



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE ORELLANA
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA ZOOTECNIA

**“EFECTIVIDAD DE *Beauveria* spp. COMO CONTROLADOR
BIOLÓGICO DE GARRAPATAS *Rhipicephalus* spp. EN GANADO
BOVINO EN LA PROVINCIA DE ORELLANA”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA ZOOTECNISTA

AUTORAS: LEYDI JOHANNA QUEZADA PEDRERA

NELLY GABRIELA QUEZADA PINZA

DIRECTOR: Ing. DIEGO ARMANDO MASAQUIZA MOPOSITA, PhD

El Coca – Ecuador

2022

© 2022, **Leydi Johanna Quezada Pedrera & Nelly Gabriela Quezada Pinza**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotras, LEYDI JOHANNA QUEZADA PEDRERA y NELLY GABRIELA QUEZADA PINZA, declaramos que el presente Trabajo de Integración Curricular es de nuestra autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autoras asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El Coca, 30 de junio de 2022



Leydi Johanna Quezada Pedrera
220038734-4



Nelly Gabriela Quezada Pinza
220027633-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE ORELLANA
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA ZOOTECNIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular: Tipo: Proyecto de Investigación, “**EFFECTIVIDAD DE *Beauveria* spp. COMO CONTROLADOR BIOLÓGICO DE GARRAPATAS *Rhipicephalus* spp. EN GANADO BOVINO EN LA PROVINCIA DE ORELLANA**”, realizado por las señoritas: **LEYDI JOHANNA QUEZADA PEDRERA** y **NELLY GABRIELA QUEZADA PINZA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

| | FIRMA | FECHA |
|---|--------------|--------------|
| Ing. María Fernanda Baquero Tapia, MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL | _____ | 2022-06-30 |
| Ing. Diego Armando Masaquiza Moposita, PhD DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR | _____ | 2022-06-30 |
| MVZ. José Miguel Mira Naranjo, MSc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL | _____ | 2022-06-30 |

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación lo dedico llena de regocijo con todo mi amor a:

Mis queridos padres, Manuel Quezada y Daysi Pedrera por todo su apoyo incondicional brindando durante toda mi experiencia académica desde el inicio hasta alcanzar la meta de hoy lograda, por su paciencia, por ser el motor que impulsan mi vida para seguir adelante con mucha perseverancia. Mis hermanos: Lorena, Francisco y John por depositar en mí su confianza e impartir sus deseos de progresar. Todas mis adoradas sobrinas por ser mi motivación para superarme.

Leydi

La investigación realizada se la dedico a:

Mis padres, Holger y Elda, por ser luz, cobijo, motivación y apoyo, porque jamás dudaron al acompañarme en mi sueño. Todo es por ustedes. Mis hermanas Heidi y Deisy, que hacen de mi vida la más bonita y pintoresca. Quien fue la persona que más me amo, mi abuelito Guillermo, pese a no poder compartir este triunfo conmigo sigue estando presente en mí corazón.

Nelly

AGRADECIMIENTO

A Dios por; bendecir nuestras vidas, darnos fortaleza, guiarnos y brindarnos las oportunidades que nos permitieron llegar a concluir nuestra carrera universitaria.

Ningún agradecimiento será propicio para todos aquellos que participaron en la realización de esta investigación, no obstante, merecen gratitud;

Nuestras familias por; ser nuestros cimientos en valores, su amor y constante apoyo.

La Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y a todos los docentes que nos orientaron en nuestra formación profesional, a la vez agradecemos a nuestro director Ing. Diego Masaquiza por su apoyo desinteresado, su gran aporte a través de su experiencia y amplio conocimiento del tema, al MVZ. José Mira, asesor de este trabajo de titulación, por su guía, confianza y paciencia.

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Central de la Amazonía Ecuatoriana, por el apoyo brindado para la disposición de los aislados usados, al igual que la financiación, asistencia técnica y logística en la ejecución de este trabajo investigativo. De manera especial expresamos nuestra gratitud al Ing. Jimmy Pico por su apoyo técnico científico, compromiso y confianza, reconocemos también la ayuda y amistad de Jefferson, Víctor y Edgar quienes conforman el Departamento de Protección Vegetal.

Todos aquellos amigos y compañeros gracias por las sonrisas, experiencias, alegrías conversaciones como también por hacer más llevaderos los días complicados, nos sentimos felices de haber coincidido y compartido todo este proceso juntos, que la vida encuentre mil formas de regresar todo el afecto y apoyo brindado.

Leydi & Nelly

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|-------------------------|------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | x |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS..... | xi |
| ÍNDICE DE ANEXOS..... | xii |
| RESUMEN | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| INTRODUCCIÓN | 1 |

CAPÍTULO I

| | |
|---|-----------|
| 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL..... | 4 |
| 1.1. <i>Rhipicephalus</i> spp. | 4 |
| 1.1.1. <i>Clasificación taxonómica</i> | 4 |
| 1.1.2. <i>Morfología general</i> | 6 |
| 1.1.3. <i>Características Externas</i>..... | 8 |
| 1.1.4. <i>Alimentación</i> | 10 |
| 1.1.4.1. <i>Familia Ixodidae</i> | 11 |
| 1.1.4.2. <i>Familia Argasidae</i> | 11 |
| 1.1.5. <i>Características internas</i> | 13 |
| 1.1.5.1. <i>Aparato Digestivo</i>..... | 13 |
| 1.1.5.2. <i>Aparato respiratorio</i>..... | 13 |
| 1.1.5.3. <i>Aparato Genital</i> | 14 |
| 1.1.5.4. <i>Sistema Nervioso</i> | 14 |
| 1.1.5.5. <i>Reproducción</i>..... | 14 |
| 1.1.6. <i>Clasificación</i> | 15 |
| 1.1.6.1. <i>Garrapatas de un solo huésped</i>..... | 15 |
| 1.1.6.2. <i>Garrapatas de dos huéspedes</i>..... | 16 |
| 1.1.6.3. <i>Garrapatas de tres huéspedes</i> | 16 |
| 1.1.7. <i>Ciclo de vida de la garrapata</i> | 16 |
| 1.1.7.1. <i>Fase parasitaria</i> | 16 |
| 1.1.7.2. <i>Fase no parasitaria</i> | 17 |
| 1.1.8. <i>Distribución</i>..... | 17 |
| 1.1.9. <i>Mecanismo de control en garrapatas</i> | 17 |
| 1.1.9.1. <i>Control químico</i>..... | 17 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 1.1.9.2. | <i>Control Biológico</i> | 18 |
| 1.2. | Hongos entomopatógenos | 18 |
| 1.2.1. | <i>Generalidades de Beauveria spp.</i> | 19 |
| 1.2.2. | <i>Morfología</i> | 20 |
| 1.2.3. | <i>Taxonomía</i> | 20 |
| 1.2.4. | <i>Mecanismo patogénico</i> | 21 |
| 1.2.4.1. | <i>Adhesión de la spora a la cutícula del insecto</i> | 21 |
| 1.2.4.2. | <i>Germinación de la conidia</i> | 21 |
| 1.2.4.3. | <i>Penetración del integumento o cutícula</i> | 22 |
| 1.2.4.4. | <i>Multiplificación del hongo</i> | 22 |
| 1.2.4.5. | <i>Producción de toxinas</i> | 22 |
| 1.2.4.6. | <i>Muerte del insecto</i> | 23 |
| 1.2.4.7. | <i>Colonización</i> | 23 |
| 1.2.4.8. | <i>Emergencia del micelio hacia el interior</i> | 23 |
| 1.2.4.9. | <i>Esporulación</i> | 24 |
| 1.2.4.10. | <i>Diseminación</i> | 24 |

CAPÍTULO II

| | | |
|----------|--|----|
| 2. | MARCO METODOLÓGICO | 25 |
| 2.1. | Localización y duración del experimento | 25 |
| 2.2. | Unidades experimentales | 26 |
| 2.3. | Materiales, Equipos, Reactivos e instalaciones | 27 |
| 2.3.1. | <i>Materiales y Herramientas</i> | 27 |
| 2.3.2. | <i>Equipos</i> | 27 |
| 2.3.3. | <i>Reactivos</i> | 27 |
| 2.3.4. | <i>Instalaciones</i> | 27 |
| 2.4. | Tratamientos | 28 |
| 2.5. | Diseño experimental | 28 |
| 2.5.1. | <i>Análisis estadístico</i> | 29 |
| 2.5.2. | <i>Análisis funcional</i> | 29 |
| 2.5.3. | <i>Metodología de la evaluación</i> | 29 |
| 2.5.3.1. | <i>Obtención de Beauveria spp</i> | 29 |
| 2.5.3.2. | <i>Captura de garrapatas</i> | 30 |
| 2.5.3.3. | <i>Reactivación de Beauveria spp</i> | 30 |
| 2.5.3.4. | <i>Combinación de medios y evaluación del crecimiento de cepas</i> | 31 |
| 2.5.3.5. | <i>Conservación de Hongos Entomopatógenos</i> | 31 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 2.5.3.6. | <i>Preparación del sustrato</i> | 31 |
| 2.5.3.7. | <i>Crecimiento del hongo Beauveria spp.</i> | 32 |
| 2.5.3.8. | <i>Control y Preparación de calidad del inóculo</i> | 32 |
| 2.5.3.9. | <i>Determinación de la concentración de esporas</i> | 32 |
| 2.5.3.10. | <i>Determinación del porcentaje de germinación</i> | 36 |
| 2.5.3.11. | <i>Determinación de pureza</i> | 37 |
| 2.5.3.12. | <i>Inoculación de hembras teleóginas de Rhipicephalus spp.</i> | 38 |
| 2.5.3.13. | <i>Evaluación de la mortalidad</i> | 39 |

CAPITULO III

| | | |
|------|--|----|
| 3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 41 |
| 3.1. | Capacidad entomopatógena de <i>Beauveria</i> spp. en condiciones de laboratorio | 41 |
| 3.2. | Dinámica poblacional de garrapatas en ganado bovino | 43 |
| 3.3. | Eficiencia biocontroladora de <i>Beauveria</i> spp. en campo | 45 |

| | | |
|--|---------------------------|----|
| | CONCLUSIONES | 49 |
|--|---------------------------|----|

| | | |
|--|------------------------------|----|
| | RECOMENDACIONES | 50 |
|--|------------------------------|----|

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tabla 1-1: | Niveles taxonómicos de las garrapatas..... | 5 |
| Tabla 2-1: | Familia, subfamilia y géneros de las garrapatas | 5 |
| Tabla 3-1: | Taxonomía de <i>Beauveria</i> spp. | 21 |
| Tabla 4-2: | Condiciones edafoclimáticas del INIAP – ECCA..... | 25 |
| Tabla 5-2: | Tratamientos, fase 1, selección de aislados de <i>Beauveria</i> spp. | 28 |
| Tabla 6-2: | Descripción de tratamiento de estudio..... | 28 |
| Tabla 7-2: | Conteo de esporas de <i>Beauveria</i> spp. con diferentes dosis de Agral 90..... | 35 |
| Tabla 8-2: | Concentraciones de aislados de <i>Beauveria</i> spp. empleados sobre garrapatas | 36 |
| Tabla 9-2: | Porcentaje de germinación de inóculos de <i>Beauveria</i> spp. en laboratorio | 37 |
| Tabla 10-2: | Porcentaje de pureza en <i>Beauveria</i> spp. | 38 |
| Tabla 11-2: | Porcentaje de garrapatas muertas post infección de <i>Beauveria</i> spp. | 39 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1-1: Morfologías de la familia de garrapatas Ixodidae (A, B, C) y Argasidae (D, E, F). | 7 |
| Figura 2-1: A. Coxas; B. Surco anal..... | 8 |
| Figura 3-1: A. Capítulo o gnatosoma; B. Idiosoma o Abdomen | 9 |
| Figura 4-1: A. Coxa; B. Trocánter; C. Fémur; D. Patela; E. Tibia; F. Tarso; G. Uña | 10 |
| Figura 5-1: A. Palpos; B. Orificio genital..... | 10 |
| Figura 6-1: Adhesión de la garrapata sobre la piel para alimentarse | 12 |
| Figura 7-1: A. Esporas; B. Conidióforo simple; C. Hifas; D. Proliferación del conidióforo ... | 20 |
| Figura 8-2: Ubicación de la finca Buena Fe | 26 |
| Figura 9-2: Ubicación de INIAP-EECA | 26 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1-3: Capacidad entomopatógena de aislados de <i>Beauveria</i> spp. | 41 |
| Gráfico 2-3: Comparación de dos ensayos en laboratorio de garrapatas biocontroladas..... | 42 |
| Gráfico 3-3: Crecimiento micelial y colonización de <i>Beauveria</i> spp. sobre garrapatas | 42 |
| Gráfico 4-3: Comportamiento poblacional de garrapatas con <i>Beauveria</i> spp. | 44 |
| Gráfico 5-3: Porcentaje de garrapatas biocontroladas en cuatro ensayos | 45 |
| Gráfico 6-3: Efectividad de <i>Beauveria</i> spp. sobre garrapatas..... | 45 |
| Gráfico 7-3: Letalidad de <i>Beauveria</i> spp. en estadías de garrapatas..... | 46 |
| Gráfico 8-3: Porcentaje de garrapatas biocontroladas en diferentes zonas del cuerpo | 47 |

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RECOLECCIÓN DE GARRAPATAS
- ANEXO B:** LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE *Rhipicephalus* spp.
- ANEXO C:** REACTIVACIÓN DE *Beauveria* spp. POR MEDIO DE TELEÓGINAS
- ANEXO D:** PREPARACIÓN DE SUSTRATO
- ANEXO E:** PREPARACIÓN Y DISPENSACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO
- ANEXO F:** APLICACIÓN DE AGRAL 90 EN DISOLUCIONES SERIADAS
- ANEXO G:** CONTEO DE ESPORAS EN CÁMARA DE NEUBAUER
- ANEXO H:** PRUEBA DE GERMINACIÓN
- ANEXO I:** INOCULACIÓN DE *Beauveria* spp. EN ARROZ
- ANEXO J:** COSECHA Y APLICACIÓN DE *Beauveria* spp.
- ANEXO K:** CONTEO DE LA DINAMICA POBLACIONAL EN BOVINOS
- ANEXO L:** *Rhipicephalus* spp. COLONIZADO POR *Beauveria* spp.
- ANEXO M:** CULTIVOS PUROS DE *Beauveria* spp.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad de *Beauveria* spp. como controlador biológico de *Rhipicephalus* spp. en ganado bovino en la provincia de Orellana. Para ello la investigación se ejecutó mediante dos fases expuestas a una concentración de 8×10^8 esporas/ml; la primera en bioensayos de laboratorio, en donde se realizó la evaluación de siete cepas del género de *Beauveria* spp sobre garrapatas en estadio adulto seleccionando los dos mejores aislados con capacidad entomopatógica. En la fase de campo se utilizaron doce bovinos criollos de producción lechera divididos en cuatro tratamientos de la siguiente manera; T1 y T2 con Surfactante, Aislado con mayor porcentaje de biocontrol y 9 L de agua; T3 con Surfactante, combinación de los dos mejores aislados y 9 L de agua y T4 como grupo de control o testigo. Además, se estimó la dinámica poblacional de garrapatas con conteos de *Rhipicephalus* spp. en siete áreas corporales. Para el análisis estadístico se utilizó el modelo completamente al azar. Conforme a los resultados obtenidos en los ensayos in vitro los mejores aislados de *Beauveria* spp. alcanzaron un crecimiento micelial del 75 % al octavo día y una mortalidad del 94,25 % y 93,26 % respectivamente, no obstante, en las pruebas realizadas en bovinos se observó una reducción significativa del número de garrapatas en el T1 con un control acaricida del 30,81 % en la cuarta aplicación. Se observó una variación en la dinámica poblacional de garrapatas en la relación con las diferentes zonas corporales, en donde, el estadio larvario tuvo menor resistencia al efecto de *Beauveria* spp. Estos resultados proporcionaron una base para investigaciones futuras que permitan desarrollar medidas beneficiosas en el control de *Rhipicephalus* spp.

Palabras claves: <HONGO (*Beauveria* spp)>, <GARRAPATA (*Rhipicephalus* spp)>, <CONTROL BIOLÓGICO>, <AISLADOS>, <CAPACIDAD ENTOMOPATÓGENA>, <DINÁMICA POBLACIONAL>.

Leonora Medina
15-09-2022.



1620-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The outcome of this study was to evaluate the *Beauveria* spp. effectiveness as biological controller of *Rhipicephalus* spp. in cattle in Orellana province. For this, the research was carried out through two phases exposed to a concentration of 8×10^8 spores/ml; the first in laboratory bioassays, where seven strains of the *Beauveria* spp. genus were evaluated on adult ticks, selecting the two best isolates with entomopathogenic capacity. In the field phase, twelve creole dairy cattle were used, divided into four treatments as follows; T1 and T2 with Surfactant, Isolated with the highest percentage of biocontrol and 9 L of water; T3 with surfactant, combination of the two best isolates and 9 L of water and T4 as a control or witness group. In addition, the population dynamics of ticks with counts of *Rhipicephalus* spp. in seven body areas. For the statistical analysis, the completely randomized model was used. According to the results obtained in the in vitro tests, the best isolates of *Beauveria* spp. reached a mycelial growth of 75% on the eighth day and a mortality of 94.25% and 93.26% respectively, however, in tests carried out on cattle, a significant reduction in the number of ticks was observed in T1 with an acaricide control 30.81% in the fourth application. A variation was observed in the population dynamics of ticks in relation to the different body zones, where the larval stage had less resistance to *Beauveria* spp. effect. These results provided a basis for future research to develop beneficial measures in *Rhipicephalus* spp. control.

Keywords: <FUNGUS (*Beauveria* spp)>, <TICK (*Rhipicephalus* spp)>, < BIOLOGICAL CONTROL >, < ISOLATES >, < ENTOMOPATHOGENIC CAPACITY >, <POPULATION DYNAMICS>.

Elaborated by:



Lcda. Silvia Licett Ramos Idrovo, Mgs.
DOCENTE SEDE ORELLANA

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020, en el Ecuador la población bovina asciende a 4.335,924 cabezas de ganado vacuno, del cual la región Sierra concentra la mayor cantidad con el 49,11 % seguida por la Costa con el 41,24 % y la Amazonía que alcanza el 9,65 % de bovinos a nivel nacional, donde este valor representa 418,355 animales bovinos (INEC, 2021, p. 28). Orellana es la cuarta provincia de la región Amazónica que se dedica a la ganadería con 46,911 vacunos, de manera que representa la actividad económica más importante después de la producción petrolera (GADPO, 2020, p. 194).

De esta manera, Sánchez et al., (2020, p. 1) por medio de un análisis ganadero entre el 2014 al 2019 presenta al sector primario como base fundamental de la economía del país, este aporta al PIB nacional el 9,63 %, pues es determinante para garantizar la seguridad alimentaria en el Ecuador, a través de este se puede generar empleo y nuevos emprendimientos.

En el contexto ganadero, la incidencia de plagas es uno de los factores que pone en peligro la calidad, productividad y salud animal. De acuerdo con Almada, (2015, p. 2) las explotaciones ganaderas se ven limitadas por la presencia de parásitos internos como nematodos y cestodos; parásitos externos como; las garrapatas, ácaros de la sarna, mosca de la paleta, miasis y piojos.

La garrapata del género *Rhipicephalus* spp. es el ectoparásito hematófago más importante en la ganadería a nivel mundial debido a su distribución, incidencia y cantidad (Benavides, E. et al., 2016, p. 27). De acuerdo con Bayer, (2018, p. 6) adicional del impacto directo sobre la pérdida de sangre en el hospedero, actúa como un potencial vector de enfermedades como babesiosis y anaplasmosis bovina, tiene la facultad desarrollar dermatomycosis, anemia, pérdida de peso, disminución en la producción de leche, sarna auricular, inoculación de toxinas (Fonseca et al., 2020, p. 468).

La interacción de estos pequeños arácnidos genera grandes pérdidas en la actividad ganadera, ya que el productor debe incrementar los costos en el control de estos ectoparásitos (Rocha et al., 2021, p. 86). El ganado bovino infectado por *Rhipicephalus* spp. pierde aproximadamente 0,26 kg/garrapata/año, los animales reducen su consumo de alimentos de 5,66 a 4,37 kg (Jonsson, 2006, p. 4; Rodríguez, Roger et al., 2014, p. 296). Por consiguiente, atribuye una mayor repercusión de la economía pecuaria.

En el Ecuador se ha observado la incidencia de garrapatas entre 0 y 2600 msnm de altitud media respectivamente, esto puede deberse al incremento de temperatura lo cual propicia un clima para su desarrollo (Pérez, X., 2019, p. 9). De acuerdo con Uvidia et al., (2015, p. 7) la circunstancia ambiental de la Amazonía Ecuatoriana al ser una región de clima cálido-húmedo permite desarrollar una diversidad de parásitos que pueden ocasionar daños en cultivos y animales que alteran su producción (Valdés et al., 2015, p. 2234).

Ante los procesos infecciosos y el deterioro del estado de salud del animal que generan las garrapatas, los productores se ven en la necesidad de invertir en la compra de acaricidas químicos

(Fiallos, 2020, p. 37) este es el método de control de garrapatas *Rhipicephalus* spp. al que más se recurre durante muchos años (Pérez, X., 2016, p. 10) no obstante, la falta de rotación de medicamentos, su uso irracional constante y excesivo facilita la resistencia en estos artrópodos y limita su utilización (Rodríguez, Roger et al., 2014, p. 296).

En Ecuador Pérez, X., (2019, p. 30) observó la prevalencia de la resistencia de *Rhipicephalus* spp. a las sustancias acaricidas amitraz, ivermectina y alfacipermetrina en 96 fincas a 0°50'00'' de latitudes, donde las provincias con mayores concentraciones de resistencia múltiple a estas tres sustancias fueron las zonas ganaderas tropicales de Imbabura, Carchi, Sucumbíos y Orellana.

Teniendo en cuenta a Nava et al., (2021, p. 1) los acaricidas químicos conllevan a una restricción en el consumo de la carne o leche que imponen los principios activos, ya que tienen un impacto directo a la hora de comercializar y afecciones a la salud humana. Al respecto Avellaneda et al., (2020, p. 22) exponen que estos productos sintéticos generan contaminación y efectos nocivos en el medio ambiente, pues el abuso de estos puede ser perjudicial para organismos beneficiosos que no son objetivos de la aplicación.

Se utiliza con éxito varios métodos no químicos para reducir la población de *Rhipicephalus* spp., según Pérez, X., (2019, p. 37) destaca el uso de razas de ganado resistente a las garrapatas, descanso de praderas, pastoreo rotativo y control biológico, no obstante, el más prometedor para mitigar la prevalencia de ixodoideos es el control integrado, dentro de este contexto se introduce el empleo de biocontroladores como hongos entomopatógenos para el control de las garrapatas el género *Beauveria* evaluado con mayor frecuencia y es uno de los agentes de control biológico más prometedores (Weeks et al., 2020, p. 7).

Existe poca investigación sobre *Beauveria* spp. en la provincia de Orellana y la Amazonía Ecuatoriana, sumado al desafío del uso indiscriminado de pesticidas en nuestra localidad por parte de los ganaderos, por lo que, es necesario desarrollar y evaluar nuevas estrategias para el control de garrapatas que retrasen su aparición y garanticen mantenerlas dentro de límites tolerables desde una perspectiva económica como de la salud de los animales, personas y medio ambiente.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la efectividad de *Beauveria* spp. como controlador biológico de garrapatas *Rhipicephalus* spp. en ganado bovino en la provincia de Orellana.

Objetivos específicos

- Estimar la capacidad entomopatógena de aislados de *Beauveria* spp. sobre garrapatas adultas mediante bioensayos en laboratorio.
- Establecer la dinámica poblacional de *Rhipicephalus* spp. en bovinos, mediante métodos visuales.
- Determinar la efectividad de dos aislados de *Beauveria* spp. y su combinación sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus* spp. en ganado vacuno.

HIPÓTESIS

H₀: El hongo entomopatógeno *Beauveria* spp. no tiene eficacia acaricida frente al estadio adulto de la garrapata *Rhipicephalus* spp.

H₁: El hongo entomopatógeno *Beauveria* spp. tiene eficacia acaricida frente al estadio adulto de la garrapata

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. *Rhipicephalus* spp.

La garrapata es un ectoparásito hematófago de los vertebrados, se encuentra muy extendido en el mundo y su epidemiología está íntimamente relacionada con las condiciones del ambiente, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales (Brites et al., 2015, p. 301). Estos parásitos son vectores y reservorios de microorganismos patógenos como protozoos, virus, rickettsias que afectan al hospedero (Brites et al., 2015, p. 307; Kanduma et al., 2020, p. 1).

Las garrapatas a través de la evolución desarrollaron la facultad de destruir el sistema inmunológico del huésped vertebrado con impacto negativo, especialmente para el ganado exótico y mestizo (Bolaños, 2016, p. 26). La genética de los bovinos es el factor determinante para una respuesta inmunitaria eficiente contra garrapatas y los patógenos transmitidos por ellos, pues el ganado *Bos indicus* es mucho más resistente a la infección de garrapatas en comparación al ganado *Bos taurus* (Tabor et al., 2017, pp. 1 - 2). *Rhipicephalus* spp. infesta a los vacunos sin cargas parasitarias diferentes. Esta plaga utiliza la forma denominada questing para encontrar su huésped en los pastos en relación con el olor de la raza percibida (Ferreira et al., 2015, p. 2023).

En cuanto a la distribución corporal de estos ectoparásitos en sus hospederos se concentran principalmente en zonas como orejas, en la parte superior de la cabeza, seguido por la tabla del cuello, región escapular y por último las extremidades inferiores (Cuesy et al., 2021, pp. 185 - 186).

1.1.1. *Clasificación taxonómica*

Hay cerca de 907 especies de garrapatas descritas a nivel mundial, todas dentro del orden Ixodida (Tabla 1-1). De acuerdo con López, G., (2015, p. 255) este suborden se divide en tres familias: Ixodidae con 720 especies; Argasidae con 186 especies y Nuttalliellidae con características intermedias de las familias anteriormente descritas, con una sola especie (*Nuttalliella namaqua*). Las garrapatas se agrupan en niveles taxonómicos, se subdividen en tres familias, los ectoparásitos de las dos primeras afectan y vulneran el bienestar de los animales y humanos (Tabla 2-1).

Tabla 1-1: Niveles taxonómicos de las garrapatas

| Nivel | Ubicación |
|--------------|------------------------|
| Reino | <i>Animalia</i> |
| Phylum | <i>Arthropoda</i> |
| Clase | <i>Arachnida</i> |
| Subclase | <i>Acari</i> |
| Orden | <i>Acarina</i> |
| Grupo | <i>Parasitiforme</i> |
| Suborden | <i>Ixodoidea</i> |
| | <i>Ixodidae</i> |
| Familia | <i>Argasidae</i> |
| | <i>Nuttalliellidae</i> |

Fuente: (Guglielmone et al., 2010, p. 1; Nicholson et al., 2019, pp. 603 - 606; Polanco y Ríos, 2016, p. 84)

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Tabla 2-1: Familia, subfamilia y géneros de las garrapatas

| Familia | Subfamilia | Género |
|------------------------|--------------------------|--|
| <i>Ixodidae</i> | <i>Ixodinae</i> | <i>Ixodes</i> |
| | <i>Amblyomminae</i> | <i>Amblyomma</i> |
| | <i>Bothriocrotoninae</i> | <i>Bothriocroton</i> |
| | <i>Haemaphysalinae</i> | <i>Haemaphysalis</i> |
| | <i>Hyalomminae</i> | <i>Hyalomma</i> |
| | <i>Rhipicephalinae</i> | <i>Dermacentor</i> <i>Rhipicephalus</i> |
| <i>Argasidae</i> | <i>Argasinae</i> | <i>Argas</i> |
| | <i>Ornithodorinae</i> | <i>Ornithodoros</i> |
| | <i>Otobinae</i> | <i>Otobius</i> |
| | <i>Antricolinae</i> | <i>Antricola</i> |
| <i>Nuttalliellidae</i> | <i>Nuttalliellinae</i> | <i>Nuttalliella</i> |

Fuente: (Guglielmone et al., 2010, p. 1; Nicholson et al., 2019, pp. 603 - 606; Polanco y Ríos, 2016, p. 84)

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

1.1.2. Morfología general

Las garrapatas tanto morfológica y fisiológicamente se dividen en dos familias que mayormente se encuentran distribuidas en diferentes zonas del mundo:

-Ixodidae, comúnmente denominada garrapata dura, usual en mamíferos, anfibios, reptiles y humanos (Jiménez Segura, 2021, p. 8).

-Argasidae, conocidas como garrapatas blandas, presente mayormente en aves (Montasser, 2010, p. 355). Los ectoparásitos de esta familia infestan al hospedero en las fases larvaria y ninfal, de manera que deja a su organismo para aparearse fuera de él; por tal en estado adulto no actúa como parásito (Durán et al., 2004, p. 577).

Las garrapatas se caracterizan por tener cuerpo redondeado, sin segmentación, llamado idiosoma, en los laterales de este puede llevar uno o más pares de ojos de acuerdo con la especie. La caracterización morfológica de la familia Ixodidae, es la existencia de una placa esclerotizada o escudo en la superficie dorsal, esto permite evidenciar el dimorfismo sexual en adultos, dado que los machos cuentan con su superficie dorsal totalmente cubierta, distinto a las hembras que cubre solo la mitad anterior, no obstante, la familia Argasidae no tiene este escudo esclerotizado, por ello son llamadas garrapatas blandas (Chandra et al., 2018, p. 5).

En cuanto a las piezas bucales (Figura 1-1) todas las garrapatas las tienen separadas del idiosoma, adquiere el nombre de gnatosoma o capítulo, mismo que consta de dos quelíceros, dos palpos segmentados y el hipostoma con dientes, que sirve como estructura de fijación de la garrapata a su hospedante, su posición en las garrapatas duras es anterior, a diferencia de las blandas que se encuentran en la cara ventral (Estrada, 2015, pp. 1 - 2).

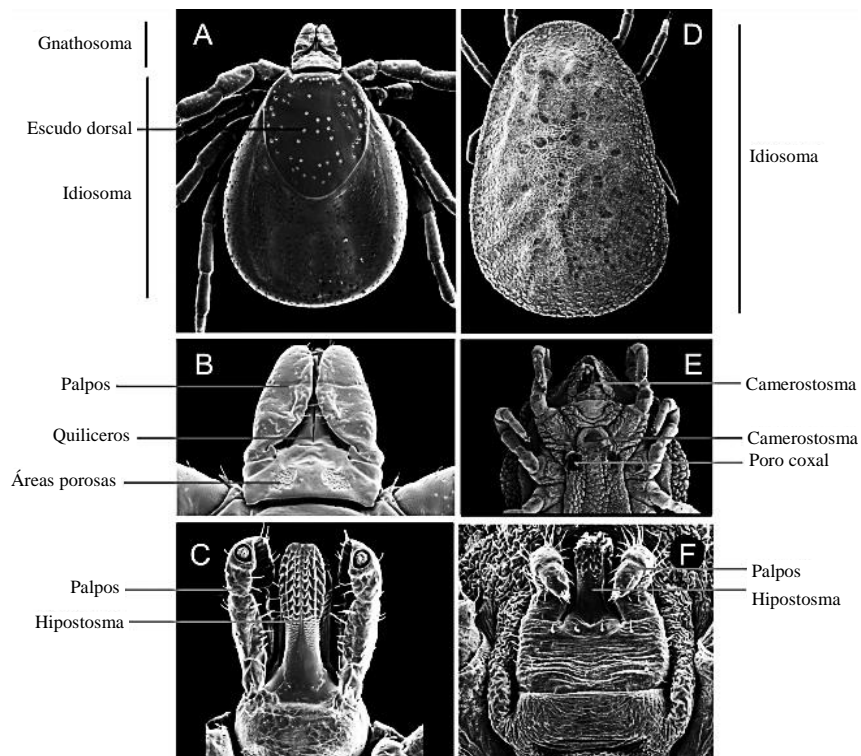


Figura 1-1: Morfologías de la familia Ixodidae (A, B, C) y Argasidae (D, E, F)

Fuente: Estrada, (2015, p. 2).

Los ixódidos tienen un órgano pegajoso (ventosa) denominado ambulacro, carúncula o pulvillum que da a las garrapatas la capacidad de desplazarse por todo el cuerpo del animal y mantenerse sobre él; al final tiene un par de uñas o garras con las que se fijan a cualquier superficie (Durán et al., 2004, p. 578).

Estos ectoparásitos son considerados como los ácaros de mayor tamaño, mismo que varía de acuerdo con la especie, no obstante, pueden medir alrededor de 3 a 8 mm, las hembras pueden llegar a adquirir tamaños hasta 1 cm, ya que aumentan su peso hasta 120 veces luego de consumir sangre del hospedero (ESCCAP, 2010, p. 15). Se caracterizan por poseer cuatro pares de patas, con seis segmentos (Figura 2-1) salvo de las que se encuentran en estado larval que poseen tres pares (Estrada, 2015, p. 1).

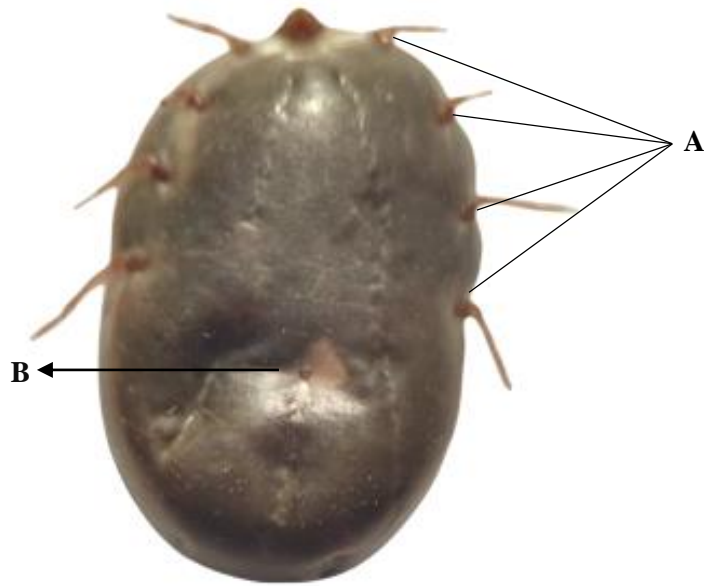


Figura 2-1: A. Coxas; B. Surco anal

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

La familia Argasidae se singulariza por su diferencia fisionómica sexual externa poco perceptible. En las ninfas y adultos el capítulo está ubicado en la zona ventral, por lo que dorsalmente no se distingue con facilidad; en el estado larval es de aspecto grisáceo y se localiza en lado frontal del cuerpo (Dantas et al., 2019, p. 73). Los espiráculos en su mayoría están situados cranealmente en relación de la coxa IV (Durán et al., 2004, p. 578). Su superficie corporal es de aspecto reticulado, cuentan con un poco coxa I de los adultos y en pocos estados ninfales, su tarea es concentrar el exceso de agua para su veloz eliminación a lo largo de la ingestión de la sangre (Estrada, 2015, p. 2).

1.1.3. Características Externas

El aparato bucal toma gran desarrollo y complejidad, simula una falsa cabeza o capítulo formado por los palpos, conformados por cuatro segmentos; en la cuarta porción del palpo se puede apreciar una pequeña depresión donde se encuentra el órgano palpal, por medio del cual la garrapata identifica las zonas de la piel del hospedero más delgadas y a su vez donde hay más irrigación sanguínea (García, I. et al., 2011, p. 70). Los palpos, en número par y con diferentes formas, se encuentran al lado del hipostoma, protegiéndolo (Durán et al., 2004, p. 578). El capítulo o gnatosoma (Figura 3-1) se encuentra cubierto por una sustancia quitinosa que le permite al ectoparásito resguardar el sistema nervioso (Krenn y Aspöck, 2012, p. 113).

El hipostoma tiene varios dientes que sujetan firmemente las garrapatas al animal infestado. El hipostoma es una parte aplanada, formado por la porción alimenticia, donde se encuentran un par

de órganos aplanados lateralmente, denominados quelíceros, su función es desgarrar la piel del hospedero e insertar el hipostoma (Krenn y Aspöck, 2012, p. 113).

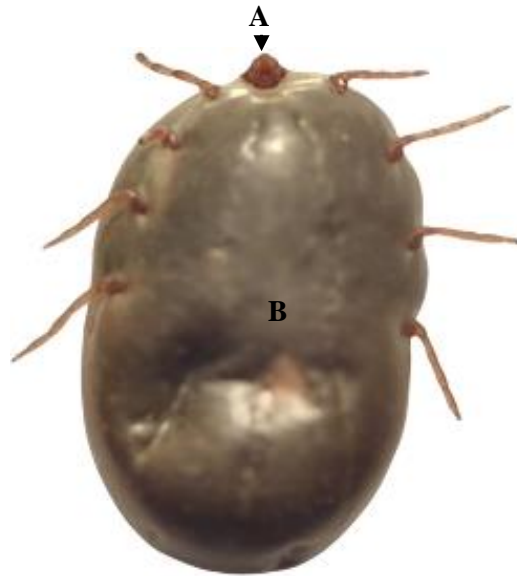


Figura 3-1: A. Capítulo o gnatosoma; B. Idiosoma o Abdomen

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Las patas están constituidas por seis segmentos (Figura 4-1) entre ellos: coxa, trocánter, fémur, patela, tibia, tarso y metatarso, aun así, varios de estos segmentos pueden fusionarse o subdividirse, justo al final, un segmento se encuentra reformado para el crecimiento de una garra (Pulido, A. d. P. et al., 2016, p. 100). Los miembros delanteros constan de muchos órganos sensoriales a diferencia de las restantes, de este modo las garrapatas tienen un conjunto de órganos sensoriales, conocido como órgano de Haller, constituido de varias setas o pelos, mismos que tienen el objetivo de identificar la humedad, temperatura, olores y vibraciones (Menéndez, 2014, p. 2).

El órgano de Haller permite a las larvas identificar diversos tipos de onda, toma las vibraciones que ejecuta el ganado bovino por el golpeteo sobre el suelo, otros pelillos reciben olores de los animales vertebrados que despiden una serie de gases (Durán et al., 2004, p. 579). Cuentan con cerdas que identifican ondas de calor, ya que el animal vivo las desprende por el resultado de la circulación sanguínea o a su vez por emitir energía de su cuerpo (Dzul et al., 2017, p. 14).

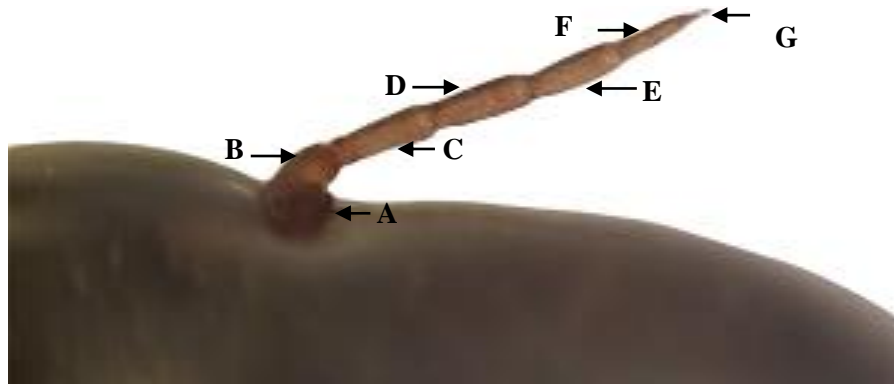


Figura 4-1: A. Coxa; B. Trocánter; C. Fémur; D. Patela; E. Tibia; F. Tarso; G. Uña

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Desde una perspectiva ventral se puede apreciar el orificio genital, colocado en la línea media del cuerpo del ácaro aproximadamente a la altura del segundo par de patas (Figura 5-1) mismo que facilita la diferenciación sexual (Chandra et al., 2018, p. 5). Cuando la garrapata se encuentra en estado de ninfa carece de orificio genital, sin embargo, cuenta con un par de órganos respiratorios o placas estigmatales. La estructura que se puede evidenciar en todos los estadios de vida parasitaria es el orificio anal (Durán et al., 2004, p. 579).

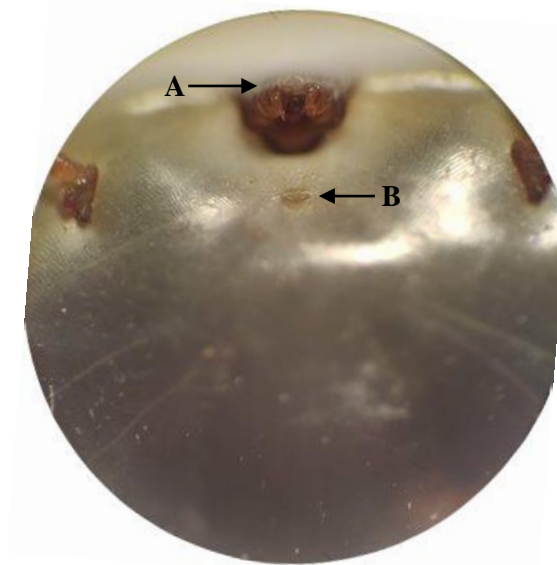


Figura 5-1: A. Palpos; B. Orificio genital

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

1.1.4. Alimentación

Al ser hematófagos obligados, las garrapatas, transmiten agentes patógenos, que particularmente son transportados por medio de la saliva descargada en el huésped (Krenn y Aspöck, 2012, p. 101) es

decir que, para subsistir y reproducirse, estos ectoparásitos deben consumir la sangre del hospedero y digerir la hemoglobina.

Desde la perspectiva de Anderson y Magnarelli, (2008, p. 202), las garrapatas durante su ciclo biológico siguen un orden para una adecuada alimentación ; 1. búsqueda del huésped; 2. fijación al pelaje o piel del animal afectado; 3. selección de la zona ideal para la fijación en la piel; 4. implantación de las piezas bucales en la membrana epitelial de la epidermis y dermis del animal hospedero; 5. conexión al lugar de alimentación seleccionado; 6. asimilación de sangre y otros fluidos; 7. incremento de su volumen corporal en este punto la garrapata es considerada como ingurgitada, repleta de sangre; 8. desprendimiento de piezas bucales; 9. caída de la garrapata del huésped. De acuerdo con Estrada, (2017, p. 21) la alimentación de *Rhipicephalus* spp. se lleva de acuerdo con las dos principales familias de garrapatas.

1.1.4.1. Familia Ixodidae

Después de seleccionar a su hospedador estos ixódidos tienen la capacidad de caminar y localizar un lugar adecuado para alimentarse. Como menciona Estrada, (2017, p. 21) toma una postura de 40° sobre la superficie, contrae los músculos dorsoventrales a fin de que salgan los quelíceros, crean presión y realizan pequeños cortes sobre la piel del hospedador hasta llegar al estrato córneo, este proceso se repite en otra zona del cuerpo del hospedero. Una vez que los quelíceros, se posesionan en la zona de alimentación, se da la producción del cemento que da lugar a la fijación de la garrapata (Díaz, 2014, p. 10).

Las garrapatas con capítulo largo llegan a través de su hipostoma hasta la hipodermis; distinto de las especies con capítulo corto, el hipostoma llega solo hasta la dermis, sin embargo, en cualquiera de los casos este parásito crea complicaciones, ya que rompe vasos sanguíneos, crea inflamación y necrosis que aumenta conforme avanza la alimentación (Benavides, J. et al., 2018, pp. 144 - 145). Es importante mencionar que la familia de ixódidos no ingiere la sangre en los dos o tres primeros días, sino una combinación de células y tejidos (Estrada, 2017, p. 21).

1.1.4.2. Familia Argasidae

Respecto a la adhesión y fijación de los argásidos se asemeja al proceso de ixódidos, lo que difiere es que el procedimiento de alimentación dura solo minutos. Estos ectoparásitos en el punto de inserción del hipostoma crean una leve hemorragia a consecuencia de la ruptura de capilares, pues particularmente la alimentación de esta especie no es a partir de vasos sanguíneos grandes, porque los periodos de alimentación son alternos, lo que contribuye la salivación dentro de la cavidad alimenticia (Estrada, 2017, p. 21).

De manera general, este parásito a consecuencia de su alimentación hematófaga ocasiona toxicidad en el huésped en donde compromete tejidos y órganos. Las garrapatas de esta familia toman nutrientes importantes del huésped, mismos que son transportados por los vasos sanguíneos de los tejidos tisulares y estos se encuentran conectados al torrente sanguíneo para encaminar los nutrientes a las afueras del hospedador (Figura 6-1) da lugar a la introducción de otros agentes patógenos en el huésped (Martínez, J., 2016, pp. 16 - 18). Por lo tanto, a consecuencia de esto se genera; pérdida de peso, debilidad, daño en la piel del animal, entre otros.

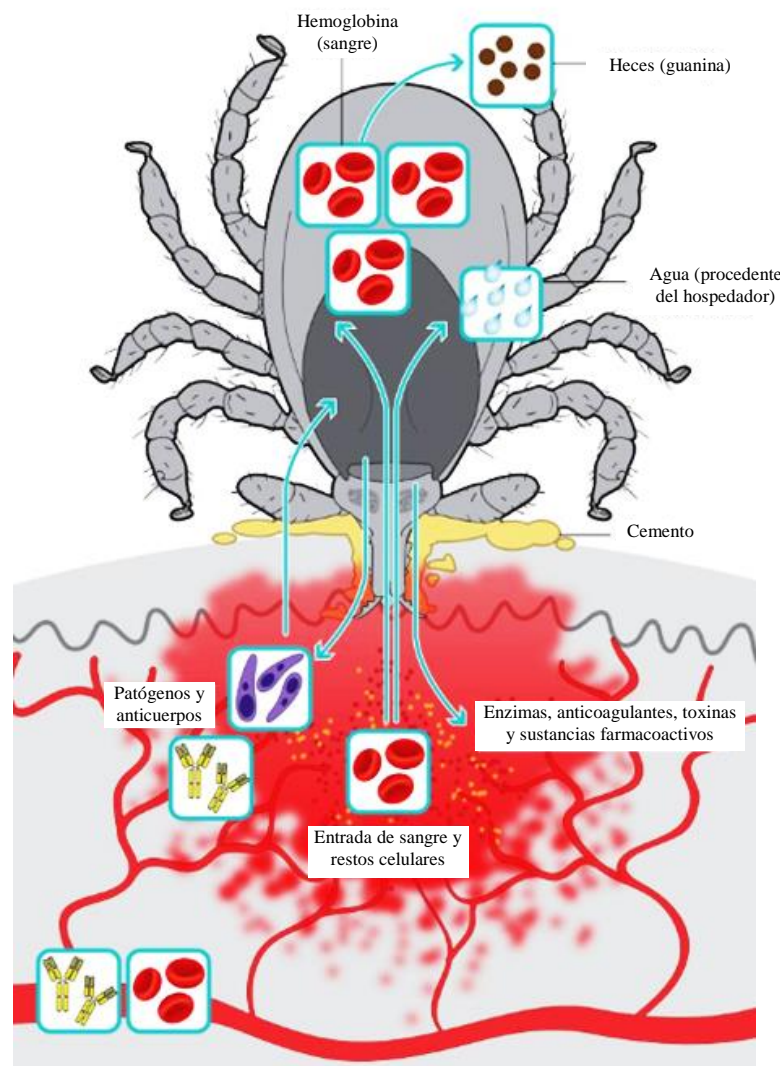


Figura 6-1: Adhesión de la garrapata sobre la piel para alimentarse

Fuente: Estrada, (2017, p. 20).

1.1.5. Características internas

1.1.5.1. Aparato Digestivo

Los órganos de las garrapatas encargadas del proceso de la digestión de la sangre del huésped es un procedimiento sustancial de la fisiología de la garrapata y a su vez un factor esencial para la transmisión de patógenos, esto gracias al intestino característico de ser el sitio primordial para la contaminación y proliferación de patógenos (Franta et al., 2010, p. 1).

El proceso digestivo de las garrapatas inicia por los quelíceros y el hipostoma que crea un orificio por donde pasa la faringe y se abre el conducto muscular del esófago. El hipostoma es el órgano que utilizan principalmente las garrapatas para adherirse a la piel del huésped. Mientras el ectoparásito se alimenta, la sangre ingresa por la succión que genera la faringe y sigue al intestino medio o estómago (Sonenshine y Roe, 2013, p. 124).

A lo largo de este proceso los pedipalpos que se caracterizan por ser órganos sensoriales, se apartan a los lados y no participan, los ixódidos, secretan una especie de cemento, sustancia a base de proteínas, lipoproteínas, lípidos y carbohidratos, este fluido facilita la fijación en la piel del animal (Martínez, J., 2016, p. 14). De acuerdo a Estrada, (2017, p. 23), los procesos de digestión de las garrapatas se pueden dividir en: 1. Suprimir el exceso de agua en la sangre; 2. Lisis de fragmentos celulares y tisulares; 3. Mediante la hidrólisis ocurre la degradación de la hemoglobina y diversas proteínas, se da el almacenamiento de hemoglobina.

El intestino medio es el órgano más grande de la garrapata, ocupa la zona media y se prolonga en varios pares de ciegos muy alargados, que representan divertículos estomacales y sirven para incrementar la capacidad del intestino medio. Cuando el animal está lleno, casi todas las regiones del cuerpo se encuentran ocupadas por ellos (Camargo et al., 2010, p. 11; Durán et al., 2004, p. 580).

Tienen dos largos tubos excretores, llamados túbulos de Malpigio, que drenan en la vesícula excretora, están situados a ambos lados del cuerpo y se encargan de excretar la hemolinfa y las sustancias nitrogenadas procedentes del metabolismo de las proteínas y el ácido úrico; junto con dos glándulas coxales integran el conducto excretor el cual termina en un canal que sale en el orificio ubicado en las coxas del primer de patas (Durán et al., 2004, p. 580; Pérez, J., 2018, pp. 3 - 4).

1.1.5.2. Aparato respiratorio

El sistema respiratorio de las garrapatas incluye conductos traqueales que permiten el intercambio de oxígeno, dióxido de carbono y otros gases por medio de la superficie del cuerpo. Los estigmas se encuentran asociados a los conductos traqueales (Mullen y OConnor, 2019, p. 534).

De acuerdo con Resh y Cardé, (2009, p. 644) con el paso del tiempo los sistemas traqueales evolucionaron para dar a cabo el proceso de respiración en las garrapatas, la expulsión de gases

consiste en abrir los espiráculos o estigmas en diversas partes del cuerpo, estos sirven como soporte a los órganos de las garrapatas. Es valioso mencionar que las larvas de *Rhipicephalus* spp. carecen de estigmas respiratorios, por ello su respiración es de tipo cutáneo; razón por la cual esta fase o etapa del ectoparásito es la más sensible a la acción de los garrapaticidas (Durán et al., 2004, p. 581), así pues, es imprescindible precisar en cada zona las épocas de mayor abundancia de las fases larvarias.

1.1.5.3. Aparato Genital

El órgano genital está situado en la línea media, por debajo de la base de capitulares y entre el segundo par de coxas. La garrapata macho se caracteriza por ser aplanado dorsoventralmente y mucho más ancho en la parte posterior en comparación a la parte anterior, compuesto de un par de testículos cercanos entre sí; los conductos deferentes se unen en una vesícula seminal común, cuya función es la de formar un espermátforo o saco donde se encuentran los espermatozoides. El orificio genital del macho es ovalado y sin apéndices (Patra et al., 2016, pp. 434 - 435). La hembra presenta sus ovarios fusionados en uno solo, de cuyos extremos laterales parten los oviductos que van a parar en el útero, en sus dos cuernos laterales (Durán et al., 2004, p. 581).

1.1.5.4. Sistema Nervioso

Las garrapatas al ser consideradas una familia de los ácaros según Pritchard et al., (2015, p. 146) presentan una región llamada singanglio, mismo que esta agrupada de tejido nervioso, ubicado en la sección anterior de idiosoma por delante del intestino medio. Al respecto Durán et al., (2004, p. 581) menciona que el sistema nervioso de las garrapatas cuenta con dos anillos también conocidos como nódulos cerebroides que inerva todo su cuerpo, asimismo posee un solo par ganglionar complejo, situado debajo del capítulo, lugar donde se dividen a todas las zonas del cuerpo.

1.1.5.5. Reproducción

Cuando las garrapatas se encuentran en estado adulto se produce la reproducción sexual, esto conlleva el contacto físico entre el macho y la hembra. El macho procede a montar a la hembra, mantiene los quelíceros masculinos en el poro genital femenino, inicia la productividad de espermátforos por el macho sobre el poro genital femenino (Carr et al., 2016, p. 519).

La hembra cuenta con un componente denominado spermateca, órgano de almacenamiento y protección del esperma, importante en el sistema reproductivo; este a su vez cambia después de

la cópula ya que contiene proteínas clave para la alimentación y puesta de huevos (Wang, X. et al., 2021, p. 583).

Las hembras poseen ovario doble, útero y vagina que salen en el poro genital en su abertura externa. Por otro lado, el macho tiene su sistema reproductor con testículo, vaso deferente y una abertura que encamina al exterior que produce espermátóforos, los machos y hembras se aparean, el huevo es fertilizado por un espermatozoide (Altamirano y Palacios, 2010, p. 20).

Álvarez, M. et al., (2017, p. 41) plantea que los adultos de la familia ixodidae generalmente se aparean encima del hospedador, luego la hembra se nutre hasta saciarse, se desprende, hace una puesta de huevos y fallece; por el contrario, el macho puede vivir en el hospedador por mucho más tiempo, incluso meses. Las garrapatas duras tienen la facultad de completar el ciclo en el mismo hospedador como también en diferentes hospedadores, por ello se ordenan en monofásicas, difásicas o trifásicas. En lo que respecta a la familia Argasidae el apareamiento se da después de la alimentación del estado adulto hasta que abandona el hospedador (Altamirano y Palacios, 2010, p. 20).

Sanches et al., (2012, p. 1020) refiere que la cópula es fundamental para la finalización del ciclo gonotrófico de las garrapatas Ixodidae. Además, fortalece una comparación entre las hembras vírgenes y cruzadas con machos, expone que las vírgenes pesan un 60 % menos en relación con la congestión total de las hembras apareadas. Asimismo, los ovocitos de estas hembras no se desarrollan con respecto a las hembras apareadas, es decir que la cópula es un proceso importante en la congestión total como en la maduración de los ovocitos hembras.

De acuerdo con Kaufman, (2007, p. 264) las garrapatas vírgenes se mantienen fijas al huésped durante largos periodos, esperando la presencia del macho para complementar su ingurgitación mientras que las hembras vírgenes de la familia Argasidae no indican reducción en el volumen de la comida durante el primer ciclo ovárico, ya que en los ciclos subsecuentes el tamaño puede menorar en relación al número de huevos retenidos en el aparato reproductivo, sin embargo la rebaja no es la igual al de la medida visualizada en las hembras Ixodidae vírgenes.

1.1.6. Clasificación

De acuerdo con el número de animales que necesite para desarrollar su ciclo, las garrapatas se clasifican en tres tipos:

1.1.6.1. Garrapatas de un solo huésped

Son conocidas comúnmente como monoxenas dado que incluye las garrapatas que pasan del estado larvario, ninfal al estado adulto sin mudar de huésped; una vez llenas de sangre se desprenden del cuerpo del animal para llevar a cabo la ovoposición; los huevos eclosionan en

larvas, se convierten en ninfas que más adelante alcanzan la adultez sobre el mismo huésped (Bermúdez et al., 2018, p. 123; Durán et al., 2004, p. 575).

López, J. L. y Holman, (2006, p. 7) destaca que, las garrapatas que necesitan de un solo huésped para concluir el ciclo biológico son las que presentan mayor evolución, asimismo, se caracterizan por ser menos numerosas que otras, sin embargo, representan gran importancia en la salud animal.

1.1.6.2. Garrapatas de dos huéspedes

Son conocidas como dioxenas, aquellas que desarrollan sus fases de larva y muda sobre el hospedador; al tiempo que la ninfa lo desampara después de alimentarse para mudar en el suelo, al transformarse en adultas buscan un segundo huésped y finalizan su ciclo de vida (Durán et al., 2004, p. 575; Martínez, E. y Rocha, 2010, p. 9).

1.1.6.3. Garrapatas de tres huéspedes

Estas garrapatas se denominan trioxenas, dado que se caracterizan porque son larvas, parasitan a un huésped, se alimentan y luego lo abandonan, caen al suelo, donde se convierten en ninfas y posteriormente ascienden para parasitar a un segundo huésped, al igual que el anterior es abandonado para completar su ciclo de vida en el suelo, una vez transformadas en adultos vuelven a parasitar un tercer hospedero (Durán et al., 2004, p. 576; Martínez, E. y Rocha, 2010, p. 9).

1.1.7. Ciclo de vida de la garrapata

Este ciclo puede considerarse en dos fases:

1.1.7.1. Fase parasitaria

Esta parte del ciclo se ejecuta cuando las larvas, provistas de tres pares de patas se adhieren al animal huésped, generalmente ingresan su hipostoma para de inmediato estar listas e iniciar la alimentación. No obstante, las larvas se alimentan de manera interrumpida los dos primeros días luego de la infestación, frecuentemente se desprenden y se mueven de un lugar a otro en el animal; después de 5 a 6 días, ingieren suficiente sangre y se convierten en ninfas de cuatro pares de patas; las ninfas se nutren de la sangre y convierten en adultos después de 6 a 8 días (González, 2007, p. 15). En esta fase, se puede determinar el sexo de la garrapata. La muda se da primero en los machos, estos se encuentran con frecuencia bajo las ninfas o hembras llenas, el macho es más pequeño y activo que la hembra. El ciclo parasitario de la garrapata termina de 8 a 12 días después de la transformación ninfal, por ello, esta fase dura en total 19 a 26 días. Las hembras repletas, se

despegan y caen del huésped, mientras los machos pueden permanecer en el animal hasta morir o separarse junto con la hembra (Durán et al., 2004, p. 576)

1.1.7.2. Fase no parasitaria

Fase comprendida por cuatro etapas: preoviposición, oviposición, incubación de huevos y el tiempo de supervivencia de las larvas en los pastizales (Martinez et al., 2021, p. 40). El periodo comienza cuando la hembra fecundada llena de sangre cae al suelo y busca un lugar protegido de la luz y del sol. El curso de la postura de los huevos depende de la temperatura por tanto puede durar de 2 a 4 días, en donde la garrapata adulta hembra puede ovopositar hasta 3500 huevecillos (Durán et al., 2004, p. 576).

La temperatura es un factor clave que afecta la eficacia de la ovoposición y eclosión de larvas, en vista de que a menores temperaturas se evidencia mayores efectos perjudiciales en la aptitud reproductiva de estos ácaros. Por tanto, conducen una limitación de; fertilidad, desarrollo de los huevos y como tal, de la población de garrapatas en el campo y por tanto una reducción en la prevalencia de enfermedades transmitidas por vectores (Esteves et al., 2015, p. 3).

1.1.8. Distribución

Según Pulido, L. et al., (2015, p. 76) la garrapata bovina *Rhipicephalus* spp. es endémica de India y Asia, propagándose territorialmente en zonas con clima tropical y subtropical; actualmente se encuentra presente en América en regiones que abarcan el norte de Argentina hasta México. Según estudios realizados por Kanduma et al., (2020, p. 13) afirman la existencia de *Rhipicephalus* spp. en el continente africano, específicamente en Kenia, esto indica que este parásito se encuentra presente en ganaderías de África Subsahariana. La garrapata cuenta con extensa presencia en muchos lugares trópicos de los cinco continentes.

1.1.9. Mecanismo de control en garrapatas

1.1.9.1. Control químico

El control de garrapatas en la ganadería es un tema de gran importancia sanitaria y económica dado que el daño directo de estos parásitos se ven reflejados en la producción y rendimiento de los animales. Los métodos de control químico en garrapatas tienen la misión de interrumpir su ciclo de vida a través de la pulverización de ixodicidas a intervalos regulares (Rodríguez, Roger et al., 2014, p. 296) habitualmente la forma más utilizada para el control de garrapatas es la aplicación

de compuestos químicos, mismos que suelen ser aplicados en baños de inmersión o aspersión y que tienen acción inmediata sobre las *Rhipicephalus* spp. (Pacheco et al., 2017, p. 38).

Según Hernández, Y. et al., (2016, p. 2) esta forma de control además de tener un costo elevado, también conlleva riesgos de contaminación para el medio ambiente, asimismo genera residuos en los productos derivados de los animales, envenenamiento de los aplicadores, y su mal uso provoca la aparición de garrapatas resistentes a las principales familias de ixodíidas en donde los grupos químicos de mayor utilización son; amidas, piretroides sintéticos, latona macrocíclicas, fluzurón organoclorados, organofosforados y carbamatos (Rodríguez, Roger et al., 2012, p. 3).

1.1.9.2. Control Biológico

En todo el mundo se investiga hongos entomopatógenos como prometedores agentes de control biológico de la garrapata del ganado *Rhipicephalus* spp. (Fernandes et al., 2011, p. 316). El control biológico centrado en el uso de enemigos naturales de los insectos, especialmente en hongos entomopatógenos, es una alternativa interesante en el marco del cambio de plagas (Sewify et al., 2009, p. 157). De manera que, la gestión de los ixodoideos en los bovinos mediante el uso de enemigos naturales es posible a gran escala en un plazo razonable gracias a los avances en la investigación, combinando estudios de laboratorio y estudios de campo en una perspectiva operativa.

1.2. Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son los principales individuos causantes de enfermedades en los insectos, por ello constituyen el grupo de mayor relevancia respecto al control biológico de insectos, arácnidos y otros artrópodos. Actualmente se conocen 750 especies, la mayor parte de ellas pertenecen a los grupos; Entomophthorales (Zygomycota) y Hypocreales (Ascomycota), hallándose presente de manera natural en el medio, ya sea en los suelos, restos de cultivos, en terreno de insectos parasitados, su nutrición se basa en materia orgánica y otros organismos (Ramírez et al., 2014, p. 6).

Caballero, (2014, pp. 5 - 6) menciona que los hongos patógenos de insectos penetran, invaden y se multiplican dentro de los insectos causando enfermedad sin la necesidad de ser ingeridos, ya que pueden ingresar por medio de su cutícula, su desarrollo y crecimiento está estrechamente relacionado por condiciones medioambientales desfavorables como la baja humedad, radiación solar y altas temperaturas. Entre los hongos más importantes utilizados en el control biológico están, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* e *Hirsutella thompsonii*, esto gracias a su eficacia probado y su pronta reproducción.

La reproducción es asexual, los hongos se reproducen por esporas, que generalmente son las que provocan infecciones fúngicas en los insectos al estar en contacto con el hongo (Sepúlveda, 2019, p. 2). Según Pucheta et al., (2006, p. 858) el proceso de infección se da cuando el hongo comienza a excretar enzimas, ya que estas son las encargadas de degradar la superficie de la cutícula del hospedero.

1.2.1. Generalidades de *Beauveria* spp.

Lodi Bassi Agostino entomólogo italiano en 1835 no solo identificó la causa de la enfermedad mortal que transformaba al gusano de seda y otras especies, sino que también afirmó que podía hacerlo a voluntad (Lord, 2005, p. 19). De acuerdo con Kouassi, (2001, p. 1) se conoció como “enfermedad del muscardina blanca” por el peculiar aspecto del cadáver, como si estuviera cubierto de polvo blanco, más tarde, Jean Jules Beauverie denominó al patógeno *Botrytis bassiana*. Hasta el siglo XX no existió oficialmente el género *Beauveria*. En 1912 Vuillemin describió a *Botrytis bassiana* como perteneciente al género *Beauveria* (Halouane et al., 2013, p. 68).

Es fácil y relativamente barato cultivar y mantener varias cepas de *Beauveria* spp. en condiciones de laboratorio en comparación con los costes de producción de los pesticidas químicos, además las soluciones que contienen conidios de *Beauveria* spp. pueden aplicarse fácilmente en el campo utilizando equipos y métodos de aplicación como los de los insecticidas sintéticos (Fréchette et al., 2009, pp. 1127 - 1130).

Según Sabbahi et al., (2008, p. 124), *Beauveria* spp. tiene una actividad insecticida más rápida que la de otros agentes entomopatógenos con una vida útil más larga; los conidios pueden persistir en el medio ambiente mediante la propagación de enfermedades enzoóticas o epizootica. Por otro lado, es imposible teóricamente que los insectos desarrollen resistencia, ya que *Beauveria* spp. utiliza simultáneamente varios modos de acción y como organismo vivo, puede adaptarse a diversos cambios de huésped (Dannon et al., 2020, p. 7). Por consiguiente, el uso de *Beauveria* spp. como insecticida biológico se considera una alternativa potencial a los insecticidas químicos para el control de *Rhipicephalus* spp.

De acuerdo con McGuire y Northfield, (2020, p. 8) el control de las poblaciones de plagas perteneciente a las clases Lepidóptera, Coleóptera, así como algunos miembros de la clase Arácnida convierten a *Beauveria* spp. en un candidato prometedor para su uso como biopesticida. A diferencia de otros patógenos bacterianos y virales que necesitan ser consumidos por su hospedador para causar infecciones; *Beauveria* spp. sólo requiere el contacto para infectar (Sufyan et al., 2017, p. 2).

Como microorganismo entomopatógeno, el ciclo de vida de las distintas cepas de *Beauveria* spp. está organizado y adaptado como patógenos a sus huéspedes invertebrados, mientras que con sus hospederos vegetales forman una relación simbiótica, al vivir sin mostrar síntomas de enfermedad

en el tejido vegetal. Para desarrollar estas funciones ecológicas, este hongo necesita segregar una serie de enzimas, así como metabolitos secundarios, todos ellos con importantes funciones biológicas (Amobonye et al., 2020, p. 1).

1.2.2. Morfología

Las colonias son un micelio blanco o marrón amarillento, que se adhiere fuertemente a la superficie del agar (o no), el lado inferior es incoloro, blanco rojizo o blanco amarillento (Wang, Y. et al., 2020, p. 5). El diámetro de las hifas oscila entre 2,5 μm y 25 μm . Además, puede producir diferentes tipos de conidios en función del entorno (Dannon et al., 2020, p. 2). *Beauveria* spp. tiene hifas o filamentos lisos, formando agregados densos e irregulares de conidióforos, fiálides (célula productora de conidios) se asemejan a estructuras subglobosas, zigzagueando y estrechándose hacia la parte portadora de esporas llamada raquis (García, M. et al., 2011, p. 25) de acuerdo con Contreras y Bustillo, (2019, p. 1) *Beauveria* spp. tiene una tasa de crecimiento de 2,2 mm/día aproximadamente.

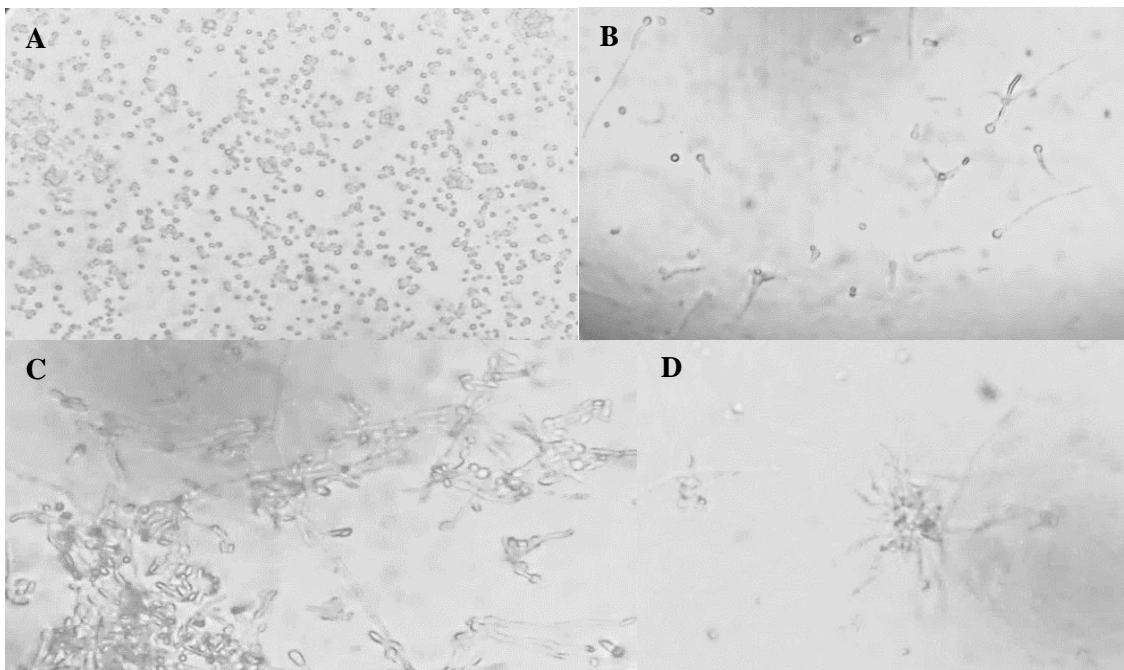


Figura 7-1: A. Esporas; B. Conidióforo simple; C. Hifas; D. Proliferación del conidióforo

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

1.2.3. Taxonomía

La posición sistemática de *Beauveria* spp. es la siguiente (Halouane et al., 2013, p. 69; Sung et al., 2006, p. 2).

Tabla 3-1: Taxonomía de *Beauveria* spp.

| Nivel | Ubicación |
|-----------|--|
| Reino: | Fungi |
| Filo: | Ascomycota |
| Orden: | Hipocreales |
| Familia: | Clavicipitaceae / Cordycipitaceae o ophiocordicipitaceae |
| Genero: | <i>Beauveria</i> |
| Especies: | <i>B. bassiana</i> (Bals.-Criv.) |

En algunos documentos, se considera que el patógeno pertenecía a Cordycipitaceae.

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

1.2.4. Mecanismo patogénico

Altamira, (2020, p. 37) destaca la importancia de diferenciar las estructuras celulares de los hongos entomopatógenos, ya que son diferentes morfológicamente, mismas que son; conidia, tubo germinativo, apresorio, hifa y blastosporas. Estas estructuras son primordiales para el proceso de parasitación del insecto *Rhipicephalus* spp.

El periodo patogénico de *Beauveria* spp. en organismos invertebrados desarrolla excelente capacidad bioplaguicida (Mascarin y Jaronski, 2016, p. 2). Las esporas asexuales (conidios) se dispersan por el viento, la lluvia, salpicaduras o incluso por vectores artrópodos facilitando que el hongo a establecer la infección en huéspedes susceptibles (Ortiz y Keyhani, 2013, p. 365).

1.2.4.1. Adhesión de la espora a la cutícula del insecto

Butt et al., (2016, p. 11) describe que los hongos entomopatógenos actúan por contacto, al penetrar dentro de la plaga y ocasionar muerte por micosis. Esta etapa se refiere a la infección de la espora con la cutícula del hospedero, es decir que los conidios deben traspasar la estructura de protección que forma el oxoesqueleto, acción que se lleva a cabo gracias a la intervención de las enzimas producidas por los hongos, al permitir degradar las capas de la cutícula.

Por otra parte, Hernández, A., (2016, p. 9) agrega que las esporas en las primeras 72 horas germinan en el estómago, seguido las hifas atraviesan las paredes del integumento, permitiendo que el hongo ingrese al hemocele y por consiguiente infecte sus tejidos.

1.2.4.2. Germinación de la conidia

Ramírez et al., (2014, p. 10) expresa que es el proceso donde el conidio o espora germina e inicia el desarrollo de su tubo germinativo, formando después un órgano sujetador (apresorio) con el cual

permite fijarse en la cutícula del insecto. El tiempo aproximado de germinación oscila entre 12 a 20 horas, que dependerá de la cepa, temperatura y humedad ambiental. De conformidad con Litwin et al., (2020, p. 3) para el desarrollo y germinación de los hongos entomopatógenos la temperatura ideal esta entre 20 a 30 °C.

1.2.4.3. Penetración del integumento o cutícula

García, Manuel et al., (2008, p. 26) describe esta etapa como el proceso de penetración de la cutícula del artrópodo, aquí los hongos entomopatógenos, combinan la acción mecánica ejercida por el tubo germinativo y la degradación enzimática, para penetrar las capas de la cutícula.

Desde el apresorio o clavija de inserción y con la acción hidrolítica de las enzimas (proteasas, quitinasas, quitobiasas, lipooxigenasas, lipasas y las más importantes son las proteasas), la presión mecánica entre otros factores (como el oxalato), el hongo entomopatógeno es capaz de ingresar en todas las capas de la cutícula hasta identificar un ambiente rico en nutrientes como la hemolinfa del insecto (Dannon et al., 2020, p. 3) postula que el tiempo promedio de penetración es de 8 a 12 horas. En la opinión de Damas, (2012, p. 16), *Beauveria* spp. cuenta con dos fases, que son: patogénica y saprófita.

1.2.4.4. Multiplicación del hongo

Vianna, (2019, p. 35) manifiesta que, ya cuando el hongo llega al hemocele e invade la hemolinfa del hospedero, en el interior del insecto se multiplican por medio de cuerpos hifales, se propaga dentro del tejido del insecto, produciendo formas miceliales como blastosporas. Las blastosporas permiten la absorción de nutrientes, gracias a la relación superficie/volumen (Altamira, 2020, p. 39). En consecuencia los insectos secretan receptores de reconocimiento de patógenos a nivel de la hemolinfa, superficie de hemocitos (células del hemocele) y en las membranas de las células epidérmicas (Wang, C. y Wang, 2017, p. 82).

1.2.4.5. Producción de toxinas

De acuerdo con Sepúlveda, (2019, p. 2) el hongo entomopatógeno al ingresar al cuerpo del insecto u artrópodo comienza a desarrollar y producir distintos tipos de toxinas, en consecuencia, genera síntomas como movimientos descoordinados, alterados, los insectos dejan de nutrirse como también de reproducirse y causan finalmente su muerte.

Ramírez et al., (2014, p. 10) agrega que ciertos hongos supuestamente no poseen toxinas, de modo que matan al insecto por consumir todos sus nutrientes. Las toxinas crean poca toxicidad si se compara su afección en mamíferos; pero son letales para los artrópodos a causa de sus propiedades

insecticidas. Es decir, que en artrópodos los hongos producen consecuencias a nivel de tejidos, deshidratación de las células por falta de fluido y cohíben que los insectos muestren sus reacciones de defensa, por lo consiguiente, facilita la multiplicación del hongo.

Pariona, (2006, p. 12) refiere que *Beauveria* spp. produce micotoxinas como: beauvericina, bassianolida, beaverolidos, y otros, para infestar el sistema inmunológico del parásito, de esta manera el hongo logra invadir exitosamente todos los tejidos del hospedero. Teniendo en cuenta a Sepúlveda, (2019, p. 4) quien expone que en base a investigaciones realizadas se demuestra que las cepas de los hongos entomopatógenos no presentan un efecto tóxico en el crecimiento de plantas y pastos, de ninguna manera genera efectos perjudiciales que modifiquen el suelo, ya que no hay presencia de letalidad en las lombrices y otros bioindicadores que altere los ecosistemas.

1.2.4.6. Muerte del insecto

Desde la perspectiva de Ramírez et al., (2014, p. 10) la muerte del insecto infectado se da previo a que el hongo colonice totalmente el hemocele, como consecuencia de la exposición directa a las toxinas. Damas, (2012, p. 16) añade que, en esta etapa de la espiración el insecto termina la fase parasítica e inicia la saprofitica. La muerte del artrópodo se da en relación con la cepa del hongo, del hospedante y de factores ambientales, ya de que de ello dependerá la germinación de las esporas y su acción de síntomas anormales en el insecto (Butt et al., 2016, p. 15).

1.2.4.7. Colonización

Ya una vez colonizados los órganos y tejidos, los hongos producen sustancias antibacteriales que permiten al insecto mantenerse momificado, es decir impiden su descomposición (Ramírez et al., 2014, p. 11). En esta etapa, el hospedero presenta manchas melanizadas en los sitios de infección o coloración rojiza, además estos insectos son usados como reservorio para los hongos (Pariona, 2006, p. 13).

1.2.4.8. Emergencia del micelio hacia el interior

Luego de terminar con la vida del insecto y que los nutrientes en el hemocele se agoten, los hongos deben emerger, de manera que si la humedad es favorable ($\geq 90\%$) el hongo puede salir del huésped por medio de la cutícula o por los orificios como la boca y ano para la posterior esporulación encima del cadáver, genera un inóculo que permite infectar a nuevos insectos o artrópodos (Butt et al., 2016, p. 22).

Ramírez et al., (2014, p. 11) enfatiza que, si por el contrario el hongo no puede dispersarse a la búsqueda de nuevos hospedadores porque los factores externos no son los correctos, el organismo

infectante deberá permanecer por más tiempo dentro del insecto y ser protegido por el integumento, hasta que las condiciones sean adecuadas para la reproducción asexual de los hongos (esporulación).

1.2.4.9. Esporulación

La subsistencia de la población del hongo está sujeta al medio ambiente, la dispersión puede darse por la lluvia, viento o por contacto con nuevos insectos a los que puede infestar (Wang, C. y Wang, 2017, p. 84). El proceso de esporulación se presenta cuando las hifas salen por los espiráculos, ano y boca, siempre y cuando las condiciones del medio sean adecuadas, dando lugar a la producción de conidios en un lapso entre 24 a 48 horas. En esta etapa el hospedero toma la coloración que caracteriza al hongo utilizado (Damas, 2012, pp. 21 - 22; Ramírez et al., 2014, p. 11).

1.2.4.10. Diseminación

Este proceso puede ser activo o pasivo, conforme las características de la conidia; pues toda espora puede cruzar de un invertebrado a otro por diseminación, a través del viento, animales, lluvia y el hombre, hasta encontrar nuevos hospedantes para iniciar con la afección letal (Gibson et al., 2014; Ramírez et al., 2014, p. 11).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización y duración del experimento

El estudio se realizó en dos etapas, la primera en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), en la Estación Experimental Central de la Amazonía Ecuatoriana (EECA), en el laboratorio de Protección Vegetal, ubicada en la Vía Sacha – San Carlos a 3 km de la entrada a la Parker, Cantón Joya de los Sachas, Provincia de Orellana, a 280 m.s.n.m., con 0°21'32" de latitud Sur y 76°52'40" de longitud Occidental. La segunda etapa se llevó a cabo en un predio ganadero, ubicado en el Cantón Joya de los Sachas, Provincia de Orellana.

El trabajo experimental tuvo una duración de 14 semanas comprendidas durante los meses noviembre 2021 hasta febrero 2022 en donde se cumplió con las actividades establecidas para las fases de laboratorio y campo hasta la toma y tabulación de datos. Las condiciones edafoclimáticas del lugar se presentan a continuación:

Tabla 4-2: Condiciones edafoclimáticas del INIAP – EECA

| Parámetros | Descripción |
|---------------------------|-------------------------------------|
| Zona climática | Bosque húmedo tropical |
| Temperatura promedio | 27 °C |
| Precipitación media anual | 3000 – 4000 mm |
| Humedad relativa | 84 % |
| Topografía | Plana |
| Tipo de suelo | Franco arcilloso de textura delgada |
| Materia orgánica | 2 – 4 % |
| Nivel de fertilidad | Media |

Fuente: (GAD; 2022; IMG, 2022)

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.



Figura 8-2: Ubicación de la finca Buena Fe

Fuente: Google Earth, 2022

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

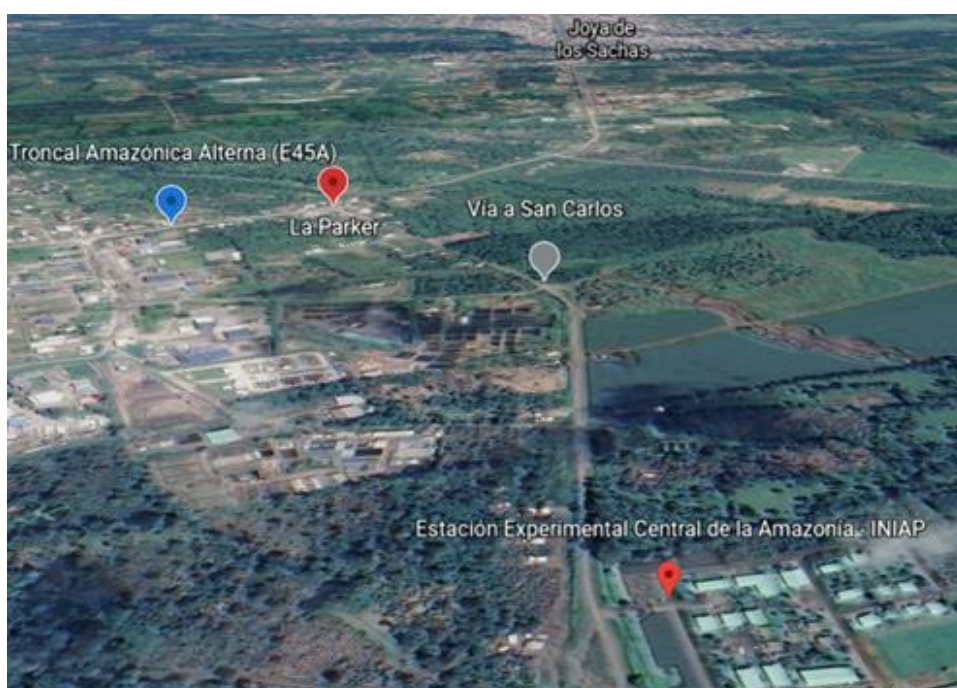


Figura 9-2: Ubicación de INIAP-EECA

Fuente: Google Earth, 2022

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

2.2. Unidades experimentales

Para el presente trabajo de investigación se consideró dos fases:

Fase 1:

- Como unidad experimental se emplearon 10 garrapatas, las que se colocaron en dos cajas Petri en condiciones de laboratorio.
- Número de repeticiones: 3
- Número de tratamientos: 8

Fase 2: Se realizó en un predio de la siguiente manera:

- Se empleó un total de 12 animales
- Número de repeticiones: 3
- Número de tratamientos: 4

2.3. Materiales, Equipos, Reactivos e instalaciones

2.3.1. Materiales y Herramientas

Con respecto a los materiales de laboratorio: cajas Petri de 90 mm de diámetro, sacabocados de 5 mm, pinzas, espátula, tubos de ensayo, matraz de Erlenmeyer, cámara de Neubauer, porta y cubre objeto, mechero de alcohol, algodón hidrofílico, papel aluminio, mandil, guantes de nitrilo y mascarillas.

Materiales de campo: bomba de aspersión de espalda manual, botas, overol, gorra y cinta bovino-métrica.

Materiales de oficina: notas de apuntes, material bibliográfico, papel, tijeras, lápices, borradores, esferos y regla.

2.3.2. Equipos

Microscopio compuesto con su respectiva cámara, cámara de flujo laminar, autoclave, estufa de calor seco y húmedo, destilador, balanza analítica, micropipetas y un calibrador, computador portátil, incubador.

2.3.3. Reactivos

Agua destilada, Hipoclorito de sodio (NaClO), alcohol potable, ácido láctico, cloranfenicol, azul de lactofenol.

2.3.4. Instalaciones

Laboratorio de Protección Vegetal, Estación Experimental Central de la Amazonía del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)
Finca Buena Fe propiedad del Sr. Vicente Armijos

2.4. Tratamientos

- Fase 1, Tratamientos de aislados de *Beauveria* spp. en laboratorio.

Se evaluó siete aislados de *Beauveria* spp más un testigo, los mismos que se detallan a continuación:

Tabla 5-2: Tratamientos, fase 1, selección de aislados de *Beauveria* spp.

| Tratamientos | Descripción |
|--------------|-------------|
| T1 | B – 001 |
| T2 | B – 002 |
| T3 | B – 003 |
| T4 | B – 004 |
| T5 | B – 005 |
| T6 | B – 006 |
| T7 | B – 007 |
| T8 | Testigo |

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

- Fase 2, Tratamientos de *Beauveria* spp. en aplicaciones de campo

Se evaluaron dos aislados de *Beauveria* spp., su combinación y un testigo, mismos que se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 6-2: Descripción de tratamiento de estudio

| Tratamientos | Descripción |
|--------------|--|
| T1 | Aislado con mayor porcentaje de biocontrol |
| T2 | Aislado con mayor porcentaje de biocontrol |
| T3 | Combinación de los mejores aislados |
| T4 | Testigo |

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

2.5. Diseño experimental

Fase 1 y 2: Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), con dos tratamientos de aislados de *Beauveria* spp. (ECCA y Agresiva) y su combinación (ECCA + Agresiva) y un testigo, con tres repeticiones por tratamiento, respectivamente.

2.5.1. Análisis estadístico

Se evaluó la efectividad de *Beauveria* spp. como biocontrolador de garrapatas en el ganado bovino. Para ello los datos se evaluaron con el programa estadístico InfoStat versión 2015. Se emplearon modelos lineales generales y mixtos (Riobóo y Pacheco, 2017, p. 88) bajo el siguiente modelo en la fase uno y dos:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + B_j + e_{ij}$$

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + e_{ij}$$

Donde:

- Y_{ij}** Es la variable de respuesta
- μ** Es la media general
- M_i** Es el efecto de i-ésimo tratamiento (Aislados)
- A_i** Es el efecto del i-ésimo tratamiento (Aislados)
- B_j** Es el efecto del i-ésimo bloque
- e_{ij}** Es el término de error aleatorio

2.5.2. Análisis funcional

Para establecer diferencias estadísticas se empleó la prueba LDS Fisher $\alpha = 0,05$; también se evaluaron los supuestos de los modelos mediante gráficos qq-plot (normalidad) y gráficos de los residuos en función de los predichos para la homogeneidad de varianza (García, María y Rapelli, 2018, p. 4).

2.5.3. Metodología de la evaluación

Fase 1: El factor en estudio se conformó por medios de cultivos, para lo cual se estudiaron dos cepas aisladas de *Beauveria* spp.

2.5.3.1. Obtención de *Beauveria* spp

Es la presente investigación *Beauveria* spp. fue proporcionada por el Laboratorio de Protección Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias en la Estación Experimental Central de la Amazonía en donde se evaluaron aislamientos obtenidos de broca de café y picudo negro que mostraron signos de infección en campo. *Beauveria* spp. como hongo entomopatógeno, puede aislarse de diferentes fuentes, es decir, puede encontrarse en la naturaleza sobre distintas

especies de artrópodos que pueden recogerse en el campo e incubarse en el laboratorio para aislar los conidios infecciosos (Nussenbaum, 2014, p. 55).

2.5.3.2. *Captura de garrapatas*

Se tomaron muestras de garrapatas al azar, previo examen visual como también en la superficie corporal al deslizar suavemente la mano sobre diferentes las zonas de: ubre, tabla del cuello, ancas, flancos, abdomen, patas traseras, delanteras incluidas las axilas y ancas. Al identificar el ectoparásito, se realiza la extracción con el uso directo de los dedos índice y pulgar, haciendo un ejercicio parecido al de una pinza de disección, se tomó el cuerpo de la garrapata lo más cerca del capítulo, girándola lentamente hacia arriba, en contra pelo del hospedador, hasta finalmente desprenderla, se procuró que el hipostoma no quede adherido a la piel del animal (Bolívar, 2013, p. 3).

Se tomaron 32 garrapatas, sin aplicación de pesticidas por un período de 20 días, mismas que se destinaron a la reactivación de *Beauveria* spp, posteriormente los ectoparásitos fueron depositados en cajas Petri.

2.5.3.3. *Reactivación de Beauveria spp.*

Tras seleccionarse 16 garrapatas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5 % (NaClO 0,5 %), sumergiéndolas por 1 minuto, se lavaron los ectoparásitos tres veces con agua destilada con el objetivo de eliminar el exceso del producto desinfectante, retiramos el exceso con ayuda de una toalla de papel estéril (Ramírez et al., 2014, p. 16).

Una vez desinfectadas, se utiliza dos tubos de ensayo de 10 ml para colocar ocho garrapatas respectivamente, cada tubo contenía un aislado de *Beauveria* spp., estas inmersiones se realizaron por 2 min. En cuatro cajas Petri se colocó como base papel toalla estéril, sobre este un portaobjetos para situar las garrapatas. Es importante que la toalla estéril colocada sea humedecida anticipadamente con agua destilada, con la finalidad de generar una cámara húmeda para el desarrollo de *Beauveria* spp. Las cajas Petri se incubaron por un lapso de seis a diez días, se observó diariamente el proceso de colonización de *Beauveria* spp. con un estereoscopio.

En la cámara de flujo laminar se tomaron pequeñas muestras de *Beauveria* spp. de los insectos esporulados, se procuró no tomar parte del cuerpo de los ectoparásitos debido a que pueden ser fuente de contaminaciones en el proceso e inhibir un buen desarrollo del hongo.

2.5.3.4. *Combinación de medios y evaluación del crecimiento de cepas*

Con la intención de conocer si las dos cepas de *Beauveria* spp. responden mejor y con mayor cantidad de unidades infectivas de acuerdo con la condición nutrimental del medio se valoran cinco medios de cultivos, entre ellos: 1) Papa Dextrosa Agar (PDA) + Agar Dextrosa Sabourand (SDA) + Harina de maíz, 2) Agar Agua + Harina de maíz + Extracto de malta, 3) PDA, 4) Agar Agua + Extracto de malta, 5) Agar Agua + Harina de maíz.

La inoculación se elaboró al añadir discos de micelio de 5 mm de diámetro de *Beauveria* spp. activa. Posteriormente las cajas Petri pasan al proceso de incubación por un período de ocho días, durante este tiempo se evalúa diariamente la medición del diámetro de las colonias en forma de cruz, para estimar el medio de cultivo que le brinda mayor crecimiento al inóculo, es decir a la esporulación de este.

A través de la evaluación ejercida se determinó que los medios de cultivo que presentaron mayor crecimiento del micelio fueron el medio uno y tres, decretando ser los más adecuados para continuar con el proceso de reactivación del hongo entomopatógeno.

2.5.3.5. *Conservación de Hongos Entomopatógenos*

Para la conservación de las cepas de *Beauveria* spp. se efectuó en base a la mejor garrapata esporulada, el hongo se siembra en cajas Petri con los medios anteriormente seleccionados, PDA + SDA + Harina de maíz, se aplica ácido láctico y cloranfenicol a fin de del proteger los medios ante otros microorganismos contaminantes. Seguido de ello, se incuban las cajas por diez días a temperatura entre 24 ± 2 °C.

2.5.3.6. *Preparación del sustrato*

Para la inoculación se utilizó como sustrato vegetal el arroz, ya que resulta ser una eficiente opción para el desarrollo masivo del hongo, debido a que permite una colonización total por la cepa de *Beauveria* spp. alcanzando rendimientos superiores a 1×10^9 conidias/g (Villegas, 2015, p. 20).

El proceso de preparación del sustrato se basó en la metodología de Jaronski y Jackson, (2012, pp. 259 - 263). Se inicia por pesar 10 kg. de arroz, se retiran impurezas y se lava por tres veces. Se deja reposar el arroz por un estimado de 45 – 50 min con cantidad suficiente de agua para cubrir totalmente los granos, luego se escurre el arroz.

Se depositó 260 g. de arroz por cada funda de polipropileno, para asegurar un mejor sellado, se realizan dobleces en el extremo de la funda y se engrapa. Luego, se introduce las fundas en la autoclave a 121 °C, 15 psi de presión durante 45 minutos, al terminar este procedimiento de

esterilización se apaga el equipo, se abre la puerta para que drene la presión ejercida en la máquina, en seguida se retira el arroz y se deja enfriar a temperatura ambiente.

Se manipula las bolsas hasta encontrarse a una temperatura tolerable para ejercer presión sobre el arroz y descompactar los granos, con el fin de evitar la presencia de grumos al cosechar el hongo. Una vez frío se limpia y desinfecta la cámara de flujo laminar como también el piso, con el propósito de conservar un ambiente aséptico.

Se alistó una disolución preliminar de *Beauveria* spp. de cada aislado (Agresiva y ECCA) con Tween 20 y agua destilada. La inoculación se efectuó inyectando 5 ml de solución de conidias de cada inóculo a una concentración desconocida con la ayuda de una jeringa estéril en cada una de las fundas de arroz, proceso realizado dentro de la cabina de flujo laminar. Se sella el pequeño orificio creado por la jeringa con cinta adhesiva para mantener el sustrato libre de otros microorganismos contaminantes. Al final se remueve cada bolsa para que la solución se esparza de manera homogénea. Una vez terminada la inoculación, todas las bolsas de sustrato con sus respectivas fechas e identificaciones por cepa, son llevadas a la sala de incubación.

2.5.3.7. Crecimiento del hongo Beauveria spp.

Esta etapa consistió en el desarrollo del hongo ya en el sustrato, las bolsas inoculadas son dejadas en reposo durante 21 días a temperatura de 22 a 24 °C. Durante este tiempo es fundamental dar seguimiento a las bolsas cada 2 o 4 días para romper el micelio con la finalidad de homogenizar los granos de arroz y evitar el amontonamiento de *Beauveria* spp. en el sustrato. También es importante descartar los paquetes que presenten contaminantes o con poca homogenización. A los 20 o 21 día completa la esporulación y se da lugar a la cosecha del hongo entomopatógeno.

2.5.3.8. Control y Preparación de calidad del inóculo

Se llevó a cabo la preparación del inóculo al emplear el hongo *Beauveria* spp. reactivado y conservado en Agar Papa Dextrosa (PDA) además, se cuantificó la concentración de esporas por mililitro, la tasa de germinación y pureza.

2.5.3.9. Determinación de la concentración de esporas

Luego de haber transcurrido 12 días de la incubación del hongo entomopatógeno en su respectivo sustrato vegetal, se evaluó el rendimiento de esporas, al colocar 138,89 g. del sustrato ya colonizado en 500 ml de agua destilada con Agral 90 para esparcir las conidias. Se comprueba tres dosis de este surfactante, mínima (0,04 ml), media (0,063 ml) y máxima (0,09 ml).

Según Agripac, (2021, p. 3) el Agral 90 al presentar características biológicas para mejorar las propiedades esparcidoras de productos fitosanitarios, se planteó mezclar con *Beauveria* spp. con la finalidad de conocer su efecto en el control biológico de garrapatas. De acuerdo con esta empresa de insumos agrícolas, de debe aplicar 50 ml/200 litros de agua, en base a ello se empleó el siguiente cálculo para estimar las dosis a trabajar.

$$\frac{50 \text{ ml} - - - - 200 \text{ L}}{x - - - - - 9 \text{ L}} = 2,25 \text{ ml}$$

Al resolver este problema de proporcionalidad se toma como valor conocido nueve litros de agua, puesto que el hongo entomopatógeno fue aplicado en baños de aspersion de 3 L/animal. Se obtuvo que se debe aplicar 2,25 ml/ 9 L, al ser microorganismos se optó por trabajar con la mitad, es decir 1,13 ml de dispersante en nueve litros de agua.

Sin embargo, se continuó con las operaciones de proporcionalidad para estimar el valor desconocido al realizar la solución madre en 500 ml. Por lo tanto, se planteó lo siguiente:

$$\frac{1,13 \text{ ml} - - - - 9000 \text{ ml}}{x - - - - - 500 \text{ ml}} = 0,063 \text{ ml}$$

$$\frac{1,56 \text{ ml} - - - - 9000 \text{ ml}}{x - - - - - 500 \text{ ml}} 0,09 \text{ ml}$$

$$\frac{0,7 \text{ ml} - - - - 9000 \text{ ml}}{x - - - - - 500 \text{ ml}} 0,4 \text{ ml}$$

La dosis referencial fue 0,063 ml de Agral 90/500 ml de agua y a partir de esta se tomó una dosis alta que fue 0,09 ml y como dosis mínima 0,04 ml de surfactante por la dosis conocida de agua (500 ml) para realizar las diluciones en laboratorio.

Las muestras fueron tomadas del sustrato respectivo de cada cepa de *Beauveria* spp. (Agresiva y ECCA), para realizar adecuadamente el muestreo en agua destilada con las tres dosis de surfactante respectivas, se removió con cautela el sustrato con el hongo y se extrajo de diversos puntos submuestras hasta completar 138,89 g misma que fue la suspensión madre o también denominada 10°. Para este proceso se utilizó una espátula de acero y se pesó en una balanza analítica.

Se elaboran diluciones seriadas a partir de la solución madre de cada inóculo, con el propósito de reducir la concentración y a su vez facilitar el conteo del número de esporas a través de la cámara de Neubauer (Badillo et al., 2019, p. 32). Se utilizó cuatro tubos de ensayo por cada muestra madre

con 9 ml de agua destilada estéril, para realizar la misma cantidad de diluciones seriadas: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

Después se tomó 1 ml (1000 μ l) de la suspensión y se colocó en cada tubo que contenía la solución diluyente con las diferentes dosis de Agral 90, esa pasa a ser la dilución 10^{-1} . Se agita en el vórtex por aproximadamente 30 s, luego se toma 1 ml del primer tubo y es colocado en el segundo, mismo que quedó diluido con respecto a la solución madre. Y así sucesivamente hasta conseguir una dilución 10^{-4} o aquella dilución, que permita contar las esporas/ml. Ya que la dilución apropiada para el conteo en el hemocitómetro es aquella que presenta entre 10 a 50 esporas por cuadrante (Báez et al., 2019, pp. 15 - 16).

Los tubos de la submuestra con dilución 10^{-2} a 10^{-4} de cada muestra se agitó en el vórtex, para tomar 10 μ L (0,01 ml) con la ayuda de una micropipeta y se colocó por capilaridad con el máximo cuidado sobre cámara de Neubauer, sin crear burbujas sobre esta. Se cubrió con un cubreobjetos y antes de comenzar con el conteo se dejó en reposo por 30 s, pasado este tiempo se contó las esporas al enfocar la cámara con el objetivo 40X. Se ejecutó un conteo duplicado de esporas en los cinco cuadrantes centrales de la cámara de Neubauer.

La cámara de Neubauer es un portaobjetos que presenta dos cámaras de 0,1 mm de profundidad y cada uno se subdivide en nueve cuadros de 1 mm^2 , es decir cada retículo tiene una superficie de 9 mm^2 . Asimismo, el cuadrado del centro está dividido en 25 cuadrantes de 0,2 mm de lado con una superficie de 0,04 mm^2 cada uno y éstos a su vez en 16 cuadrantes de menor tamaño (0,0025 mm^2). El recuento de las conidias se realizó en cinco de estos cuadrantes centrales, los cuatro de las esquinas y el del centro, se contó las esporas en función a los límites, estos fueron: cuando estaban en la primera línea de arriba y de la derecha; mientras que si las conidias estaban sobre la línea de abajo y de la izquierda no debían contabilizarse en aquel cuadrante (Cañedo, 2004, p. 45; Chiriboga et al., 2015, pp. 15 - 16). Se determinó la concentración de esporas, mediante la fórmula propuesta por Ramírez et al., (2014, p. 23).

$$N^{\circ} \frac{\text{conidias}}{\text{ml}} = \bar{X} * 5 * 10^4 * ID$$

$$N^{\circ} \frac{\text{conidias}}{\text{ml}} = \Sigma \left(\frac{A + B + C + D}{5} \right) * 5 * 10^4 * ID$$

Donde:

\bar{X} = Promedio del número de esporas por cuadrante obtenido

5 = N.º de cuadrillos contados en el cuadrante central

10⁴ = Factor de corrección de la cámara

ID = Inverso de la dilución empleada

Por último, se multiplicó el promedio del número de esporas por mililitro resultante en el recuento, por el volumen empleado en la elaboración de la suspensión madre y se dividió por el peso de la muestra empleada.

Tabla 7-2: Conteo de esporas de *Beauveria* spp. con diferentes dosis de Agral 90

| Muestra | Solución | Cuadrantes | | | | |
|-----------------------|--------------------|------------|-----|-----|-----|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| EECA máx. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 103 | 98 | 105 | 115 | 96 |
| | 1×10^{-3} | 10 | 9 | 10 | 12 | 11 |
| | 1×10^{-4} | 2 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| EECA mdna. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 100 | 98 | 95 | 105 | 90 |
| | 1×10^{-3} | 12 | 8 | 9 | 13 | 8 |
| | 1×10^{-4} | 3 | 2 | 2 | 4 | 1 |
| EECA mín. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 116 | 110 | 108 | 112 | 105 |
| | 1×10^{-3} | 12 | 9 | 11 | 10 | 10 |
| | 1×10^{-4} | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| Agresiva máx. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 97 | 106 | 105 | 98 | 103 |
| | 1×10^{-3} | 11 | 14 | 13 | 9 | 10 |
| | 1×10^{-4} | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 |
| Agresiva mdna. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 102 | 98 | 95 | 100 | 99 |
| | 1×10^{-3} | 12 | 11 | 11 | 13 | 9 |
| | 1×10^{-4} | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| Agresiva mín. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 100 | 98 | 100 | 102 | 97 |
| | 1×10^{-3} | 12 | 8 | 9 | 13 | 8 |
| | 1×10^{-4} | 3 | 2 | 2 | 4 | 1 |
| EECA + Agresiva máx. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 106 | 102 | 103 | 100 | 96 |
| | 1×10^{-3} | 11 | 9 | 11 | 14 | 8 |
| | 1×10^{-4} | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| EECA + Agresiva mdna. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 100 | 98 | 105 | 109 | 95 |
| | 1×10^{-3} | 12 | 8 | 13 | 11 | 9 |
| | 1×10^{-4} | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 |
| EECA + Agresiva mín. | 1×10^{-1} | SC | SC | SC | SC | SC |
| | 1×10^{-2} | 106 | 103 | 99 | 108 | 112 |
| | 1×10^{-3} | 12 | 9 | 8 | 10 | 11 |
| | 1×10^{-4} | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 |

Realizado por: Quezada, L.; y Quezada N., 2022.

Tabla 8-2: Concentraciones de aislados de *Beauveria* spp. empleados sobre garrapatas

| Aislados | Concentración de hongo |
|-----------------|------------------------------|
| EECA | $8,6 \times 10^8$ esporas/ml |
| Agresiva | $8,4 \times 10^8$ esporas/ml |
| EECA + Agresiva | $8,4 \times 10^8$ esporas/ml |

Realizado por: Quezada, L.; Quezada N., 2022.

2.5.3.10. Determinación del porcentaje de germinación

La formación de esporas depende en gran medida de la humedad y la temperatura ambiental, y en menor magnitud de la luz y las condiciones nutricionales, el nivel del agua también es un factor que influye en el crecimiento del hongo y las pequeñas diferencias de humedad relativa tras la formación de las esporas pueden marcar la diferencia en el éxito del control de la plaga por parte del hongo (Godoy et al., 2007, p. 422).

La prueba de germinación y la determinación del número de esporas permitieron establecer la viabilidad de estas (Chiriboga et al., 2015, p. 18). De acuerdo con Granda, (2015, p. 26) este proceso permite disponer de una concentración eficaz de *Beauveria* spp. como hongo entomopatógeno, sobre la cual se prepararon las dosis a utilizar en la fase de campo, por lo tanto, la germinación de conidios es fundamental para la propagación en el medio ambiente.

Para evaluar la viabilidad de *Beauveria* spp. se preparó cajas Petri con un cultivo pobre que permitió tener un crecimiento escaso de micelio, siendo el más apropiado Agar Agua; del lado reverso de la base circular de las placas Petri se marcó cinco puntos mismos que permiten delimitar la zona del conteo. A continuación, con una micropipeta se depositó cinco alícuotas de la dilución realizada para el recuento de esporas en la prueba anterior que contenía aproximadamente 1×10^{-4} esporas del producto.

Se adicionó una gota de azul de lactofenol sobre cada alícuota para detener la germinación y colocar los conidios, posteriormente se cortó la superficie teñida, se depositó en una lámina portaobjetos y se tapó la suspensión con una laminilla cubreobjetos, finalmente se observó bajo un microscopio. La observación se hace con el objetivo 40X contando un mínimo de 300 conidios por muestra de alícuota se contabilizaron las esporas germinadas o no germinadas. A partir de los datos obtenidos, se calculó el porcentaje de germinación (Báez et al., 2019, p. 11).

Para calcular el porcentaje de germinación de los *Beauveria* spp se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Germinación \%} = \frac{\text{Número de conidios germinados}}{\text{Total de conidios evaluados}} \times 100$$

Si el resultado es igual o superior a 90% se considera que la viabilidad del producto es viable (Fiallos, 2020, p. 24).

Tabla 9-2: Porcentaje de germinación de inóculos de *Beauveria* spp. en laboratorio

| Dosis Agral 90 | % germinación | | | | | |
|-------------------------|---------------|---------|----------|----------|----------|----------|
| | 4 horas | 8 horas | 12 horas | 16 horas | 20 horas | 24 horas |
| EECA máx. | 5,77 | 12,24 | 29,00 | 42,86 | 66,67 | 95,60 |
| Agresiva máx. | 3,75 | 18,75 | 38,27 | 62,32 | 84,29 | 96,34 |
| EECA + Agresiva máx. | 2,15 | 14,89 | 35,16 | 56,76 | 77,38 | 98,88 |
| EECA mdna. | 2,04 | 7,37 | 27,91 | 44,83 | 60,67 | 93,18 |
| Agresiva mdna. | 1,12 | 11,24 | 29,67 | 43,02 | 55,42 | 94,74 |
| EECA + Agresiva mdna. | 1,10 | 10,23 | 29,90 | 50,00 | 66,29 | 97,73 |
| EECA mín. | 1,18 | 10,59 | 28,38 | 45,45 | 60,53 | 96,97 |
| Agresiva mín. | 0,00 | 8,42 | 19,39 | 36,00 | 63,29 | 98,59 |
| EECA + Agresiva mín. | 0,00 | 8,33 | 26,32 | 43,90 | 60,71 | 95,29 |
| Testigo EECA | 0,00 | 5,62 | 27,16 | 41,56 | 59,72 | 98,59 |
| Testigo agresiva | 1,33 | 9,72 | 25,00 | 43,28 | 54,39 | 96,72 |
| Testigo EECA + Agresiva | 1,11 | 9,09 | 23,86 | 43,84 | 63,16 | 94,05 |

Elaborado por: Quezada, L.; Quezada N., 2022.

2.5.3.11. Determinación de pureza

A través de esta prueba se comprobó si el producto final del HE es puro o, por el contrario, presenta contaminantes no deseados, con la finalidad de mejorar el desarrollo de producción y formulación de estos. Puesto que al presentar alta carga microbiana distinto al enemigo natural (biocontrolador) origina un efecto desfavorable en el lapso de vida útil del hongo entomopatógeno y por ende falta de eficacia como controlador biológico de insectos plaga. Por eso los valores óptimos de pureza deben ser mayores al 90 % y como tal menos del 0,1 % de contaminantes (Báez et al., 2019, pp. 11 - 12).

De las diluciones previamente elaboradas para el recuento de conidios y germinación, se agitaron en el vórtex, se tomó 100 µl de las diluciones seriadas (10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) de cada muestra madre y se depositó en el medio de cultivo PDA, más ácido láctico al 0,1% y cloranfenicol. Las cajas Petri donde fue depositado el medio de cultivo se esterilizaron con anterioridad. Una vez inoculado la superficie de las cajas por inóculo, se dispersó con la ayuda de un asa microbiológica, posteriormente se incubaron las cajas a una temperatura de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

Se evaluó y monitoreó diariamente, el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por 5 días. Por último, se registró el número total de lecturas, se sacó un promedio de las UFC de los

contaminantes (hongos, bacterias y levaduras) y el número de UFC de *Beauveria* spp. evaluada. Se multiplicó por el inverso de la dilución utilizada y por el volumen empleado. Para estos cálculos, se basó en la fórmula de acuerdo con Chiriboga et al., (2015, p. 19).

$$\% \text{ Pureza} = \frac{\text{Unidades formadoras de colonias del hongo evaluado}}{\text{Unidades formadoras de colonias totales}} * 100$$

Tabla 10-2: Porcentaje de pureza en *Beauveria* spp.

| Aislados | Concentración | Repetición | % Pureza |
|-----------------|------------------------------|------------|----------|
| EECA | $8,6 \times 10^8$ esporas/ml | 1 | 99,58 |
| | | 2 | 99,12 |
| | | 3 | 99,25 |
| Agresiva | $8,4 \times 10^8$ esporas/ml | 1 | 99,46 |
| | | 2 | 97,89 |
| | | 3 | 99,10 |
| EECA + Agresiva | $8,4 \times 10^8$ esporas/ml | 1 | 98,36 |
| | | 2 | 99,01 |
| | | 3 | 98,29 |

Elaborado por: Quezada, L.; Quezada N., 2022.

2.5.3.12. Inoculación de hembras teleóginas de *Rhipicephalus* spp.

Para la inoculación de *Rhipicephalus* spp. se colocaron seis garrapatas adultas, completamente ingurgitadas, de tamaño y vitalidad uniformes, en un tubo que contiene una solución de hipoclorito de sodio al 5 % para evitar la muerte de los ixodoideos, se sumergieron durante un minuto, se enjuagaron dos veces con agua estéril, se eliminó el exceso con papel estéril y se prepararon para la inoculación.

Las hembras teleóginas desinfectadas se colocaron durante diez minutos en tubos de ensayo que contenían distintas concentraciones de *Beauveria* spp. con Agral 90, al mismo tiempo se identificó un grupo testigo el cual se sumergió en agua destilada estéril, se retiró el exceso de humedad y luego se depositaron dos garrapatas por caja Petri, finalmente se sellaron con papel Parafilm y se colocaron en una incubadora con temperatura $27 \pm 0, 5$ °C y una humedad relativa de al menos 85 % donde se evaluó el desarrollo del hongo entomopatógeno en los cadáveres de los ácaros y se estableció el tiempo necesario para la aparición del micelio hasta la invasión completa.

2.5.3.13. Evaluación de la mortalidad

Esta prueba determinó si *Beauveria* spp. atacó a ixodoideos en la fase adulta, pero no garantizaba que sea tan eficaz a nivel de campo como se registró en los ensayos de laboratorio, cuando las condiciones fueron ideales para que el hongo se adhiriera, germine y colonizara el hospedante. Después de la inoculación, se observaron los síntomas y signos de los ácaros con un estereoscopio, se evaluó la mortalidad de las garrapatas desde el día 1 hasta el día 14 y se determinó el ciclo de desarrollo del hongo a partir de los registros diarios, esto se analizó con la fórmula planteada por Nakano et al., (1981).

$$M = \frac{\% \text{ mortalidad en el tratamiento} - \% \text{ mortalidad en el control}}{100 - \% \text{ mortalidad en el tratamiento}} \times 100$$

Las garrapatas se consideraron muertas si no realizaban movimientos bajo el estereoscopio y su cadáver contenía *Beauveria* spp. fue transcendental añadir agua destilada estéril diariamente utilizando una jeringa desechable para humedecer el papel estéril. La humedad pudo considerarse un factor clave en el desarrollo de las infecciones fúngicas durante las fases de germinación de esporas y de formación de conidios en *Rhipicephalus* spp. (Motta y Murcia, 2011, p. 1).

Tabla 11-2: Porcentaje de garrapatas muertas post infección de *Beauveria* spp.

| Aislados | Concentración | % mortalidad / días | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|-------------------------------------|---------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| EECA | 8,6 × 10 ⁷ esporas/ml | 0 | 0 | 13 | 16 | 25 | 41 | 53 | 59 | 72 | 78 | 84 | 91 | 94 | 100 |
| Agresiva | 8,4 × 10 ⁷ esporas/ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 19 | 25 | 38 | 47 | 56 | 63 | 75 | 84 | 91 |
| EECA + Agresiva | 8,4 × 10 ⁷ esporas/ml | 0 | 0 | 0 | 9 | 16 | 22 | 2 | 41 | 50 | 53 | 66 | 72 | 81 | 88 |
| Testigo | Sin aplicación | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 6 | 6 | 9 |

Elaborado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Fase 2: Evaluación de la capacidad de biocontrol de dos aislados de *Beauveria* spp. sobre bovinos en condiciones de campo.

Se seleccionaron 12 bovinos mestizos manejados bajo un sistema de crianza extensivo, en un predio del Cantón Joya de los Sachas, los animales no estuvieron medicados ni bañados por al menos 15 días previos al inicio del estudio, con edades entre los 3 y 8 años (según cronometría dentaria) y peso vivo mayor a 350 kg. Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en cuatro tratamientos de tres animales cada uno: T1 (Aislado con mayor porcentaje de biocontrol),

T2 (Aislado con mayor porcentaje de biocontrol), T3 (Combinación de los dos mejores aislados) y T4 (Testigo).

Para determinar el número de garrapatas, se siguió el procedimiento descrito por Bautista et al., (2017, p. 7) cada bovino debió tener al menos 15 garrapatas de un diámetro mínimo de 4 mm en estado adulto; la cantidad de garrapatas *Rhipicephalus* spp. se estimó en una superficie de 20 cm² (10 x 2 cm) en siete áreas corporales, se marcaron con tinta para evitar errores de recuento.

En condiciones de campo las aplicaciones de aislados de *Beauveria* spp. se realizaron el mismo día de la preparación sobre cada unidad experimental, de preferencia en día nublados o días frescos entre las 16:00 y 17:00 horas (Tocas y Chiroque, 2019, p. 2).

Las aplicaciones se realizaron semanalmente mediante el uso de aspersores de espalda manuales, mismos que tuvieron la debida calibración del volumen de agua y se agitaban constantemente para evitar la sedimentación, el equipo empleado fue exclusivo para productos biológicos. Las suspensiones se prepararon de la siguiente manera: Surfactante + Arroz (sustrato + hongo) + 9 L de agua por cada uno de los tratamientos, es decir le correspondían 3 L de la disolución para cada unidad experimental con una concentración de 8×10^8 conidios/ml. Los aislados se multiplicaron en el laboratorio de Protección Vegetal de la EECA con las debidas normas que permitieron tener material activo de forma antagónica.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Capacidad entomopatógena de *Beauveria* spp. en condiciones de laboratorio

En lo que respecta al porcentaje de capacidad entomopatógena de aislados de *Beauveria* spp. en garrapatas adultas, se observaron diferencias entre los tratamientos ($p < 0,0001$); en donde los mejores resultados se obtuvieron en B – 006 y B – 003 (94,25 %, 93,36 %), sin embargo, en el menor efecto acaricida se encontró en los tratamientos B – 005, B – 001 y el testigo (74,25 %, 45,29 %, 1,00 %) respectivamente.

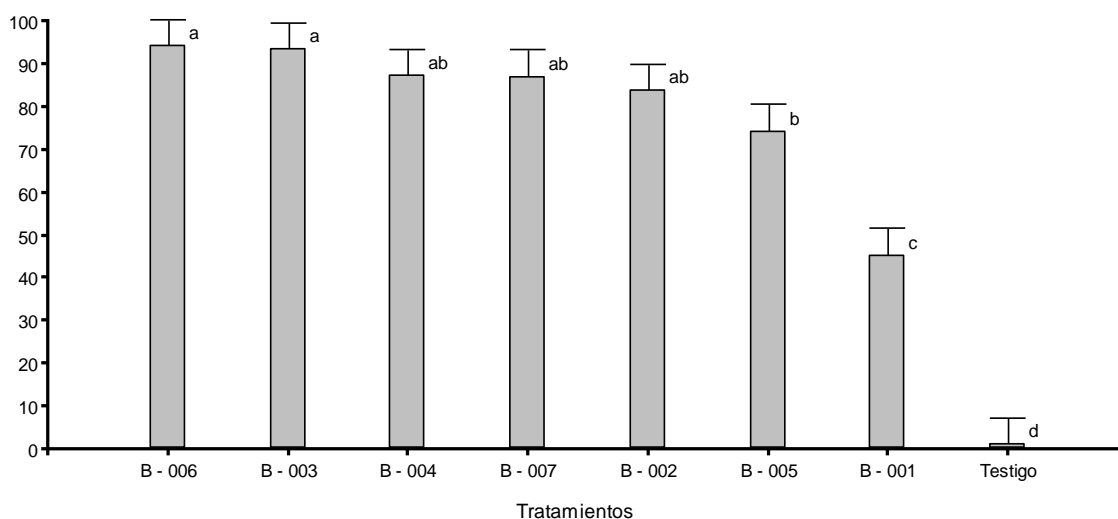


Gráfico 1-3: Capacidad entomopatógena de aislados de *Beauveria* spp.

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Al analizar el porcentaje de garrapatas adultas bio-controladas se observaron diferencias entre los tratamientos estudiados ($p < 0,0119$); constatando que los valores más altos se obtuvieron en los aislados B – 006 y B – 003, (95,64 % y 94,72 %); de la misma manera en el ensayo dos los mejores resultados se encontraron en los aislados B – 006 y B – 003 (92,86 % y 92,00 %) siendo estos iguales estadísticamente B – 02, B – 04 y B – 07 y diferentes a los tratamientos B – 01, B – 05 y testigo.

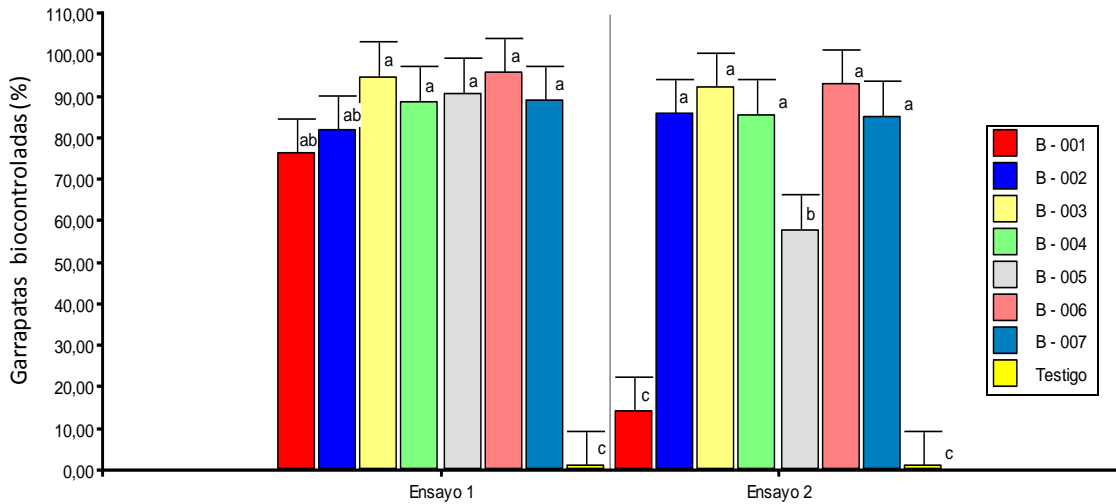


Gráfico 2-3: Comparación de dos ensayos en laboratorio de garrapatas biocontroladas

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Se observó que el porcentaje de colonización de *Beauveria* spp. presentando en los tratamientos evaluados es progresivo a lo largo del tiempo; inicia su crecimiento al tercer día, alcanzando su máximo desarrollo al octavo día (75 %); por otro lado, a los 5 días se destaca el pico de crecimiento micelial (30 %) y en los posteriores existe un decrecimiento.

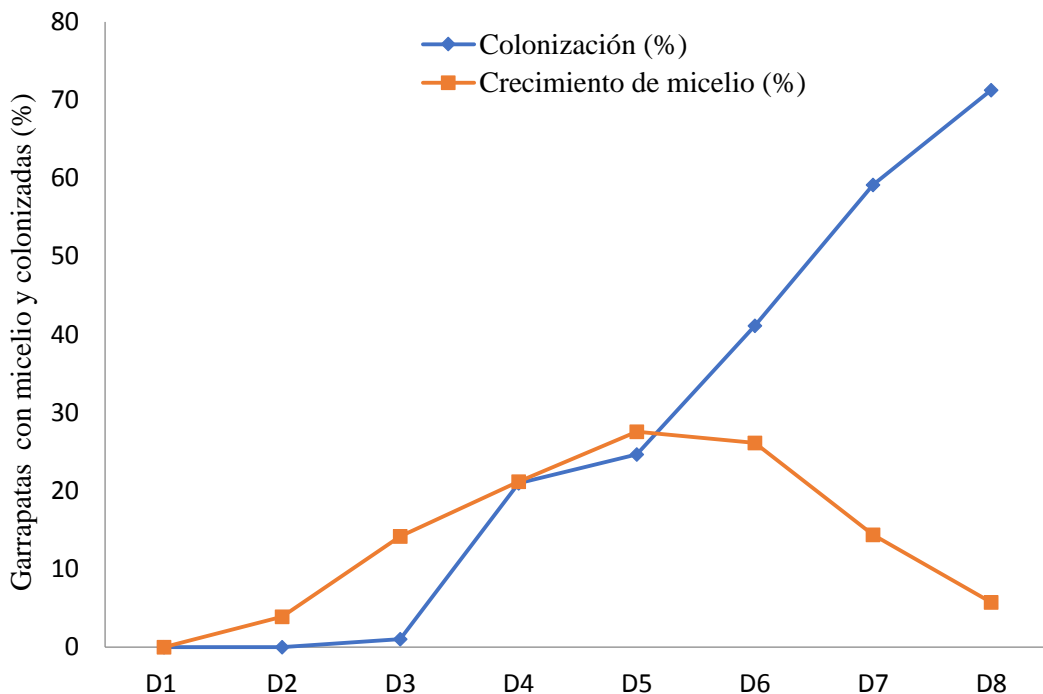


Gráfico 3-3: Crecimiento micelial y colonización de *Beauveria* spp. sobre garrapatas

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

En una investigación in vitro realizada por Álvarez, V. et al., (2017, p. 48) demostró que *Beauveria* spp. alcanzó niveles de mortalidad que superan el 96 % en concentraciones de $1,6 \times 10^7$

conidias/ml, no obstante Aboelhadid et al., (2018, p. 144) observó que *Beauveria* spp. es efectiva contra garrapatas en estadio adulto empleándose concentraciones de 1×10^8 conidias/ml, ocasionando una mortalidad del 100 % de ixodoideos en el séptimo día después del tratamiento, análogamente (Tipás, 2020, p. 66) alcanza el mismo porcentaje de mortalidad a los 8,11669 días después de la inoculación con $1,003 \times 10^8$ conidias/ml. Pureza et al., (2019, p. 290) menciona que bajo condiciones de laboratorio e independientemente de la dosis, *Beauveria* spp. logra inhibir significativamente la eficiencia reproductiva de las hembras teleóginas con una patogenicidad del 89,02 % y 88,23 %, respectivamente.

Tavassoli et al., (2012, p. 1781) realizó bioensayos en laboratorio con cepas de hongos elegidas en distintas concentraciones de conidios, seleccionó al azar suspensiones de 1×10^5 y 1×10^7 siete días después de la muerte, las hifas fúngicas empezaron a emerger y a esporular. En este sentido, la concentración de esporas es indistinta del tamaño del micelio y colonización, y aunque el hongo crezca en gran número, puede no producir conidios (Cacuango, 2021, p. 36). La investigación de Fernández et al., (2018, p. 280) si obtuvo el 100 % de mortalidad en cepas de *Beauveria* spp. no obstante, comprobó que solo el 90 % de las garrapatas adultas infectadas estaban cubiertas de micelio y permitían la esporulación.

Las diferencias en la mortalidad de *Beauveria* spp. utilizando diferentes cepas y dosis pueden explicarse por las características de virulencia y patogenicidad de cada uno de los aislados. Perinotto et al., (2012, p. 260) demostró que, los HE del mismo género y especie, pero aislados en diferentes regiones, difieren significativamente en la formación de estructuras de infección, la adhesión a la cutícula de las garrapatas, la evasión del sistema inmunitario del huésped y la producción de toxinas y enzimas contra la misma población de *Rhipicephalus* spp. en bioensayos de laboratorio.

3.2. Dinámica poblacional de garrapatas en ganado bovino

Al analizar la gráfica 4-3 se puede observar que existe un crecimiento poblacional de garrapatas del 9.37 % en el tratamiento testigo; no obstante, los tratamientos T1 (-20,57 %), T3 (-16,33 %), y T2 (- 14,68 %) reflejan una disminución de *Rhipicephalus* spp.

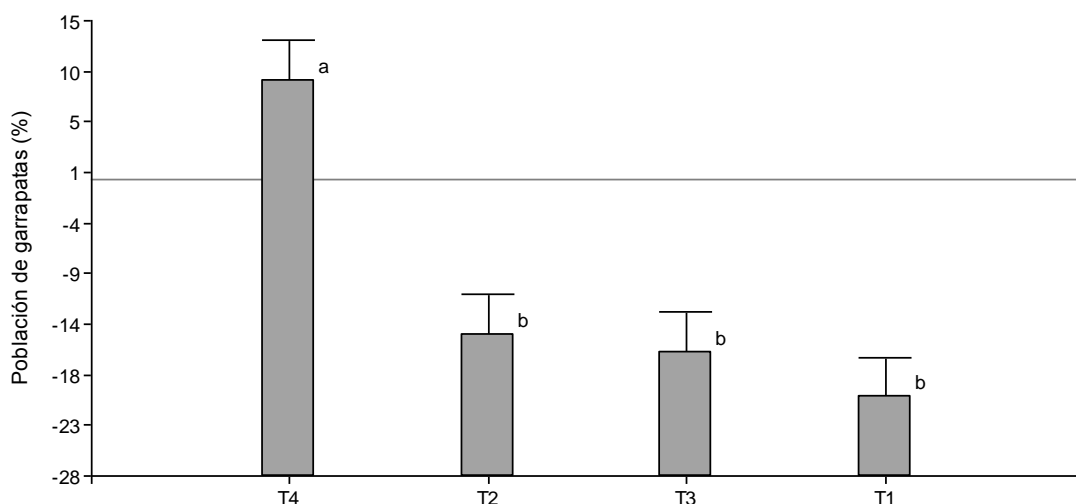


Gráfico 4-3: Comportamiento poblacional de garrapatas con *Beauveria* spp.

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

La población de garrapatas bajo el efecto de la aplicación constante de *Beauveria* spp. Como control biológico ejerce resultados favorables en la disminución de la dinámica poblacional de *Rhipicephalus* spp. Al respecto existe relación con lo que sostiene Pensamiento y Durán, (2018, p. 14) quienes afirman que aplicar el hongo entomopatógeno una vez por semana permitió respuestas visibles a partir del día 14 y con similitud a los 21 días, ya que el número de ectoparásitos se mantiene por debajo del nivel crítico de 20 garrapatas por animal. Este resultado es similar a los demostrado por Briones et al., (2021, pp. 4 - 5) en la evaluación del efecto microacaricida de *Beauveria* spp. en garrapatosis bovina.

Los animales bovinos objeto de estudio correspondieron predominantemente a la producción lechera. El tratamiento T4 o testigo por el contrario comparado con los demás tratamientos presento constantes aumento en la carga parasitaria dado que no se controló durante el tiempo del experimento y al encontrarse en constante cambio de potreros la infestación fue ascendiendo. La información se asemeja con investigaciones de diversos autores quienes evidencian que el ganado *Bos Taurus* son mucho más propensos a tener garrapatas a diferencia de las razas cebuinas (*Bos indicus*), en vista de que estos animales son resistentes a los ectoparásitos y enfermedades tropicales (Campos Duran, 2021, p. 10; López, M. y Briceño, 2014, p. 4; Polanco y Ríos, 2016, p. 92).

En el trabajo realizados por Rodríguez, Roger et al., (2014, p. 298) manifiesta que el ganado europeo (*Bos taurus*) no presenta en su genética la capacidad de transmitir la heredabilidad de resistencia a las garrapatas, lo que concuerda por lo señalado por Ridermann y Porfirio, (2015, pp. 8 - 9) que además de razas bovinas también intervienen otros factores como: las condiciones de bienestar y confort, condiciones ambientales, el estado corporal, nutricional, inmunológico y en si el estado general del animal para desarrollar el nivel de infestación parasitaria.

3.3. Eficiencia biocontroladora de *Beauveria* spp. en campo

Referente al porcentaje de bio control se presentaron ($p < 0,001$) Entre las distintas aplicaciones de aislados de *Beauveria* spp., en donde los mejores porcentajes se hallaron en la cuarta aplicación (30,81 %), de la misma manera no hubo diferencias entre la primera y la segunda aplicación (12,63 % y 9,23 %). El alto porcentaje de biocontrol en el ensayo cuatro es debido a que *Beauveria* spp. expresó su máxima capacidad entomopatógena.

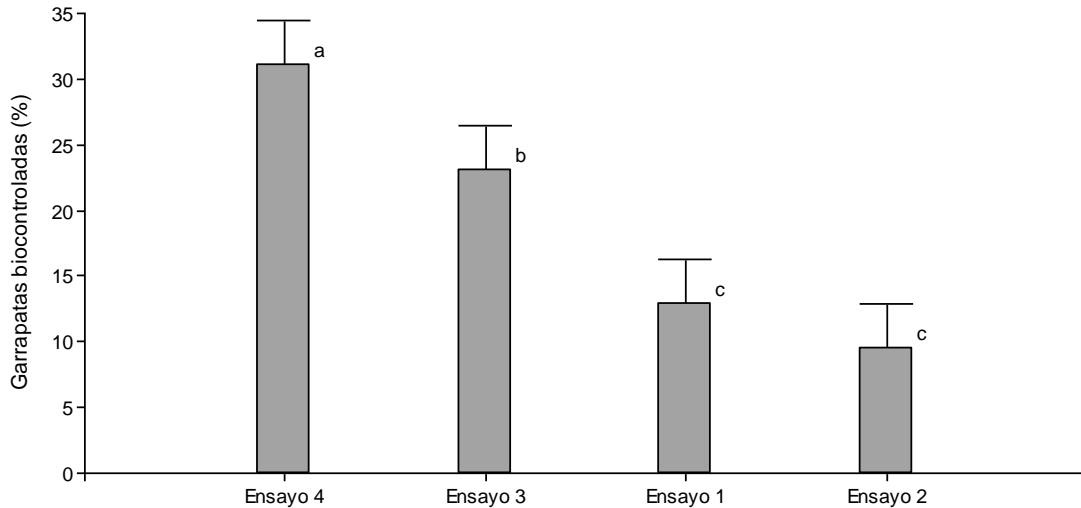


Gráfico 5-3: Porcentaje de garrapatas biocontroladas en cuatro ensayos

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Al analizar la variable porcentaje de garrapatas biocontroladas las unidades bovinas, se observó que los tratamientos mantuvieron diferencias estadísticas ($p < 0,0001$) El tratamiento uno obtuvo el mayor valor de biocontrol (29,10 %) seguido del tratamiento tres (23,20 %) y dos (23,14 %), el tratamiento cuatro o testigo no provocó capacidad acaricia.

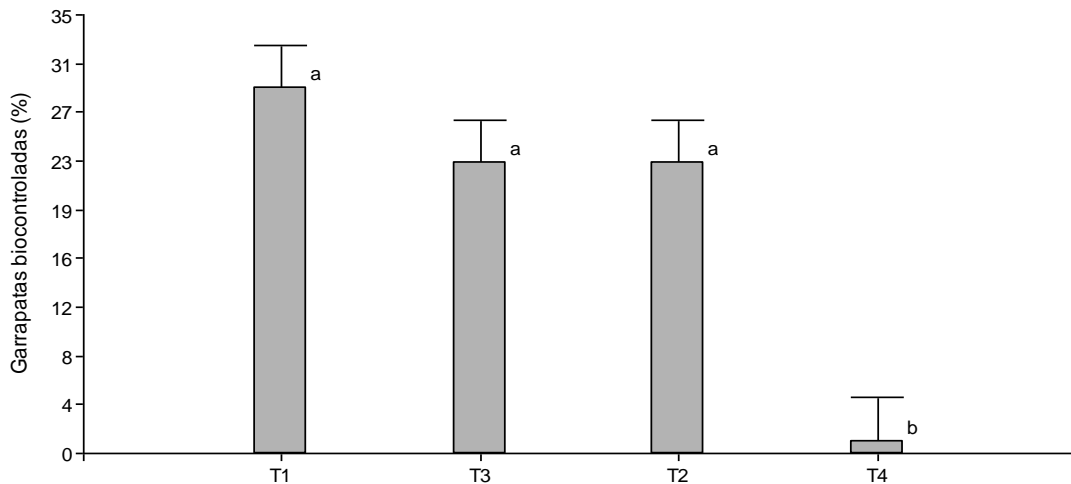


Gráfico 6-3: Efectividad de *Beauveria* spp. sobre garrapatas

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

En la gráfica 7 -3 se puede observar que el porcentaje de garrapatas biocontroladas es diferente en los tres estadios, se encontró mayor mortalidad en el estado larvario (28,36 %), seguido por las garrapatas inmaduras o ninfas (17,35 %). Al contrario, las garrapatas adultas mostraron mayor resistencia al efecto acaricida de *Beauveria* spp. con un promedio letal de 2,97 %.

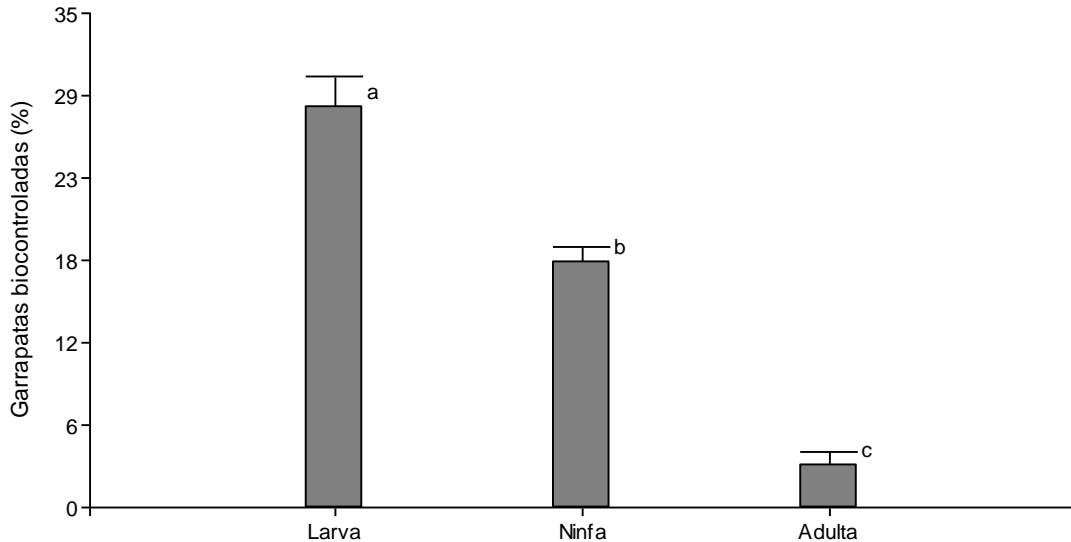


Gráfico 7-3: Letalidad de *Beauveria* spp. en estadios de garrapatas

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

Las zonas corporales evaluadas; ligamento central de la ubre, tabla del cuello lado izquierdo, ligamento suspensorio lateral izquierdo, muslo derecho, tabla del cuello lado derecho, ligamento suspensorio lateral derecho de los bovinos no mostraron diferencias ($p < 0,0001$), al interpretarlas porcentualmente, se demostró que el muslo izquierdo fue el sitio corporal con menor biocontrol de garrapatas (11,14 %) en comparación con el ligamento central de la ubre en donde existió mayor afección de *Beauveria* spp. con 19,36 % de eficacia.

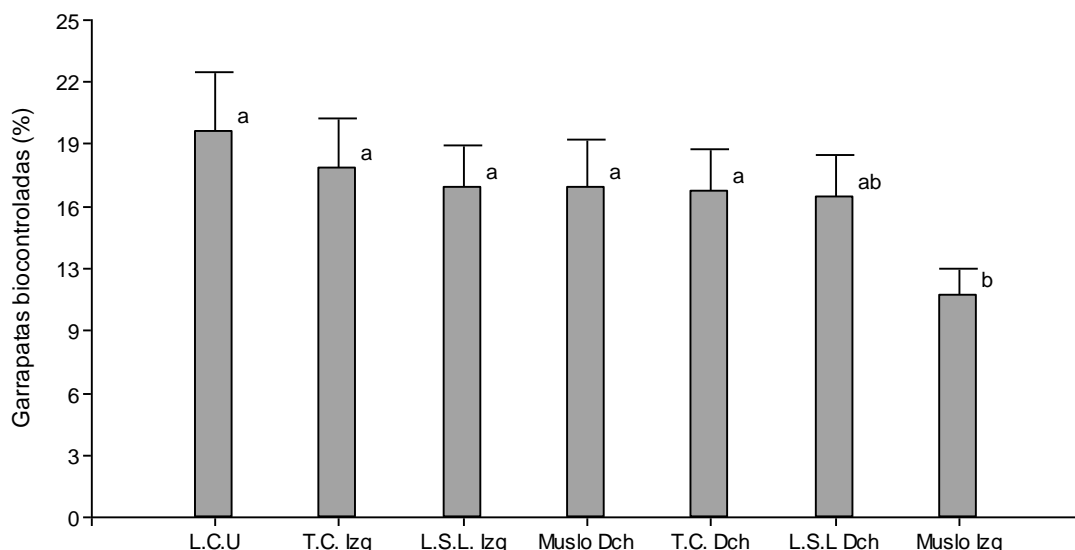


Gráfico 8-3: Porcentaje de garrapatas biocontroladas en diferentes zonas del cuerpo

Realizado por: Quezada, L.; Quezada, N., 2022.

La investigación reflejó que la tasa de infección en los bovinos varía en función de la parte del cuerpo, algunos autores estudiaron la posición de las garrapatas en los animales huéspedes y coincidieron en que éstas prefieren ciertas zonas del cuerpo del animal. Según estos autores, *Rhipicephalus* spp. predomina con rapidez las áreas de los bovinos en donde la epidermis del animal es más delgada, como el abdomen, supuesto que permite fijar su toma asegurando su alimentación en el hospedero (Farougou et al., 2007, p. 66). Los estadios de larva y ninfas de algunas especies de *Rhipicephalus* spp. se adhieren principalmente a la cabeza y el cuello (Zoffoun et al., 2011, p. 440).

El control con *Beauveria* spp. presentó efecto ascendente en la incidencia parasitaria de *Rhipicephalus* spp., en repetidas aplicaciones del organismo sobre los animales bovinos, se halló similitud con los resultados de Tofiño et al., (2018, pp. 3 - 4), quienes afirmaron que a mayores aplicaciones favorece el porcentaje de reducción de infestación.

La población de garrapatas respecto a la infección por *Beauveria* spp. mostró mayor efecto en estadios inmaduros, puesto que aún no presentan su desarrollo morfológico completo, por ende, son mayormente susceptibles a contraer alguna enfermedad por agentes entomopatógeno. Polanco y Ríos, (2016, p. 86) manifestaron que, los estados de larva y ninfa se alimentan por períodos de tiempo corto a diferencia de las hembras adultas. Rodríguez, U. et al., (2018, p. 227) asimismo, reportaron que las adultas tienden a aumentar su peso original al alimentarse por un tiempo más largo, permite el crecimiento y desarrollo característico total de su etapa, brindando capacidad y habilidad para sobrevivir en el ambiente.

El control biológico al manejarlo de manera constante brinda la oportunidad de contrarrestar principalmente aquellos estadios de desarrollo incompleto, por ser más propensos a adquirir

afección, por ello es importante controlar con microorganismos benéficos en relación con el ciclo de vida de la garrapata, para evitar que lleguen a su estadio adulto la hembra se desprenda del huésped y coloque sus huevos en el ambiente. Desde otra perspectiva Cuore et al., (2017, p. 18) no concordaron y enfatizaron que el desarrollo de alternativas no químicas de control son medidas de difícil aplicación y con resultados poco favorables en campo.

Bendeck, (2012, p. 12) argumentó en su evaluación de *Beauveria* spp. para el control de garrapatas en vacas de hato lechero que los estadios poblacionales como larva y ninfa reducen de acuerdo con la época en que se lleva el experimento, ya que las condiciones climáticas son determinantes para el brote crítico de la plaga. Estos resultados son similares a los encontrados por Jacho, (2015, p. 43) quien manifestó que las diferentes poblaciones de garrapatas se ven interrumpidas con las constantes aplicaciones de control químico o biológico.

La sensibilidad de *Rhipicephalus* spp. a determinados hongos está sujeta generalmente; al género y especie de la garrapata, cepa de hongo, concentración de esporas, temperatura, humedad y situación geográfica (Greeshma y Narladkar, 2018, p. 1268). La variabilidad genética entre los aislados de hongos es otra ventaja, ya que ensayos sencillos pueden detectar los aislados más virulentos, el nivel de especificidad del huésped y la tolerancia de las condiciones de campo (Kamp y Pinheiro, 2008, p. 88). En el campo, los cuerpos de las garrapatas que mostraron esporulación pueden actuar como reservorio o vector de *Beauveria* spp., y éste puede transmitirse de garrapatas infectadas a garrapatas susceptibles (Fernández et al., 2018, p. 280).

El déficit de efectividad de *Beauveria* spp. en los tratamientos de este trabajo pudo haberse relacionado con los factores bióticos y abióticos. Entre ellos, el rendimiento y esporulación de los hongos entomopatógenos se ven influenciados por factores ambientales, en donde el micelio y los conidios son muy susceptibles a la temperatura y humedad, radiación solar y a los altos niveles de luz (Mahdneshin et al., 2019, p. 5).

La cantidad de garrapatas que parasita el ganado bovino está sujeta a factores climáticos características propias de los animales como también de las acciones derivadas de la actividad humana (Salazar, 2015, p. 66). En este sentido Tofiño et al., (2018, p. 4) sostiene que los resultados en campo de bioformulados de *Beauveria* spp. aplicados en temperaturas promedio de 25 °C obtiene mejor germinación; mientras que si el hongo es aplicado a más de 30 °C desciende totalmente el porcentaje final de viabilidad del hongo con un promedio del 28 %, por esta razón es estrictamente necesario proteger a *Beauveria* spp. de las condiciones ambientales adversas, a que de ello depende el éxito en el control.

Dias et al., (2011, p. 323) destacó una eficiencia del 100 % en las pruebas de laboratorio con una inhibición total de los parámetros reproductivos de garrapatas, a pesar de esto, al evaluar de *Beauveria* spp. en bovinos infectados, los resultados observados en campo fueron inferiores. En general, la mayoría de los ensayos en campo con hongo entomopatógeno llevados a cabo en Sudamérica demostraron baja eficiencia en el control poblacional (Kamp y Pinheiro, 2008, p. 88).

CONCLUSIONES

En la presente investigación el hongo *Beauveria* spp. en condiciones de laboratorio infecta y controla de manera efectiva las garrapatas adultas, por lo que logró una mortalidad de 94 % a partir del quinto día post aplicación en concentraciones de 8×10^8 conideas/ml, no obstante, sobre los bovinos alcanzó mortalidades inferiores.

Los tratamientos con hongos entomopatógenos para el control de garrapatas en animales bovinos son una alternativa viable y con uso frecuente en campo; *Beauveria* spp. presentó capacidad entomopatógena con efectos positivos en la dinámica poblacional de *Rhipicephalus* spp. con evidente disminución y comportamiento de control de carga parasitaria.

El tratamiento T1 (aislado EECA) resultó ser el más eficaz de todos los tratamientos de *Beauveria* spp. implementados en este estudio, sin embargo, todos mostraron propiedades acaricidas en una parte del período de investigación; durante el trabajo realizado se observó que los tratamientos mostraron mayores mortalidades en los estadios inmaduros, principalmente en las larvas y en la zona anatómica del ligamento central de la ubre del animal.

RECOMENDACIONES

En base a los resultados del presente trabajo se debe emplear *Beauveria* spp en condiciones óptimas de temperatura, por lo general en épocas húmedas y horas de la tarde para asegurar la germinación y crecimiento del hongo sobre los ectoparásitos.

Continuar con más investigaciones en laboratorio frente a la concentración, mecanismo de acción y pruebas de viabilidad del hongo entomopatógeno usando dosis con mayor concentración de conidias/ml de *Beauveria* spp. que puedan ser utilizadas para mayor control de estadios de garrapatas en épocas secas donde la carga parasitaria es más predominante.

Continuar con aplicaciones de *Beauveria* spp en fase de campo como método amigable con el medio ambiente, con la finalidad de reducir la resistencia de las garrapatas frente a acaricidas químicos.

Ejecutar evaluaciones de *Beauveria* spp en los forrajes para establecer mejores resultados de control sobre la ovoposición y larvas de garrapatas.

Ver aplicaciones combinadas de *Beauveria* spp con otros productos químicos para determinar posible cooperación de acción contra garrapata.

BIBLIOGRAFÍA

ABOELHADID, S, IBRAHIUM, S, ARAFA, W, MAAHROUS, L, ABDEL, A, & WAHBA, A. "In vitro efficacy of *verticillium lecanii* and *beauveria bassiana* of commercial source against cattle tick, *rhhipicephalus (boophilus) annulatus*". *Advances in Animal and Veterinary Sciences* [en línea], (2018), (Egypt) (6 (3)), pp. 139 - 147. [Consulta: 05 enero 2021]. ISSN 2307 - 8316. Disponible en: http://www.nexusacademicpublishers.com/uploads/files/AAVS_6_3_139-147.pdf

AGRIPAC. (2021). *AGRAL 90* [en línea] Syngenta Crop Protection S.A. Ecuador. pp. 1 - 4. [Consulta: 20 noviembre 2021].

ALMADA, Arturo "Parasitosis: pérdidas productivas e impacto económico". *Engormix* [en línea], (2015), (Argentina) (6), pp. 1 - 3 [Consulta: 14 octubre 2021]. Disponible en: <https://www.ganaderia.com/destacado/Parasitosis:P%C3%A9rdidasproductivaseimpactoecon%C3%B3mico#:~:text=Los%20par%C3%A1sitos%20internos%20y%20externos,principales%20aspectos%20productivos%20del%20ganado.>

ALTAMIRA, Fabiola. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA *Microorganismos con actividad entomopatógena.* [en línea] (2020) Chile. [Consulta: 28 octubre 2021].

ALTAMIRANO, Wilmer, & PALACIOS, Martín. Estudio de diversidad de garrapatas en bovinos y equinos de 81 fincas de 5 Municipios del Departamento de Jinotega (Jinotega, La Concordia, Pantasma, San Rafael del Norte y Yalí) y el Municipio de San Francisco Libre, en el período comprendido enero-abril 2010 (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, Escuela de Medicina Veterinaria. Nicaragua. 2010. pp. 1 - 79. [Consulta: 31 diciembre 2021].

ÁLVAREZ, María, CASTILLO, Inmaculada, DÍAZ, Consuelo, GOZALO, Rosalía, & ORDÓÑEZ, José. (2017). *Dípteros y garrapatas: un problema de salud pública* [en línea] Colegio Oficial de Farmacéuticos de Sanidad, Comunidad de Madrid Consejería. España. pp. 1 - 84. [Consulta: 16 diciembre 2021].

ÁLVAREZ, Victor, MATAMOROS, Teresita, & MENA, Ana "Determinación, in vitro, de la eficacia de los hongos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, en el control de la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae)". *Ciencias Veterinarias* [en línea], (2017), (Costa Rica) (35 (1)), pp. 43 - 57. [Consulta: 30 diciembre 2021]. ISSN 2215 - 4507.

AMOBONYE, Ayodeji., BHAGWAT, Prashant., PANDEY, Ashok., SINGH, Suren., & PILLAI, Santhosh. "Biotechnological potential of *Beauveria bassiana* as a source of novel biocatalysts and metabolites". *Critical Reviews in Biotechnology* [en línea], (2020), (South Africa) (40 (7)), pp. 1019 - 1034. [Consulta: 29 diciembre 2021]. ISSN 0738 - 8551.

ANDERSON, John F., & MAGNARELLI, Louis A. . "Biology of ticks". *Infectious disease clinics of North America* [en línea], (2008), (United States) (22 (2)), pp. 195 - 215. [Consulta: 19 diciembre 2021]. ISSN 0891 - 5520.

AVELLANEDA, Daniela , BARRERA, Astrid , & CALDERÓN, Laura Analizar mediante una revisión sistemática las alternativas de control integrado de origen biológico, frente a la resistencia a acaricidas, de garrapatas de la familia Ixodidae (*Rhipicephalus Sanguineus* y *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Facultad de Ciencias de la Salud. Cundinamarca, Colombia. 2020. pp. 1 - 68. [Consulta: 13 noviembre 2021].

BADILLO, María, LUGO, Jorge Alberto , & PORTILLA, Nadia López. (2019). *Manual de practicas de laboratorio de quimica* [en línea] Universidad Autónoma del Estado de México. México. pp. 1 - 40. [Consulta: 16 diciembre 2021].

BÁEZ, Francisco, PERDOMO, Cynthia, PINCAY, Ana, TELLO, Cristina, VILLAMIZAR, Laura, TREVOR, Jackson, et al. *Manual de Análisis de calidad para formulaciones con base en hongos biocontroladores* [en línea]. Ecuador: INIAP - Experimental Santa Catalina, 2019. [Consulta: 29 noviembre 2021].

BAUTISTA, Arely , PIMENTEL, Rafael , & GÓMEZ, Armando. "Control biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* con hongos entomopatógenos/Biological Control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with Entomopathogenic Fungi". *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias* [en línea], (2017), (México) (6 (12)), pp. 1 - 30. [Consulta: 11 diciembre 2021]. ISSN 2007 - 9990.

BAYER, Environmental Science. *Distribución geográfica de la garrapata.* [en línea], 2018, [Consulta: 19 octubre 2021].

BENAVIDES, Efraín, ROMERO, Jaime, & VILLAMIL, Luis. (2016). *Las garrapatas del ganado bovino y los agentes de enfermedad que transmiten en escenarios epidemiológicos de cambio*

climáticoguía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio climático [en línea] Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y Universidad de la Salle. Colombia. pp. 1 - 98. [Consulta: 15 octubre 2021].

BENAVIDES, Javier, JARAMILLO, Carlos , & MESA, Nora "Garrapatas Ixodidae (Acari) en el valle del Cauca, Colombia". *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural* [en línea], (2018), (Colombia) (22 (1)), pp. 131 - 150. [Consulta: 11 diciembre 2021].

BENDECK, Noelia V. Evaluación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de *Boophilus microplus* en vacas del hato lechero de Zamorano (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Escuela Agrícola Panamericana "Zamorano", Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria. Departamento Francisco Morazán, Honduras. 2012. pp. 1 - 18. [Consulta: 2022-01-28].

BERMÚDEZ, Sergio, APANASKEVICH, Dmitry, DOMÍNGUEZ, Lillian, & GUGLIELMONE, Alberto "Garrapatas Ixodidae de Panamá". *Secretaría Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación*. [en línea], (2018), (Panamá) pp. 1 - 129. [Consulta: 12 diciembre 2021]. ISSN 978-9962699255. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/SergioBermudez2/publication/328638986_Garrapatas_Ixodidae_de_Panama/links/5bd9d7b44585150b2b944bc7/Garrapatas-Ixodidae-de-Panama.pdf

BOLAÑOS, Daniela Distribución geográfica y caracterización taxonomica de las especies de garrapatas que afectan al ganado bovino en la provincia de Los Ríos (Trabajo de titulación). [En línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito, Ecuador. 2016. pp. 91. [Consulta: 07 noviembre 2021].

BOLIVAR, A. M. . "Detección de *Anaplasma marginale* y *Trypanosoma vivax* en garrapatas de ganado bovino empleando la reacción en cadena de la polimerasa". *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* [en línea], (2013), (España) (14 (3)), pp. 1 - 10. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN 1695 - 7504.

BRIONES, Danitza , PAREDES VALDERRAMA, Juan , MILLA PINO, Manuel , & MURGAVALDERRAMA, Nilton "Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatozosis en ganado bovino". *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* [en línea], (2021), (Perú) (32 (5)), pp. 1 - 7. [Consulta: 23 enero 2022]. ISSN 1682 - 3419.

BRITES, José, RONCATO, Keila , & FERNANDES, Thiago. "Tick-borne infections in human and animal population worldwide". *Veterinary world* [en línea], (2015), (Brasil) (8 (3)), pp. 301 - 315. [Consulta: 14 noviembre 2021]. ISSN 2231 - 0916.

BUTT, T. M., COATES, C. J., DUBOVSKIY, I. M., & RATCLIFFE, N. A. . "Entomopathogenic fungi: new insights into host–pathogen interactions". *Advances in genetics* [en línea], (2016), (Russia) (94), pp. 1 - 58. [Consulta: 28 octubre 2021]. ISSN 0065 - 2660.

CABALLERO, Wendy. Producción y aplicación del hongo *Beauveria bassiana* en el laboratorio de control biológico del ITZM (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Instituto Tecnológico de la Zona Maya, Ingeniería Forestal. México. 2014. pp. 1 - 40. [Consulta: 28 octubre 2021].

CACUANGO, Ángel Rolando. Compatibilidad in vitro de *Beauveria bassiana* con insecticidas de síntesis química (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Quito, Ecuador. 2021. pp. 1 - 73. [Consulta: 2022-01-17].

CAMARGO, Luis Marcelo Aranha, CAMARGO, Juliana de Souza Almeida Aranha, SOUZA, Luana Janaina, BARRETO, Pedro di Tarique Crispim, TOURINHO, Eudes Kang, & SOUZA, Marcia Maria. "Capillariaisis (Trichurida, Trichinellidae, Capillaria hepatica) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission". *Parasites vectors* [en línea], (2010), (Brazil) (3 (1)), pp. 1-6. [Consulta: 12 diciembre 2021]. ISSN 1756 - 3305.

CAMPOS DURAN, Daniela. Patologías de mayor incidencia en ganado bovino de leche en la hacienda Santa Barbara (Trabajo de titulación) (Posgrado). [En línea] Universidad Mayor de San Simon, Facultad Ciencias Veterinarias. Cochabamba, Bolivia. 2021. pp. 1 - 44. [Consulta: 23 enero 2022].

CAÑEDO, Teresa Verónica *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos* [en línea]. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP), 2004. [Consulta: 23 diciembre 2021].

CARR, Ann L., SONENSHINE, Daniel E., STRIDER, John B., & ROE, R. Michael. "Evidence of female sex pheromones and characterization of the cuticular lipids of unfed, adult male versus female blacklegged ticks, *Ixodes scapularis*". *Experimental and Applied Acarology* [en línea], (2016), (Switzerland) (68 (4)), pp. 519 - 538. [Consulta: 18 diciembre 2021]. ISSN 0168 - 8162.

CHANDRA, Babul , ESTRADA, Agustín, KRÜCKEN, Jürgen, REHMAN, Abdul, & ARD, Menzo. "Morphological and phylogenetic analyses of *Rhipicephalus microplus* ticks from Bangladesh, Pakistan and Myanmar". *Ticks and tick-borne diseases* [en línea], (2018), (Bangladesh, Pakistán y Myanmar) (9 (5)), pp. 1069 - 1079. [Consulta: 29 noviembre 2021]. ISSN 1877 - 959X.

CHIRIBOGA, Hernán, GÓMEZ, Graciela, & GARCÉS, Karla. (2015). *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras (ysaú) [en línea] Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Asunción, Paraguay. pp. 1 - 40. [Consulta: 18 diciembre 2021].

CONTRERAS, Leidy, & BUSTILLO, Alex. (2019). *Caracterización morfológica de cepas de hongos entomopatógenos de Beauveria bassiana, Cordyceps spp., Metarhizium spp. y Purpureocillium lilacinum* [en línea] Cenipalma. Colombia. pp. 1 - 2. [Consulta: 30 octubre 2021]. Disponible en: https://www.cenipalma.org/wp-content/uploads/2019/10/1.Caracterizacio%CC%81nmorfolo%CC%81gicadecepasdehongosentomopato%CC%81genos-de-Beauveria-bassiana_compressed.pdf

CUESY, Mariana, MOLINA, Zinnia, MERCADO, Roberto, & GALAVIZ, Lucio. "Distribución corporal de garrapatas (Acari: Ixodidae y Argasidae) asociadas a *Odocoileus virginianus* (Artiodactyla: Cervidae) y *Ovis canadensis* (Artiodactyla: Bovidae) en tres estados del norte de México". *Revista mexicana de ciencias pecuarias* [en línea], (2021), (México) (12 (1)), pp. 177 - 193. [Consulta: 17 octubre 2021]. ISSN 2007 - 1124.

CUORE, U., SOLARI, M., & TRELLES, A. "Situación de la resistencia y primer diagnóstico de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistente a cinco principios activos en forma simultánea en Uruguay". *SMVU - Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay* [en línea], (2017), (Uruguay) (53 (205)), pp. 13 - 19. [Consulta: 27 enero 2022]. ISSN 1688 - 4809.

DAMAS, Gabriela. Aislamientos y efectividad de *Beauveria bassiana* villemin para el control biológico de la cucaracha urbana *Periplaneta americana* L. (Trabajo de titulación) (Doctorado). [En línea] Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de ciencias biológicas. Nuevo León, México. 2012. pp. 1 - 132. [Consulta: 23 febrero 2022].

DANNON, H. Fabrice, DANNON, A. Elie, DOURO, O Kobi, ZINSOU, A. Valerien, HOUNDETE, A. Thomas, TOFFA, Joëlle, et al. "Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management". *Journal of Cotton Research* [en línea], (2020), (Republic of Benin) (3 (1)), pp. 1 - 21. [Consulta: 30 diciembre 2021]. ISSN 2523 - 3254.

DANTAS, Filipe, FERNANDES, Thiago , MUÑOZ, Sebastián, CASTILHO, Valeria , & BARROS, Darci "Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: updated species checklist and taxonomic keys". *Ticks and tick-borne diseases* [en línea], (2019), (Brasil) (10 (6)), pp. 1 - 99. [Consulta: 05 diciembre 2021]. ISSN 1877 - 959X.

DIAS, Lorena, PIRES, Hélio, FERNANDES, Sara, FERRI, Pedro, RIBAS, Patricia, MARTINS, Eliane, et al. "Potential synergistic effect of *Melia azedarach* fruit extract and *Beauveria bassiana* in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in cattle infestations". *Veterinary Parasitology* [en línea], (2011), (Brazil) (175 (3 - 4)), pp. 320 - 324. [Consulta: 27 enero 2022]. ISSN 0304 - 4017.

DÍAZ, Verónica. Análisis de la saliva de *Ornithodoros moubata* y producción de antígenos recombinantes para el desarrollo de test serológicos y vacunas anti-garrapata (Trabajo de titulación) (Doctorado). [En línea] Universidad de Salamanca, Facultad de Biología. Salamanca, España. 2014. pp. 1 - 290. [Consulta: 2021-12-27].

DURÁN, Felipe, PINTO, Franyell, DURÁN, Jonathan, & DURÁN, Eduardo. *Volvamos al campo, Manual del ganadero actual*. 4ª ed. Colombia: Grupo Latino Ltda, (2004). ISBN 958 - 8203 - 04 - X, pp. 1 - 620.

DZUL, Karla, LUGO, Cesar, ZAVALA, Jorge, & PENICHE, Gaspar. *Conocimientos y prevención de la rickettsiosis* [en línea]. Yucatan, México: Centro de investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", 2017. [Consulta: 16 diciembre 2021]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/JorgeZavalaCastro/publication/323675716_Conocimientos_y_prevenccion_de_la_rickettsiosis/links/60c37836a6fdcc2e61361deb/Conocimientosyprevencion-de-la-rickettsiosis.pdf

EARTH, Google. *Estación Experimental Central de la Amazonía - INIAP, Joya de los Sachas*. [en línea], 2022, [Consulta: 01 febrero 2022]. Disponible en: https://earth.google.com/web/search/Estaci%3fb3n+Experimental+Central+de+la+Amazon%3c%ada++INIAP,+Joya+de+los+Sachas/@0.34075351,76.87250443,283.64427072a,1645.9783565d,35y,155.26836439h,60.00459685t,0r/data=CrcBGowBEoUBCiUweDkxZDdiZWY2NWFkOTdhZTM6MHhjMGFkMWIyMGVIYTk0ZjRmGXRCjexKy9W_IS82CM70N1PAKkpFc3RhY2nDs24gRXhwZXJpbWVudGFsIENlbnRyYWwgZGUgbGEgQW1hem9uw61hIC0gSU5JQVAsIEpveWEgZGUgbG9zIFNhY2hhcXgBIAEiJgokCfaPe2JpjdW_EU7faW4sCda_GQsHhidoN1PAIVRlinSBOFPA

ESCCAP. Consejo Europeo para el control de las parasitosis de los animales de compañía. *Ectoparásitos Control de insectos y garrapatas que parasitan a perros y gatos.* [en línea] (2010) Madrid, España. pp. 1 - 44. [Consulta: 8 de diciembre 2021].

ESTEVEES, E., POHL, P., KLAFKE, G., RECK, J., FOGAÇA, A., MARTINS, J., et al. "Low temperature affects cattle tick reproduction but does not lead to transovarial transmission of *Anaplasma marginale*". *Veterinary Parasitology* [en línea], (2015), (Brazil) (214 (3-4)), pp. 322 - 326. [Consulta: 22 diciembre 2021]. ISSN 0304 - 4017.

ESTRADA, Agustín. "Orden Ixodida: Las garrapatas". *IDE@ - SEA* [en línea], (2015), (España) (13), pp. 1 – 15. [Consulta: 03 diciembre 2021]. ISSN 2386 - 7183.

ESTRADA, Agustín. *Garrapatas. Morfología, fisiología y ecología* [en línea]. Zaragoza, España: Grupo Asis Biomedica S.L, 2017. [Consulta: 20 diciembre 2021].

FAROUGOU, Souaibou, KPODEKON, M., & TASSOU, A. W. "Seasonal abundance of ticks (Acari: Ixodidae) infesting cattle in the Sudan area of Benin: case of the departments of Borgou and Alibori". *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales* [en línea], (2007), (Bénin) (5 (1 - 2)), pp. 61 - 67. [Consulta: 28 enero 2022]. ISSN 0851 - 7002.

FERNANDES, Éverton, ANGELO, Isabele, RANGEL, Drauzio, BAHIENSE, Thiago, MORAES, Áurea, ROBERTS, Donald, et al. "An intensive search for promising fungal biological control agents of ticks, particularly *Rhipicephalus microplus*". *Veterinary Parasitology* [en línea], (2011), (Brazil) (182 (2 - 4)), pp. 307 - 318. [Consulta: 15 noviembre 2021]. ISSN 0304 - 4017.

FERNÁNDEZ, Agustín, ALONSO, Miguel, ALONSO, Rogelio , LEZAMA, Roberto, & CERVANTES, José "Phylogenetic relationships and acaricidal effects of *Beauveria bassiana* obtained from cattle farm soils against *Rhipicephalus microplus*". *The Journal of Parasitology* [en línea], (2018), (México) (104 (3)), pp. 275 - 282. [Consulta: 10 enero 2022]. ISSN 0022 - 3395.

FERREIRA, Lúgia Miranda , CASTILHO, Sabrina , & BRAZ, Carla Cristina. "Cattle tick differentiates between the odors of Holstein Friesian and Nelore cattle". *Ciência Rural* [en línea], (2015), (Brasil) (45 (11)), pp. 2023 - 2025. [Consulta: 16 noviembre 2021]. ISSN 0103 - 8478.

FIALLOS, Erick Diseño de un proceso industrial con un caudal de 40,000 litros por año para la elaboración de acaricida con fluazurón 2.5% como principio activo en el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Colegio de Ciencias e Ingenierías. Quito, Ecuador. 2020. pp. 1 - 79. [Consulta: 2021-10-17].

FONSECA, Yuneiki, YERA, Graciela, & TORRES, Eugenio. "Anaplasmosis en bovinos de la raza Siboney de Cuba, infectados con (*Boophilus*) *microplus*". *Revista Granmense de Desarrollo Local* [en línea], (2020), (Cuba) (16), pp. 468 - 477. [Consulta: 25 octubre 2021]. ISSN 2664 - 3065.

FRANTA, Zdeněk, FRANTOVÁ, Helena, KONVIČKOVÁ, Jitka, HORN, Martin, SOJKA, Daniel, MAREŠ, Michael, et al. "Dynamics of digestive proteolytic system during blood feeding of the hard tick *Ixodes ricinus*". *Parasites vectors* [en línea], (2010), (Czech Republic) (3 (1)), pp. 1-11. [Consulta: 13 diciembre 2021]. ISSN 1756 - 3305.

FRÉCHETTE, B., ZIANI, J. , & CORMIER, D. *Use of Beauveria bassiana against the plum curculio, Conotrachelus nenuphar, in apple orchards.* Quebec, Canadá: Mirabel Agrifood Research Center (2009). pp.

GADPO. Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Orellana. *Plan estratégico de desarrollo económico local de la provincia de Orellana 2020 - 2023.* [en línea] (2020) Orellana, Ecuador. pp. 1 - 609. [Consulta: 12 noviembre 2021].

GARCÍA, Ignacio, MUÑOZ, Benito, AGUIRRE, Amaya, POLO, Ignacio, GARCÍA, Ana, & REFOYO, Pablo. "Introducción a los Artrópodos. Arácnidos (ácaros y garrapatas)". *Reduca (Biología)* [en línea], (2011), (España) (2 (5)). [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN 1989 - 3620.

GARCÍA, Manuel, CAPPELLO, Silvia, LESHER, Julia, & MOLINA, René. "Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico". *Kuxulkab'* [en línea], (2008), (México) (15 (27)). [Consulta: 29 octubre 2021]. ISSN 2448 - 508X.

GARCÍA, Manuel, GARCÍA, Silvia, GORDILLO, Julia, & MARTÍNEZ, René. "Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*". *Horizonte sanitario* [en línea], (2011), (México) (10 (2)), pp. 21 - 28. [Consulta: 16 noviembre 2021]. ISSN 1665 - 3262.

GARCÍA, María, & RAPELLI, Cecilia M. (2018). *Una comparación de métodos de diagnósticos para los Modelos Lineales Mixtos* [en línea] Universidad Nacional de Rosario. Argentina. pp. 1 - 15. [Consulta: 20 noviembre 2021].

GIBSON, Donna, DONZELLI, Bruno, KRASNOFF, Stuart, & KEYHANI, Nemat "Discovering the secondary metabolite potential encoded within entomopathogenic fungi". *Natural Product Reports* [en línea], (2014), (United States) (31), pp. 1 - 15. [Consulta: 23 diciembre 2021].

GODOY, J. C., VALERA, R. E., GUÉDEZ, C., CAÑIZALEZ, L. M., & CASTILLO, C. . "Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*". *Revista Facultad de Agronomía* [en línea], (2007), (Colombia) (24 (3)), pp. 415 - 425. [Consulta: 30 diciembre 2021].

GONZÁLEZ, Uriel Antonio. Dinámica de la garrapata (*Boophilus microplus*) en el municipio de Siuna, Región Autónoma del Atlántico Norte (RAAN) (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Nacional Agraria (UNA), Facultad de Ciencia Animal. Managua, Nicaragua. 2007. pp. 1 - 75. [Consulta: 2021-12-19].

GRANDA, Darwin (2015). *Producción y uso de hongos entomopatógenos* [en línea] Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. pp. 1 - 63. [Consulta: 13 diciembre 2021].

GREESHMA, Rao, & NARLADKAR, B. "Role of entomopathogenic fungi in tick control: A review". *Journal of Entomology and Zoology Studies* [en línea], (2018), (India) (6 (1)), pp. 1265 - 1269. [Consulta: 28 enero 2022]. ISSN 2320 - 7078.

GUGLIELMONE, Alberto, ROBBINS, Richard, APANASKEVICH, Dmitry, PETNEY, Trevor, ESTRADA, Agustín, HORAK, Ivan, et al. "The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names". *Zootaxa* [en línea], (2010), (Argentina) (2528 (1)), pp. 1 - 28. [Consulta: 17 noviembre 2021]. ISSN 1175 - 5326.

HALOUANE, F., BISSAAD, F., DOUMANDJI, B., BENZINA, F., CHAHBAR, N., & HAMID, S. "Study of the effect of *Beauveria bassiana* (Vuil.) on the biochemistry and structure of the cuticle of *Schistocerca gregaria* (Forskal)". *Annals of Biological Research* [en línea], (2013), (Algeria) (4 (12)), pp. 68 - 74. [Consulta: 04 noviembre 2021]. ISSN 0976 - 1233.

HERNÁNDEZ, Alex. Evaluación de hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) para el control de hormigas cortadoras de hojas (*Atta* spp) en eucalipto (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Rafael Landívar, Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. Guatemala. 2016. pp. 1 - 53. [Consulta: 2021-10-27].

HERNÁNDEZ, Yuniel , FUENTES, Alier , & QUINTANA, Yanet "Control integrado de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) en un pequeño rebaño bovino". *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* [en línea], (2016), (España) (17 (9)), pp. 1 - 10. [Consulta: 13 noviembre 2021]. ISSN 1695 - 7504.

INEC. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020*. [en línea] (2021) Ecuador. pp. 1 - 37. [Consulta: 10 noviembre 2021].

JACHO, María Dinámica poblacional de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* en ganado bovino lechero en el Cantón San Miguel de los Bancos (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito, Ecuador. 2015. pp. 1 - 79. [Consulta: 2022-01-29].

JARONSKI, STEFAN T, & JACKSON, MARK A *Manual of techniques in invertebrate pathology; Mass production of entomopathogenic Hypocreales* [en línea]. 2 ed. United States: Academic Press, 2012.

JIMÉNEZ SEGURA, Julio André. Aspectos fisiológicos, epidemiológicos y clasificación de las garrapatas (Familia Ixodidae) que afectan a animales de compañía (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Científica del Sur, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas. Lima, Perú. 2021. pp. 1 - 37. [Consulta: 12 noviembre 2021]. Disponible en: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/1749/TBJim%20c3%a9nez%20J.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

JONSSON, N. "The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses". *Veterinary Parasitology* [en línea], (2006), (Australia) (137), pp. 1-10. [Consulta: 05 noviembre 2021]. ISSN 0304 - 4017.

KAMP, Everton , & PINHEIRO, Vânia "Entomopathogenic fungi against South American tick species". *Experimental Applied Acarology* [en línea], (2008), (Brazil) (46 (1)), pp. 71 - 93. [Consulta: 29 enero 2022]. ISSN 1572 - 9702.

KANDUMA, Esther G., EMERY, David, GITHAKA, Naftaly W., NGUU, Edward K., BISHOP, Richard P., & ŠLAPETA, Jan. "Molecular evidence confirms occurrence of *Rhipicephalus microplus* Clade A in Kenya and sub-Saharan Africa". *Parasites vectors* [en línea], (2020), (Kenya) (13 (1)), pp. 1 - 15. [Consulta: 14 noviembre 2021]. ISSN 1756 - 3305.

KAUFMAN, W. Reuben. "Gluttony and sex in female ixodid ticks: how do they compare to other blood-sucking arthropods?". *Journal of insect physiology* [en línea], (2007), (Canada) (53 (3)), pp. 264 - 273. [Consulta: 21 diciembre 2021]. ISSN 0022 - 1910.

KOUASSI, Mathias. "Les possibilités de la lutte microbiologique. Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*". *VertigO la revue électronique en sciences de l'environnement* [en línea], (2001), (Francia) (2 (2)), pp. 1 - 23. [Consulta: 26 diciembre 2021]. ISSN 1492 - 8442.

KRENN, Harald W., & ASPÖCK, Horst "Form, function and evolution of the mouthparts of blood-feeding Arthropoda". *Arthropod structure & development* [en línea], (2012), (Austria) (41 (2)), pp. 101 - 118. [Consulta: 16 diciembre 2021]. ISSN 1467 - 8039.

LITWIN, Anna, NOWAK, Monika, & RÓŻALSKA, Sylwia. "Entomopathogenic fungi: unconventional applications". *Reviews in Environmental Science Bio/Technology* [en línea], (2020), (Poland) (19 (1)), pp. 1 - 20. [Consulta: 29 octubre 2021]. ISSN 1572 - 9826.

LÓPEZ, Gustavo. *Garrapatas (acari: Ixodidae y argasidae) de importancia médica y veterinaria identificadas en Colombia*. Memorias & Resúmenes Congreso Colombiano de Entomología, (2015). Colombia.[en línea], (42), pp. 1 - 763. [Consulta: 03 noviembre 2021].

LÓPEZ, Jorge Luis, & HOLMAN, Jaime Estudio epidemiológico de la prevalencia e identificación de garrapatas en el ganado bovino del municipio de San Pedro de Lóvago-Chontales (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Nacional Agraria (UNA), Facultad de Ciencia Animal. Managua, Nicaragua 2006. [Consulta: 2021-12-09].

LÓPEZ, Michael, & BRICEÑO, Ernesto. "Comparación de dos grupos raciales de bovinos en cuanto a incidencia de garrapatas (acari: ixodidae) y tórsalos (diptera: oestridae)". *Nutrición animal tropical* [en línea], (2014), (Costa Rica) (8 (2)), pp. 1 - 9. [Consulta: 26 enero 2022]. ISSN 2215 - 3527.

LORD, Jeffrey. "From Metchnikoff to Monsanto and beyond: The path of microbial control". *Journal of Invertebrate Pathology* [en línea], (2005), (United States) (89 (1)), pp. 19 - 29. [Consulta: 30 octubre 2021]. ISSN 0022 - 2011.

MAHDNESHIN, Zahra, VOJOU DI, Samad, GHOSTA, Youbert, SAFARALIZADA E, Mohammad, & SABER, Moosa. "Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi". *African Journal of Infectious Diseases Research* [en línea], (2019), (Iran) (6 (9)), pp. 1 - 6. [Consulta: 29 enero 2022]. ISSN 4729 - 6836. Disponible en: <https://www.internationalscholarsjournals.com/articles/laboratoryevaluationoftheentomopathogenic-fungi.pdf>

MARTÍNEZ, Eleazar, & ROCHA, Wilber. Diversidad de garrapatas en animales domésticos (bovinos, equinos y caninos) de 100 Fincas de los Municipios de San Isidro, Mulukukú y Siuna, en el período comprendido diciembre 2009-abril 2010 (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, Escuela de Medicina Veterinaria. Nicaragua. 2010. pp. 1 - 64. [Consulta: 2021-12-04].

MARTÍNEZ, Julián (2016). *Características morfológicas de las garrapatas* [en línea] Asociación de médicos veterinarios zootecnistas de la Comarca Lagunera. México. pp. 1 - 116. [Consulta: 07 diciembre 2021].

MARTINEZ, Norberto , NAVA, Santiago, & RUIZ, Vanesa. (2021). *Incidencia de la garrapata común del bovino en la transmisión del virus de la leucosis bovina* [en línea] Ediciones INTA y Estación Experimental Agropecuaria Reconquista. Argentina. pp. 1 - 3. [Consulta: 22 diciembre 2021].

MASCARIN, Gabriel Moura, & JARONSKI, Stefan T. "The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide". *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [en línea], (2016), (Brazil) (32 (11)), pp. 1 - 26. [Consulta: 01 diciembre 2021]. ISSN 1573 - 0972.

MCGUIRE, Amy V., & NORTHFIELD, Tobin D. "Tropical occurrence and agricultural importance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*". *Frontiers in Sustainable Food Systems* [en línea], (2020), (United States) (4), pp. 1 - 8. [Consulta: 03 diciembre 2021]. ISSN 2571 - 581X.

MENÉNDEZ, Juan Luis. *Arácnidos. Los ácaros.* [en línea], 2014, [Consulta: 14 diciembre 2021].

MONTASSER, Ashraf A. "The fowl tick, *Argas (Persicargas) persicus* (Ixodoidea: Argasidae): Description of the egg and redescription of the larva by scanning electron microscopy". *Experimental Applied Acarology* [en línea], (2010), (Egipto) (52 (4)), pp. 343 - 361. [Consulta: 27 noviembre 2021]. ISSN 1572 - 9702.

MOTTA, Pablo Andrés, & MURCIA, Betselene "Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas". *Ambiente Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science* [en línea], (2011), (Brasil) (6 (2)), pp. 1 - 15. [Consulta: 24 noviembre 2021]. ISSN 1980 - 993X.

MULLEN, Gary R., & OCONNOR, Barry M. *Mites (Acari), Medical and veterinary entomology*. 3ª ed. United States: Elsevier, (2019). ISBN 978 - 0 - 12 - 814043 - 7, pp. 533 - 602.

NAKANO, Octavio, SILVEIRA, S., & ZUCCHI, R. A. *Entomologia econômica* [en línea]. São Paulo, Brasil: Departamento de Entomologia, 1981. [Consulta: 28 noviembre 2021].

NAVA, Santiago, MOREL, Nicolas, ROSSNER, Maria , TOFFALETTI, Jose Rodolfo, SARMIENTO, Nestor Fabian, & MANGOLD, Atilio José. (2021). *Bases epidemiológicas para el control estratégico de la garrapata común del bovino Rhipicephalus (Boophilus) microplus* [en línea] Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, INTA. Argentina. pp. 1 - 8. [Consulta: 14 noviembre 2021].

NICHOLSON, William L., SONENSHINE, Daniel E., NODEN, Bruce H., & BROWN, Richard N. "Ticks (Ixodida)". *Medical and veterinary entomology* [en línea], (2019), (United States) (12), pp. 603 - 672. [Consulta: 20 noviembre 2021]. ISSN 814043 - 700027.

NUSSENBAUM, Ana Laura. Aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* virulentos para el control del picudo del algodónero, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) (Trabajo de titulación) (Doctorado). [En línea] Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires, Argentina. 2014. pp. 1 - 184. [Consulta: 2021-11-30].

ORTIZ, Almudena, & KEYHANI, Nemat O. "Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle". *Insects* [en línea], (2013), (United States) (4 (3)), pp. 357 - 374. [Consulta: 15 octubre 2021]. ISSN 2075 - 4450.

PACHECO, Francisco , PENICHE, Álvaro, SÁNCHEZ, Guadalupe, MONDRAGÓN, K. , DOMÍNGUEZ, Jorge, & OLIVARES, Ulises "La garrapata común del ganado: antecedentes,

problemática actual y alternativa de control". *UVserva* [en línea], (2017), (México) ((3)), pp. 37 - 43. [Consulta: 04 diciembre 2021]. ISSN 2448 - 7430.

PARIONA, Nicolaza. Evaluación de la capacidad entomocida de *beauveria* sp. sobre schistocerca piceifrons peruviana (lynch arribalzaga, 1903) nativos del departamento de Ayacucho (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas. Lima, Perú. 2006. pp. 1 - 90. [Consulta: 2021-10-29].

PATRA, Gautam, BORTHAKUR, Sonjoy Kumar, DEVI, Rajkumari Sunjukta, LALRINKIMA, H., & LALLIANKIMI, Hmar. "Surface ultra structural Studies of an ectoparasite-Aponomma varanense, of Indian King Cobra". *Entomology and Zoology Studies* [en línea], (2016), (Indian) (4 (6)), pp. 433 - 437. [Consulta: 25 diciembre 2021]. ISSN 2320 - 7078.

PENSAMIENTO, Dylan G., & DURÁN, Jessica Daniela. Evaluación de la efectividad de tres agentes entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Heterorhabditis bacteriophora* como controladores biológicos de la garrapata *Boophilus microplus* en ganado lechero Zamorano, Honduras (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Escuela Agrícola Panamericana, Carrera de Ingeniería Agronómica. Tegucigalpa, Honduras. 2018. pp. 1 - 36. [Consulta: 2022-01-19].

PÉREZ, Juan Animalia. *Túbulos de Malpigio y recto, el sistema excretor de los insectos.*

PÉREZ, Ximena. Resistencia a alfa-cipermetrina, ivermectina y amitraz en garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Canestrini 1887) colectadas en cuatro localidades (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito, Ecuador. 2016. pp. 1 - 56. [Consulta: 05 octubre 2021].

PÉREZ, Ximena. Distribución de la resistencia a los acaricidas amitraz, ivermectina y alfacipermetrina en garrapatas *Boophilus microplus* y posibles factores de riesgo asociados, en la zona ± 0.5 grados de latitud de la línea equinoccial de Ecuador (Trabajo de titulación) (Maestría). [En línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito, Ecuador. 2019. pp. 1 - 49. [Consulta: 2021-11-14].

PERINOTTO, W. M., ANGELO, I. C., GOLO, P. S., QUINELATO, S., CAMARGO, M. G., SÁ, F. A., et al. "Susceptibility of different populations of ticks to entomopathogenic fungi". *Experimental parasitology* [en línea], (2012), (Brazil) (130 (3)), pp. 257 - 260. [Consulta: 28 enero 2022]. ISSN 0014 - 4894.

POLANCO, Diana Nayibe , & RÍOS, Leonardo Alberto "Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras". *Ciencia Tecnología Agropecuaria* [en línea], (2016), (Colombia) (17 (1)), pp. 81 - 95. [Consulta: 26 noviembre 2021]. ISSN 2500 - 5308.

PRITCHARD, James, KUSTER, Tatiana, SPARAGANO, Olivier, & TOMLEY, Fiona. "Understanding the biology and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review". *Avian pathology* [en línea], (2015), (United Kingdom) (44 (3)), pp. 143 - 153. [Consulta: 11 diciembre 2021]. ISSN 0307 - 9457.

PUCHETA, Micaela, FLORES, Antonio, RODRÍGUEZ, Silvia, & DE LA TORRE, Mayra. "Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos". *Interciencia* [en línea], (2006), (Venezuela) (31 (12)), pp. 856 - 860. [Consulta: 28 octubre 2021]. ISSN 0378 - 1844.

PULIDO, Adriana del Pilar, CASTAÑEDA, Rubiela, IBARRA, Humberto, GÓMEZ, Luis David, & BARBOSA, Angélica María "Microscopia y principales características morfológicas de algunos ectoparásitos de interés veterinario". *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* [en línea], (2016), (Perú) (27 (1)), pp. 91 - 113. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN 1609 - 9117.

PULIDO, Luz, RUDAS, Agustín, BETANCOURT, Jesús, GRANT, William, & VILCHEZ, Sergio. "Distribución inusual y potencial de la garrapata común del ganado, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, en zonas tropicales de alta montaña de los Andes colombianos". *Biota Colombiana* [en línea], (2015), (Colombia) (16 (2)), pp. 75 - 95. [Consulta: 10 diciembre 2021]. ISSN 0124 - 5376.

PUREZA, Nunes, BARRIOS, Renny, SILVA, Ramón, & ROMERO, Guillermo. "Evaluación in vitro de hongos entomopatógenos en el control de la garrapata del ganado bovino". *Saber* [en línea], (2019), (Venezuela) (31), pp. 283 - 293. [Consulta: 08 enero 2022]. ISSN 2343 - 6468.

RAMÍREZ, Hilda , GRANJA, Anny , TORRES, Enrique, & TENORIO, Martín. (2014). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos* [en línea] Perú. pp. 1 - 37. [Consulta: 07 noviembre 2021].

RESH, Vincent H., & CARDÉ, Ring T. *Encyclopedia of insects*. 2ª ed. United States: Academic Press, (2009). ISBN 9780080920900, pp. 1 - 1168.

RIDERMAN, Rita, & PORFIRIO, Ismael. Control biológico de garrapata (*Boophilus microplus*), con microorganismos (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad Autónoma Chapingo, Ingeniería Agrónoma especialidad en Zootecnia. Estado de México, México. 2015. pp. 1 - 16. [Consulta: 2022-01-27].

RIOBÓO, Dicovski, & PACHECO, Pedroza. "Modelos lineales generales y mixtos en la caracterización de la variable calificación, Ingeniería Agroindustrial, Uni-Norte". *Nexo Revista Científica* [en línea], (2017), (Nicaragua) (30 (2)), pp. 84 - 95. [Consulta: 13 febrero 2022]. ISSN 1995 - 9516.

ROCHA, C., CHIQUINI, R., & HERRERA, C. "Costos de la aplicación de diferentes productos para el control de garrapata (*Rhipicephalus microplus*) en ganado vacuno". *Agro divulgación* [en línea], (2021), (México) (13 (4)), pp. 85 - 88. [Consulta: 2 noviembre 2021]. ISSN 10 - 32854.

RODRÍGUEZ, Roger , ROSADO, José , OJEDA, Melina , PÉREZ, Luis , TRINIDAD, Iris, & BOLIO, Manuel. "Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina". *Ecosistemas y recursos agropecuarios* [en línea], (2014), (México) (1 (3)), pp. 295 - 308. [Consulta: 01 octubre 2021]. ISSN 2007 - 9028.

RODRÍGUEZ, Roger, HODGKINSON, Jane, & TREES, Alexander. "Acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Current status and mechanisms of resistance". *Revista mexicana de ciencias pecuarias* [en línea], (2012), (México) (3), pp. 9 - 24. [Consulta: 11 noviembre 2021]. ISSN 2007 - 1124.

RODRÍGUEZ, Uriel, RODRÍGUEZ, Roger , OJEDA, Melina, GALINDO, Edelmira, & LEZAMA, Roberto. "Eficacia de la mezcla de dos cepas de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: *Hyphomycetes*) para el control de *Rhipicephalus microplus* en infestaciones naturales en bovinos". *Tropical and Subtropical Agroecosystems* [en línea], (2018), (México) (17), pp. 223 - 229. [Consulta: 27 enero 2022]. ISSN 1870 - 0462.

SABBAHI, R., MERZOUKI, A., & GUERTIN, C. "Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* L., in strawberries". *Journal of Applied Entomology* [en línea], (2008), (Canada) (132 (2)), pp. 124 - 134. [Consulta: 10 noviembre 2021]. ISSN 0931 - 2048.

SALAZAR, Raquel. Variación de la población de garrapatas *Rhipicephalus microplus* sobre bovinos pastoreando en sistemas silvopastoriles y monocultivos tradicionales (Trabajo de

titulación) (Posgrado). [En línea] Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín, Colombia. 2015. pp. 1 - 99. [Consulta: 2022-01-28].

SANCHES, Gustavo S., DE OLIVEIRA, Patrícia R., ANDRÉ, Marcos R., MACHADO, Rosangela Z., BECHARA, Gervásio H., & CAMARGO, Maria I. "Copulation is necessary for the completion of a gonotrophic cycle in the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)". *Journal of insect physiology* [en línea], (2012), (Brazil) (58 (7)), pp. 1020 - 1027. [Consulta: 02 diciembre 2021]. ISSN 0022 - 1910.

SÁNCHEZ, Ana, VAYAS, Tatiana, MAYORGA, Fernando , & FREIRE, Carolina. (2020). *Sector ganadero, Análisis 2014 - 2019* [en línea] Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. pp. 1 - 5. [Consulta: 15 octubre 2021].

SEPÚLVEDA, María. (2019). *Control biológico de plagas con hongos entomopatógenos de BioINIA* [en línea] Informativo INIA Quilamapu. no. 141. Chile. pp. 1 - 4. [Consulta: 19 octubre 2021].

SEWIFY, G. H., BELAL, M. H., & AL-AWASH, S. A. "Use of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* for the biological control of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier". *Egyptian Journal of Biological Pest Control* [en línea], (2009), (Egypt) (19 (2)), pp. 157 - 163. [Consulta: 10 diciembre 2021]. ISSN 1110 - 1768.

SONENSHINE, Daniel E., & ROE, R. Michael. *Ticks, people, and animals* [en línea]. 2nd ed. United States of America: Oxford University Press, 2013. [Consulta: 12 diciembre 2021].

SUFYAN, Muhammad, ABBASI, Asim, GOGI, M. Dildar, ARSHAD, M., NAWAZ, Ahmad, & NEUHOFF, Daniel "Efficacy of *Beauveria bassiana* for the management of economically important wireworm species (Coleoptera: Elateridae) in organic farming". *Gesunde Pflanzen* [en línea], (2017), (Pakistan) (69 (4)), pp. 197 - 202. [Consulta: 30 noviembre 2021]. ISSN 1439 - 0345.

SUNG, Jae-Mo, LEE, Je-O, HUMBER, Richard A, SUNG, Gi-Ho, & SHRESTHA, Bhushan. "Cordyceps bassiana and production of stromata in vitro showing *Beauveria* anamorph in Korea". *Mycobiology* [en línea], (2006), (Korea) (34 (1)), pp. 1 - 6. [Consulta: 28 octubre 2021]. ISSN 1229 - 8093.

TABOR, Ala E., ALI, Abid, REHMAN, Gauhar, ROCHA, Gustavo, ZANGIROLAMO, Amanda Fonseca, MALARDO, Thiago, et al. "Cattle tick *Rhipicephalus microplus*-host interface: a review of resistant and susceptible host responses". *Frontiers in cellular infection microbiology* [en línea], (2017), (Germany) (7), pp. 1 - 18. [Consulta: 14 noviembre 2021]. ISSN 2235 - 2988.

TAVASSOLI, Mousa, MALEKIFARD, Farnaz, SOLEIMANZADEH, Ali, POURSEYED, Seyed, BERNOUSI, Iraj, & MARDANI, Karim "Susceptibility of different life stages of *Ornithodoros lahorensis* to entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*". *Parasitology research* [en línea], (2012), (Iran) (111 (4)), pp. 1779 - 1783. [Consulta: 09 enero 2022]. ISSN 1432 - 1955.

TIPÁS, Jemmy. Evaluación del efecto acaricida de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus* (Trabajo de titulación) (Pregrado). [En línea] Universidad de las Fuerzas Armadas, Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura. Sangolquí, Ecuador. 2020. pp. 1 - 83. [Consulta: 2022-01-07].

TOCAS, Manuel Alonso , & CHIROQUE, Grecia "Crecimiento de *Beauveria Bassiana* expuesta a la luz ultravioleta en condiciones de laboratorio". *Revista Científica* [en línea], (2019), (Perú) (9 (1)). [Consulta: 25 noviembre 2021]. ISSN 2221 - 5921.

TOFIÑO, Adriana , ORTEGA, Mailen , PEDRAZA, Bertilda , PERDOMO, Sandra , & MOYA, Diana "Efectividad de *Beauveria bassiana* (Baubassil®) sobre la garrapata común del ganado bovino *Rhipicephalus microplus* en el Departamento de la Guajira, Colombia". *Revista argentina de microbiología* [en línea], (2018), (50 (4)), pp. 1 - 5. [Consulta: 29 enero 2022]. ISSN 0325 - 7541.

UVIDIA, H., RAMIREZ, J., VARGAS, J., LEONARD, I., & SUCOSHAÑAY, J. "Relación del clima con el rendimiento y la calidad del *Pennisetum purpureum* en la Amazonia Ecuatoriana-Relation". *Revista Electrónica de Veterinaria* [en línea], (2015), (España) (16 (6)), pp. 1 - 11. [Consulta: 13 octubre 2021]. ISSN 1695 - 7504. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/HernanUvidia/publication/282376139_Relation_between_of_the_climate_yield_and_quality_of_the_Pennisetum_purpureum_in_the_Amazonia_Ecuatoriana/links/58f41ff5a6fdcc11e569f3c0/Relation-between-of-the-climate-yield-and-quality-of-the-Pennisetum-purpureum-in-the-Amazonia-Ecuatoriana.pdf

VALDÉS, Ofelia , PÉREZ, Arturo, & PALACIOS, Olivia. "Insectos plaga en cultivo asociado de *Ricinus communis* y *Moringa oleifera* en el centro de Veracruz, México". *Revista mexicana de*

ciencias agrícolas [en línea], (2015), (México) (6), pp. 2233 - 2239. [Consulta: 28 octubre 2021]. ISSN 2007-0934.

VIANNA, María Florencia. Capacidad biocida de hongos entomopatógenos para el control de plagas del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en la provincia de Jujuy, República Argentina (Trabajo de titulación) (Doctorado). [En línea] Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales. La Plata, Argentina. 2019. pp. 1 - 182. [Consulta: 2021-10-28].

VILLEGAS, Fabiola. Evaluación y producción masiva de hongos entomopatógenos para el manejo del psilido de la papa (*Bactericera cockerelli* Sulc) en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y chile (*Capsicum annuum* L.) en invernadero (Trabajo de titulación) (Doctorado). [En línea] Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía. México. 2015. [Consulta: 2021-12-19].

WANG, Chengshu, & WANG, Sibao. "Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions, and genetic improvements". *Annual review of entomology* [en línea], (2017), (Chinese) (62), pp. 73 - 90. [Consulta: 22 enero 2021]. ISSN 0066 - 4170.

WANG, Xiaoshuang, HU, Yuhong, HAN, Yanan, XUE, Xiaomin, LI, Mengxue, YANG, Xiaohong, et al. "Comprehensive dynamic analysis of proteins in the spermatheca of female *Haemaphysalis longicornis* after copulation". *Experimental Applied Acarology* [en línea], (2021), (Switzerland) (83 (4)), pp. 583 - 596. [Consulta: 26 diciembre 2021]. ISSN 1572 - 9702.

WANG, Yao, TANG, De-Xiang, DUAN, Dong-E, WANG, Yuan-Bing, & YU, Hong. "Morphology, molecular characterization, and virulence of *Beauveria pseudobassiana* isolated from different hosts". *Journal of Invertebrate Pathology* [en línea], (2020), (China) (172), pp. 1 - 10. [Consulta: 11 diciembre 2021]. ISSN 0022-2011.

WEEKS, E. N., ALLAN, S. A., GEZAN, S. A., & KAUFMAN, P. E. "Auto- dissemination of commercially available fungal pathogens in a laboratory assay for management of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*". *Medical Veterinary Entomology* [en línea], (2020), (United States) (34 (2)), pp. 184 - 191. [Consulta: 08 octubre 2021]. ISSN 0269 - 283X.

ZOFFOUN, A. G., SALIFOU, S., HOUINATO, M., & SINSIN, A. B. . "Interactions ticks, hosts and pastures: Case of the Girolando dairy cattle and the artificial pastures of *Panicum maximum* and *Panicum maximum* var. C1". *Agricultural Science and Technology* [en línea], (2011), (Benin) (5 (4)), pp. 1 - 10. [Consulta: 21 enero 2022]. ISSN 1939 - 1250.

ANEXOS

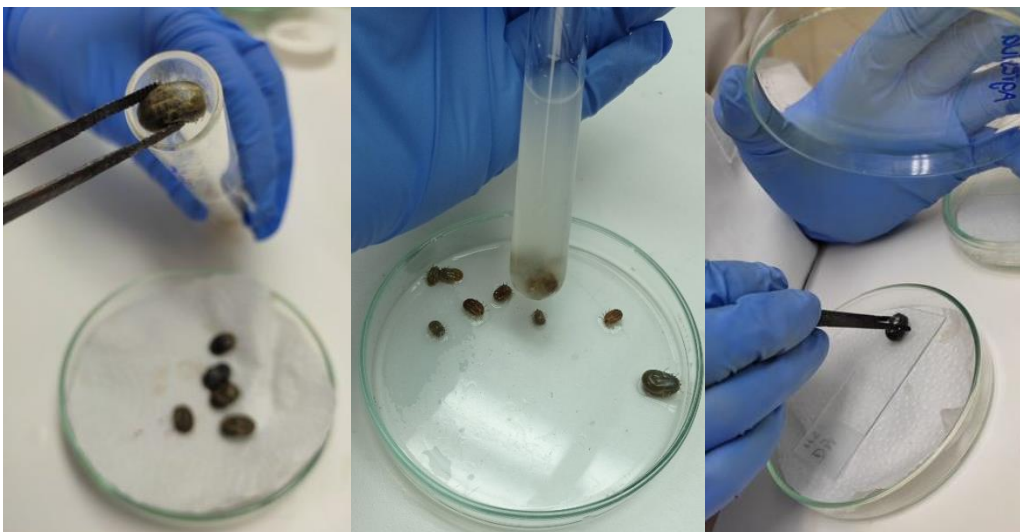
ANEXO A: RECOLECCIÓN DE GARRAPATAS



ANEXO B: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE *Rhipicephalus* spp.



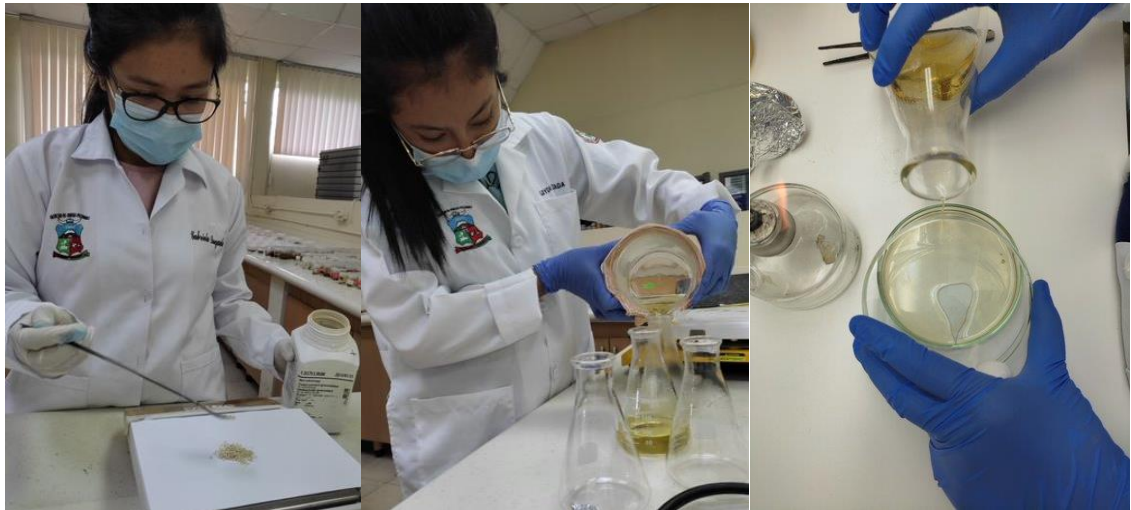
ANEXO C: REACTIVACIÓN DE *Beauveria* spp. POR MEDIO DE TELEÓGINAS



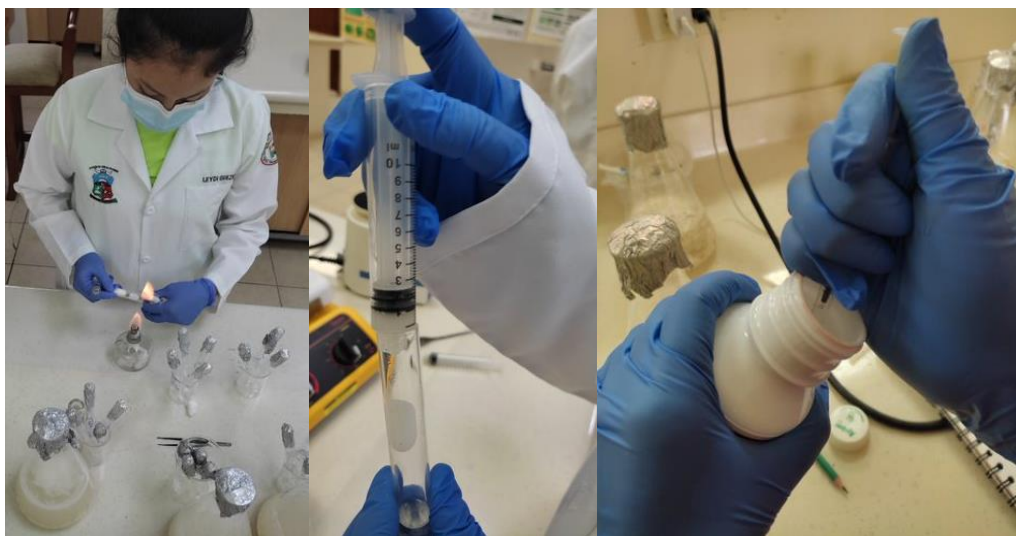
ANEXO D: PREPARACIÓN DE SUSTRATO



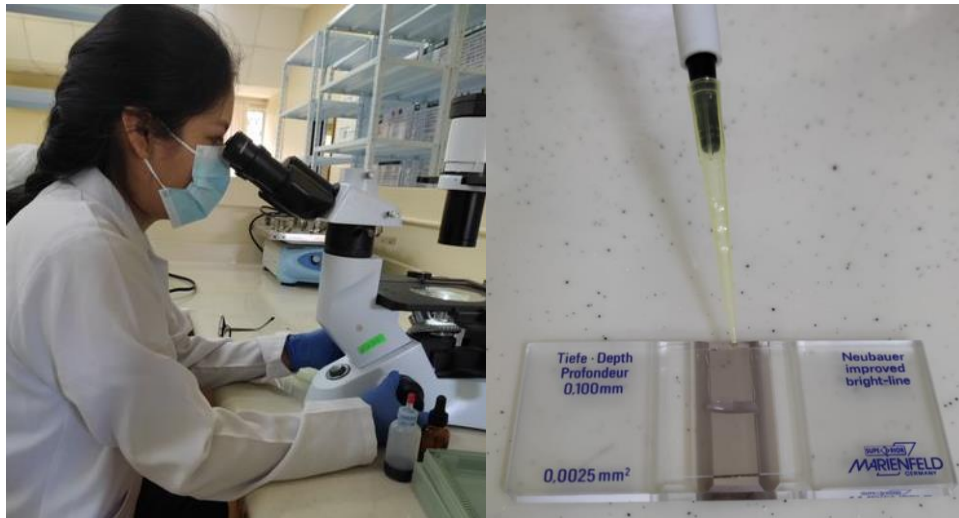
ANEXO E: PREPARACIÓN Y DISPENSACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



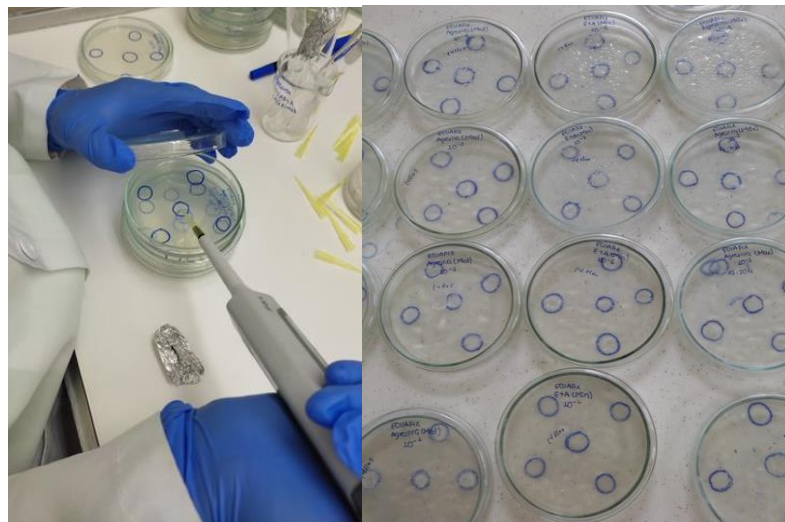
ANEXO F: APLICACIÓN DE AGRAL 90 EN DISOLUCIONES SERIADAS



ANEXO G: CONTEO DE ESPORAS EN CÁMARA DE NEUBAUER



ANEXO H: PRUEBA DE GERMINACIÓN



ANEXO I: INOCULACIÓN DE *Beauveria* spp. EN ARROZ



ANEXO J: COSECHA Y APLICACIÓN DE *Beauveria* spp.



ANEXO K: CONTEO DE LA DINAMICA POBLACIONAL EN BOVINOS



ANEXO L: *Rhipicephalus* spp. COLONIZADO POR *Beauveria* spp.



ANEXO M: CULTIVOS PUROS DE *Beauveria* spp.

