arriba del 70% (Figura 13), lo cual en términos de potencialidad de una cepa para su uso aplicado ya como agente de control microbiano en campo las hace buenos candidatos (una mortalidad arriba de un 80% en campo es un valor aceptable). Estos valores de mortalidad fueron alcanzados por las cepas HBb005, HBb0014, HBb0018, HBb0019, HBb0021, HBb0023; y HMa003, HMa004, HMa005 y HMa0014, de *B. bassiana* y *M. anisopliae* (respectivamente), pero HMa005 y HBb005 provocaron un 100% de mortalidad. Puesto que para estas dos últimas cepas se encuentra estandarizado el proceso de producción masiva en el laboratorio y son producidas de manera permanente, se decidió realizar bioensayos finos únicamente con estas dos cepas.

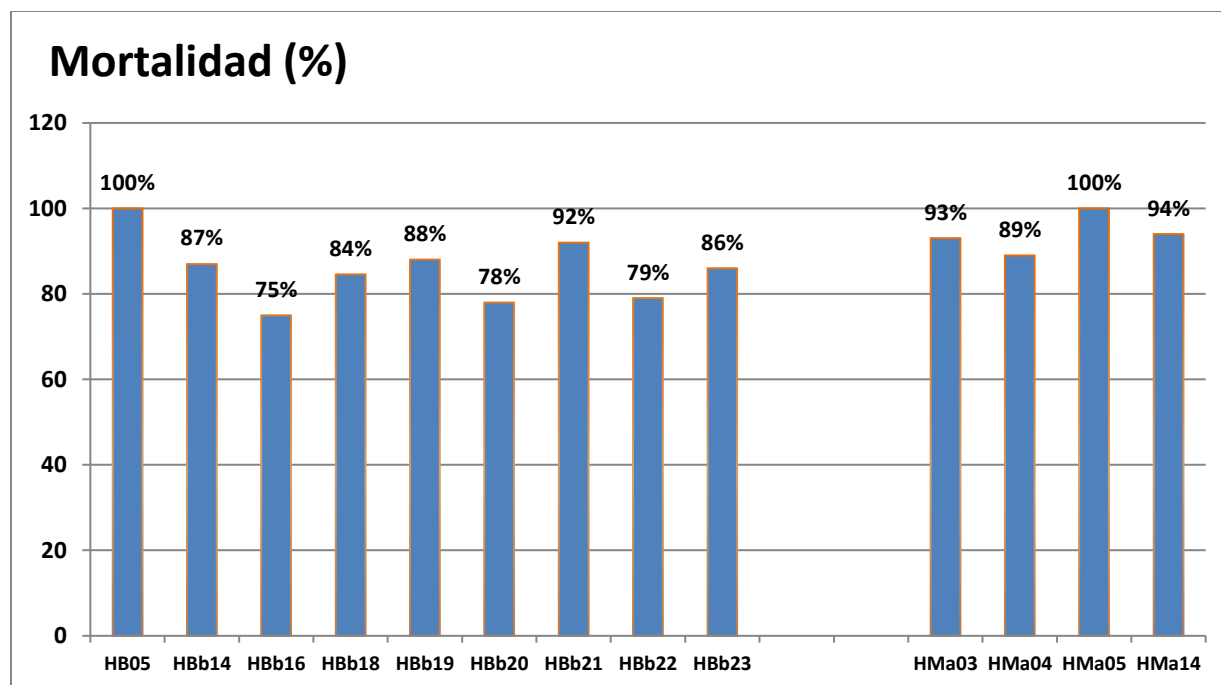


Figura 13. Mortalidad total registrada en especímenes de *Menopon* sp infectados con cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Todos los individuos fueron expuesta a una solución de conidios a una concentración de 1×10^6 con/ml. Cinco aislamientos generaron mortalidad por encima del 90%.

6.4. Bioensayos gruesos con cepas más agresivas.

Las cepas HBb005 y HMa005 que resultaron altamente infectivas en la fase anterior, fueron evaluadas mediante bioensayos gruesos. Los resultados de esta evaluación se muestran en el cuadro 3. La ventana de respuesta biológica (VRB) se encontró entre las dosis de 10^3 y 10^7 . La concentración de 10^7 correspondió a una dosis de 10^4 conidios/individuo, que fueron suficientes para una mortalidad del 100%. Para el caso de ambas cepas, la mortalidad se comenzó a presentar a partir del día cuatro, cada uno de los individuos muertos fue puesto en cámara húmeda para verificar infección mediante el desarrollo de micosis y la maduración de la infección hasta la conidiogénesis (Figura 14). Con la VRB obtenida, se prepararon diluciones seriales intermedias que fueron utilizadas en los bioensayos semifinos.

Cuadro 2. Mortalidad registrada en laboratorio mediante bioensayos gruesos evaluando las cepas HBa005 y HMa005 en contra de especímenes de *Menopon* sp. traídos de campo

CONCENTRACIÓN ¹	1.00E+07	1.00E+06	1.00E+05	1.00E+04	1.00E+03	1.00E+02	1.00E+01
DOSIS/INDIVIDUO ²	10000	1000	100	10	1	0.1	0.01
CEPAS	MORTALIDAD (%)						
HBb005	100	65	73	55	0	0	0
HMa005	100	68	76	53	0	0	0

¹Concentración expresada en conidios/ml

²Concentración expresada en conidios/individuo (se aplicó 1 µl a cada individuo)

6.5. Bioensayos finos evaluando dosis intermedias.

A partir de la ventana de respuesta biológica obtenida en laboratorio para bioensayos gruesos para las cepas HBa005 y HMa005 se realizaron diluciones seriales (cuadro 3). Los resultados de la mortalidad obtenida se presentan en este mismo cuadro. Mortalidad entre el 0 y 100% se presentó entre las dosis de 50 y 10000 esporas/individuo.

La mortalidad en el testigo fue de 0; las ninfas continuaron su desarrollo y 90% de ellas llegaron al estado adulto (datos no mostrados).

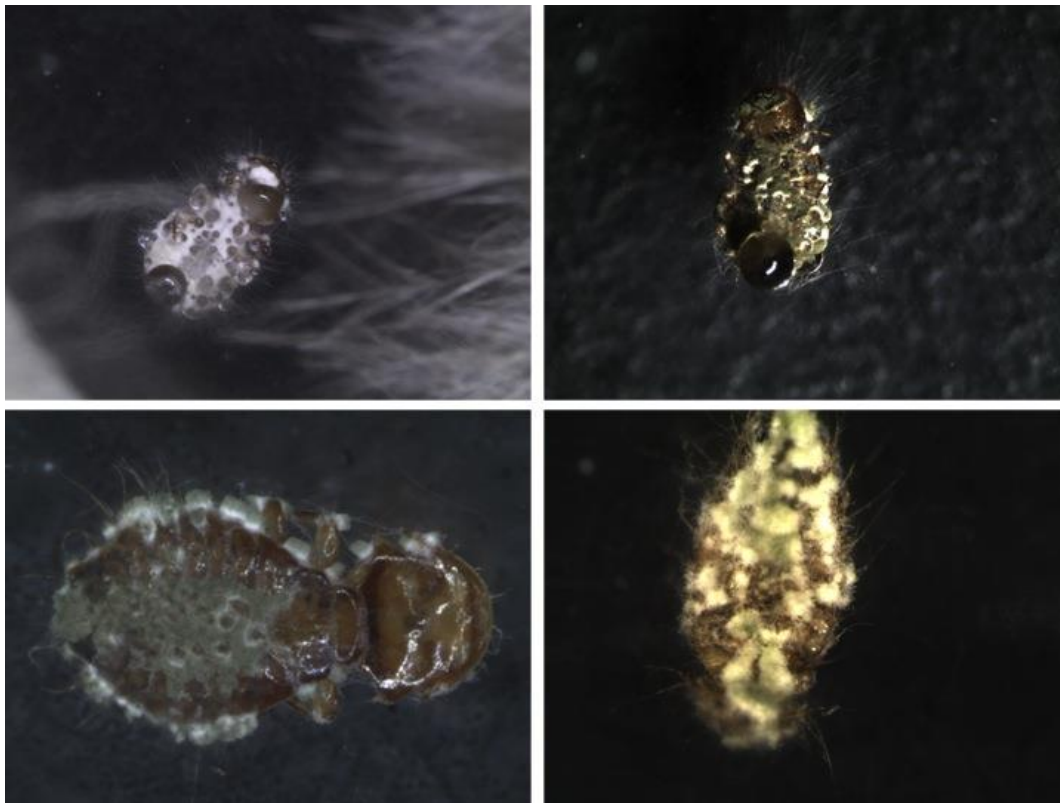


Figura 14. Individuos del género *Menopon* infectados con *B. bassiana* HBb005 (arriba izquierda) y *M. anisopliae* HMa005 (abajo derecha). La confirmación de la muerte por el entomopatógeno se verificó por observación de micosis y de la generación de conidios (arriba derecha y abajo izquierda).

Cuadro 3. Mortalidad de <i>Menopon</i> sp. obtenida en concentraciones intermedias.		
Dosis (conidios/individuo)	Mortalidad	
	HBb005	HMa005
10000	100	100
2500	85	87
800	78.33	72.4
200	56.2	59.45
50	29.3	40.3
10	0	0
0	0	0

Cuadro 3. Mortalidad registrada en bioensayos finos en laboratorio evaluando las cepas referidas. El valor de “0” corresponde al testigo negativo

Estos resultados se graficaron para obtener la línea de dosis/respuesta (Figura 15), donde se pueden observar los datos experimentales obtenidos, la línea de tendencia, así como el valor de **R**. Con los datos de mortalidad, se realizó un análisis probit para obtener el valor de la DL₅₀ teórico (ver cuadro 6). Se realizaron otras tres repeticiones para aproximarse al valor real de la DL₅₀ (cuadro 6).

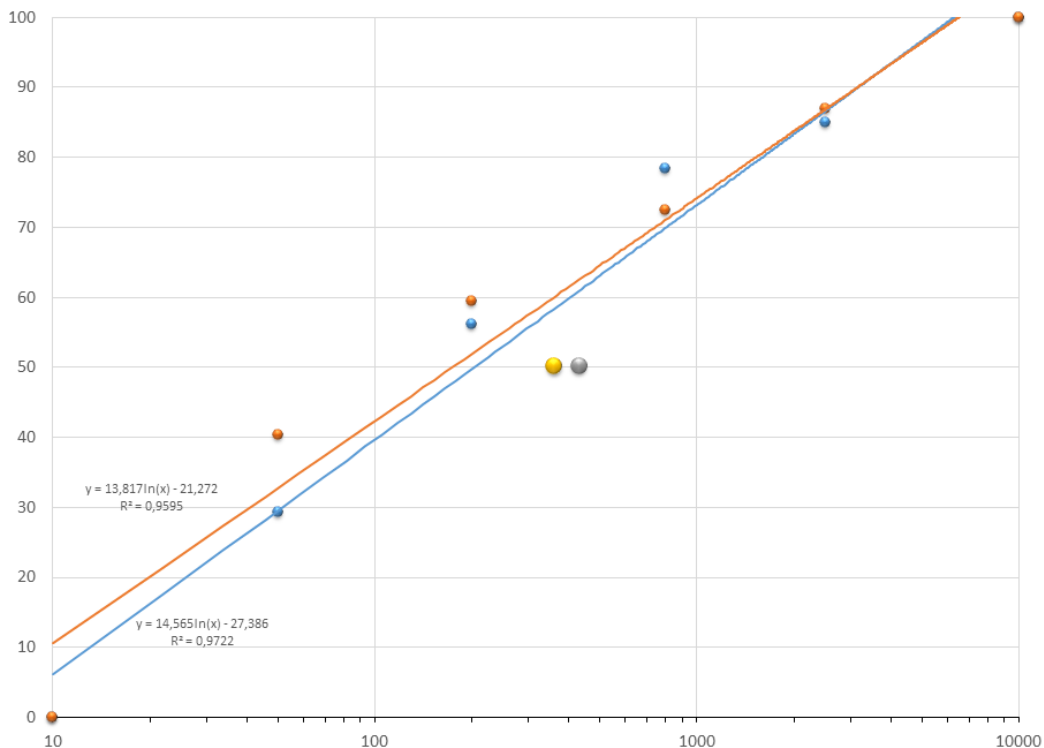


Figura 15. Gráfica de dosis/mortalidad para *Menopon* sp., en contra de las cepas HBb005 y HMA005. Se muestran en la gráfica los datos experimentales obtenidos para ambas cepas y el valor teórico obtenido a través de análisis probit (HBb005 esfera en amarillo, HMA005 esfera gris), así como la fórmula de la línea de tendencias.

Cuadro 4. Cuadro comparativo de análisis probit para calcular las DL₅₀ teóricas.

Cepas	CL ₅₀	L. inf.	L. sup.	Pendiente	χ^2	S	C.V.
HBb005	361.01	49.85	1675.5	1.09+/0.48	10.8	6.56	57
HMA005	496.84	192.59	11344.3	0.98+/0.31	9.8	5.79	49

Dónde: DL₅₀= Concentración Letal media;

L.inf. = Limite fiduciario inferior;

L. sup. = Limite fiduciario superior;

X²= Ji cuadrada

De acuerdo con estos resultados, ambas cepas resultaron en valores muy similares de DL₅₀, con 363.21 y 433.97 conidios/individuo (valor correspondiente al promedio de las 4 repeticiones totales), para las cepas HBb005 y HMa005, respectivamente. Al no haber referencias bibliográficas que nos permitan comparar este valor, pues no hay reportes de este tipo de bioensayos para malófagos, este reporte se convierte en el primer trabajo de referencia cuantitativa en cuanto a infectividad de hongos entomopatógenos en este grupo de insectos. En este sentido, términos generales y comparando valores obtenidos en el laboratorio para otras especies de insectos, podemos afirmar que la especie *Menopon* es muy susceptible a la infección por *Beauveria* y *Metarhizium*.

Cuadro 5. Cuadro comparativo de análisis probit (repeticiones) para calcular las DL₅₀ teóricas de los aislamientos HBb005 y HMa005 en contra de *Menopon* sp.

Cepas	CL ₅₀	L. inf.	L. sup.	Pendiente	χ^2	S	C.V.
HBb005	347,084	36.56	1749.39	0.889+/0.36	9.73	5,99	61
HMa005	392.74	189.45	12576.98	1.01+/0.593	10.45	6,55	53

Cepas	CL ₅₀	L. inf.	L. sup.	Pendiente	χ^2	S	C.V.
HBb005	468,096	49.78	1987.4	0.9865+/0.48	10.49	6.988	59
HMa005	389.58	176.35	11784.32	1.0047+/0.39	9.89	5.878	62

Cepas	CL ₅₀	L. inf.	L. sup.	Pendiente	χ^2	S	C.V.
HBb005	276,675	53.33	1756.29	1.76+/0.36	9.54	4.766	47
HMa005	456.75	184.22	11292.32	1.87+/0.67	10.72	6.487	57

Dónde: DL₅₀= Concentración Letal media;
 L.inf. = Límite fiduciario inferior;
 L. sup. = Límite fiduciario superior;
 X²= Ji cuadrada

6.6. Evaluación de formulados.

Todos los formulados fueron aplicados con el método que se describió en materiales y métodos. Una vez sometida el ave y el producto el producto espolvoreado sobre su cuerpo (ver figura 14), al ser liberada esta se sacudía, con lo que diseminaba el producto por todo el cuerpo.

Hay que señalar que en los testigos negativos (talco o arcilla sin conidios), al ser revisados en una primera evaluación, también se registraron malófagos infectados, ya que al estar conviviendo y estar sacudiéndose todo el tiempo debido a su conducta natural, el formulado de hongo era dispersado en todo el corral. Por esta razón, se decidió separar a las aves testigo a otro corral. En perspectiva esta es una característica muy positiva que abona al potencial de utilizar estos productos en gallinas de corral.



Figura 16. Aplicación de formulados a base de un inerte (talco industrial, diatomita y bentonita) y los aislamientos HBb005 y HMa005 de los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Marcado de aves de acuerdo al tratamiento (arriba izquierda); aplicación de producto formulado (arriba derecha y abajo izquierda); malófagos presentes en el cuerpo del ave (abajo derecha).

6.7. Aplicación de formulados a base de conidios y talco industrial, bentonita y diatomita como inertes.

El cuadro 6 resume los resultados obtenidos en aves de traspatio en la comunidad de Santo Domingo Kesté, evaluando las cepas HBB005 Y HMa005, (como ingrediente activo), cuando se les mezcló con talco, bentonita cálcica o diatomita (como materiales inertes). Para las fechas en las que se realizó la evaluación, las poblaciones de malófagos fueron altas (consideramos un valor alto en función de que en otras épocas, durante la realización de los bioensayos en laboratorio, fue muy difícil obtener individuos suficientes), ya que el valor promedio de parásitos por gallina fue de 86.7 individuos.

Todos los tratamientos resultaron en un muy buen control de las infestaciones naturales que presentaban las aves de traspatio. El tratamiento con menor porcentaje de mortalidad en campo fue HMa005 formulada en talco con una mortalidad promedio del 93.8%. Los mejores tratamientos fueron ambas cepas formuladas con diatomita como material inerte, donde se obtuvieron mortalidades del 100% en todas las unidades experimentales. Hay que señalar que ya en esta fase se contaron malófagos totales, sin considerar si estaba presente una o dos especies.

De acuerdo a los resultados no hubo diferencias (cuadro 6) significativas entre las cepas evaluadas ya que provocaron mortalidades en las poblaciones de malófagos en las unidades experimentales evaluadas, mayores al 98%. Así mismo, el material inerte utilizado, al ser muy homogéneos los resultados en la mortalidad obtenida en todos los casos, parece ser que la elección de alguno en particular no otorga ventaja alguna.

Cuadro 6. Mortalidad registrada en malófagos que parasitan gallinas de traspatio en la comunidad de Santo Domingo Kesté, evaluando formulaciones en polvo con tres materiales inertes y dos conidios.

INERTE	CEPA	Unidad experimental	Muestreo¹	Muestreo²	Mortalidad (%)	Mortalidad promedio
TALCO	HBb005	1	72	2	97	95,6
		2	97	6	94	
		3	89	4	96	
		4	78	5	93	
		5	84	2	98	
	HMa005	1	88	6	93	93,8
		2	91	5	94	
		3	79	6	92	
		4	84	3	96	
		5	87	5	94	
BENTONITA CALCICA	HBb005	1	94	94	99	99,4
		2	72	72	100	
		3	96	96	100	
		4	87	87	98	
		5	68	68	100	
	HMa005	1	79	79	99	99,2
		2	78	78	98	
		3	96	96	100	
		4	93	93	99	
		5	102	102	100	
DIATOMITA	HBb005	1	84	0	100	100
		2	87	0	100	
		3	89	0	100	
		4	76	0	100	
		5	86	0	100	
	HMa005	1	93	0	100	100
		2	84	0	100	
		3	89	0	100	
		4	97	0	100	
		5	103	0	100	

7. DISCUSIÓN

En el sureste mexicano, la cría de aves de traspatio representa uno de los principales recursos del medio rural. Entre los diversos productos que se pueden encontrar se encuentran los de costumbre que han sido heredados; de este modo elementos como frutales, plantas medicinales, cerdos y aves de corral representan productos con valor de cambio y de uso, sobre todo estos últimos que permiten contar con fuentes de proteína que son indispensables en la nutrición de la familia. Las condiciones y el número de animales que se pueden tener en traspatio generalmente son muy limitados como para hacer gastos extensivos en su manutención y sanidad, por lo que la presencia de parásitos y enfermedades no es infrecuente. Un problema grave en las enfermedades de las aves de traspatio es el originado por ectoparásitos, insectos pertenecientes al orden Phthiraptera y vulgarmente conocidos como malófagos o piojos de las aves (subórdenes Ischnocera y Amblycera), ectoparásitos permanentes en aves de traspatio y que se alimentan de plumas y escamas de piel.

A pesar de que los primeros trabajos realizados donde se da cuenta de los primeros registros realizados son los hechos hace más de 50 años por Ancona (1935), Zavaleta (1944, 1946) y Barrera (1961), no hay ningún trabajo que haga referencia a la presencia e identificación de especies de Phthiraptera en la Península de Yucatán. La primera necesidad que surgió en este trabajo fue la identificación y confirmación taxonómica a nivel especie, pues a pesar de que es bastante conspicua la morfología de *Menopon gallinae*, y que fue posible su identificación mediante claves, queda pendiente la identificación de al menos otras dos especies que se encontraban en forma minoritaria. No fue posible localizar algún especialista en el grupo, no obstante haber escrito a la Sociedad Mexicana de Entomología para alguna recomendación. De este modo la opción de una identificación molecular parece la más viable en este momento por los especialistas presentes en el campus Campeche.

Con respecto a la forma de obtención de los malófagos para la realización de los bioensayos, consideramos la utilización de una aspiradora (con las características mencionadas en el trabajo), es la herramienta más adecuada para recomendar ya que no causa daño a estos insectos y además se pueden obtener en un número suficiente en una infestación severa.

La alta susceptibilidad presentada por *Menopon sp.* a todas las cepas evaluadas de *M. anisopliae* y *B. bassiana* no tiene una referencia de comparación, por lo que los datos generados en este trabajo quedan como antecedente de esta condición. Todos los aislamientos fueron evaluados a una concentración de 1×10^6 conidios/ml, y provocaron una mortalidad por arriba del 70%. No obstante que cinco cepas provocaron mortalidad por encima del 92% (ver materiales y métodos), HMa005 y HBb005 provocaron un 100% de mortalidad. El criterio de aprovechamiento de ambas cepas fue que para las dos se encuentra estandarizado el proceso de producción masiva en el laboratorio y son producidas de manera permanente, esto facilitó la disponibilidad de material para el resto de las evaluaciones. La confirmación de la susceptibilidad hacia estas dos cepas quedó demostrada con los bioensayos finos, donde las CL50 fueron de 363.21 y 433.97 conidios/individuo para las cepas HBb005 y HMa005, respectivamente. Al no haber referencias bibliográficas que permitan comparar este valor, este reporte se convierte en la primera referencia cuantitativa de susceptibilidad de *Menopon sp.* en cuanto a infectividad de hongos entomopatógenos en este grupo de insectos. En este sentido, en términos generales y comparando valores obtenidos en el laboratorio para otras especies de insectos, podemos afirmar que *Menopon sp.* es muy susceptible a la infección por *Beauveria* y *Metarhizium*.

La validación en campo es el elemento esencial que permite determinar si algún producto funcionará en condiciones reales de explotación, y/o qué ajustes realizar. Solo se evaluó una dosis de campo, y tres materiales inertes (talco, bentonita y diatomita); sin embargo, esta resultó bastante efectiva. Ambas cepas presentaron muy buen control, con mortalidad mínima del 93% (HMa005 con la formulación talco como inerte) y máxima del 100% (ambas cepas en formulación con diatomita). Aun cuando en términos de control podríamos decir que cualquier tratamiento funcionó ya que las mortalidades de los ectoparásitos en las evaluaciones fueron mayores al 93 %, la mejor respuesta se obtuvo utilizando diatomita como inerte pues con ambas cepas se obtuvo mortalidad del 100%.

El uso de tratamientos químicos en el control de los ectoparásitos en aves de corral es un riesgo para la salud porque se acumulan residuos tóxicos en los productos y subproductos de las aves. Por lo anterior, alternativas como el uso de hongos entomopatógenos, que no han sido evaluados en estas especies de ectoparásitos, se presentan como una opción altamente viable. En este trabajo demostramos la alta susceptibilidad de *Menopon sp.* a varias cepas de hongos

entomopatógenos de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, y demostramos alto control efectivo en campo; al contar con una planta de producción de bioinsecticidas que facilita la producción masiva, el uso de estos hongos es altamente viable.

8 CONCLUSIONES

1. Al menos dos especies de malófagos se encuentran presentes en las aves de traspatio, identificadas por claves y morfología; *Menopon* sp. y *Lipereus* sp.

2. Todas las cepas evaluadas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* resultaron infectivas sobre *Menopon* sp.

3. La cepa HBb005 resultó la más agresiva en contra de *Menopon* sp., con un valor de 361 conidios/individuo, y HMa005 no tuvo un valor muy alejado, con 496.84 conidios/individuo. Este parece ser el primer trabajo de evaluación de hongos entomopatógenos para el control de Phthirápteros en aves de corral en el mundo.

4. Se concluye que las formulaciones a base de diatomita dieron el mejor resultado en las distintas aplicaciones de los formulados que se aplicaron, , debido a los porcentajes de mortalidad que así lo demostraron.

8. LITERATURA CITADA

Abdel-Ghaffar F¹, Sobhy HM, Al-Quraishy S, Semmler M. Field study on the efficacy of an extract of neem seed (Mite -Stop) against the red mite *Dermanyssus gallinae* naturally infecting poultry in Egypt. *Parasitol Res.* 2008 Aug;103(3):481-5. doi: 10.1007/s00436-008-0965-9. Epub 2008 May 15.

Al-Quraishy, Fathy Abdel-Ghaffar, Khaled A. S. Al-Rasheid, Julia Mehlhorn, Heinz Mehlhorn Observations on effects of a neem seed extract (MiteStop®) on biting lice (mallophages) and bloodsucking insects parasitizing horse *Parasitology Research*, 2012, Volume 110, Number 1, Page 335

Alves, B.S., Rossi L. S., Biaggioni L. R. Tamai, M. y Pereira, R., 2002. *Beauveria bassiana* yeast on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Invertebr Pathology* 81 (2002) 70-77.

Arrebola MJP. Evaluación de la exposición humana a compuestos orgánicos persistentes e identificación de factores de riesgo. Tesis de Doctorado Universidad de Granada, España, 2007.

Bardosa, J. V. Daemon, E. V. Bittencourt y Faccini, J. 1997. Efeitos de dois isolados do fungo *Beauveria bassiana* sobre a muda larval e a sobrevivencia de ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 6: 53-56.

Benz, G. 1987. Environment. In "Epizootiology of Insects Diseases" (J. R. Fuxa and Y Tanada, Eds.), pp. 177-215. Wiley, New York.

Bidochka, M.J.; Kamp, A.M.; Amritha de Croos, J.N. (2000): Insect pathogenic fungi: from genes to populations. *En Fungal Pathology* (Krosnstad, J.W., Ed). Kluwer Academy Publishers. Pp 171-193.

Bittencourt. V.R. 2000. Trials to control South American ticks with entomopathogenic fungi. *Annals New York Academy Sciences* 916: 555-558.

Boucias, D. G. Stokes., G. y Pendland, J. C. 1996. The effects of imidacloprid on the termite *Reticulitermes flavipes* and its interaction with the mycopathogen *Beauveria bassiana*. Pftanzenschutz-Nacrichten. Bayer 49, 103-144.

Borror Donald J., Triplehorn Charles A., Johnson Norman F. 1989. An Introduction to the Study of Insects. Saunders College Pub, 875 p.D.T. Booth,

Braga, G., Flint, S., Miller Ch., Anderson, A., y Roberts, D., 200. Variability in response to UB-B among species and strains of *Metarrhizium* isolated from sites at latitudes from 61° N to 54°S. J Invertebr Pathol 78, 98-108.

Bowman D. D. 2014. Georgis' Parasitology for Veterinarians, 10th ed. Elsevier Inc. Philadelphia, USA. 496p.

Carruthers, R. P., y Soper, M. S. 1987. Fungal diseases. In Epizootiology of insect diseases (J. R.. Fuxa and Y Tanada, Eds.), pp. 177-215. Wiley, New York.

Castro, A. B. Bittencourt, V. Daemn, E. y Viegas, E. 2000. Eficacia do fungo *Metarrhizium anisopliae* aplicado sobre larvas nao alimentadas de *Boophilus microplus* em pastagens. Rev. Univ. Rural Ser. Cienc. Da Vida 21.

Chen BL, 2008 Mullens BA de temperatura y humedad efectos sobre la supervivencia fuera del host del ácaro norte aves (Acari: Macronyssidae) y el piojo el cuerpo pollo (Phthiraptera: Menoponidae) J.Econ. Entomol.; 101. 637-646

Clayton DH, Drown DM 2005 Evaluación crítica de los cinco métodos para la cuantificación de los piojos de la masticación (Insecta: Phthiraptera) J. Parasitol2001; 87: 1291-1300

De Las Casas E, PK Harein, DR Deshmukh, BS Pomeroy. 1972. Bacteria and fungi within the lesser mealworm collected from poultry brooder houses. Environ Entomol 1, 27-30.

D.H. Clayton The influence of parasites on host sexual selection. Parasitology Today 7: 329-334. Parasitol. Today, 7 (1991), pp. 329–334 [http://dx.doi.org/10.1016/0169-4758\(91\)90211-6](http://dx.doi.org/10.1016/0169-4758(91)90211-6)

Colecciones-un Mey E. Bird recurso esencial para la recogida de los ectoparásitos, en particular, piojos masticadores. Bonner Zoolog.. Beitrage 2003; 51: 131-135.

D.H. Clayton, R.J. Adams, S.E. Bush Phthiraptera, the chewing lice. In Parasitic Diseases of Wild Birds. (pp. 513-526).

Cordero del Campillo. Parasitología Veterinaria. Primera edición Editorial McGRAW-HILL. Madrid. 1999. pag. 824.

Costa, S. y Glaugler; R. 1989. Influence of Solanum hosts plants on Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) susceptibility to the entomopathogen *Beauveria bassiana*. Environmental Entomology 18, 531-536.

Davidson G, Pheips K, Sunderland K, Pell J., Ball B., Shaw K., y Chandler D. 2003 Study of temperature-growth interaction of entomopathogenic fungi J Appl Microbiol.; 94(5):816-25.

D.H. Clayton, B.A. Block Experimental demonstration of the energetic cost of parasitism in free-ranging hosts Proc. R. Soc. B Biol. Sci., 253 (1993), pp. 125–129 <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.1993.0091>

Dresner, E. 1949. Culture and use of entomogenous fungi for the control of insects. Contr.b Boyce Thompson Inst.15:319 15:319-335.

E.S. Pablo, A.L.M. Sandoval, M.R. Fernández, E. Morales, O. Prado, G. Tellez and M.T.M. Quintero. 2009. Residual Activity of *Metarhizium anisopliae* or Plant Extracts on Laying Hens for *Menacanthus stramineus* Lice Control by Dipping. International Journal of Poultry Science 8 (9): 816-819.

Feng, Z., Carruthers, R. I. Roberts, D, W, and Robson, D. S. 1985. Age-specific dose-mortality effects of *Beauveria bassiana* on the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. J. Invertebr Pathol. 46, 259-264.

Frasen, J.J. 1990. Natural Enemies of Whiteflies: fungi in Whiteflies: their bionomic, Pest Status and management. Andover, Hants. UK, Intercept Ltd, 348 p.

Ferron, P., 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol. 23, 409-422.

Fuxa, J. R. 1987. Ecological considerations for use of entomopathogens in IPM. *Ann. Rev. Entomol.* 32, 225-251.

García, L.J.C. 2001. Componentes del huevo, proporción de lípidos y ácidos grasos de la yema de huevo de gallinas criollas y de cruce de Plymouth Rock x Rhode Island Red alimentadas con tres dietas. Tesis de Doctorado, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 58 pp.

García de León S, Mier T (2003) Panorama actual de la producción comercial y aplicación de bioplaguicidas en México. *Soc Rur Prod Medio Amb* 4: 65-81.

Gindin, G. Samish M, Zangi G. Mishoutchenko A, y Glazer I. The susceptibility of different species and stages of ticks to entomopathogenic fungi. *Exp. Appl. Acarol.* 2002; 28(1-4): 283-8.

Gómez-González, G., J.L. Ruíz-Guzmán y S. Bravo-González. 1998. Tecnología tradicional indígena y la conservación de los recursos naturales. Encuentro Latinoamericano sobre Derechos Humanos y Pueblos Indios. Mayo de 1998. Universidad de San Carlos. Guatemala.

González Marín RM, Montes Pérez R y Santos Flores J. 2003. Caracterización de las unidades para la conservación manejo y aprovechamiento sustentable de fauna silvestre en Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 2: 13- 21.

Hajek, A. E. y St Leger, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 293-322.

Hall, R. A. y Papierok, B. 1982. Fungal as biological agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology* 84; 205-240.

Hall, R. A. 1993. The use of pathogens to control whiteflies in Europe and the tropics: Possibilities for integrated control. Pp: 35-56. Memoria, II Taller Latinoamericano y del caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Managua, Nicaragua.

Hallsworth, J., y Magan N. 1999. Water and temperature relations of growth of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *J Invertebr Pathol.* Nov; 74(3); 261-6.

Harold, F.M. 1999. In pursuit of the whole hypha. *Fungal Gen. Biol.* 27; 128-133.

Inglis, G. Johson, D. y Goettel, M. 2001a. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptomulosporae) of grasshoppers under field conditions. *Environmental Entomology* 26. 400-409.

Jackson, T., Alves, S. B., Pereira, R.M. 2000. Success in biological control of soil-dwelling insects by pathogens and nematodes. In: Gurr G. Wratten S. (eds) *Biological control: measures of success*. Kluwer Academic. Dordrecht. The Netherlands. Pp. 271-296.

James, R. R. Buckner, J. and Freeman T.P. 2003. Cuticular lipids and silverleaf whitefly stage affect conidial germination of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *J. Invertebr Pathol* 84: 67-74.

Lara-Reyna, 2008, Moscas blancas, temas selectos sobre su manejo. México Campeche, Colegio de Posgraduados.

Lomelí F., J.R y Rodríguez N., S. 2002. Ácaros depredadores. III Curso de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. México, pp. 67-80.

Luz C. y Fargues, J. 1998. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on sporulation of *Beauveria bassiana* on cadavers of *Rhodnius prolixus*. *Biocontrol Sci. Technol.* 8, 323-334.

Maheshwari R, Bharadwaj, G. y Bhat, M., 2000. Thermophilic Fungi: Their Physiology and Enzymes. M. Kose, R. Mänd, A. Møller Sexual selection for white tail spots in the barn swallow in relation to habitat choice by feather lice *Anim. Behav.*, 58 (1999), pp. 1201–1205 <http://dx.doi.org/10.1006/anbe.1999.1249>

Microbiol. and Mol. Biol. Reviews. Vol. 64, No. 3 p. 461-488.

McDonald, D. y Nolan. 1995. Effects of relative humidity and temperature on *Entomophaga aulicae* conidium discharge from infected eastern hemlock Looper larvae and subsequent conidium development. *J. of Invertebr Pathol.* 65: 83-90.

MEYLING, N. V.; EILENBERG, J. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control*, v. 43, n. 2, p. 145-155, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.07.007>

Milner JR (2000). Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol News Inf.* 20: 47-50.

Motta-Delgado P. A. ET AL.2011: "Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas.", AMBI-AGUA, TAUBATÉ, vol. 6, , pages 77 - 90).

Nájera-Rincón M. B., Souza Brígida, Tapia Mendoza N., Fuentes-Chávez R. I., Coria-Avalos V. M., Muñoz-Flores H. 2010. Avances en el Manejo agroecológico de insectos plaga mediante la aplicación del control biológico, la diversificación de agroecosistemas y la capacitación a productores y técnicos. EN: XXXIII Congreso de Control biológico, en Facultad de Agrobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Michoacán, México. 100-104 p.

Palma, K. P. Johnson & D. H. Clayton. (Ed). The chewing lice: world checklist and biological overview. Illinois Natural History Survey Special Publication 24: 1 – 448

Pesticide residues in food—2003, Evaluations Part I – Residues.

Pinto, C.; Possati, M.; Villaça, A.; Guerim, L.; Sá-Freire, L. & Serra-Freire, N.M., 2001. Ocorrência de Malófagos em galinhas caipiras e sua relação com o padrão de coloração da plumagem. *Entomol. Vect.* 8:295-301

Precio RD, Hellenthal RA, Palma RL, Johnson KP, Clayton DH Illinois Natural History Survey Publicación Especial; 2003. Los piojos masticadores: Lista Mundial y general Biológica.

Price R. D., R. A. Hellenthal & R. L. Palma. 2003. World checklist of chewing lice with host associations and keys to families and genera. En: Price R. D., R. A. Hellenthal, R. L.

Pronczuk J. Exposición a plaguicidas y contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en la infancia: como, cuando y donde, cuáles son las consecuencias? OMS, Ginebra 2004.

Rose, E., Harris, R., y Glare, T. 1999. Possible pathogens of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) and their potential as biological control agents. *New Zealand Journal of Zoology*, Vol. 26: 179-190.

SAGARPA 2013. Estudios de situación actual y perspectiva. http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Paginas/estudios_sap2.aspx

- Samish, M. y J. Rehacek, 1999. Pathogenes and predators of ticks and their potential in biological control review. *Annualreview of Entomology*, 44:159-182
- Segura del Moral, Ignacio. 2004. Caracterización de aislamientos del hongo *Beauveria bassiana* (Balls.) Bullí y Evaluación de la persistencia de formulados en laboratorio. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo
- Sideney B., Cindia M., Neiva M., y Azevedo, J. 2001. Pathogenicity of four strains of entomopathogenic fungi against the bovine tick *Boophilus microplus*. *A. J. V. R.* 62(9) PP1478-1480.
- Smith, K. E. Wall, R. y French, N. P., 2000. The use of entomopathogenic fungi for the control of parasitic mites, *Psoroptes* spp. *Veterinary Parasitology* 92: 97-105.
- Soulsby, E. J. L. (1987). *Parasitología y Enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7ma edición Nueva editorial Interamericana. 823p
- St. Leger., R. y Staples, R., 1992. Molecular- cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading-protease structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Eur. J. Biochem.* 204, 991-1001.
- Tamai, M. A., Alvas, N. B. Y Neves, P.S. 1999. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals) Buill. Ao ácaro- *Tetranychus urticae* Koch. *Scientia Agricola* 56: 285
- Tanada, Y.; Kaya, H. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press. San Diego, California. (USA). 666, 616 p.
- Thomas, K., KHACHATOURIANS, G., y Ingledew, W., 1987. Production and propiedades of *B. bassiana* conidia cultivated in submerged culture. *Can. J. Microbiol.* 33; 12-20. V
- Van der Geest, L., Elliot, S., Breeuwer, J., y Beerling, E. 2000. Diseases of mites. *Exp and Appl Acarol.* 24: 497-560.
- N.J. Thomas, D.B. Hunter, C.T. Atkinson (Eds.), *Parasit Dis Wild Birds* (1st ed.), Wiley-Blackwell, Iowa, EUA (2008), pp. 515–526

Varela Fuentes, S. E. Manejo integrado de plagas. En <http://uacmac-posgrado.uat.mx/manejointegrado.htm> (Consultado: 01/09/2003).

Vestergaard, S., Gillespie, A. T. Butt, T. M., Schreiter, G., Eilenberg, J., 1995. Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarrhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Sci. Technol.* 5, 185-192.

Wessels, J.G. H. 1994. Developmental regulation of fungal cell wall formation. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32; 413-437.

Wilson RT. 2012. Small animals for small farms. Second edition. FAO. Diversification Booklet 14. Rome. <http://www.fao.org/docrep/015/i2469e/i2469e00.pdf>

Zapata-Pérez, E. 2009. Conteo bacteriano en órganos del aparato digestivo de pollos infectados con *Salmonella typhimurium* con adicción de extracto de *Chrysactinia mexicana*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí. 71 pp.

Zhioua, E. Browning, M., Jonson, P., Ginsberg, H. 1997. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Metarrhizium anisopliae* (Deuteromycetes) to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J. Parasitol.* 83, 815-818.

Zlotorzycza J, Eichler W, Ludwig HW (1974) Taxonomie und Biologie der Mallophagen und Läuse mitteleuropäischer Haus- und Nutztiere. Parasitologische Schriftenreihe. Gustav Fischer, Jena, pp 98, 125–128.