



Revista MVZ Córdoba
ISSN: 0122-0268
ISSN: 1909-0544
revistamvz@gmail.com
Universidad de Córdoba
Colombia

Control de *Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans* con *Metarhizium anisopliae* en ganado naturalmente infestado

de Velasco-Reyes, Isabel; Cruz-Vázquez, Carlos; Ángel-Sahagún, Cesar; Medina-Esparza, Leticia; Ramos-Parra, Miguel

Control de *Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans* con *Metarhizium anisopliae* en ganado naturalmente infestado

Revista MVZ Córdoba, vol. 24, núm. 1, 2019

Universidad de Córdoba, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69357845009>

DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1203>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

Control de *Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans* con *Metarhizium anisopliae* en ganado naturalmente infestado

Control of *Haematobia irritans* and *Stomoxys calcitrans* with *Metarhizium anisopliae* in naturally infested cattle

Isabel de Velasco-Reyes

Tecnológico Nacional de México, México

cruval8@yahoo.com.mx

 <http://orcid.org/0000-0003-3071-1367>

DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1203>

Redalyc: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69357845009>

Carlos Cruz-Vázquez

Tecnológico Nacional de México, México

cruval8@yahoo.com.mx

 <http://orcid.org/0000-0003-0970-6811>

Cesar Ángel-Sahagún

Universidad de Guanajuato, México

cruval8@yahoo.com.mx

 <http://orcid.org/0000-0001-5370-6400>

Leticia Medina-Esparza

Tecnológico Nacional de México, México

cruval8@yahoo.com.mx

 <http://orcid.org/0000-0002-7999-8365>

Miguel Ramos-Parra

Tecnológico Nacional de México, México

cruval8@yahoo.com.mx

 <http://orcid.org/0000-0003-3501-5870>

Recepción: 04 Septiembre 2017

Aprobación: 02 Abril 2018

Publicación: 03 Diciembre 2018

RESUMEN:

Objetivo. Evaluar la eficacia de la cepa 135 de *Metarhizium anisopliae* (Ma135) aplicada por aspersión para reducir la infestación simultánea de *Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans* en ganado naturalmente infestado mantenido en un sistema de producción de leche que combina el pastoreo y el confinamiento en corrales. **Materiales y métodos.** Se aplicó una formulación acuosa de Ma135 (1x10⁸ conidios/ml) a un grupo de nueve vacas en seis ocasiones con un intervalo de siete días, mientras que el grupo control recibió una solución compuesta por agua, Monooleato de polioxietileno sorbitán en solución 0.01% y un adyuvante agrícola al 0.1%. Se estimó diariamente el índice de infestación para cada mosca de forma independiente; la efectividad de la formulación se calculó usando la fórmula de Abbott. **Resultados.** La formulación de Ma135 tuvo una eficacia en el control de la infestación de 58% para el caso de *H. irritans* y de 69% para *S. calcitrans*, tomando en cuenta las seis semanas de estudio, además de que no causó ningún efecto negativo en la salud de los animales. La reducción del índice de infestación se observó desde la primera semana post-tratamiento ($p < 0.05$) y mantuvo esta tendencia durante todo el estudio. **Conclusiones.** El presente estudio ha demostrado

NOTAS DE AUTOR

Km. 18 carretera Aguascalientes a San Luis Potosí, 20330, El Llano, Aguascalientes, México.

el potencial de la cepa Ma135 para reducir la infestación simultánea de ambas moscas hematófagas en el ganado bajo condiciones de infestación natural.

PALABRAS CLAVE: Control biológico, hongos entomopatógenos, mosca de los cuernos, mosca del establo.

ABSTRACT:

Objective. Assess the efficacy of *Metarhizium anisopliae* strain 135 (Ma135) applied by aspersión to reduce simultaneous infestation of *Haematobia irritans* and *Stomoxys calcitrans* in naturally infested cattle maintained in a production system which combine grazing and confinement in pens. **Materials and methods.** Was applied an aqueous formulation of Ma135 (1x10⁸ conidia/ml) on a nine cows group in six occasions with seven days interval, while the control group received the same formulation without conidial content. The infestation index was estimated daily for each fly independently; the effectiveness of the formulation was calculated using the Abbott's formula. **Results.** The Ma135 formulation had a reduction in the fly population of 58% for *H. irritans* and 69% for *S. calcitrans*, taking into consideration the six study weeks, in addition to causing no negative effects on animal health. An Infestation index reduction was observed from the first week post-treatment ($p < 0.05$) and maintained this trend throughout the study. **Conclusions.** The present study has demonstrated the potential of strain Ma135 to reduce the simultaneous infestation of both hematophagous flies in cattle under conditions of natural infestation.

KEYWORDS: Biological control, entomopathogenic fungi, horn fly, stable fly.

INTRODUCCIÓN

Las infestaciones por moscas hematófagas representan un problema sanitario y económico de mayor importancia en la ganadería dedicada tanto a la producción de leche como de carne; las de mayor importancia en la ganadería son la mosca del establo, *Stomoxys calcitrans* (L.) y la mosca de los cuernos, *Haematobia irritans* (L.), ambas se encuentran ampliamente distribuidas en el Continente Americano y son responsables de importantes pérdidas en la producción además de ser eficientes vectores de diferentes microorganismos. Los principales daños que provocan son ocasionados por sus hábitos hematófagos, los cuales causan efectos directos por la pérdida de sangre además de las alteraciones que esta actividad provoca en la conducta y bienestar de los animales, así como, la pérdida de energía que le ocasiona al animal repeler los ataques de estos insectos; estos daños varían en su importancia dependiendo de la intensidad de la infestación, pero sus efectos quedan de manifiesto al causar un decremento de la producción de leche y ganancia de peso, además de los gastos ocasionados cuando se aplica alguna medida de control químico, físico o biológico (1,2).

H. irritans es considerada una mosca que afecta al ganado en pastoreo ya que este sistema de producción favorece su ciclo biológico, en cambio, *S. calcitrans* es considerada una plaga del ganado mantenido en confinamiento, en establos lecheros y corrales de engorde; sin embargo, cuando el ganado es mantenido en sistemas de producción que combinan el pastoreo y la estabulación así como en sistemas de pastoreo con prácticas de suplementación que favorecen la reproducción de la mosca del establo, ambas moscas pueden estar presentes parasitando al ganado (1,2,3).

La infestación por moscas hematófagas es controlada principalmente mediante el uso de insecticidas de diferentes familias químicas y bajo diversas formulaciones, sin embargo, su uso generalizado y sin la adecuada asesoría técnica ha provocado la aparición del fenómeno de resistencia en diversas poblaciones tanto en *H. irritans* como en *S. calcitrans*; la aplicación de insecticidas tiene también un impacto en el medio ambiente y en la salud pública, por lo que es recomendable reducir su uso en la producción de alimentos de origen animal (4,5,6,7).

El control biológico mediante el uso de hongos entomopatógenos representa una alternativa de control no químico con mínimo riesgo para el ambiente, los vertebrados y el ser humano (8); *Metarhizium anisopliae sensu lato* (s.l) es un hongo entomopatógeno que ha demostrado su eficacia como agente de biocontrol en *H. irritans* y en *S. calcitrans*, tanto en estados inmaduros como en adultos bajo condiciones *in vitro* (9,10,11,12,13), de igual forma bajo condiciones de infestación natural y controlada (11,14,15,16).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de la cepa Ma135 aplicada por aspersión para reducir la infestación simultánea de *H. irritans* y *S. calcitrans* en ganado naturalmente infestado mantenido en un sistema de producción de leche que combina el pastoreo y el confinamiento en corrales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. Este trabajo se realizó en la unidad de producción ganadera del Instituto Tecnológico El Llano, ubicada en el municipio del mismo nombre en Aguascalientes, México. El sitio se encuentra a una altura de 2020 msnm, con clima semiárido, lluvias en verano, y una temperatura media de 15.5°C.

Hongo entomopatógeno. La cepa Ma135 se aisló de corrales de alojamiento en una unidad comercial de producción de leche ubicada en el municipio de Jesús María, en Aguascalientes, México, utilizando larvas de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) como huésped reservorio. La identificación taxonómica se basó en criterios morfológicos de las estructuras reproductivas; esta cepa ha demostrado una alta patogenicidad en adultos de *S. calcitrans* y *Musca domestica* bajo condiciones de laboratorio y forman parte de la colección de hongos entomopatógenos del Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes (13).

La cepa se cultivó en el laboratorio de acuerdo con el protocolo previamente descrito por Cruz-Vázquez et al (15). La cepa fue cultivada en Agar Dextrosa Sabouraud (DIBICO, México), enriquecido con 1% de extracto de levadura (DIBICO, México), conteniendo 500 ppm de cloranfenicol (Tecnofarma, México), y fue incubado a 25±1°C por 21 días en un régimen de 12:12 hr luz/obscuridad. Los conidios fueron cosechados por raspado y suspendidos en agua destilada estéril conteniendo 0.1% (v:v) de Monooleato de polioxietileno sorbitán (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO), y homogenizados en vortex. La viabilidad de las esporas, la cual excedió del 98%, fue determinada sembrando 100 µl de la suspensión de conidios en Agar Dextrosa Sabouraud contando las colonias a las 48 h. La reproducción masiva fue desarrollada en granos de arroz de acuerdo con lo descrito por Ángel-Sahagún et al (17).

Prueba de campo. Se formaron dos grupos con nueve vacas Holstein cada uno, las cuales no recibieron ningún tratamiento químico para el control de la infestación por moscas durante el año previo a esta prueba. El manejo de los animales fue el siguiente: entre las 8:00 y las 16:00 horas cada grupo se mantuvo en un área de 5000 m² con pastura Rye Grass (*Lolium perenne*), depósitos de agua para bebida y sombra natural provista por árboles nativos, los grupos estaban separados uno de otro por 500 m. A las 16:00 horas los animales fueron trasladados a la sala de ordeño y una vez finalizado este, cada grupo fue alojado en diferente corral, los cuales tenían 500 m² de superficie cada uno y se encontraban separados uno de otro por 50 m; ambos corrales tenían piso de tierra, con área de sombra, comederos y bebederos de concreto, proveyendo a cada animal de 40 m²; los animales recibieron diariamente un suplemento alimenticio después del ordeño de la tarde.

La prueba tuvo una duración de 42 días (seis semanas), iniciando la segunda semana de agosto y terminando la tercera semana de septiembre. El primer grupo fue tratado con la formulación acuosa de Ma135, compuesta por 1 x 10⁸ conidios/ml, agua, Monooleato de polioxietileno sorbitán en solución 0.01% (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO) y un adyuvante agrícola al 0.1% (Inex-A, Cosmolcel, Mexico). Cada animal del grupo tratado recibió cinco litros de la formulación, preparada 30 minutos antes de administrarla por el sistema de aspersión usando un pulverizador de espalda con una boquilla de cono a una presión de aproximadamente 40 libras / pulgada, en seis ocasiones con intervalos de siete días entre los tratamientos; el intervalo entre aplicaciones fue similar al utilizado en estudios previos (15,16). El grupo de control recibió la misma formulación, pero sin el contenido de conidios. Las aspersiones se realizaron entre las 19:00 y las 20:00 horas, para evitar la luz solar. El Comité de Uso y Cuidado de Animales del Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes aprobó este proyecto y se brindó una adecuada atención veterinaria a todos los animales bajo estudio.

Estimación de la infestación por *H. irritans*. Se estimó diariamente el índice de infestación (número promedio de moscas por animal) mediante el recuento directo de las moscas adultas encontradas descansando

o alimentándose en los animales de acuerdo a lo descrito por Cruz-Vázquez et al (16), que consistió en fotografiar sólo un lado del cuerpo de cada animal (Incluyendo las regiones de la cabeza, el cuello, la espalda, los costados y las extremidades), utilizando una cámara digital con una función de zoom óptico 5x. Esta actividad se realizó diariamente entre las 8:00 y las 9:00 horas, siempre por la misma persona, que desconocía el estado de las vacas. El recuento del número de moscas se realizó mediante el análisis de las imágenes en una computadora. El número obtenido se multiplicó por dos para obtener una estimación del número total de moscas; cada vaca fue considerada una unidad experimental.

Estimación de la infestación por *S. calcitrans*. Se estimó diariamente el índice de infestación mediante el recuento directo de las moscas que se encontraran descansando o alimentándose en el frente de las patas delanteras del animal, observándolo lateralmente, con la ayuda de binoculares cuando fue necesario (15); los conteos se realizaron diariamente entre las 14:00 y las 16:00 horas, siempre por la misma persona, que desconocía el estado de las vacas; cada vaca fue considerada una unidad experimental.

Factores climáticos. Esta información se registró de acuerdo a lo reportado por la estación meteorológica de El Llano, Aguascalientes; las mediciones incluyeron el promedio diario de temperatura ($T^{\circ}\text{C}$), el promedio diario de la humedad relativa (HR%) y la precipitación (Pp) durante el período de estudio.

Análisis estadístico. Los datos generados durante el período de estudio fueron analizados mediante ANOVA y la prueba t de Student ($p < 0.05$), con el objetivo de demostrar las diferencias entre los grupos en cada semana de estudio utilizando el índice promedio de infestación de la semana correspondiente; estos cálculos se desarrollaron para *H. irritans* y *S. calcitrans* de manera independiente. Se utilizó la fórmula de Abbott para determinar la eficacia de la formulación de Ma135, identificando el porcentaje de reducción en el índice de infestación promedio para cada semana evaluada (14,15,16).

RESULTADOS

La formulación acuosa de Ma135, mostró una eficacia para controlar la infestación natural por *H. irritans* en el ganado bajo estudio de 58%, reduciendo el índice de infestación semanal de 357 a 150 en las seis semanas de duración de la prueba. El índice de infestación semanal fue estadísticamente diferente entre los grupos ($p < 0.05$) en cada una de las seis semanas de estudio; la eficacia del formulado fue más importante conforme se sucedieron las aplicaciones, siendo mayor conforme se acumularon más aplicaciones (Tabla 1). La eficacia de la formulación en el ganado tratado se observó desde la primera semana posterior a su aplicación y mantuvo la tendencia de reducción del índice de infestación durante todo el estudio, mientras que el grupo control tuvo un índice de infestación siempre mayor al del grupo tratado (Figura 1). La población de *H. irritans* el día previo a la aplicación del tratamiento se estimó con un índice de infestación de 377 moscas/animal en el grupo tratado y de 364 en el grupo control; el último día de la prueba el grupo control tuvo un índice de infestación de 275 y el tratado de 135.

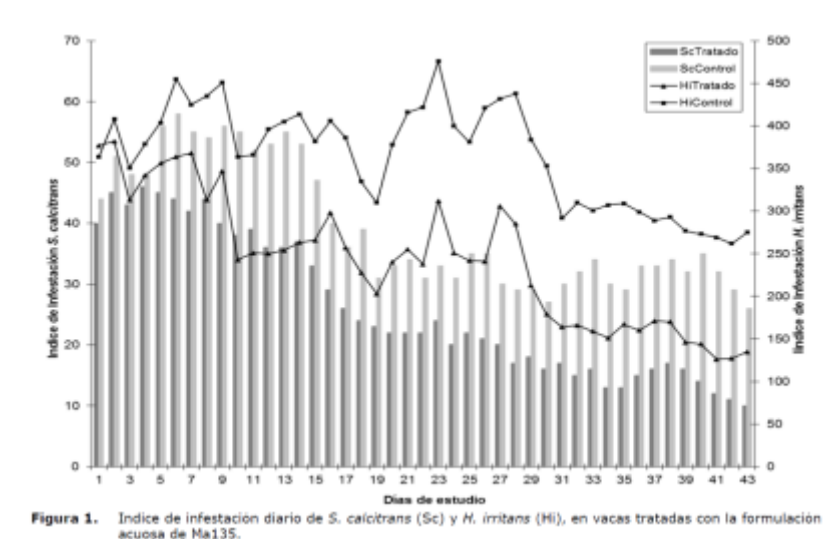


FIGURA 1

Figura 1. Índice de infestación diario de *S. calcitrans* (Sc) y *H. irritans* (Hi), en vacas tratadas con la formulación acuosa de Ma135.

TABLA 1

Tabla 1. Índice de infestación promedio y eficacia de la formulación acuosa de Ma135 aplicada sobre vacas Holstein naturalmente infestadas con *H. irritans*.

Semana de estudio	Grupo control	Grupo tratado	Diferencia ¹	Efectividad (%) ²
1	398 ^a	357 ^b	41	10.16
2	404 ^a	274 ^b	130	32.14
3	373 ^a	250 ^b	123	33.14
4	424 ^a	268 ^b	156	36.87
5	333 ^a	178 ^b	155	46.59
6	283 ^a	150 ^b	133	47.13

Literales diferentes (a,b) en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$). ¹Diferencia en el índice de infestación promedio entre el grupo control y grupo tratado. ²Porcentaje de reducción del índice de infestación promedio.

La formulación acuosa de Ma135, fue eficiente para controlar la infestación natural por *S. calcitrans* en el ganado bajo estudio en un 69%, reduciendo el índice de infestación semanal de 44 a 13 en las seis semanas de duración de la prueba. El índice de infestación semanal fue estadísticamente diferente entre los grupos ($p < 0.05$) en cada una de las seis semanas de estudio; la eficacia del formulado fue más importante conforme se sucedieron las aplicaciones, siendo mayor conforme se acumularon más aplicaciones (Tabla 2). La eficacia de la formulación en el ganado tratado se observó desde la primera semana posterior a su aplicación y mantuvo la tendencia de reducción del índice de infestación durante todo el estudio, mientras que el grupo control tuvo un índice de infestación siempre mayor al del grupo tratado (Figura 1). La población de *S. calcitrans* el día previo a la aplicación del tratamiento se estimó con un índice de infestación de 46 moscas/animal en

el grupo tratado y de 44 en el grupo control; el último día de la prueba el grupo control tuvo un índice de infestación de 26 y el tratado de 10.

TABLA 2

Tabla 2. Índice de infestación promedio y eficacia de la formulación acuosa de Ma135 aplicada sobre vacas Holstein naturalmente infestadas con *S. calcitrans*.

Semana de estudio	Grupo control	Grupo tratado	Diferencia ¹	Efectividad (%) ²
1	51 ^a	44 ^b	7	15.27
2	54 ^a	39 ^b	15	28.57
3	35 ^a	23 ^b	12	33.47
4	32 ^a	21 ^b	11	34.84
5	29 ^a	16 ^b	13	45.34
6	30 ^a	13 ^b	17	55.48

Literales diferentes (a,b) en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

¹Diferencia en el índice de infestación promedio entre el grupo control y grupo tratado.

²Porcentaje de reducción del índice de infestación promedio.

El ganado se mantuvo sano durante el periodo de estudio además de que no se observó ningún signo de reacciones adversas a nivel local o sistémico.

Las condiciones climáticas imperantes en el periodo de estudio fueron las siguientes: temperatura promedio 19.9°C, con un rango de 17.5 a 21.8°C; el inicio del otoño sucedió el día 40 de la prueba, sin embargo, la menor temperatura promedio diaria sucedió el día 35. La HR promedio fue de 66.7%, con un rango de 47 a 91%. En el periodo de estudio se presentaron lluvias moderadas los días 15 y 16 de la prueba (14.2 y 11.4 mm) y lluvias fuertes los días 34 y 40 (29.8 y 23.9 mm).

DISCUSIÓN

El control de la infestación por moscas hematófagas en el ganado usando hongos entomopatógenos representa una alternativa de control biológico que puede ayudar a limitar el uso de insecticidas químicos y sus efectos negativos en la salud pública y el medio ambiente (5,8,18).

Los resultados obtenidos en el presente estudio, han permitido identificar la capacidad de la cepa Ma135 para controlar la infestación natural de ambas moscas hematófagas en un sistema que combina el pastoreo y el confinamiento; este modelo de producción se utiliza con frecuencia en granjas lecheras para optimizar los recursos. Este ensayo tuvo una duración de 42 días, comenzando el 12 de agosto, con la idea de iniciar la intervención antes de alcanzar el pico poblacional reportado para ambas moscas en la región (15,16).

La cepa Ma135, mostró una efectividad en el periodo de seis semanas de duración de la prueba de 58%, en el caso de la infestación causada por *H. irritans*, y de 69% para la infestación por *S. calcitrans*; la efectividad del formulado fue evidente a partir de la primera semana post-tratamiento y mantuvo una tendencia a la reducción del índice de infestación a lo largo de la prueba, lo que también es indicativo del efecto aditivo que tiene la aplicación múltiple del formulado, como ya fue sugerido en estas moscas hematófagas (15,16). No se observaron efectos adversos en el ganado posterior a la aplicación del formulado, situación que ha sido

reportada por otros estudios desarrollados en ganado infestado con garrapatas o moscas que fueron tratados con formulaciones de *M. anisopliae* (15,16,19,20).

No existe en la literatura información sobre el uso de una formulación de hongos entomopatógenos para el control simultáneo de *H. irritans* y *S. calcitrans* bajo condiciones de infestación natural; sin embargo, se han evaluado diferentes formulaciones acuosas de *M. anisopliae* en condiciones de infestación natural y controlada de *H. irritans* con resultados promisorios. Mochi et al (10), aplicaron por aspersión una formulación acuosa de *M. anisopliae* E9 (3×10^{10} conidios/ml), cuatro veces con intervalo de 5 días a ocho animales infestados de forma natural con *H. irritans*, reduciendo la infestación por encima del 50%.

En otro estudio, Galindo-Velasco et al (14), en un estudio con infestación controlada de *H. irritans* encontraron una reducción de infestación de hasta 100% a los 13 días post-tratamiento, utilizando diferentes cepas a una concentración de 1×10^8 unidades formadoras de colonias/ml aplicadas por aspersión. Recientemente, Cruz-Vázquez et al (16), estudiaron la eficacia de la formulación acuosa de la cepa Ma134 a una concentración de 1×10^8 conidios/ml, aplicada por aspersión en cuatro ocasiones con un intervalo de siete días en vacas Holstein infestadas de forma natural con *H. irritans*, en este estudio la reducción fue 68.6%. En el caso de *S. calcitrans*, solo existe la evaluación de la formulación acuosa de Ma134, aplicada por aspersión a una concentración de 1×10^8 conidios/ml cuatro veces con intervalo de siete días a ocho animales infestados de forma natural; en el ensayo, la eficacia de la formulación acuosa fue del 73% (15).

La eficacia de Ma135 fue ligeramente inferior a la informada previamente con la cepa Ma134 en estudios desarrollados en el mismo sitio experimental por nuestro grupo; sin embargo, la eficacia de la formulación acuosa de Ma135 fue superior al 55% y durante un período de tiempo más largo (seis semanas frente a cuatro semanas). La diferencia entre los estudios puede deberse a las condiciones en que se desarrolló el ensayo actual; entre los cuales debemos mencionar los días de duración, número de aplicaciones, la curva de abundancia de población de las moscas que se relaciona con las condiciones climáticas, y la variabilidad a la que puede estar sujeta la efectividad de la formulación que depende de varios factores ambientales, que previamente se han discutido, como la radiación solar, la temperatura, la lluvia y la humedad ambiental (15,16,21).

La formulación se diseñó para proteger los conidios del efecto de la luz ultravioleta incorporando el adyuvante agrícola, además, la hora del día en que se aplicó la formulación también ayudó a proteger los conidios; el adyuvante también permitió la adhesión de los conidios al pelo de los animales y al cuerpo de las moscas. Las condiciones climáticas imperantes en el periodo de la prueba tendieron a mantener una elevada humedad relativa e incluso se presentaron lluvias en cuatro ocasiones, estas lluvias no coincidieron con las aplicaciones del formulado al ganado; consideramos que las características de la formulación y las condiciones climáticas presentes durante el periodo de estudio ayudaron a promover la eficacia del formulado. Además, la cepa Ma135 se aisló del suelo del estado de Aguascalientes y, por lo tanto, debe adaptarse a las condiciones ambientales de la región. La unidad de producción lechera de la cual se aisló la cepa Ma135 se encuentra a 45 km del Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes; aquel sitio está a 1890 msnm, con un clima semi-cálido seco, lluvias de verano y una temperatura promedio de 17.4°C . La curva poblacional del grupo control se mantuvo siempre con un mayor índice de infestación que el grupo tratado y su comportamiento fue el esperado de acuerdo a los antecedentes previos reportados en el área y en el sitio donde se desarrolló el estudio (15,16).

El uso de *M. anisopliae* representa una alternativa de control no químico con mínimo riesgo para el ambiente, los vertebrados y el ser humano (8), que permite limitar la aplicación de insecticidas químicos, pero no elimina la necesidad de que las unidades de producción desarrollen trabajos básicos de manejo del estiércol y saneamiento ambiental, para impedir el desarrollo de los estados inmaduros de las moscas. En conclusión, el presente estudio ha demostrado el potencial de la cepa Ma135 preparada como una formulación acuosa con la adición de un adyuvante agrícola, para controlar la infestación natural y simultánea de las moscas hematófagas *H. irritans* y *S. calcitrans* en el ganado, sin causar ningún efecto adverso en la salud de los animales.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno de los autores tiene conflicto de intereses en lo que respecta a este artículo.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Dr. Roberto Lezama Gutiérrez (Universidad de Colima) por la ayuda prestada en el desarrollo de este estudio.

REFERENCIAS

1. Taylor D, Moon R, Mark D. Economic impact of stable flies (Diptera: Muscidae) on dairy and beef cattle production. *J Med Entomol.* 2012; 49:198–209. DOI: <https://doi.org/10.1603/ME10050> PMid:22308789
2. Ibarra VF, Figueroa CJA, Quintero M. editores. *Parasitología Veterinaria volumen III artrópodos.* Universidad Nacional Autónoma de México; CDMX México; 2012. URL Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Gerardo_Rivas/publication/280491915_Introduccion_y_generalidades_de_los_Artrópodos/links/55b65f590aed621de0352fd/Introduccion-y-generalidades-de-los-Artrópodos.pdf
3. Dominghetti FST, Barros ATM, Soares CO, Cançado PHD. *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) outbreaks: current situation and future outlook with emphasis on Brazil. *Braz J Vet Parasitol.* 2015; 24:387-395. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015079> PMid:26689177
4. Kunz SE, Kemp DH. Insecticides and acaricides resistance and environmental impact. *Rev Sci Technol.* 1994; 13:1249–1286. DOI: <https://doi.org/10.20506/rst.13.4.816>
5. Oyarzún MP, Quiroz A, Birkett MA. Insecticide resistance in the horn fly: alternative control strategies. *Med Vet Entomol.* 2008; 22:188-202. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2008.00733.x> PMid:18816268
6. Pitzer JB, Kaufman PE, Tenbroeck SH. Assessing permethrin resistance in the stable fly (Diptera: Muscidae) in Florida by using laboratory selections and field evaluations. *J Econ Entomol.* 2010; 103:2258–2263. DOI: <https://doi.org/10.1603/EC10166> PMid:21309252
7. Salem A, Bouhsira E, Lienard E, Bousquet MA, Jacquet P, Franc M. Susceptibility of two European strains of *Stomoxys calcitrans* (L.) to cypermethrin deltamethrin, fenvalerate, k-cyhalothrin, permethrin and phoxim. *J Appl Res Vet Med.* 2012; 10:249-257. URL Disponible en: <https://www.jarvm.com/articles/Vol10Iss3/Vol10%20Iss3%20Franc.pdf>
8. Zimmerman G. Review on safety of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci Tech.* 2007; 17:879-920. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583150701593963>
9. Moraes AP, Angeloldac C, Fernandez EK, Bittencourt VR, Bittencourt AJ. Virulence of *Metarhizium anisopliae* to eggs and immature stages of *Stomoxys calcitrans*. *Ann NY Acad Sci.* 2008; 1149:384-387. DOI: <https://doi.org/10.1196/annals.1428.008> PMid:19120256
10. Lohmeyer K, Miller J. Pathogenicity of three formulations of entomopathogenic fungi for control of adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *J Econ Entomol.* 2006; 99:1943-1947. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/99.6.1943> PMid:17195658
11. Mochi DA, Monteiro AC, Simi LD, Moraes SA. Susceptibility of adult and larvae stages of the horn fly *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* under field conditions. *Vet Parasitol.* 2009; 166:136-143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.037> PMid:19713044
12. Mochi DA, Monteiro AC, Ribeiro MAC, Yoshida L. Entomopathogenic fungal activity against pupae and adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *Vet Parasitol.* 2010; 168:105-110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.10.002> PMid:19880254

13. López-Sánchez J, Cruz-Vázquez C, Lezama-Gutiérrez R, Ramos-Parra M. Effect of entomopathogenic fungi upon adults of *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Biocontrol Sci Technol*. 2012; 22:969-73. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.699026>
14. Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R, Cruz-Vázquez C, Pesador-Rubio A, Ángel-Sahagún CA, Ojeda-Chi MM, et al. Efficacy of entomopathogenic fungi (Ascomycetes:Hypocreales) against adult *Haematobia irritans* (Diptera:Muscidae) under stable conditions in the Mexican dry tropics. *Vet Parasitol*. 2015; 209:173-178. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.025> PMID:25771932
15. Cruz-Vázquez C, Carvajal-Márquez J, Lezama-Gutiérrez R, Vitela-Mendoza I, Ramos-Parra M. Efficacy of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* in the control of infestation by stable flies *Stomoxys calcitrans* (L.), under natural infestation conditions. *Vet Parasitol*. 2015; 212:350-355. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.07.003> PMID:26209932
16. Cruz-Vázquez C, Carvajal-Márquez J, Lezama-Gutiérrez R, Vitela-Mendoza I, Ángel-Sahagún CA. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* in the control of the horn fly, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) under natural infestation conditions. *Vet Mex OA*. 2017; 4:2. URL Available in <http://veterinariamexico.unam.mx/index.php/vet/article/view/384>
17. Ángel-Sahagún C, Lezama-Gutiérrez R, Molina-Ochoa J, Pescador-Rubio A, Skoda SR, Cruz-Vázquez C, et al. Virulence of mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae and the efficacy of conidia formulations under field conditions. *Vet Parasitol*. 2010; 170:278-286. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.037> PMID:20359827
18. Ojeda-Chi MM, Rodríguez-Vivas RI, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R, Cruz-Vázquez C. Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). *Rev Mex Cienc Pecu*. 2011; 2:177-192. URL Available in: <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/1445>
19. Kaaya GP, Samish M, Hedimbi M, Gindin G, Glazeer I. Control of tick population by spraying *Metarhizium anisopliae* conidia on cattle under field conditions. *Exp Appl Acarol*. 2011; 55:273-281. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10493-011-9471-3> PMID:21725837
20. López E, López G, Orduz S. Control de la garrapata *Boophilus microplus* con *Metarhizium anisopliae*, estudios de laboratorio y campo. *Rev Colomb Entomol*. 2009; 35:42-46. URL Available in: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882009000100008
21. Inglis GD, Duke GM, Goettel MS, Kabaluk JT. Genetic diversity of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* in southwestern British Columbia. *J Invertebr Pathol*. 2008; 98:101-113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.12.001> PMID:18215399