



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**EFECTO *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13  
SOBRE *Rhipicephalus microplus* (GARRAPATAS DE GANADO  
BOVINO) EN LABORATORIO Y CAMPO.**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORA: LISETTE ESTEFANIA ALARCON LUCIO**

**DIRECTORA: Ing. NORMA SOLEDAD ERAZO SANDOVAL, PhD.**

Riobamba – Ecuador

2023

**©2023, Lisette Estefanía Alarcón Lucio**

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

Yo, Lisette Estefania Alarcon Lucio, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 23 de agosto del 2023



**Lisette Estefanía Alarcón Lucio**  
**C.I. 060452729-1**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Proyecto de Investigación, **EFFECTO DE *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 SOBRE *Rhipicephalus microplus* (GARRAPATAS DE GANADO BOVINO) EN LABORATORIO Y CAMPO**, realizado por la señorita: **LISETTE ESTEFANIA ALARCÓN LUCIO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. María Soledad Nuñez Moreno, MSc. <b>PRESIDENTA DEL TRIBUNAL</b>		2023-08-2023
Dr. Norma Soledad Erazo Sandoval, PhD. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2023-08-2023
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia, MSc. <b>ASESORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2023-08-2023

## **DEDICATORIA**

Con todo el cariño del mundo. Este título va dedicado a mi pequeña familia, en especial a la personita que es mi gran inspiración, la motivación y razón de este logro, ángel de mi vida Israel Alejandro supiste encaminar mi vida sin siquiera saberlo. A mis padres Vinicio y Miriam, por ser personas ejemplares quienes supieron guiarme por el camino de la educación, bondad, humildad, honestidad y respeto, por ser el apoyo durante todo mi camino vida.

Lisette

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a las personas que estuvieron conmigo durante todo este período de formación, a mis padres Vinicio y Miriam, a mis hermanos Cristofer y Felipe, y en especial a mi compañero de vida Leonardo y a mi hermoso hijo Israel. Gracias a los docentes de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que forjaron mis conocimientos, en especial a mis guías de tesis Dra. Norma Erazo, Ing. Gabriela Rosero e Ing. Juan Manzano por ayudar a que esta investigación sea posible.

Lisette

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	4
1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.2. Objetivos.....	5
1.2.1. <i>Objetivo general</i> .....	5
1.2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	5
1.3. Justificación.....	5
1.4. Hipótesis.....	7
1.4.1. <i>Hipótesis nula (Ho)</i> .....	7
1.4.2. <i>Hipótesis alternativa (Hi)</i> .....	7

### CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1. Referencias teóricas.....	8
2.2.1. <i>Garrapatas (Rhipicephalus microplus)</i> .....	8
2.2.1.1. <i>Características</i> .....	9
2.2.1.2. <i>Ciclo de vida</i> .....	9
2.2.1.3. <i>¿Cómo afectan las garrapatas en la ganadería?</i> .....	10
2.2.2. <i>Métodos de control de garrapatas</i> .....	11
2.2.2.1. <i>Control químico</i> .....	11
2.2.2.2. <i>Control biológico</i> .....	12
2.2.3. <i>Hongos entomopatógenos</i> .....	13
2.2.3.1. <i>Etapas de infección de hongos entomopatógenos</i> .....	13
2.2.3.2. <i>Beauveria Bassiana</i> .....	15

2.2.3.3.	<i>Metarhizium anisopliae</i> .....	16
2.2.3.4.	Concentración letal media y tiempo letal medio (CL50 Y TL50).....	17

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	18
3.1.	<b>Diseño experimental</b> .....	19
3.2.	<b>Metodología: Laboratorio</b> .....	21
3.2.1.	<i>Cultivos puros de hongos entomopatógenos</i> .....	21
3.2.2.	<i>Suspensión de esporas</i> .....	22
3.2.3.	<i>Conteo de conidios</i> .....	23
3.2.4.	<i>Dilución seriada</i> .....	23
3.2.5.	<i>Recolección de garrapatas</i> .....	24
3.2.6.	<i>Baños de inmersión a las garrapatas</i> .....	25
3.2.7.	<i>Muestreo y toma de datos</i> .....	26
3.3.	<b>Metodología: Campo</b> .....	26
3.3.1.	<i>Preparación de bioformulados</i> .....	26
3.3.2.	<i>Aplicación de bioformulados</i> .....	27

### CAPITULO IV

4.	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS</b> .....	29
4.1.	<b>Efecto de <i>Beauveria bassiana</i> A21 y <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 sobre <i>Rhipicephalus microplus</i> en condiciones de laboratorio</b> .....	29
4.1.1.	<i>Mortalidad de garrapatas mediante la aplicación de una suspensión esporas de <i>Beauveria bassiana</i> A21</i> .....	29
4.1.2.	<i>Mortalidad de garrapatas mediante la aplicación de una suspensión esporas de <i>Metarhizium anisopliae</i> A13</i> .....	31
4.1.3.	<i>Comparación del efecto de los bioformulados de <i>Beauveria bassiana</i> A21 y <i>Metarhizium anisopliae</i> A13</i> .....	33
4.2.	<b>Concentración y tiempo letal medio (CL50 y TL50) de los productos de control biológico</b> .....	34
4.3.	<b>Efecto de <i>Beauveria bassiana</i> A21 y <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 sobre <i>Rhipicephalus microplus</i> en condiciones de campo</b> .....	36
4.4.	<b>Comprobación de hipótesis</b> .....	38
4.5.	<b>Discusión de resultados</b> .....	39

## **CAPITULO V**

<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>5.1.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>42</b>
<b>5.2.</b>	<b>Recomendaciones.....</b>	<b>43</b>

## **BIBLIOGRAFÍA**

## **ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2-1:</b>	Clasificación taxonómica de las garrapatas duras.....	9
<b>Tabla 2-2:</b>	Identificación de <i>Beauveria bassiana</i> .....	15
<b>Tabla 2-3:</b>	Clasificación taxonómica <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	16
<b>Tabla 3-1:</b>	Análisis de varianza para la mortalidad de <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	20
<b>Tabla 3-2:</b>	Análisis de varianza para la mortalidad de <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	21
<b>Tabla 4-1:</b>	Análisis de varianza para la mortalidad con <i>Beauveria bassiana</i> A21 en condiciones laboratorio.....	29
<b>Tabla 4-2:</b>	Prueba Tukey para porcentajes de mortalidad por <i>Beauveria bassiana</i> A21 condiciones laboratorio.....	30
<b>Tabla 4-3:</b>	Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad por <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 condiciones laboratorio.....	31
<b>Tabla 4-4:</b>	Prueba Tukey para porcentajes de mortalidad por <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 en condiciones laboratorio.....	32
<b>Tabla 4-5:</b>	Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad por <i>Beauveria bassiana</i> A21 y <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 en condiciones de laboratorio.....	33
<b>Tabla 4-6:</b>	Tiempo letal medio TL50 .....	36
<b>Tabla 4-7:</b>	Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad en condiciones de campo. ..	37
<b>Tabla 4-8:</b>	Prueba Tukey para porcentaje de mortalidad métodos de control en condiciones de campo.....	37

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 2-1:</b> Vista dorsal y ventral de una garrapata.....	9
<b>Ilustración 2-1:</b> Ciclo de vida de las garrapatas de un solo hospedador.....	10
<b>Ilustración 3-1:</b> Cultivos puros de hongos entomopatógenos.....	22
<b>Ilustración 3-2:</b> Suspensión de esporas <i>Metarhizium anisopliae</i> A13.....	23
<b>Ilustración 3-4:</b> Suspensión de esporas a concentraciones $10^8$ , blanco y $10^9$ respectivamente para los dos hongos.....	24
<b>Ilustración 3-5:</b> Ganado bovino infestado por plaga <i>R. microplus</i> .....	24
<b>Ilustración 3-6:</b> Recolección y transporte de garrapatas.....	25
<b>Ilustración 3-7:</b> Baño de inmersión de garrapatas con hongos entomopatógenos.....	25
<b>Ilustración 3-8:</b> Conteo de garrapatas muertas.....	26
<b>Ilustración 3-9:</b> Suspensión de esporas <i>Metarhizium anisopliae</i> A13.....	27
<b>Ilustración 3-10:</b> Hongos entomopatógenos en sustrato de arroz.....	27
<b>Ilustración 3-11:</b> Aplicación de bioformulados.....	28
<b>Ilustración 4-1:</b> Prueba Tukey porcentajes de mortalidad por <i>Beauveria bassiana</i> A21 a condiciones laboratorio.....	30
<b>Ilustración 4-2:</b> Resultados prueba Tukey para porcentajes de mortalidad por <i>Metarhizium anisopliae</i> A13 en condiciones laboratorio.....	32
<b>Ilustración 4-4:</b> Modelo logístico para la <i>Beauveria bassiana</i> A21.....	34
<b>Ilustración 4-5:</b> Modelo logístico para <i>Metarhizium anisopliae</i> A13.....	35
<b>Ilustración 4-6:</b> Prueba de Tukey para porcentaje de mortalidad por los tratamientos en condiciones de campo.....	38

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** VALOR DE LAS CONCENTRACIONES DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS
- ANEXO B:** CÓDIGOS DE APLICACIÓN DE *BEAUVERIA BASSIANA A21* EN LABORATORIO
- ANEXO C:** RESULTADOS DE APLICACIÓN DE *BEAUVERIA BASSIANA A21* EN LABORATORIO
- ANEXO D:** CÓDIGOS DE APLICACIÓN DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE A13* EN LABORATORIO
- ANEXO E:** RESULTADOS DE APLICACIÓN DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE A13* EN LABORATORIO
- ANEXO F:** CÓDIGOS DE APLICACIÓN EN CAMPO
- ANEXO G:** RESULTADOS DE APLICACIÓN EN CAMPO
- ANEXO H:** PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE GARRAPATAS EN CAMPO PARA *BEAUVERIA BASSIANA A21*
- ANEXO I:** PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE GARRAPATAS EN CAMPO PARA *METARHIZIUM ANISOPLIAE A13*
- ANEXO J:** ESPORAS PURAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS
- ANEXO K:** SUSPENSIÓN DE ESPORAS Y DILUCIÓN SERIADA
- ANEXO L:** CONTEO DE CONIDIOS
- ANEXO M:** RECOLECCIÓN DE GARRAPATAS PARA FASE LABORATORIO
- ANEXO N:** BAÑOS DE INMERSIÓN A LAS GARRAPATAS
- ANEXO P:** PREPARACIÓN DE BIOFORMULADOS PARA FASE CAMPO
- ANEXO Q:** BAÑOS DE ASPERSIÓN A LAS GARRAPATAS

## RESUMEN

En el Ecuador la infestación del ganado bovino por garrapatas *Rhipicephalus microplus* es uno de los problemas de salud y salubridad más importantes en el sector agropecuario, involucra el uso indiscriminado de métodos de control químico generando problemas de contaminación ambiental que provocan daño a los sistemas bióticos y abióticos, poniendo en peligro la salud de ganaderos y consumidores, y afectando la rentabilidad y sustentabilidad del sistema ganadero, por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es determinar el efecto de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 sobre *Rhipicephalus microplus* en laboratorio y campo. La metodología implementada fue de carácter cuantitativo, con un diseño experimental al azar con la aplicación del método de análisis de varianza con el programa SPSS tomando en cuenta porcentajes de mortalidad en periodos determinados de tiempo; fue un diseño balanceado con tres repeticiones para cada tratamiento y la variable respuesta fue la mortalidad de las garrapatas. Se logró determinar que los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 causan efectos negativos en *Rhipicephalus microplus* tanto para laboratorio y campo, ya que son capaces de producir toxinas que penetran las zonas blandas del insecto hasta causar su muerte, finalmente se identificó una diferencia poco significativa en la eficiencia de los dos hongos ya que los dos resultan ser buenos controladores biológicos. Se concluye que los hongos entomopatógenos estudiados tienen potencial como agentes de control biológico para el manejo de las infestaciones de garrapatas en el ganado bovino; a medida que se incrementa la concentración de los bioformulados, se observa un aumento en el porcentaje de mortalidad de las garrapatas, además, en la fase de campo los bioformulados siguen siendo eficientes, sin embargo, los resultados son variables debido a las condiciones de campo a los que son expuestos los hongos entomopatógenos.

**Palabras clave:** < HONGOS ENTOMOPATÓGENOS>, < GARRAPATAS>, < PLAGA>, <ECTOPARÁSITO>, <CONTROL BIOLÓGICO>, <MORTALIDAD>, <GANADO BOVINO>, < INFESTACIÓN>.



1832-DBRA-UPT-2023

## SUMMARY

In Ecuador, the infestation of cattle by *Rhipicephalus microplus* ticks is one of the most important health and sanitation problems in the agricultural sector, involving the indiscriminate use of chemical control methods generating environmental pollution problems that cause damage to biotic and abiotic systems endangering the health of farmers and consumers. On the hand it affects the profitability and sustainability of the livestock system; Therefore, the aim of this research was to determine the effect of *Beauveria bassiana* A21 and *Metarhizium anisopliae* A13 on *Rhipicephalus microplus* in the laboratory and in the field. The methodology implemented was quantitative, with a randomized experimental desing and the application of the analysis of variance method with the SPSS program, taking into account morbidity percentages in determined periods of time; it was balanced desing with three replicates for each treatment and the response variable was the morbidity of ticks. It was determined that the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* A21 and *Metarhizium anisopliae* A13 cause negative effects on *Rhipicephalus microplus* both in the laboratory and in the field, since they are capable of producing toxins that penetrate the soft parts od the insect until is death. Finally, a not very significant difference was identified in the efficiency of the two fungi since both are good biological controllers. It is concluded that the entomopathogenic fungi studied have potential as biological control agents for the controlling the tick infestations in cattle; as the concentration of the bioformulates increases, an increase in the porcentaje of tick morbidity is observed, in addition, in the field phase the bioformulates is still efficient; however, the results are variable due to the field conditions to which the entomopathogenic fungi are exposed.

**Keywords:** <ENTHOMOPATHOGENIC FUNGI>, < TICKS>, < PEST>, <ECTOPARÁSITE>, <BIOCONTROL>, <MORBIDITY>, <LIVESTOCK>, < STICK INFESTATION>.



Lic. PaulRolando Armas Pesántes Mgs.

C.I. 0603289877

## INTRODUCCIÓN

A medida que el tiempo avanza, el ser humano en su búsqueda de encontrar nuevos escenarios económicos ha incursionado en una serie de espacios productivos; sin embargo, las primeras actividades de producción como la agricultura y ganadería nunca han perdido su valor, por el contrario se han intensificado, es así que, la crianza de ganado bovino se ha convertido en la fuente de sustento de miles de familias aprovechando sus productos para el desarrollo de la industria lechera y; no obstante, este sector se ha visto afectado por enfermedades y vectores que han ocasionado pérdidas considerables (Ren et al. 2012, p. 99).

Uno de los vectores de preocupación es la presencia de *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* conocida vulgarmente como garrapata común del bovino, es un ectoparásito invertebrado pertenecientes al filo Arthropoda capaz de parasitar mamíferos domésticos y silvestres, considerándose uno de los principales vectores de enfermedades infecciosas en el mundo (Oteo 2016, p. 49).

A nivel mundial se estima que entre el 70 y 80% del ganado bovino se encuentra en zonas tropicales y subtropicales, mismas que cuentan con las condiciones ideales para la activación de las garrapatas durante todo el año debido a factores climáticos como temperatura, humedad, precipitación y altitud favoreciendo su multiplicación y desarrollo, esta situación deriva impactos negativos en los sistemas pecuarios productivos ocasionando depreciación de pieles, disminución de productividad, disminución de apetito, alteraciones reproductivas, costos de control, impacto en la comercialización, morbilidad y mortalidad del ganado (Lepe y Brizo, 2022: p. 91).

Algunos estudios realizados manifiestan que *R. (B) microplus* provoca enfermedades parasitarias externas al ganado bovino, entre ellas Babesiosis y Anaplasmosis que ocasionan anemia y síntomas asociados disminuyendo la producción de leche y carne, estas enfermedades se heredan a través de los huevos de las garrapatas, de tal forma que, las larvas nacen con la capacidad de transmitir dichas patologías, además, es importante mencionar que las garrapatas duras pueden vivir en diferentes ambientes; sin embargo demuestran mayor abundancia en zonas en las que habitan animales silvestres o en explotación ganadera con condiciones medioambientales de vegetación, luz y humedad adecuada para el desarrollo de su ciclo vital (Oteo, 2016, p. 50).

Por otro lado, Cetrá (2018, p. 2) indica que un vacuno infestado por una hembra adulta capaz de succionar entre 2 y 3 ml de sangre pierde alrededor de 0.26 kg de peso/garrapata/año y por ende,

la reducción de la producción de leche corresponde al 48%, tras el análisis de la grave problemática la industria ganadera se ha visto en la necesidad de utilizar métodos de control químico entre estos baños de inmersión con productos acaricidas o ixodicidas como organofosforados (OF), piretroides sintéticos (PS), amitraz (Am), lactonas macrocíclicas (LM), etc., los cuales han demostrado efectividad al erradicar la plaga, sin embargo, su uso deriva indirectamente problemas para la salud humana, animal y el medio ambiente.

Otro factor preocupante de esta plaga que se suma a los ya mencionados es la capacidad de resistencia adquirida de las garrapatas a plaguicidas sintéticos, la cual se relaciona con factores intrínsecos y operativos, dentro de los primeros destacan la genética, mutación y producción de alelos resistentes que afecta el comportamiento en estos parásitos; en tanto que, los operativos dependen del manejo del producto químico haciendo referencia a la frecuencia, cantidades y vías de aplicación, pues el sector ganadero ha optado por el aumento de dosis y mezcla de productos tóxicos con la intención de incrementar la efectividad de aplicación, situación que no favorece al cuidado ambiental (Bustillos, 2014, p. 22).

Por tal motivo, surgen los mecanismos de control biológico como una alternativa de solución que a su vez es amigable con el medio ambiente, entre estos procesos se encuentra el aprovechamiento de nemátodos, hormigas entomófagas, vacunas, bacterias, aceites esenciales y hongos entomopatógenos que resultan ser económicos, biodegradables y seguros para la salud de ganaderos y de sus bovinos (Nari et al., 2003: p. 8).

De acuerdo con los trabajos que anteceden a la presente investigación, una de las técnicas más efectivas de control biológico es protagonizada por hongos entomopatógenos que son microorganismos benéficos caracterizados por ser agentes controladores capaces de provocar infecciones fungosas en poblaciones de artrópodos; existen alrededor de 750 especies de este organismo entre ellas se encuentran: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Verticillium lecanii*. A pesar de ser una buena alternativa de control biológico, existen algunos inconvenientes como la desviación de su acción hacia microorganismos no objetivo pero primordiales dentro de la cadena trófica de su entorno de desarrollo (Raymond et al., 2004: p. 3).

Dada la importancia de encontrar una solución a esta crisis que enfrenta el sector ganadero, se plantea el presente trabajo de investigación enfocado en la capacidad de los hongos entomopatógenos para controlar a las garrapatas y tiene por objetivo determinar los efectos que producen *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, como bioplaguicidas capaces de controlar poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* en el ganado bovino,

incentivando así la adopción de técnicas biológicas que reemplacen el uso de productos químicos como una medida para mitigar la contaminación ambiental.

# CAPÍTULO I

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Planteamiento del problema

En el Ecuador la infestación del ganado bovino por garrapatas *Rhipicephalus microplus* se considera uno de los problemas parasitarios más importantes de las zonas tropicales ya que causan pérdidas relacionadas a la mortalidad, alteración en la productividad y reproducción de animales que a su vez generan pérdidas económicas considerables, pues estos ectoparásitos hematófagos se adhieren a la piel del animal alimentándose de su sangre y otros fluidos lo que ocasiona un desequilibrio en su sistema inmune.

El método principal de control de las garrapatas involucra el uso desmedido de sustancias químicas aplicadas mediante inmersión y aspersión; sin embargo, en la actualidad estos métodos resultan poco eficientes debido a la frecuencia de aplicación, la selección y rotación de moléculas acaricidas y la falta de una base epidemiológica para el control de los ectoparásitos, por lo tanto, a medida que pasa el tiempo las garrapatas presentan resistencia alcanzando su punto máximo de tolerancia contra pesticidas por lo que ya no se consideran efectivos (Bustillos, 2014, p. 22).

Por otro lado, emplear inadecuadamente moléculas sintéticas de control de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) en conjunto con la mala disposición de los residuos descargados y derrames accidentales provoca que los componentes químicos se expandan en la naturaleza, contaminando los sistemas bióticos y abióticos, poniendo en peligro la salud de ganaderos y consumidores, también afecta la rentabilidad y sustentabilidad del sistema ganadero, es por ello que se busca nuevas alternativas como la elaboración de bioinsumos a base de hongos entomopatógenos para el control biológico de garrapatas (Rodríguez et al., 2014: p. 295).

Los bioinsumos surgen como un aporte al manejo sostenible y así evitar las prácticas inadecuadas de control para reducir las altas infestaciones parasitarias. Las ventajas al utilizar estos métodos de control biológico se enmarcan en una producción limpia y saludable minimizando el impacto de plaguicidas en las esferas ambientales además de resultar económico y rentable para el sector ganadero (Rodríguez et al., 2014: p. 295). En virtud de lo expuesto, la presente investigación estudia el efecto de dos hongos entomopatógenos sobre

garrapatas de ganado bovino en la finca Santa Clara recinto San Carlos de Tishimbe ubicado en la vía Chillanes-Bucay.

En relación a las limitaciones de este estudio al analizar el efecto de los bioinsumos elaborados en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la ESPOCH aplicados a ganado bovino infestado por garrapatas, se evidencia que surgen complicaciones para la recolección de datos de las pruebas realizadas en campo ya que el ganado se encuentra suelto en sus potreros dificultando el contacto directo para realizar pruebas de observación y conteos.

Por otro lado, se ha comprobado que los hongos entomopatógenos resultan eficientes para el control de plagas en la agricultura; sin embargo, su aplicación en la ganadería presenta escasa información al respecto; no obstante, de resultar positiva la hipótesis de este estudio se amplía la posibilidad de aplicación representando una solución biológica de control de garrapatas en la ganadería a escala nacional y mundial, además de abrir una línea de investigación para posteriores estudios.

## **1.2. Objetivos**

### ***1.2.1. Objetivo general***

- Determinar el efecto de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 sobre *Rhipicephalus microplus* (garrapatas de ganado bovino) en laboratorio y campo.

### ***1.2.2. Objetivos específicos***

- Evaluar la mortalidad de garrapatas mediante la aplicación de una suspensión esporas de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones de laboratorio.
- Estimar la Concentración y tiempo letal medio (CL50 y TL50) de los productos de control biológico.
- Determinar el efecto de los bioformulados de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 sobre las garrapatas en ganado bovino.

## **1.3. Justificación**

A nivel mundial las garrapatas *Rhipicephalus microplus* son de gran importancia sanitaria y económica, por sus efectos directos e indirectos son considerados vectores parasitarios que

afectan la salud de los animales estimándose pérdidas que oscilen entre 14 000 a 18 000 millones de dólares por año a nivel mundial considerando que existen aproximadamente 1 000 millones de cabezas de ganado en países tropicales y subtropicales, específicamente en Ecuador existen un total de 5.24 millones de cabezas de ganado bovino de los cuales más del 75 % se encuentra en zonas epidemiológicas (Vecino et al., 2010: p. 76).

Dada la importancia del desarrollo de la actividad ganadera en el Ecuador y su crecimiento constantes, surgen las investigaciones para solucionar problemas potenciales de este sector, como es la presencia de garrapatas en ganado bovino, siendo una de las causas de pérdidas económicas en esta actividad; por tal motivo, se han llevado a cabo algunos trabajos investigativos a fin de poner solución o al menos controlar esta problemática; tal es el caso de Rodríguez-Vivas et al. (2014, p. 296) quien cita algunos métodos para el control de garrapatas desde la selección de razas bovinas con resistencia a este pequeño arácnido, el manejo de pastizales hasta la implementación de vacunación o técnicas de control biológico.

Las prácticas de la ganadería moderna han desencadenado una fuerte crisis ambiental debido al uso y abuso de compuestos químicos, mismos que no han sido suficientes para controlar la aparición de las garrapatas lo que genera preocupación para las personas dedicadas a esta actividad productiva; la infestación persistente de estos arácnidos son perjudiciales para el animal y como daño colateral afecta a la salud de los consumidores por efecto residual en la carne y leche provocando enfermedades como Lyme y la fiebre botonosa (Ojeda et al., 2011: p. 180).

En la finca Santa Clara recinto San Carlos de Tishimbe cantón Chillanes provincia Bolívar, ubicado en la vía Chillanes-Bucay, se ha optado por usar ivermectina, amitraz y piretroides observando efectos no muy eficientes, por tal motivo esta investigación permitirá evaluar un método de control biológico que evite el uso de garrapaticidas químicos. Al determinar el efecto de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliaea* A13 sobre *R. microplus* (garrapatas de ganado bovino) en laboratorio y campo, se pretende identificar y evaluar la tasa de mortalidad de la plaga estableciendo así una línea base para la creación de productos que puedan usarse para una ganadería sustentable cuyo ingrediente activo sean los hongos entomopatógenos.

En base a estudios realizados tanto a nivel nacional e internacional, se ha determinado la importancia de la investigación de las diferentes especies de garrapatas, así como los mecanismos de control de este ectoparásito para disminuir los daños en el sector ganadero; hasta el momento los métodos químicos son los más utilizados; sin embargo, derivan problemas de contaminación ambiental debido al uso indiscriminado que causa morbilidad y mortalidad en

los animales; por lo tanto, se propone mecanismos de control biológico como la mejor alternativa.

#### **1.4. Hipótesis**

##### ***1.4.1. Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)***

*Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 no tienen un efecto significativo sobre *Rhipicephalus microplus* (garrapatas de ganado bovino) en laboratorio y campo.

##### ***1.4.2. Hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>)***

*Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 tienen un efecto significativo sobre *Rhipicephalus microplus* (garrapatas de ganado bovino) en laboratorio y campo.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

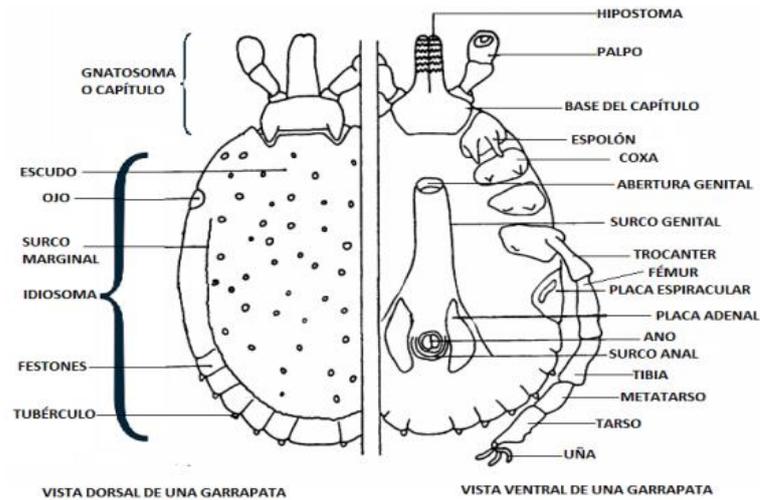
#### 2.1. Referencias teóricas

##### 2.2.1. Garrapatas (*Rhipicephalus microplus*)

Las garrapatas *Rhipicephalus microplus* también conocidas como “garrapata común del ganado” son ectoparásitos hematófagos con gran importancia sanitaria en el mundo, se alimentan exclusivamente de sangre y son reconocidos por su capacidad de parasitar diversos huéspedes entre ellos búfalos, caballos, asnos, cabras, ovejas, ciervos, cerdos, perros y algunos animales silvestres; se distribuyen en zonas templadas, subtropicales y tropicales destacando varios países de América Central y del Sur. Su importancia radica en el impacto que ha ejercido en la salud humana y animal debido al daño que causan al alimentarse y la facilidad que tienen para transmitir organismos patógenos (virus, bacterias, rickettsias y protozoos) (Cuore et al., 2017: p. 14).

Estos organismos son capaces de parasitar a los ganaderos de manera accidental durante el manejo de animales infestados o por exposición a áreas infestadas presentando afecciones en la salud; por otro lado, representa para el ganadero pérdidas económicas derivadas de la infección en su ganado manifestando disminución de peso (0.26 kg/garrapata/año), daño en la piel, mortalidad, menor producción láctea, costos por control y pérdidas asociadas a la transmisión de enfermedades como babesiosis y la anaplasmosis que llegan a provocar la muerte del ganado (Mendes et al., 2019: p. 2).

Debido a la problemática que se ha generado, el ser humano ha optado por utilizar tratamientos químicos para su control, resaltando el uso de organofosforados, piretroides sintéticos, amidinas, fenilpirazolonas y lactonas microcíclicas en diferentes presentaciones como: bolos intraruminales, métodos de derrame, inyecciones, aretes impregnados, entre otros; no obstante, su uso constante ha ocasionado que la plaga desarrolle resistencia disminuyendo su efecto y generando incrementos en los costos de control (George et al., 2004: p. 358).



**Ilustración 2-1:** Vista dorsal y ventral de una garrapata

Fuente: (Polanco y Ríos, 2016: p. 86).

### 2.2.1.1. Características

*Rhipicephalus microplus* es un miembro de la familia *Ixodidae* (garrapatas duras), generalmente conocidas como *Boophilus microplus*; sin embargo, recientemente se ha convertido en un subgénero del género *Rhipicephalus* debido a la filogenética entre ambos; se caracterizan por ser ectoparásitos obligados, es decir, su alimentación está estrictamente relacionada a la ingesta de sangre a lo largo de todo su ciclo de vida, se anclan al tejido del animal mediante los hipostomas por lo que son llamados artrópodos hemimetábolos (Ojeda-Chi et al., 2011: p. 179).

**Tabla 2-1:** Clasificación taxonómica de las garrapatas duras

CATEGORÍA	TAXÓN
Phylum	Artropoda
Clase	Arachnida
Orden	Acarina
Suborden	Ixodoidea
Familia	Ixodidae
Género	<i>Rhipicephalus</i>

Fuente: (Ojeda-Chi et al., 2011: p. 181).

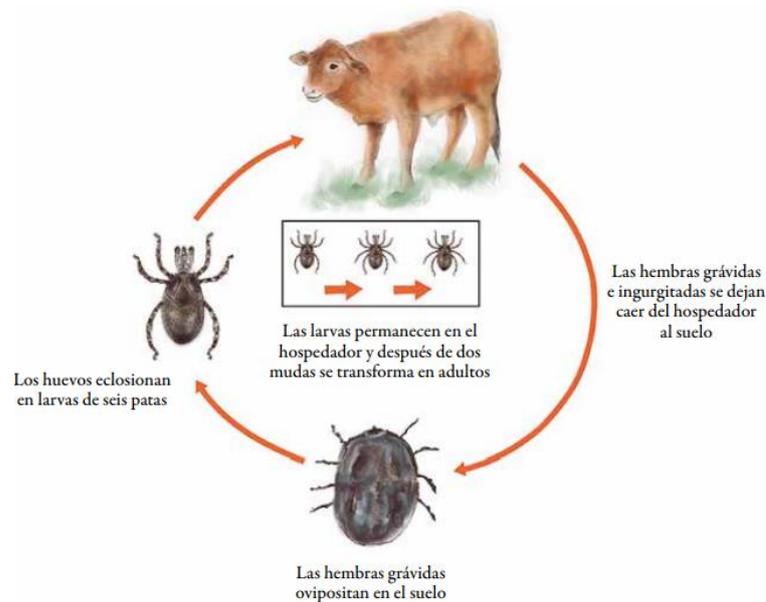
Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

### 2.2.1.2. Ciclo de vida

*R. microplus* es una garrapata de un sólo huésped, es decir, los tres estadios (larva, ninfa, adulta) se alimentan de un único hospedador, en climas cálidos pueden sobrevivir durante un período de

hasta 3 o 4 meses sin alimentarse; sin embargo, en temperaturas más frías pueden vivir sin alimento hasta seis meses, y las garrapatas que no pueden encontrar un huésped finalmente mueren de inanición (Bustillos y Rodríguez, 2016: p. 46).

Los huevos de estas garrapatas eclosionan en el medio ambiente y su ciclo de vida inicia desde que se fija la larva en las zonas más finas de la epidermis tales como la cara interna de los muslos, los flancos y las patas traseras del animal empezando el proceso de alimentación, posteriormente sufren dos mudas y se convierten en ninfas, se nutren una sola vez por estadio, finalmente, se desprende como adulto macho o como hembra alimentada y fecundada, en el primer caso los machos adultos maduran sexualmente después de la alimentación apareándose con hembras en fase de alimentación depositando gran cantidad de huevos y esta muere después de la oviposición completando su ciclo de vida (Polanco y Ríos, 2016: p. 86).



**Ilustración 2-1:**Ciclo de vida de las garrapatas de un solo hospedador

**Fuente:** (Polanco y Ríos, 2016: p. 86).

### 2.2.1.3. ¿Cómo afectan las garrapatas en la ganadería?

Las garrapatas transmiten una gran variedad de agentes patógenos, principalmente a los vertebrados a través de su saliva, es así que, la picadura de este parásito puede ser molesta y además puede convertirse en la puerta de entrada para microorganismos invasores secundarios o larvas de moscas, llegando incluso a actuar como reservorios de patógenos durante varias generaciones portando enfermedades exóticas (Gaínza et al., 2014: p. 8).

Entre los principales daños que pueden causar se menciona:

- Reacciones inflamatorias y lesiones por rascado del animal, en las zonas donde han mordido.
- Reacciones inmunes que originan parálisis y fiebre.
- Estados anémicos y pérdida de producción cárnica y lechera ocasionadas por la pérdida de sangre, debido a parasitaciones moderadas o intensas (Vecino et al., 2010: p. 76).

Su importancia principal en sanidad animal se debe a la peligrosidad de las enfermedades infecciosas que pueden transmitirse entre bovinos incluyendo *Babesiosis*, *Theileriosis* y *Anaplasmosis*, mientras que, entre las enfermedades que pueden ser transmitidas al hombre se encuentran la enfermedad de *Lyme* cuyo agente causal es la *Borrelia*, encefalitis transmitida por garrapatas (TBE), babesiosis a humanos susceptibles (generalmente pacientes esplenectomizados) causada por distintas especies de *Babesia*, Tularemia que es producida por la bacteria *Francisella tularensis* y fiebre botonosa causada por *Rickettsia conorii* (Ojeda et al., 2011: p. 180).

### **2.2.2. Métodos de control de garrapatas**

El control de garrapatas es un tema central y de actuación tanto para los ganaderos que son los afectados de forma directa, pero también es un tema de enfoque primordial para las entidades gubernamentales a diferente escala, ya que estos patógenos se han convertido en una problemática económica y de salud pública por las consecuencias ya antes mencionados; en tal virtud, se ha indagado en distintos mecanismos de control tanto químico como biológico (Rodríguez et al., 2014: p. 295).

#### **2.2.2.1. Control químico**

El principio activo de los mecanismos de control químico radica en el rompimiento de los ciclos de vida de las garrapatas ejerciendo efectos en su sistema nervioso, se basan en el uso regular de moléculas sintéticas mediante baños de inmersión y aspersion, el uso de acaricidas químicos por baño de inmersión es la técnica más aplicada que en ausencia de resistencia a los productos utilizados constituye un método eficaz y de bajo costo (Hernandez, 2005, p. 386).

Generalmente, el empleo de ixodicidas ha provocado que las garrapatas presenten resistencia por el manejo incorrecto de los baños (instalaciones deficientes, errores en la preparación del baño y en la reposición, acumulación de costras y sedimentos por mala limpieza, ausencias de

controles periódicos del nivel del baño y animales incorrectamente sumergidos); sin embargo, por los índices de efectividad aún se mantienen la mayoría de productos químicos utilizados comercialmente destacando: Amitraz, Ivermectina, Abamectina, Cialotrina, Alfametrina, entre otros (Hernandez, 2005, p. 386).

#### 2.2.2.2. Control biológico

El control biológico es el uso de organismos benéficos depredadores que reducen la población de insectos considerados plaga, tal es el caso de los bioplaguicidas derivados de materiales naturales como animales, plantas, microorganismos y minerales que además de su acción controladora no representan un alto riesgo para las personas y el medio ambiente; no obstante, a pesar de ser beneficiosos como métodos de control resultan en algunos casos dañinos para otros organismos que no son el objetivo (Cuore et al., 2017: p. 16).

Este mecanismo de control se realiza también mediante organismos biorreguladores cuya función es alimentarse del insecto plaga disminuyendo su población y efectos dañinos de forma considerable. La investigación y desarrollo de nuevas técnicas de control biológico estimulan la modernización de la agricultura y ganadería, reemplazando gradualmente los plaguicidas químicos (Badii y Abreu, 2006: p. 84).

Los agentes de control con excelentes resultados pueden ser hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisoplae*, así como también, bacterias, nemátodos entomopatógenos y hormigas reguladoras; en los últimos años se ha tratado de preservar las cepas de hongos entomopatógenos resistentes a ciertas condiciones climáticas para incrementar su eficiencia a través de microencapsulación empleando la nanotecnología. Los estudios de esta metodología de control natural involucran disciplinas como la patología, ecología, genética y fisiología, además de técnicas para la producción masiva, formulación y estrategias de aplicación (Fernández T, 2006, p. 21).

Bolaños (2016, p. 26) menciona que el incremento en el costo de producción de los pesticidas químicos, la resistencia desarrollada por las plagas y la presión que existe por reducir la contaminación en el ambiente han asegurado el creciente interés en estrategias alternativas para el manejo de plagas, es decir, el control biológico ha entrado en auge; no obstante, pese a las ventajas que pueden presentar existen algunas implicaciones en cuanto al uso de patógenos para el control de garrapatas relacionadas con tres factores: patógeno (especie, dosis, método de

aplicación), hospedador (edad, raza, estado fisiológico y nutricional) y clima (temperatura, humedad y radiación solar).

### **2.2.3. Hongos entomopatógenos**

Son un grupo de microorganismos variados con gran potencial como agentes controladores, proveen múltiples servicios a los sistemas agroecológicos pues parasitan a diferentes insectos para mantenerlos en índices adecuados aprovechando la susceptibilidad del hospedero o por medio de acciones antagónicas de la relación patógeno-hospedero; entre los géneros más importantes se menciona: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium* (Raymond et al., 2004: p. 3).

Es importante recalcar la influencia que ejerce los factores bióticos y abióticos sobre la manifestación epizootica de los hongos entomopatógenos, es así que, entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y la persistencia de estos organismos se encuentran los rayos ultravioletas, la temperatura, la humedad relativa y la acción de fungicidas que inhiben por completo la actividad controladora de los hongos; por otro lado, se analiza la susceptibilidad y la relación con los hospederos que depende de los nutrimentos presentes en los insectos pues son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de los hongos (Téllez et al., 2009: p. 74).

#### **2.2.3.1. Etapas de infección de hongos entomopatógenos**

De modo general, los hongos entomopatógenos presentan las siguientes fases de desarrollo sobre los hospederos.

##### **a. Adhesión**

Fenómeno que permite la fijación de los propágulos o unidades infectivas sobre la superficie del hospedante, en este mecanismo intervienen procesos, físicos, químicos y electrostáticos entre el patógeno y el hospedante (Guapi, 2012, p. 34).

##### **b. Germinación**

Luego de la adhesión existe la hidratación del conidio o espora sobre el tegumento del insecto y la emisión del tubo germinativo a través del apresorio, en esta fase los factores climáticos son importantes para el proceso germinativo pues el hecho de que una cepa germine sobre el

tegumento del insecto se ha considerado como un fenómeno ligado a la especificidad parasitaria en donde el apresorio tiene por función debilitar la cutícula en sus partes de contacto (Guapi, 2012, p. 34).

c. Penetración

Tras el proceso de germinación de las esporas se producen una serie de transformaciones físico químicas a nivel de tegumento y del conidio que le permite al patógeno penetrar a la cutícula, este proceso es mediado por enzimas generadas por la hifa infectiva (Guapi, 2012, p. 34).

d. Multiplicación

Cuando el hongo ataca a la cutícula y penetra es posible que se generen reacciones mecánicas en el punto de penetración y alrededor de los elementos fúngicos, durante esta etapa y una vez en el interior del insecto el hongo se multiplica principalmente por gemación libre y mediante las llamadas blastósporas formándose una masa pseudotisular llamada granulom (Guapi, 2012, p. 34).

e. Producción de toxinas

No todos los hongos o todas las cepas de una misma especie fúngica producen toxinas en el hemocele y en caso de poseer esta capacidad de producción toxica puede ocasionas la muerte del insecto debido a las propiedades insecticidas, pero además de las toxinas actúan también alrededor de 18 inhibidores de reacciones de defensa del hospedante por alteraciones del hemocito (Guapi, 2012, p. 35).

f. Muerte del insecto

La muerte por un *deuteromycete* ocurre generalmente antes de que el hongo colonice el interior del hemocele y ocurre por acción de sustancias tóxicas secretadas por el hongo entomopatógeno en el insecto. La muerte del insecto marca el final de la etapa parasitaria, en tanto que, el hongo continúa creciendo saprofiticamente por los tejidos, o compitiendo con la flora bacteriana de ciertos insectos (Guapi, 2012, p. 35).

g. Colonización

Tras la muerte del insecto, el micelio invade todos los órganos y tejidos comenzando en ciertos casos por el tejido graso y el cadáver se transforma en una momia resistente a la descomposición bacteriana (Guapi, 2012, p. 35).

#### h. Esporulación

Una vez que las hifas atraviesan el tegumento pueden quedarse en esta etapa vegetativa o pasar a la reproductiva dentro de 24 a 48 horas, con formación de conidias y esporas siempre y cuando las condiciones de humedad relativa sean altas (Guapi, 2012, p. 35).

#### i. Diseminación

Las conidias o esporas formadas sobre el insecto se diseminan por acción del viento, agua, el propio hombre y otros organismos (Guapi, 2012, p. 35).

#### 2.2.3.2. *Beauveria Bassiana*

#### Clasificación taxonómica

**Tabla 2-2:**Identificación de *Beauveria bassiana*

CATEGORIA	TAXÓN
Reino	Mycota
División	Eumicota
Subdivisión	Deuteromicotina
Clase	Deuteromicetes (hongos imperfectos)
Subclase	Hyphomicetidae
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Beauveria</i>
Especie	<i>bassiana</i>

Fuente:(Mota y Murcia, 2011: p. 80).

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

## Características morfológicas

El hongo entomopatígeno es un hongo imperfecto de apariencia polvosa, su textura es algodonosa y cremosa, su color es blanco o un poco amarillento, se desarrolla en medio de cultivo PDA (Papa-dextrosa-agar), las colonias crecen pegadas al medio de cultivo y aproximadamente 3 cm de diámetro al cabo de 15 días; resulta importante manifestar que la esporulación depende de la humedad, puesto que, a menor humedad se produce mayor esporulación, mientras que, a mayor humedad se demuestra mayor crecimiento micelial y menor esporulación, además a mayor esporulación mayor infección, por el contrario, a mayor crecimiento micelial menor infección (Mota y Murcia, 2011: p. 81).

## Mecanismo de acción

El hongo generalmente ataca al insecto vía tegumento o por vía digestiva, ingresa a los insectos a través de la cutícula, produce hifas invasoras que penetran y colonizan los tejidos del hospedero; una vez en el hemocele del insecto, el hongo empieza a proliferarse causando la muerte del insecto. La molécula de *oosporein*, es un colorante rojo y tiene naturaleza química de una dibenzoquinona, es producida por *Beauveria* y actúa como veneno enzimático alterando las reacciones redox en la síntesis de ATP (Mota y Murcia, 2011: p. 83).

### 2.2.3.3. *Metarhizium anisopliae*

## Clasificación taxonómica

**Tabla 2-3:** Clasificación taxonómica *Metarhizium anisopliae*

CATEGORIA	TAXÓN
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Hyphomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Metarhizium</i>
Especie	<i>anisopliae</i>

**Fuente:** (Carranza y Krugg, 2016: p. 51).

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

## **Características morfológicas**

Presenta conidióforo ramificado, conidias cilíndricas a ovales que forman cadenas originadas en fiálides, estas son color blanco cuando son jóvenes, pero al madurar toman color verde oscuro. *Metarhizium anisopliae* también se desarrolla adecuadamente en medios de cultivo de PDA y la colonia de forma circular presenta un crecimiento micelar de color blanco inicialmente, exhibiendo variaciones de color cuando el hongo esporula, es así que, al iniciarse el proceso de multiplicación de las conidias demuestra una coloración olivo verdosa en la superficie micelar; en el envés de la cápsula, se observa una decoloración amarillo pálido con pigmentos amarillos difusos en el medio (Carranza y Krugg, 2016: p. 52).

## **Mecanismo de acción**

Los bioformulados que parten del hongo *Metarhizium anisopliae* contaminan las larvas, hifas o adultos haciendo que mueran y propaguen la enfermedad siempre que las condiciones medioambientales favorezcan el desarrollo y dispersión de los conidios. Este hongo invade activamente la garrapata a través de su cutícula y produce un daño patológico al presionarla mecánicamente (apresorios) y degradarla por la acción de enzimas hidrolíticas tales como proteasas, quitinasas y lipasas (Pulido et al., 2015: p. 82).

### *2.2.3.4. Concentración letal media y tiempo letal medio (CL50 Y TL50)*

Para determinar la dosis necesaria para matar el 50 % de una población, se evalúan las diferentes concentraciones de la solución conidial y un testigo (sin tratamiento) registrándose la mortalidad diaria, se colocan en cámaras húmedas para observar el crecimiento del micelio y se verifica si la muerte se produjo por la aplicación del hongo, con los datos de mortalidad diaria se determina el TL50 y sus límites de confianza, mediante un análisis, es decir, el TL50 permite calcular el tiempo necesario para matar el 50 % de la población larval (Aliaga y Cruz, 2009: p. 31).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

La presente investigación contiene información veraz de carácter cuantitativo, capaz de probar las hipótesis de investigación donde se evaluó el efecto de ciertos hongos entomopatógenos en un género específico de garrapatas, además, el estudio hace referencia a 4 tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, correlacional y asociación de variables, ya que se evaluó el efecto de ciertos hongos entomopatógenos en un género de garrapatas, el análisis estadístico demuestra el comportamiento del parásito ante el microorganismo, además, busca especificar las propiedades importantes y relevantes de los microorganismos utilizados en el estudio.

En el estudio se determinaron las variables para observar sus efectos con el fin de establecer una relación causa – efecto, en el proceso se consideró como la causa al bioplaguicida a base de hongos entomopatógenos y el efecto fue la reacción que estos causaron sobre la plaga. Por otro lado, la investigación tiene el propósito de indagar, conocer, ampliar y profundizar las diferentes teorías, enfoques y criterios de autores sobre *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliaea* A13 ante *Rhipicephalus microplus*, basándose en libros, documentos, revistas, artículos y publicaciones con el fin de solucionar el problema propuesto de manera periódica.

La efectividad que tienen *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliaea* A13 sobre *Rhipicephalus microplus* se determinó mediante pruebas en laboratorio y campo, de las cuales se obtuvieron valores reales, dirigidos a indagar las causas de problema de resistencia de la plaga, por otro lado, esta investigación tuvo como objetivo generar conocimiento y desarrollo tecnológico.

Los bioensayos fueron llevados a cabo en el laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH, para evaluar el efecto de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliaea* A13, el diseño experimental es completamente aleatorio (DCA). Se utilizó esporas puras de los hongos en diferentes concentraciones ( $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  y  $10^9$ ) obtenidas a través de la técnica de diluciones seriadas con TWEEN 80 al 0,01%, estas fueron sometidas a pruebas de viabilidad y conteo de esporas a través del microscopio; se realizó 4 tratamientos con 3 repeticiones para *Beauveria bassiana* A21, y 4 tratamientos con 3 repeticiones para *Metarhizium anisopliaea* A13, además 3 blancos por cada hongo con un total de 30 unidades experimentales (Gálvez, et al., 2017: p.52).

Cada unidad experimental consta de 10 garrapatas adultas de diferentes tamaños, estas fueron sometidas a las suspensiones de esporas del hongo entomopatógeno a la concentración correspondiente por 1 minuto cada una, y posteriormente fueron ubicadas en cajas de plástico estériles con papel filtro estéril humedecido con la suspensión de esporas, posteriormente cada caja fue etiquetada y al cabo de 7 y 14 días se observaron los resultados (Gálvez, et al., 2017: p.52).

Para las pruebas de campo se seleccionó unidades experimentales a través de observaciones directas en campo obteniendo un total de 12 cabezas de ganado provenientes de la provincia Bolívar, cantón Chillanes, finca Santa Clara recinto San Carlos de Tishimbe , ubicado en la vía Chillanes-Bucay en condiciones al libre pastoreo con rotación de potreros cada 7 días, en donde las temperaturas mínimas descienden rara vez a menos de 0° C y las máximas no superan los 30° C, la humedad relativa tiene valores comprendidos entre el 65 y el 85 %.

El tratamiento consistió en la aplicación de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 con una concentración de 10<sup>9</sup> conidias/ml cada una, obtenidas a través del laboratorio y la aplicación se realizó mediante baños de aspersión con la ayuda de dos bombas manuales de 10 litros cada una, durante un día nublado con una humedad media del 81%, se realizó un conteo de las garrapatas vivas antes de la aplicación, después de 7 días y 15 días posteriores a la aplicación del bioplaguicida; es importante mencionar que el ganado objeto de estudio fue tratado con ivermectina y baños de aspersión con el producto químico Garrakill (piretroides) cada 15 o 20 días hace 3 meses atrás de la fecha de aplicación (Gálvez, et al., 2017: p.52).

### **3.1. Diseño experimental**

El diseño experimental propuesto corresponde a un Diseño Completamente al Azar DCA para determinar la mortalidad de garrapatas con dos hongos entomopatógenos permitiendo comprobar o rechazar las hipótesis propuestas en el trabajo de investigación, para esto se utilizó el método de análisis de varianza ANOVA (Analysis Of Variance) y posteriormente Tukey para comparar las medias provenientes del análisis de varianza; se utilizó el programa SPSS tomando en cuenta los porcentajes de mortalidad obtenidos tras las pruebas de laboratorio y campo.

El ANOVA para el diseño factorial de un factor se resume en el siguiente cuadro:

**Tabla 3-1:** Análisis de varianza para la mortalidad de *Rhipicephalus microplus*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Prueba F	Valor P
Tratamientos	SC <sub>TR</sub>	k-1	$CM_{TR} = \frac{SC_{TR}}{k - 1}$	$F_c = \frac{CM_{TR}}{CM_E}$	P (F > F <sub>0</sub> )
Error	SC <sub>E</sub>	N-k	$CM_E = \frac{SC_E}{N - k}$		
Total	SC <sub>T</sub>	N-1			

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

- Laboratorio

**Variable respuesta:** Mortalidad de las garrapatas

**Unidad experimental:** Garrapatas

**Factor:** Concentraciones de bioformulado.

**Diseño balanceado:** para cada tratamiento se realizó 3 repeticiones.

- Campo

**Variable respuesta:** Mortalidad de las garrapatas

**Unidad experimental:** Garrapatas

**Factor:** Método de control de plagas.

**Diseño balanceado:** para cada tratamiento se realizó 3 repeticiones.

Por otro lado, para determinar la CL50 y TL50 se utilizó el programa R Studio V1.3 empleando el modelo logístico log-logístico utilizando la función "drm()" del paquete "drc". Este modelo permite estimar la concentración necesaria para causar la mortalidad del 50% de la población de *Rhipicephalus microplus*, tomando en cuenta los datos de mortalidad a los 7 y 14 días posteriores a la aplicación de concentraciones en laboratorio. Para determinar el TL50, se llevaron a cabo experimentos en condiciones de laboratorio en los que se expusieron las garrapatas a diferentes concentraciones de los bioformulados. Se registró el tiempo transcurrido en 7 y 14 días, y el porcentaje de mortalidad obtenido. Luego, se calculó el TL50 utilizando los datos obtenidos para cada concentración determinándose así, el tiempo promedio que tomó alcanzar el 50% de mortalidad para todas las repeticiones realizadas a esa concentración

específica. Este valor se denominó TL50, que representa el tiempo medio requerido para que el 50% de las garrapatas mueran en esa concentración.

Por otro lado, para realizar una comparación de dos factores (hongos y concentraciones) se realizó un análisis factorial de dos factores, con el fin de identificar si existen diferencias significativas entre los dos casos de hongos entomopatógenos.

El ANOVA para el diseño factorial de dos factores se resume en el siguiente cuadro:

**Tabla 3-2:** Análisis de varianza para la mortalidad de *Rhipicephalus microplus*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Prueba F	Valor P
Factor 1	SC <sub>TR</sub>	k-1	CM <sub>TR</sub>	$F_C^T = \frac{CM_{TR}}{CM_E}$	P (F > F <sub>0</sub> )
Factor 2	SC <sub>B</sub>	1-1	CM <sub>B</sub>		P (F > F <sub>0</sub> )
Interacción	SC <sub>I</sub>	h-1	CM <sub>I</sub>	$F_C^B = \frac{CM_B}{CM_E}$	
Error	SC <sub>E</sub>	N-k	CM <sub>E</sub>		$F_C^I = \frac{CM_I}{CM_E}$
Total	SC <sub>T</sub>	N-1			

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

### 3.2. Metodología: Laboratorio

#### 3.2.1. Cultivos puros de hongos entomopatógenos

Se pesó 40 g del medio de cultivo deshidratado Agar de Dextrosa de Papa (PDA) y se diluyó en frascos de vidrio con 1L de agua destilada, a continuación, se esterilizó en la autoclave a 121 °C (15 psi) durante 15 minutos. En una cabina de extracción en condiciones estériles, se dejó enfriar el medio a 35 °C aproximadamente sin que este se solidifique; con la ayuda de un asa esterilizada y un mechero bunsen se inoculó el hongo *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en las cajas Petri correspondientes, mismas que fueron cerradas herméticamente y rotuladas (Hidalgo y Tello, 2022: p. 11).



**Ilustración 3-1:** Cultivos puros de hongos entomopatógenos

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

### 3.2.2. *Suspensión de esporas*

Se inició por la esterilización de materiales y el área de estudio, posteriormente se colocó 1 ml de agua estéril sobre los cultivos puros de 20 días de desarrollo, después se flameó los rastrillos o varillas de vidrio haciendo un raspado superficial cuidadoso para que se levanten la mayor cantidad de esporas posibles y luego colocarlas en una solución estéril con Tween 80 al 0.1%, en este caso la suspensión de esporas o solución madre llegó a una concentración de  $10^9$  para continuar con el proceso de dilución de esporas.

Para concretar el proceso se agitó para lograr una buena distribución de la suspensión en las partículas mencionadas; este proceso fue el mismo para los dos hongos. Sin embargo, la metodología convencional expuesta por Lemus et al. (2008: p. 93) menciona que se debe utilizar un cultivo de 25 días de desarrollo no obstante esta modificación se realizó debido a que utilizamos 5 cultivos puros de cada uno de los hongos debido a la necesidad de llegar a la concentración de la suspensión madre antes mencionada.



**Ilustración 3-2:** Suspensión de esporas *Metarhizium anisopliae* A13

**Fuente:** Alarcón, Lisette, 2023

### 3.2.3. *Conteo de conidios*

Se realizó en un hematocitómetro cubierto por un cubreobjeto contabilizando 5 cuadros medianos en el cuadrado central con 16 cuadrados pequeños cada uno.

La concentración de esporas se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$C = N \times \text{Dilución empleada} \times \text{Factor de la cámara}$$

Donde:

C= concentración

N= Numero de esporas promedio (cuadrante central)

Una vez obtenida la concentración deseada ( $10^9$ ) se realizó una dilución seriada (Santos, 2022, p.38).

### 3.2.4. *Dilución seriada*

Utilizando el método de dilución seriada descrito por Sosa et al. (2017: p. 41) se realizó diluciones simples de 1/10, mezclando 1ml de la solución madre ( $10^9$ ) en 9ml de agua estéril haciendo un volumen total de 10 ml obteniendo una concentración de  $10^8$ , de la concentración  $10^8$  se realizó el mismo procedimiento para obtener una concentración de  $10^7$  y así sucesivamente hasta

obtener una concentración  $10^6$ . Una vez realizada la suspensión de esporas se procedió al conteo de conidios en el hematocitómetro o cámara de Neubauer para cada una de las concentraciones.



**Ilustración 3-4:** Suspensión de esporas a concentraciones  $10^8$ , blanco y  $10^9$  respectivamente para los dos hongos.

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

### 3.2.5. *Recolección de garrapatas*

Siguiendo la metodología descrita por Bolaños (2016, p. 26), mediante un examen visual se escogieron cuatro animales infestados, de los cuales fueron extraídas garrapatas en diferentes estadios a nivel de diferentes regiones anatómicas del animal, se recolectó alrededor de 320 garrapatas de entre 3mm hasta 5mm evitando producirles daño en los especímenes, las muestras fueron transportadas en frascos de plástico estériles con una pequeña perforación que garantice la respiración aerobia de los organismos.

Sin embargo, la metodología convencional mencionada utilizó tres animales infestados para la recolección de la plaga y las mismas fueron trasladadas en frascos con alcohol etílico al 70%, esta modificación fue realizada debido a que las muestras recolectadas tuvieron que esperar 24 horas para llegar al laboratorio en donde iban a ser inoculadas.



**Ilustración 3-5:** Ganado bovino infestado por plaga *R. microplus*

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.



**Ilustración 3-6:** Recolección y transporte de garrapatas

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

### 3.2.6. *Baños de inmersión a las garrapatas*

Se conformaron 30 grupos con 10 ectoparásitos cada uno, de los cuales 6 grupos fueron muestras testigos, las muestras restantes fueron utilizadas para evaluar la eficiencia de las concentraciones, tras la preparación de las suspensiones de esporas y la dilución seriada de cada hongo entomopatógeno, se realizó un baño de inmersión a las garrapatas durante 1 minuto en el inóculo y después fueron colocadas en cajas de plástico con una base de toalla absorbente para eliminar el exceso de humedad, posteriormente se sellaron herméticamente para ser controladas durante 21 días, período en el cual no necesitan alimentarse y las hembras llevan a cabo la oviposición (Beltrán, et al., 2008: p. 93).



**Ilustración 3-7:** Baño de inmersión de garrapatas con hongos entomopatógenos

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

### 3.2.7. *Muestreo y toma de datos*

Se realizaron dos muestreos para evaluar la mortalidad de garrapatas, el primero a los 7 días después de la inoculación y el segundo a los 14 días; se contaron las garrapatas muertas en cada placa, se diferenció la muerte causada por acción del producto (esporulación del hongo sobre la plaga) y la que se efectuó por otras causas; las garrapatas pueden sobrevivir en climas cálidos durante un período de 3 o 4 meses sin alimentarse y en temperaturas frías hasta 6 meses (Spickler, 2007, p. 3).



**Ilustración 3-8:** Conteo de garrapatas muertas

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023

## 3.3. Metodología: Campo

### 3.3.1. *Preparación de bioformulados*

Para la preparación de bioformulados se utilizó cepas provenientes de la siembra de hongos en cajas Petri, bandejas con PDA y arrozillo (sustrato), extraídas con la utilización de agua estéril con TWEEN 80 al 10% para obtener un litro de suspensión líquida hasta llegar a la concentración que mostros mejores resultados en las pruebas in vitro, la suspensión de esporas de cada hongo debe ser diluidos con agua limpia o potable para su aplicación a campo. Una vez realizado el producto se debe evitar su exposición directa al sol para no perder la efectividad de la formulación (Lemus et al., 2008: p. 93).



**Ilustración 3-9:** Suspensión de esporas *Metarhizium anisopliae* A13

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.



**Ilustración 3-10:** Hongos entomopatógenos en sustrato de arroz

**Fuente:** Alarcón, Lisette, 2023

### 3.3.2. *Aplicación de bioformulados*

Para la aplicación en campo se utilizó un total de 12 cabezas de ganado (3 para A21, 3 para A13, 3 químico- piretroides y 3 controles), en cada bovino se seleccionaron 3 zonas con alta infestación de plaga (extremidades P1, tronco P2 y cuello P3), dichas zonas fueron cercadas mediante parches, cabe mencionar que tres meses atrás de la aplicación el ganado fue inyectado ivermectina y 22 días atrás fumigado con piretroides lo que demuestra la resistencia que presenta dicha plaga ante el control químico al que fueron sometidas.

Utilizando la metodología de Tinajero et al. (2014: p. 23) los bioformulados se aplicaron a las 5 de la tarde en la finca Santa Clara, se mezcló por cada 500 ml de producto 10 litros de agua y se procedió a aplicar el producto de manera inmediata mediante baños de aspersión en las zonas designadas del ganado bovino con la utilización de bombas de mochila o regaderas. La

metodología recomendaba dos siembras con un intervalo de 2 días, sin embargo, esta fue modificada debido a la dificultad de acceso a los pastizales en donde se encuentran los bovinos sueltos, motivo por el cual la segunda aplicación fue a los 7 días ya que ese el intervalo de rotación de potreros.



**Ilustración 3-11:** Aplicación de bioformulados

**Realizar por:** Alarcón, Lisette, 2023

## CAPITULO IV

### 4. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

#### 4.1. Efecto de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 sobre *Rhipicephalus microplus* en condiciones de laboratorio

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de una suspensión de esporas de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en la mortalidad de garrapatas del género *Rhipicephalus microplus* para condiciones de campo y laboratorio.

##### 4.1.1. Mortalidad de garrapatas mediante la aplicación de una suspensión esporas de *Beauveria bassiana* A21

A continuación, se presenta el Análisis de varianza para los datos obtenidos en las condiciones de laboratorio:

**Tabla 4-1:** Análisis de varianza para la mortalidad con *Beauveria bassiana* A21 en condiciones laboratorio

FV	GI	SC	CM	F	Sig.	
Modelo corregido	4	8625,00	2875,00	34,50	<0,0001	**
Concentración del hongo	4	8625,00	2875,00	34,50	<0,0001	**
Error	10	666,67	83,33			
Total, corregido	14	9291,67				

Nota. FV (Fuente de variación), SC (Suma de cuadrados), gl (Grados de libertad), CM (Cuadrado medio)

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

En este análisis de varianza para la mortalidad con *Beauveria bassiana* A21 en condiciones de laboratorio se evaluó el efecto de la concentración del hongo expresado en la mortalidad. Los resultados indican que la concentración del hongo tiene un efecto significativo en la mortalidad ( $F = 34.50$ ,  $p < 0.0001$ ); esto implica que existen diferencias significativas en los niveles de mortalidad de acuerdo a las diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* A21 empleadas en el experimento, por lo que, se establece que este factor juega un papel importante en su eficacia para controlar la mortalidad en condiciones de laboratorio.

A continuación, se presentan los resultados de la prueba Tukey en condiciones laboratorio:

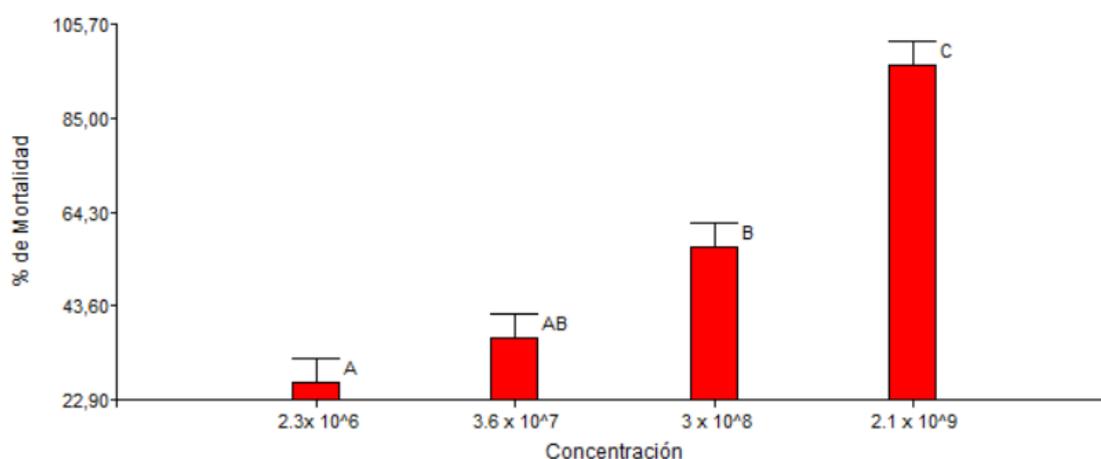
**Tabla 4-2:** Prueba Tukey para porcentajes de mortalidad por *Beauveria bassiana* A21 condiciones laboratorio

Concentración de los hongos	Medias de los porcentajes de mortalidad	
C10 <sup>6</sup>	26,67	D
C10 <sup>7</sup>	36,67	CB
C10 <sup>8</sup>	56,67	B
C10 <sup>9</sup>	96,67	A

Nota. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Fuente: Alarcón, Lisette, 2023.

Los resultados de la prueba Tukey indican que las concentraciones de hongo C10<sup>6</sup>, C10<sup>8</sup> y C10<sup>9</sup>, presentan diferencias estadísticas significativas.



**Ilustración 4-1:** Prueba Tukey porcentajes de mortalidad por *Beauveria bassiana* A21 a condiciones laboratorio

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

Al analizar la tabla presente en el Anexo B, se observa que el porcentaje de mortalidad varía en función de la concentración y la repetición, por tanto, cuanto más se incrementa la concentración de los hongos entomopatógenos, se observa un aumento en el porcentaje de mortalidad de las garrapatas, lo que permite definir la existencia de una relación directamente proporcional. A partir de ello, se evidencia que el tratamiento con la concentración C10<sup>9</sup> muestra en todas las repeticiones un porcentaje de mortalidad del 100%, porcentaje que indica una alta efectividad en el control de las garrapatas.

En el factor tiempo se comprueba que el número de garrapatas muertas aumenta a medida que pasa el tiempo; comparando los datos de mortalidad a los 7 y a los 14 días, se observa un incremento en la mortalidad en la mayoría de los tratamientos, lo que permite establecer un efecto a largo plazo de los hongos entomopatógenos ya que este continúa actuando y causando la muerte de las garrapatas incluso después de una semana de la aplicación. Además, se registró el número de garrapatas infestadas con hongo en donde el tratamiento C10<sup>9</sup> resulta ser más exitoso, lo que sugiere una propagación exitosa de los hongos en la población de garrapatas.

El tratamiento con la concentración C10<sup>9</sup> muestra consistentemente el mayor porcentaje de mortalidad en todas las repeticiones, alcanzando el 100% de mortalidad a los 7 y 14 días. Esto indica que este tratamiento es el más efectivo en el control de las garrapatas en estas condiciones de laboratorio.

#### **4.1.2. Mortalidad de garrapatas mediante la aplicación de una suspensión esporas de *Metarhizium anisopliae* A13**

A continuación, se presenta el análisis de varianza para la mortalidad con *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones de laboratorio:

**Tabla 4-3:** Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad por *Metarhizium anisopliae* A13 condiciones laboratorio

<b>FV</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo	4	8625,00	2875,00	34,50	<0,0001
Concentración del hongo	4	8625,00	2875,00	34,50	<0,0001
Error	4	666,67	83,33		
Total, corregido	10	9291,67			

Nota. FV (Fuente de variación), SC (Suma de cuadrados), gl (Grados de libertad), CM (Cuadrado medio)

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad con *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones de laboratorio tuvo por objetivo evaluar el efecto de la concentración del hongo sobre la mortalidad de las garrapatas y los resultados indican que la concentración del hongo tiene un efecto significativo en el porcentaje de mortalidad ( $F = 34.50$ ,  $p < 0.0001$ ), lo que permite determinar que los niveles de mortalidad dependen de las diferentes concentraciones de *Metarhizium anisopliae* A13 utilizadas en el estudio, por lo tanto, es importante considerar la

concentración de este agente para obtener resultados óptimos en el control de la mortalidad en condiciones de laboratorio.

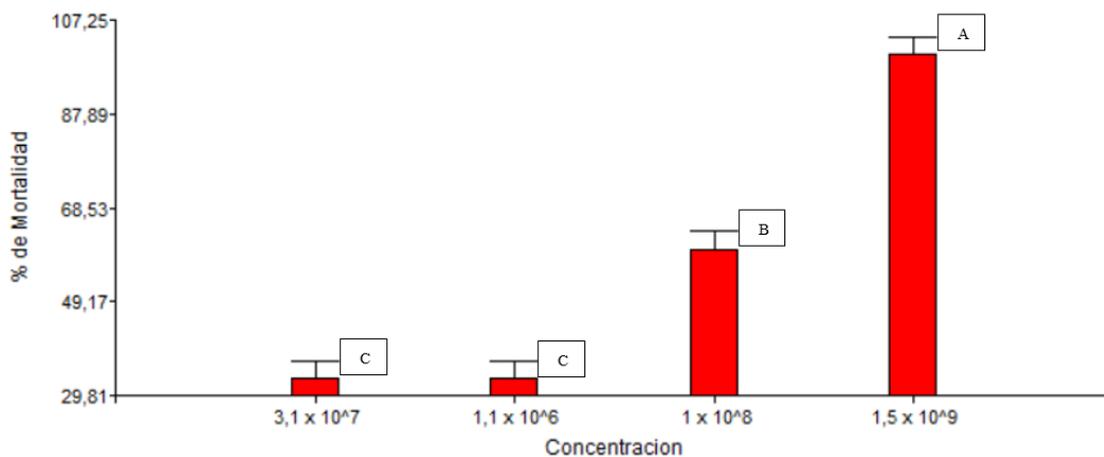
**Tabla 4-4:** Prueba Tukey para porcentajes de mortalidad por *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones laboratorio

Concentración	Medias de los porcentajes de mortalidad	
C10 <sup>6</sup>	26,67	C
C10 <sup>7</sup>	36,67	C
C10 <sup>8</sup>	60,66	B
C10 <sup>9</sup>	100,00	A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

Los resultados de la prueba Tukey indican que las concentraciones C10<sup>8</sup> y C10<sup>9</sup> son estadísticamente diferentes, y de C10<sup>7</sup> y C10<sup>6</sup> son estadísticamente iguales.



**Ilustración 4-2:** Resultados prueba Tukey para porcentajes de mortalidad por *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones laboratorio.

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

En base a los resultados analizados se establece que el porcentaje de mortalidad varía en función de la concentración del hongo *Metarhizium anisopliae* A13, es así como, a medida que se incrementa la concentración, se observa un aumento en el porcentaje de mortalidad de las garrapatas. En el tratamiento con la concentración C10<sup>9</sup> todas las repeticiones muestran un porcentaje de mortalidad del 90% al 100%, lo cual indica una alta efectividad en el control de las garrapatas, además, se comprueba que el número de garrapatas muertas aumenta con el tiempo transcurrido, pues al establecer una comparación de los datos de mortalidad a los 7 y a

los 14 días, se evidencia un incremento en la mortalidad en la mayoría de los tratamientos, situación que permite determinar que el efecto del hongo *Metarhizium anisopliae* A13 continúa actuando y causando la muerte de las garrapatas incluso después de una semana de la aplicación.

Por otro lado, se registró el número de garrapatas infestadas con el hongo lo que permitió identificar la capacidad del hongo *Metarhizium anisopliae* A13 para infectar y proliferar dentro de las garrapatas, por tanto, se analizó que en algunos casos como en el tratamiento C10<sup>9</sup>, el número de garrapatas infestadas con el hongo es mayor que el número inicial de garrapatas, lo que sugiere una propagación exitosa del hongo en la población de garrapatas.

El mejor tratamiento corresponde al de la concentración C10<sup>9</sup> de *Metarhizium anisopliae* A13 dado que se observa un alto porcentaje de mortalidad de las garrapatas, alcanzando el 90% al 100% en todas las repeticiones, además, se registra un número significativo de garrapatas infestadas con el hongo permitiendo catalogar como una propagación exitosa dentro de la población de garrapatas.

#### 4.1.3. Comparación del efecto de los bioformulados de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13

A continuación, se presenta el efecto de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en el porcentaje de mortalidad de las garrapatas en ganado bovino en condiciones de laboratorio.

**Tabla 4-5:** Análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad por *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones de laboratorio.

FV	gl	SC	CM	F	Sig.	
Modelo corregido	7	17595,833	2513,690	40,22	<0,0001	**
Hongo	1	37,50	37,50	0,60	0,4499	
Concentración	6	17558,33	2926,389	46,82	<0,0001	**
Hongo *Concentración	0	0,000	.	.	.	
Error	16	1000,000	62,500			
Total, corregido	23	18595,833				

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

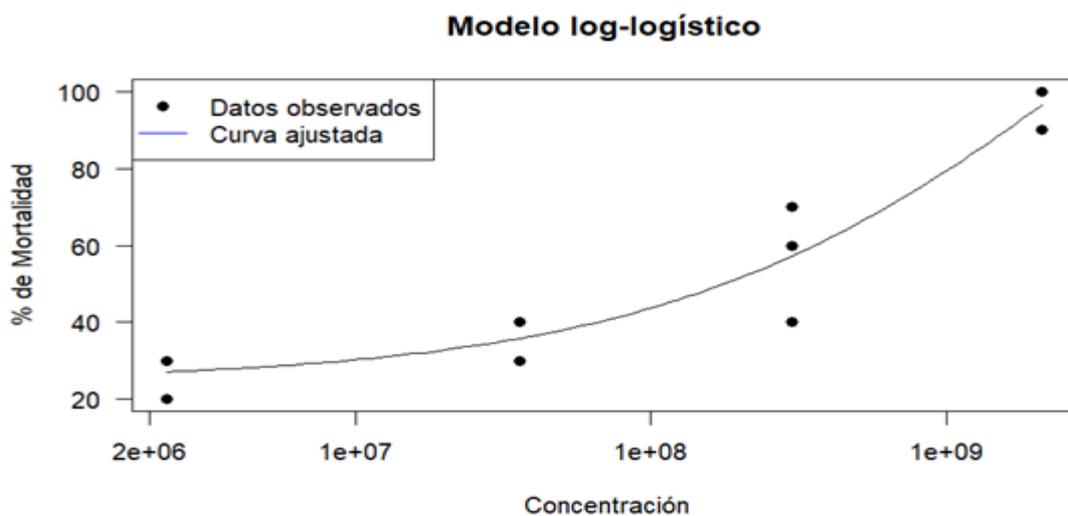
En el análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad por *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones de laboratorio, se evaluaron dos factores: "Hongo"

y "Concentración", a partir de los cuales, los resultados mostraron que el primer factor no tuvo un efecto relevante en el porcentaje de mortalidad ( $p = 0,4499$ ), lo que indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en términos de mortalidad; sin embargo, el factor "Concentración" sí presentó un efecto variable en el porcentaje de mortalidad ( $p < 0.0001$ ) indicando así a existencias de marcadas diferencias a nivel estadístico en la mortalidad según las diferentes concentraciones utilizadas. Cabe recalcar que la interacción entre "Hongo" y "Concentración" no fue significativa.

En definitiva, la concentración utilizada fue un factor determinante en la mortalidad observada, mientras que la elección entre los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 no mostró diferencias importantes en condiciones de laboratorio.

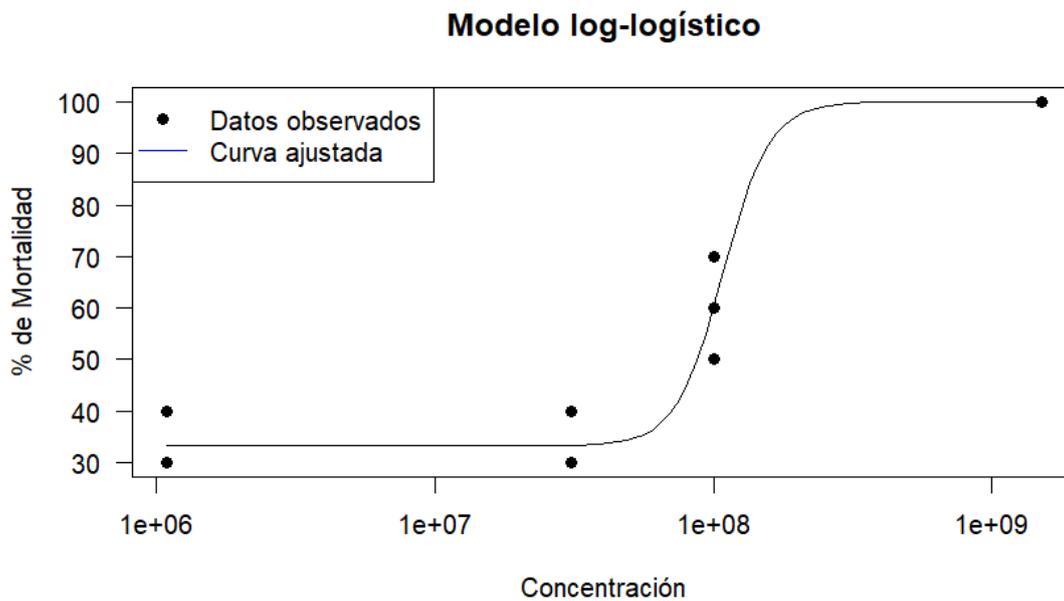
#### 4.2. Concentración y tiempo letal medio (CL50 y TL50) de los productos de control biológico

Al analizar los datos de laboratorio se determinó que para *Beauveria bassiana* A21 la CL50 (Concentración letal media) estimada a los 14 días de evaluación fue de alrededor de  $4,24 \times 10^9$  esporas/ml, mientras que para *Metarhizium anisopliae* A13 el valor del CL50 fue de  $1,08 \times 10^8$  esporas/ml.



**Ilustración 4-4:** Modelo logístico para la *Beauveria bassiana* A21

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.



**Ilustración 4-5:** Modelo logístico para *Metarhizium anisopliae* A13

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

La Ilustración 4-4 y 4-5 representa un modelo logístico para el bioformulado de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 respectivamente, mismos que muestran una relación del porcentaje de mortalidad de las garrapatas *Rhipicephalus microplus* en función de la concentración utilizada, es así como, en el eje de las “x” se encuentra la concentración del bioformulado en esporas/ml y en el eje “y” se muestra el porcentaje de mortalidad.

A través de los gráficos analizados se determina que cuando se evidencia un aumento de la concentración del bioformulado, el porcentaje de mortalidad también incrementa gradualmente; sin embargo, en algún punto de la curva, el porcentaje de mortalidad alcanza su máximo y ya no aumenta con mayores concentraciones; debiéndose a la existencia de un límite en la efectividad del bioformulado, lo que permite establecer que el aumentar la concentración más allá de cierto punto no produce una mayor mortalidad.

El TL50 (Tiempo Letal Medio) es una medida que indica el tiempo necesario para que el 50% de la población objetivo muera o responda a un tratamiento específico, en este caso experimental, el TL50 se utilizó para estimar el tiempo requerido para que el 50% de las garrapatas mueran después de la exposición a diferentes concentraciones de los bioformulados *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para el TL50 para *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13:

**Tabla 4-6:** Tiempo letal medio TL50

<b>Concentración</b>	<b>TL50 (Días)</b>
<i>Beauveria bassiana</i> A21	
2,3x 10 <sup>6</sup>	8,04
3,6 x 10 <sup>7</sup>	7,64
3 x 10 <sup>8</sup>	9,26
2,1 x 10 <sup>9</sup>	3.19
<i>Metarhizium anisopliae</i> A13	
1,1 x 10 <sup>6</sup>	9,52
3,1 x 10 <sup>7</sup>	8,09
1,0 x 10 <sup>8</sup>	8.30
1,5 x 10 <sup>9</sup>	2.57

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

Al analizar los resultados de la tabla 4-6, se puede observar que en el caso de *Beauveria bassiana* A21 la concentración de 2,1 x 10<sup>9</sup> conidios/ml muestra la TL50 más baja, puesto que para alcanzar la mortalidad del 50% de la población de garrapatas tomó 3.19 días lo que indica que esta concentración es la más efectiva para producir un 50% de mortalidad comparando con los tiempos de las demás concentraciones de este hongo. En cuanto a *Metarhizium anisopliae* A13 la concentración más efectiva es la 1.5 x 10<sup>9</sup> conidios/ml ya que muestra un menor tiempo para acabar con el 50% de la población demostrando un TL50 de 2.57 días.

#### **4.3. Efecto de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 sobre *Rhipicephalus microplus* en condiciones de campo**

Al analizar los resultados presentados en el Anexo G para *Beauveria bassiana* A21 se hay que destacar que el porcentaje de mortalidad varía entre las diferentes partes del ovino ya que la Parte 1 muestra los porcentajes más altos de mortalidad alcanzando un máximo del 90%, mientras que la Parte 3 muestra los porcentajes más bajos, con un mínimo del 40%. Estos resultados permiten inferir que hay diferencias en la efectividad del tratamiento con *Beauveria bassiana* A21. Para *Metarhizium anisopliae* en la tabla presente en el anexo H se observa que el mayor porcentaje de mortalidad se encuentra en la Parte 2 con un 90%, mientras que la Parte 3 con un 85%, esto demuestra la efectividad del tratamiento; no obstante, al analizar la aplicación

del producto químico (Garrakill) muestra una similitud en el efecto de mortalidad de garrapatas, sin embargo, este no demuestra un 100% de efectividad.

**Tabla 4-7:** Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad en condiciones de campo.

FV	gl	SC	CM	F	Sig.	
Modelo corregido	3	25696,53	8565,51	52,10	<0,0001	**
Método de control	3	25696,53	8565,54	52,10	<0,0001	**
Error	32	5261,11	164,41			
Total, corregido	35	30957,64				

Nota. FV (Fuente de variación), SC (Suma de cuadrados), gl (Grados de libertad), CM (Cuadrado medio)

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de mortalidad por *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones de campo reveló que el hongo tuvo un efecto significativo en el porcentaje de mortalidad ya que los valores de p fueron menores de 0,05. A continuación, se presentan los resultados de la prueba Tukey para porcentaje de mortalidad por *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en condiciones de campo:

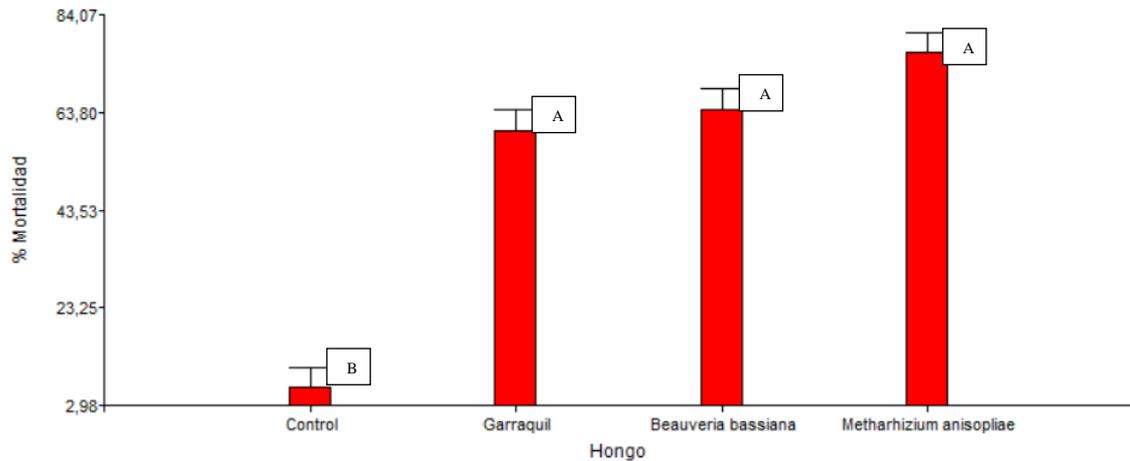
**Tabla 4-8:** Prueba Tukey para porcentaje de mortalidad métodos de control en condiciones de campo

Tratamiento	Medias de los porcentajes de mortalidad	
Control	6,67	B
Garrakill	60,00	A
<i>Beauveria bassiana</i> A21	64,44	A
<i>Metarhizium anisopliae</i> A13	76,11	A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Realizado por: Alarcón, Lisette, 2023.

Al analizar la Tabla 4-8, se observa que se realizó una prueba de Tukey para comparar las medias de mortalidad entre diferentes concentraciones de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13, así como, el grupo de control. Los resultados muestran que no hay diferencias relevantes en las medias de mortalidad entre los bioformulados puesto que comparten una misma letra "C"; sin embargo, estas medias difieren significativamente del grupo de control, que se representa con la letra "A". lo que indica que tanto *Beauveria bassiana* A21 como *Metarhizium anisopliae* A13 son más efectivos en términos de mortalidad de las garrapatas en comparación con el grupo de control.



**Ilustración 4-6:** Prueba de Tukey para porcentaje de mortalidad por los tratamientos en condiciones de campo

**Realizado por:** Alarcón, Lisette, 2023.

#### 4.4. Comprobación de hipótesis

El ANOVA mostró que el factor "Concentración" tuvo un efecto significativo en el porcentaje de mortalidad ( $p < 0.0001$ ) lo que significa que la concentración del hongo fue un factor determinante en el control de las garrapatas *Rhipicephalus microplus* en condiciones de laboratorio; por otro lado, el factor "Hongo" no tuvo un efecto significativo en el porcentaje de mortalidad ( $p = 0.4499$ ), lo que indica que no hubo diferencias estadísticamente relevantes entre los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en términos de mortalidad.

Es así como se puede establecer que, la hipótesis H0 se cumple parcialmente ya que se encontró que los bioformulados de *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 tienen un efecto significativo en el control de las garrapatas *Rhipicephalus microplus* en condiciones de laboratorio, pero esta significancia está determinada principalmente por la concentración utilizada.

El factor "Hongo" (*Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13) no mostró diferencias significativas en el porcentaje de mortalidad, pero el factor "Concentración" tuvo un efecto significativo, por tanto, aunque los bioformulados de ambos hongos fueron efectivos en controlar las garrapatas, la elección entre ellos no influyó significativamente en los resultados; en tanto que la hipótesis H1 se rechaza, ya que se encontró que ambos bioformulados tienen un efecto significativo en el control de las garrapatas. En conclusión, la concentración del bioformulado es el factor clave para obtener una mayor efectividad en el control de las

garrapatas, mientras que la elección entre *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 no tuvo un impacto significativo en las condiciones de laboratorio estudiadas.

#### **4.5. Discusión de resultados**

El estudio evaluó el efecto de la suspensión de esporas de los hongos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en la mortalidad de garrapatas *Rhipicephalus microplus* en condiciones de laboratorio y campo, en el laboratorio, se observó que el tratamiento con *Beauveria bassiana* A21 mostró una mortalidad significativa de las garrapatas, siendo el tratamiento con una concentración de  $C10^9$  el más efectivo, en combinación con una propagación exitosa del hongo dentro de la población de garrapatas. En el caso de *Metarhizium anisopliae* A13 se encontró que el tratamiento con una concentración de  $C10^9$  también fue altamente efectivo en la mortalidad de las garrapatas en el laboratorio.

En condiciones de campo, tanto *Beauveria bassiana* A21 como *Metarhizium anisopliae* A13 mostraron efectos significativos en la mortalidad de las garrapatas; sin embargo, los resultados fueron más variables entre las diferentes partes evaluadas, de forma general, se observó una alta mortalidad de las garrapatas con los dos hongos en ambas condiciones y estos hallazgos indican que tanto *Beauveria bassiana* A21 como *Metarhizium anisopliae* A13 tienen potencial como agentes de control biológico para el manejo de las infestaciones de garrapatas en el ganado bovino.

Por otro lado, según los resultados en condiciones de laboratorio, se alcanza la totalidad de la mortalidad de las garrapatas a los 14 días de la aplicación en el tratamiento con la concentración  $C10^9$  de *Metarhizium anisopliae* A13, en tanto que, con *Beauveria bassiana* A21 también en condiciones de laboratorio, se observa que la totalidad de la mortalidad de las garrapatas se alcanza a los 14 días en el tratamiento con la concentración  $C10^9$  y todas las repeticiones mostraron un porcentaje de mortalidad del 100% a los 14 días. En condiciones de campo, los datos proporcionados no indican la totalidad de la mortalidad de las garrapatas en ningún tratamiento o parte evaluada; sin embargo, se puede observar que en la parte 3, se registró el mayor porcentaje de mortalidad, alcanzando un máximo del 90% en algunas repeticiones.

Estos resultados son similares a los obtenidos, en el estudio de Tipás (2020) donde se evaluó el efecto acaricida de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus*, en dicha investigación se realizaron pruebas a nivel de laboratorio exponiendo las garrapatas a cuatro concentraciones de esporas de ambos hongos:  $1,6 \times 10^5$ ;

1,01x10<sup>6</sup>; 1,003x10<sup>7</sup> y 1,003x10<sup>8</sup> esporas/ml; los resultados mostraron que la concentración de 1,003x10<sup>8</sup> esporas/ml fue la más efectiva en comparación con los demás tratamientos logrando una mayor mortalidad en un tiempo más corto y manteniendo su efectividad a lo largo del ensayo. No se encontraron diferencias significativas entre los hongos evaluados en términos de su efecto acaricida sobre la garrapata *R. microplus* en estado adulto a nivel de laboratorio.

De igual manera en el estudio realizado por Tofiño et al. (2017) se evaluó la eficacia de Baubassil® (*B. bassiana*) en el control de garrapatas en campo donde se encontró que una concentración de 1 g/L de Baubassil® logra reducir la infestación por garrapatas en un 96,8% a los 11 días después del tratamiento; sin embargo, dosis por debajo de 4 g/L de agua no fueron tan eficientes en cuanto al período de tiempo en que el entomopatógeno actuó. Pensamiento y Durán (2018) también confirmaron estos resultados, alcanzando una eficacia del 55% en las primeras 24 horas con 4 g de *Beauveria*/L de agua, que aumentó al 98% a las 92 horas. Estos hallazgos indican que dosis más bajas de Baubassil® pueden ser menos efectivas y que una mayor concentración y tiempo de exposición son necesarios para obtener un control más eficaz de las garrapatas.

Por otro lado, en relación al CL50, los resultados del presente estudio mostraron que la CL50 de *Beauveria bassiana* fue de aproximadamente 4,24 x 10<sup>9</sup> esporas/ml, mientras que para *Metarhizium anisopliae* fue de 1,08 x 10<sup>8</sup> esporas/ml, mientras que en el trabajo de Tipás (2020), se encontró que para el *Beauveria bassiana* fue de 6,7670 x 10<sup>4</sup> esporas/ml, y la de *Metarhizium anisopliae* fue de 7,069 x 10<sup>4</sup> esporas/ml; no obstante, estas diferencias pueden deberse a variaciones en las cepas de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* utilizados, las diferencias en las condiciones experimentales como temperatura y humedad, así como las características de la población de ácaros estudiada.

En el estudio de Oporta (2017) se establece que los hongos entomopatógenos especialmente *Metarhizium anisopliae* presentaron una alta patogenicidad frente a las garrapatas adultas de *Rhipicephalus microplus*, lo que indica un alto grado de efectividad en su control. Este hallazgo es consistente con los resultados del presente estudio, donde tanto *Beauveria bassiana* como *Metarhizium anisopliae* mostraron una mayor mortalidad de las garrapatas en estado adulto a medida que se incrementó la concentración de esporas o conidios. Sin embargo, es importante destacar que se observaron diferencias en los valores de CL50 entre los dos estudios, siendo en el presente estudio los valores mucho más altos (4,24 x 10<sup>9</sup> esporas/ml para *Beauveria bassiana* y 1,08 x 10<sup>8</sup> esporas/ml para *Metarhizium anisopliae*).

Por otro lado, en el estudio de Yari et al. (2020) se evaluó el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatas en ganado bovino, en él se utilizaron cinco tratamientos diferentes: un grupo control (T1), excipientes (T2), y tres tratamientos con diferentes concentraciones de conidias de *Beauveria bassiana* (T3, T4, T5), el conteo de garrapatas se realizó en diferentes partes del cuerpo (tabla del cuello, entrepierna, axila) en varios días. Los resultados mostraron que en el día 14, se obtuvo una mortalidad del 99% en el tratamiento T5, mientras que en los tratamientos T3 y T4 la mortalidad fue del 91% y 82%, respectivamente.

Estos hallazgos indican que los tratamientos con concentraciones más altas de conidias de *Beauveria bassiana* fueron más efectivos en el control de garrapatas en comparación con el grupo control y el tratamiento con excipientes. Además, al igual que en los hallazgos del presente estudio, se observó que las diferentes partes del cuerpo evaluadas (tabla del cuello, entrepierna, axila) mostraron una disminución significativa en el número de garrapatas en todos los tratamientos a partir del día 7.

También se observó resultados similares al estudio de Martínez et al. (2023) en el cual se demostró que la aplicación de *Beauveria bassiana* DS3.17 en diferentes concentraciones de conidios tuvo un efecto acaricida en hembras ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, además se determinó una mortalidad de hasta un 93.2% en los adultos y se registraron cambios significativos en los parámetros reproductivos de las hembras adultas, incluyendo la inhibición de la ovoposición en un rango del 75.84% al 79.60%. Estos resultados indican que *Beauveria bassiana* DS3.17 tiene un alto potencial acaricida y puede ser considerado como una opción efectiva en el control de la garrapata.

## CAPITULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

Se determinó el efecto que producen los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* A21 y *Metarhizium anisopliae* A13 en la mortalidad de garrapatas del género *Rhipicephalus microplus* en diferentes condiciones, comprobándose una alta tasa de mortalidad de la plaga lo que representa un impacto significativo como agentes de control biológico, manifestando una infestación exitosa en los dos casos de hongo en un transcurso de 7 a 14 días en las dos pruebas, lo que permite considerar a este proceso como eficiente y rentable para aplicaciones a gran escala en el sistema ganadero.

El porcentaje de mortalidad en condiciones de laboratorio varía en función de la concentración de las dos cepas de hongos, siendo directamente proporcional, por lo que se determina que dichos hongos son capaces de infectar y proliferar dentro de las garrapatas antes y después de muertas haciendo que el hongo se propague y continúe actuando. Para *Beauveria bassiana* A21 el porcentaje de mortalidad fue del 100% y para *Metarhizium anisopliae* A13 de entre 90 al 100 % haciéndolos igual de efectivos.

La concentración letal media CL50 estimada a los 14 días de evaluación fue de  $4,24 \times 10^9$  esporas/ml para *Beauveria bassiana* A21 y  $1,08 \times 10^8$  esporas/ml para *Metarhizium anisopliae* A13; por otro lado, el TL50 más bajo para *Beauveria bassiana* A21 se presentó en la concentración de  $2,1 \times 10^9$  y corresponde a 3.19 días para producir un 50% de mortalidad, y en el caso de *Metarhizium anisopliae* A13, la concentración de  $1,5 \times 10^9$  es la que provoca el 50% de mortalidad en un período más corto (2.57 días) pues, por ende, dicha concentración resulta eficaz para causar el mismo nivel de mortalidad a los 14 días de aplicación.

En la fase campo para ambos hongos a concentraciones de  $10^9$  cada una, *Metarhizium anisopliae* A13 es más eficiente que *Beauveria bassiana* A21, sin embargo, aunque Garrakill presenta resultados de eficiencia similares a *Beauveria bassiana* A21.

## **5.2. Recomendaciones**

- Se recomienda hacer un estudio más exhaustivo en cuanto a concentraciones mayores a las utilizadas en este trabajo de investigación, para obtener bioformulados de acción más rápida.
- Investigar métodos de control integrado que incluya el uso de hongos entomopatógenos.
- Profundizar en investigaciones relacionadas a la frecuencia de aplicación de técnicas de control biológico aprovechando la efectividad de los hongos.
- Se recomienda estudiar las mismas cepas de hongo en condiciones diferentes de temperatura y humedad y en época lluviosa.
- Ejecutar estudios de evaluación de los efectos de la aplicación de estos bioformulados a la salud del suelo en potreros, debido a que parte del ciclo biológico de la plaga esta se asienta a depositar sus huevos en este sitio.
- Se recomienda hacer un análisis exhaustivo sobre los bioformulados aplicados para observar si estos pueden resultar igual de efectivos en forma de un producto y cuantos días envasados tienen el mismo efecto.

## BIBLIOGRAFÍA

**ALIAGA, J.C., & CRUZ, J.S.** Determinación de las CL50 y CL90 del hongo *Beauveria bassiana* CBLE-265 para el control de las plagas *Spodoptera frugiperda* y *Aphis craccivora* [en línea] (Trabajo de titulación) (pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. 2009. pp. 4-43. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/1637>

**BADII, M.H., & ABREU, J.L.** "Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control)". *Daena: International Journal of Good Conscience* [en línea], 2006, 1(1), pp.82-89. ISSN 1870-557X. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: [http://www.spentamexico.org/v1-n1/1\(1\)%2082-89.pdf](http://www.spentamexico.org/v1-n1/1(1)%2082-89.pdf)

**BELTRÁN, C.; et al.** "Patogenicidad de *Lecanicillium lecanii* (Fungi) sobre la garrapata *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en laboratorio". *Revista Colombiana de Entomología* [en línea], 2008, 34(1), pp. 90-97. [Consulta: 27 junio 2023]. ISSN 2665-4385. DOI 10.25100/socolen.v34i1.9257. Disponible en: <https://revistacolombianaentomologia.univalle.edu.co/index.php/SOCOLEN/article/view/9257>

**BOLAÑOS, D.F.** Distribución geográfica y caracterización taxonómica de las especies de garrapatas que afectan al ganado bovino en la provincia de Los Ríos [en línea] (Trabajo de titulación) (pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2016. pp. 2-91. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/10239>

**BUSTILLOS, R.C.** Ecología parasitaria de la garrapata (*acari: ixodidae*) en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador [en línea] (Trabajo de titulación) (pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2014. pp. 2-63. [Consulta: 27 junio 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6612>

**CARRANZA, J.H., & KRUGG, J.W., 2016.** "Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre adultos y ninfas de *Oligonychus* sp. en condiciones de laboratorio". *REBIOL* [en línea], 2016, 36(1). [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 2313-3171. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/1314>

**CETRÁ, D.B.** *Garrapata común del bovino* [en línea]. Argentina: Sitio Argentino de Producción Animal, 2018. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en:

[https://www.produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/parasitarias/Bovinos\\_garrapatas\\_tristeza/53-boophilus\\_microplus.pdf](https://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/Bovinos_garrapatas_tristeza/53-boophilus_microplus.pdf)

**FERNÁNDEZ T., J.A.** *Evaluación de la eficiencia del control de garrapatas (Boophilus microplus) con tres frecuencias de aplicación de BAZAM® (Beauveria bassiana)* [en línea]. S.l.: Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2006. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/803>

**GÁLVEZ, A.B.; et al** "Control biológico de Rhipicephalus (Boophilus) microplus con hongos entomopatógenos". *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, vol. 6, no. 12 (2017), ISSN 2007-9990. DOI 10.23913/ciba.v6i12.68.

**GEORGE, J.E.; et al.** "Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides". *Parasitology*, vol. 129 (2004), DOI 10.1017/S0031182003004682.

**GUAPI, A.P.** Evaluación de la eficacia del Bioformulado de Beauveria bassiana., y tipos de aplicación para el Control del Gusano Blanco de la Papa (Premnotrypes vorax), en dos localidades de la provincia de Chimborazo [en línea] (Trabajo de titulación) (pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2012. pp. 2-147. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <http://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/2201>

**HERNÁNDEZ, F.** El manejo integrado en el control de garrapatas. Colombia: Universidad de los Andes. 2005, pp. 384-391.

**HIDALGO, D., & TELLO, C.** *Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulados* [en línea]. Santo Domingo, Ecuador: INIAP-Estación Experimental Santo Domingo, Protección Vegetal, 2022. [Consulta: 27 junio 2023]. ISBN 978-9942-22-569-6. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5950>

**JACHO MERINO, M.G.** Dinámica poblacional de la garrapata Rhipicephalus (Boophilus) Microplus en ganado bovino lechero en el Cantón San Miguel de los Bancos [en línea] (Trabajo de titulación) (pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2015. pp. 2-79. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6770>

**LEMUS, Y.A.; et al.** "Determinación de la factibilidad del hongo *Metarhizium anisopliae* para ser usado como control biológico de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*)". *Revista Guillermo de Ockham* [en línea], 2008, 6(1). pp. 91-98. [Consulta: 2 julio 2023]. ISSN 1794-192X,. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=105312257007>

**LEPE, M.A.L., & BRIZO, J.M.** "Evaluación in vitro de cinco ixodicidas contra *Rhipicephalus microplus* en Catacamas, Olancho, Honduras". *Revista MVZ Córdoba* [en línea], 2022, 27(2), pp. 1-9. [Consulta: 27 junio 2023]. ISSN 1909-0544. DOI 10.21897/rmvz.2463. Disponible en: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/2463>

**LÓPEZ, E.; et al.** "Control de la garrapata *Boophilus microplus* con *Metarhizium anisopliae*, estudios de laboratorio y campo". *Revista Colombiana de Entomología* [en línea], 2009, 35(1), pp. 42-46. [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 0120-0488. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0120-04882009000100008&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-04882009000100008&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

**MARTÍNEZ, J.; et al.** "Evaluación in vitro del potencial acaricida de *Beauveria bassiana* DS3.17 sobre la garrapata común (*Rhipicephalus microplus*) en Oaxaca, México". *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* [en línea], 2023, [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/6265>

**MENDES, T.; et al.** "*Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* e *Rhipicephalus sanguineus*: uma revisão sobre las perspectivas, distribuição e resistência". *Pubvet* [en línea], 2010, 13(6), pp.1-10. [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 19821263. DOI 10.31533/pubvet.v13n6a347.1-9. Disponible en: <http://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/807>

**MOTA, P., & MURCIA, B.** "Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas". *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science* [en línea], 2011, 6(2), pp. 77-90. [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 1980993X. DOI 10.4136/ambi-agua.187. Disponible en: [http://www.ambi-agua.net/seer/index.php/ambi-agua/article/view/465/pdf\\_456](http://www.ambi-agua.net/seer/index.php/ambi-agua/article/view/465/pdf_456)

**NARI, A.; et al.** *Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Estudio FAO Producción y Sanidad Animal 157*. S.l.: s.n. 2003. ISBN 978-92-5-304967-7.

**OJEDA, M.; et al.** "Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium Anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae): Revisión". *Revista mexicana de ciencias pecuarias* [en línea], 2011, 2(2), pp. 177-192. [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 2007-1124. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2007-11242011000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-11242011000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**OPORTA, J.** *Control microbiano de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Acari* [en línea]. Quito: Universidad Nacional Agraria. 2017. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <https://repositorio.una.edu.ni/3547/>

**OTEO, J.A.** "Espectro de las enfermedades transmitidas por garrapatas". *Pediatría Atención Primaria* [en línea], 2016, 18(1). [Consulta: 27 junio 2023]. ISSN 1139-7632. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1139-76322016000500008&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1139-76322016000500008&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**PENSAMIENTO, D.; & DURÁN, J.** *Evaluación de la efectividad de tres agentes entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium Anisopliae* y *Heterorhabditis bacteriophora* como controladores biológicos de la garrapata *Boophilus microplus** [en línea]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras. 2018. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/fcfd3be2-d06a-4bb1-9069-96c7de04e8c5/content>

**PÉREZ, X.F.** Resistencia a alfa-cipermetrina, ivermectina y Amitraz en garrapatas *Rhipicephalus microplus* (Canestrini 1887) colectadas en cuatro localidades [en línea] (Trabajo de titulación) (pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2016. pp. 2-56. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/10254>

**POLANCO, D.N., & RÍOS, L.A.** "Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras". *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* [en línea], 2016, 17(1). [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 2500-5308, 0122-8706. DOI 10.21930/rcta.vol17\_num1\_art:463. Disponible en: <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/463>.

**PULIDO, M.O.; et al.** "Evaluation of efficacy of MaF1309® strain of *Metarhizium anisopliae* in biological control of adult ticks *Rhipicephalus microplus* in Tunja, Colombia". *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias* [en línea], 2015, 56(2), pp. 80-86. [Consulta: 15 junio 2023].

ISSN 0258-6576. Disponible en:  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0258-65762015000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-65762015000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**RAYMOMD, K.; et al.** "Efecto de hongos entomopatógenos sobre la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Acari: Ixodida): uso de activadores de patogenicidad". *Revista Colombiana de Entomología* [en línea], 2004, 30(1), pp. 1-6. [Consulta: 27 junio 2023]. ISSN 0120-0488. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0120-04882004000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-04882004000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

**REN, Q.; et al.** "Laboratory evaluation of virulence of Chinese *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to engorged female *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* ticks". *Biological Control* [en línea], 2012, 63(2), pp. 98-101. [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 1049-9644. DOI 10.1016/j.biocontrol.2012.07.002. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964412001429>

**RODRÍGUEZ, R.I.; et al.** "Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina". *Ecosistemas y recursos agropecuarios* [en línea], 2014, 1(3), pp. 295-308. [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 2007-9028. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2007-90282014000300009&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-90282014000300009&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**SANTOS, A.** *Plaguicidas microbianos: control y aseguramiento de calidad* [en línea]. Colombia: Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA. 2022. [Consulta: 23 junio 2023]. ISBN 978-958-740-512-5. Disponible en:  
<https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/37049>.

**SOSA, A.G.; et al.** *Desplazamiento de la práctica de diluciones entre la comunidad de ingenieros bioquímicos y la escuela* [en línea], México: Instituto Tecnológico de Acapulco, Universidad de Valparaíso, Universidad Autónoma de Guerrero. 2017. [Consulta: 23 junio 2023]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/160127032.pdf>

**SPICKLER, A.R.** *Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Rhipicephalus, Garrapata del ganado del sur, garrapata del ganado bovino* [en línea], s.l.: CFSPH. 2007. [Consulta: 23 junio 2023]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/rhipicephalus-microplus.pdf>

**TÉLLEZ, A.; et al.** "Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos". *Revista Mexicana de Micología* [en línea], 2009, 30(1), pp.1-5. [Consulta: 23 junio 2023]. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802009000200007](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000200007)

**TINAJERO, M.; et al.** "Control biológico de garrapata (*Boophilus* spp.) Con diferentes cepas de *Metarhizium Anisopliae* (Metchnikoff) sorokin en bovinos". *Agro Productividad* [en línea], 2014, 7(3), pp. 21-28. [Consulta: 2 julio 2023]. ISSN 2594-0252. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/520>

**TIPÁS, J.** Evaluación del efecto acaricida de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium Anisopliae* en el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus* [en línea] (Trabajo de titulación) (pregrado). ESPE, Quito, Ecuador. 2020. pp. 2-83. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/23153/1/T-ESPE-044092.pdf>

**TOFIÑO, A.; et al.** "Efectividad de *Beauveria bassiana* (*Baubassil*®) sobre la garrapata común del ganado bovino *Rhipicephalus microplus* en el departamento de la Guajira". *Revista Argentina de Microbiología* [en línea], 2017, 50(4). [Consulta: 2 julio 2023]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754117301773>

**VECINO, J.; et al.** "Distribución de garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia)". *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* [en línea], 2010, 11(1), pp. 73-84. [Consulta: 15 junio 2023]. ISSN 2500-5308, 0122-8706. DOI 10.21930/rcta.vol11\_num1\_art:197. Disponible en: <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/197>

**YARI, D.; et al.** "Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatoxis en ganado bovino". *Rev Inv Vet Perú* [en línea], 2020, 32(5), pp. 1-7. [Consulta: 15 junio 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v32n5/1609-9117-rivep-32-05-e19586.pdf>



## ANEXOS

### ANEXO A: VALOR DE LAS CONCENTRACIONES DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Concentración	<i>Beauveria bassiana</i> A21	<i>Metarhizium anisopliae</i> A13
C10 <sup>6</sup>	2.3 x 10 <sup>6</sup>	1.1 x 10 <sup>6</sup>
C10 <sup>7</sup>	3.6 x 10 <sup>7</sup>	3.1 x 10 <sup>7</sup>
C10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	1.0 x 10 <sup>8</sup>
C10 <sup>9</sup>	2.1 x 10 <sup>9</sup>	1.5 x 10 <sup>9</sup>

### ANEXO B: CÓDIGOS DE APLICACIÓN DE *BEAUVERIA BASSIANA* A21 EN LABORATORIO

Hongo	Concentración	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
A21	C10 <sup>6</sup>	R1A21C10 <sup>6</sup>	R2A21C10 <sup>6</sup>	R3A21C10 <sup>6</sup>
A21	C10 <sup>7</sup>	R1A21C10 <sup>7</sup>	R2A21C10 <sup>7</sup>	R3A21C10 <sup>7</sup>
A21	C10 <sup>8</sup>	R1A21C10 <sup>8</sup>	R2A21C10 <sup>8</sup>	R3A21C10 <sup>8</sup>
A21	C10 <sup>9</sup>	R1A21C10 <sup>9</sup>	R2A21C10 <sup>9</sup>	R3A21C10 <sup>9</sup>
Blanco		B-R1A21	B-R2A21	B-R3A21

### ANEXO C: RESULTADOS DE APLICACIÓN DE *BEAUVERIA BASSIANA* A21 EN LABORATORIO

Concentración	Código	N° de garrapatas muertas 7 días	N° de garrapatas muertas 14 días	N° de garrapatas infestado con hongo	% de Mortalidad
C10 <sup>6</sup>	R1A21C10 <sup>6</sup>	0	2	1	20
	R2A21C10 <sup>6</sup>	0	3	1	30
	R3A21C10 <sup>6</sup>	1	3	2	30
C10 <sup>7</sup>	R1A21C10 <sup>7</sup>	1	3	2	30
	R2A21C10 <sup>7</sup>	0	4	2	40
	R3A21C10 <sup>7</sup>	2	4	1	40
C10 <sup>8</sup>	R1A21C10 <sup>8</sup>	2	6	3	60
	R2A21C10 <sup>8</sup>	2	4	1	40
	R3A21C10 <sup>8</sup>	1	7	4	70
C10 <sup>9</sup>	R1A21C10 <sup>9</sup>	8	10	5	100
	R2A21C10 <sup>9</sup>	8	10	7	100
	R3A21C10 <sup>9</sup>	9	9	8	90
Blanco	B-R1A21	0	0	0	0
	B-R2A21	0	0	0	0

	B-R3A21	0	1	0	10
--	---------	---	---	---	----

**ANEXO D: CÓDIGOS DE APLICACIÓN DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* A13 EN LABORATORIO**

Hongo	Concentración	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
A13	C10 <sup>6</sup>	R1A13C10 <sup>6</sup>	R2A13C10 <sup>6</sup>	R3A13C10 <sup>6</sup>
A13	C10 <sup>7</sup>	R1A13C10 <sup>7</sup>	R2A13C10 <sup>7</sup>	R3A13C10 <sup>7</sup>
A13	C10 <sup>8</sup>	R1A13C10 <sup>8</sup>	R2A13C10 <sup>8</sup>	R3A13C10 <sup>8</sup>
A13	C10 <sup>9</sup>	R1A13C-10 <sup>9</sup>	R2A13C-10 <sup>9</sup>	R3A13C-10 <sup>9</sup>
Blanco		B-R1A13	B-R2A13	B-R3A13

**ANEXO E: RESULTADOS DE APLICACIÓN DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* A13 EN LABORATORIO**

Concentración	Repetición	N° de garrapatas muertas a los 7 días	N° de garrapatas muertas a los 14 días	N° de garrapatas infestadas con hongo	% de Mortalidad
<b>C10<sup>6</sup></b>	R1A13C10 <sup>6</sup>	0	3	2	30
	R2A13C10 <sup>6</sup>	1	4	1	40
	R3A13C10 <sup>6</sup>	0	3	1	30
<b>C10<sup>7</sup></b>	R1A13C10 <sup>7</sup>	1	4	3	40
	R2A13C10 <sup>7</sup>	2	3	2	30
	R3A13C10 <sup>7</sup>	0	3	1	30
<b>C10<sup>8</sup></b>	R1A13C10 <sup>8</sup>	3	7	5	70
	R2A13C10 <sup>8</sup>	2	6	4	60
	R3A13C10 <sup>8</sup>	2	5	3	50
<b>C10<sup>9</sup></b>	R1A13C10 <sup>9</sup>	9	10	6	100
	R2A13C10 <sup>9</sup>	10	10	8	100
	R3A13C10 <sup>9</sup>	9	10	7	100
<b>Blanco</b>	B-R1A13	0	0	0	0
	B-R2A13	0	0	0	0
	B-R3A13	0	0	0	0

**ANEXO F: CÓDIGOS DE APLICACIÓN EN CAMPO**

<i>Beauveria bassiana</i> A21			
Ubicación Parche	Ganado 1	Ganado 2	Ganado 3
Parte 1	A21P1G1	A21P1G2	A21P1G3
Parte 2	A21P2G1	A21P2G2	A21P2G3
Parte 3	A21P3G1	A21P3G2	A21P3G3
<i>Metarhizium anisopliae</i> A13			

Ubicación Parche	Ganado 1	Ganado 2	Ganado 3
Parte 1	A13P1G1	A13P1G2	A13P1G3
Parte 2	A13P2G1	A13P2G2	A13P2G3
Parte 3	A13P3G1	A13P3G2	A13P3G3
<b>Garrakill</b>			
Ubicación Parche	Ganado 1	Ganado 2	Ganado 3
Parte 1	GQP1G1	GQP1G2	GQP1G3
Parte 2	GQP2G1	GQP2G2	GQP2G3
Parte 3	GQP3G1	GQP3G2	GQP3G3
<b>Control</b>			
Ubicación Parche	Ganado 1	Ganado 2	Ganado 3
Parte 1	CP1G1	CP1G2	CP1G3
Parte 2	CP2G1	CP2G2	CP2G3
Parte 3	CP3G1	CP3G2	CP3G3

### ANEXO G: RESULTADOS DE APLICACIÓN EN CAMPO

# De garrapatas muertas									
Tratamiento	Repetición 1			Repetición 2			Repetición 3		
A21	A21P1G	A21P2G	A21P3G	A21P1G	A21P2G	A21P3G	A21P1G	A21P2G	A21P3G
	1	1	1	2	2	2	3	3	3
	18	15	11	10	12	8	15	11	16
A13	A13P1G	A13P2G	A13P3G	A13P1G	A13P2G	A13P3G	A13P1G	A13P2G	A13P3G
	1	1	1	2	2	2	3	3	3
	15	18	17	13	18	10	13	18	15
Garrakill	GQP1G	GQP2G	GQP3G	GQP1G	GQP2G	GQP3G	GQP1G	GQP2G	GQP3G
	1	1	1	2	2	2	3	3	3
	13	10	11	11	9	15	10	13	16
Control	CP1G1	CP2G1	CP3G1	CP1G2	CP2G2	CP3G2	CP1G3	CP2G3	CP3G3
	1	3	1	0	2	1	4	0	0

### ANEXO H: PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE GARRAPATAS EN CAMPO PARA *BEAVERIA BASSIANA* A21

Código	N° de garrapatas infestadas con hongo	% de Mortalidad
Parte 1	15	90
Parte 2	18	75
Parte 3	17	55

Parte 1	13	50
Parte 2	18	60
Parte 3	10	40
Parte 1	13	75
Parte 2	18	55
Parte 3	15	80
Parte 1	15	90
Parte 2	18	75
Parte 3	17	55

**ANEXO I: PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE GARRAPATAS EN CAMPO PARA  
*METARHIZIUM ANISOPLIAE* A13**

<b>Código</b>	<b>N° de garrapatas infestadas con hongo</b>	<b>% de Mortalidad</b>
Parte 1	15	75
Parte 2	18	90
Parte 3	17	85
Parte 1	13	65
Parte 2	18	90
Parte 3	10	50
Parte 1	13	65
Parte 2	18	90
Parte 3	15	75
Parte 1	15	75
Parte 2	18	90
Parte 3	17	85

**ANEXO J: ESPORAS PURAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS**



Cultivo puro de A21



Cultivo puro de A13



Cultivo puro de A21



Cultivo puro de A13

**ANEXO K: SUSPENSIÓN DE ESPORAS Y DILUCIÓN SERIADA**



Micropipeta para preparar Tween 80



Tween 80 al 10%



Suspensión de esporas A13:  $10^7$  y  $10^6$   
respectivamente



Suspensión de esporas A13:  $10^8$ , blanco y  $10^9$   
respectivamente



Suspensión de esporas A21:  $10^6$  y  $10^7$   
respectivamente

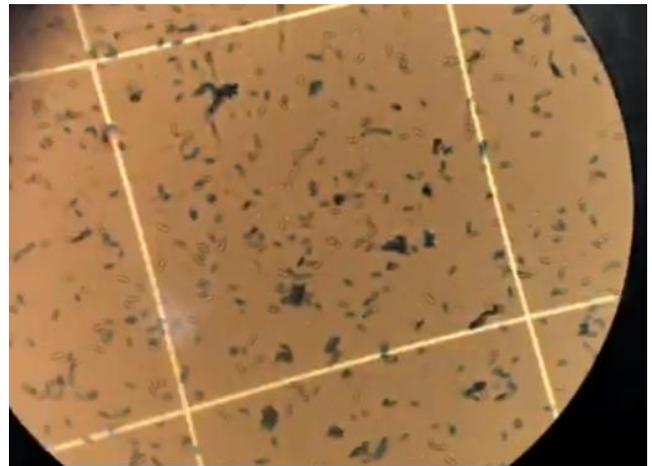


Suspensión de esporas A13:  $10^9$ , blanco y  $10^8$   
respectivamente

**ANEXO L: CONTEO DE CONIDIOS**



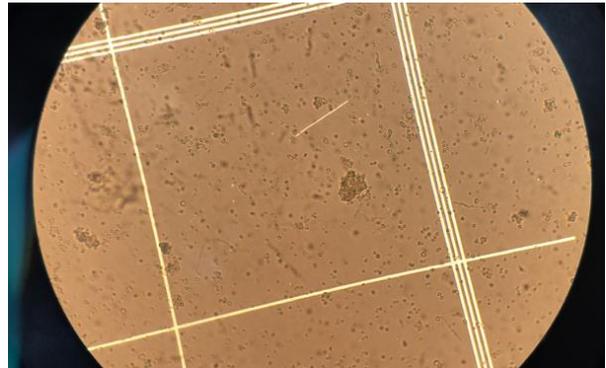
Conteo de conidios A13



Conteo de conidios A13



Conteo de conidios A21



Conteo de conidios A21

## ANEXO M: RECOLECCIÓN DE GARRAPATAS PARA FASE LABORATORIO



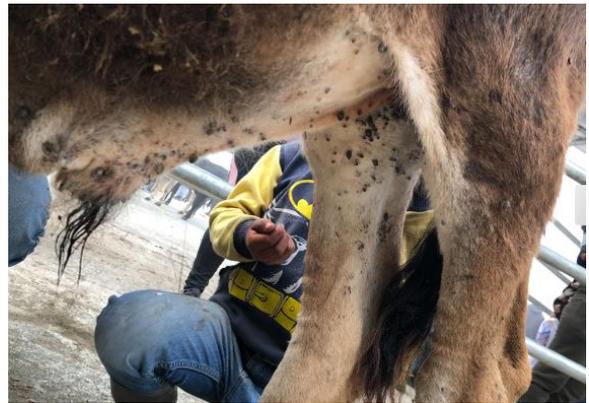
Finca Santa Clara



Ganado infestado de la plaga



Zona de cuello infestado de ganado



Recolección de garrapatas



Recolección de garrapatas



Transporte de garrapatas al laboratorio

## ANEXO N: BAÑOS DE INMERSIÓN A LAS GARRAPATAS



Material utilizado en el ensayo



Preparación de concentraciones de esporas



Preparación de concentraciones de esporas



Baños de inmersión del insecto



Baños de inmersión del insecto



Baños de inmersión del insecto



Almacenamiento de las muestras



Almacenamiento de las muestras

**ANEXO O: MUESTREO Y TOMA DE DATOS A LOS 7 Y 14 DÍAS DE APLICACIÓN**



Observación de la muestra



Conteo de garrapatas muertas 7 días



Conteo de garrapatas muertas 7 días



Conteo de garrapatas muertas 7 días



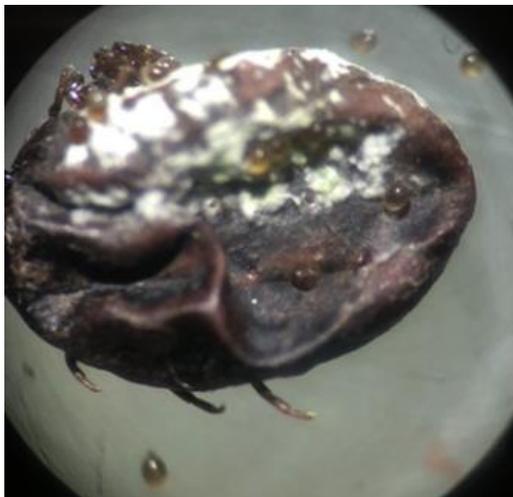
Conteo de garrapatas muertas 14 días



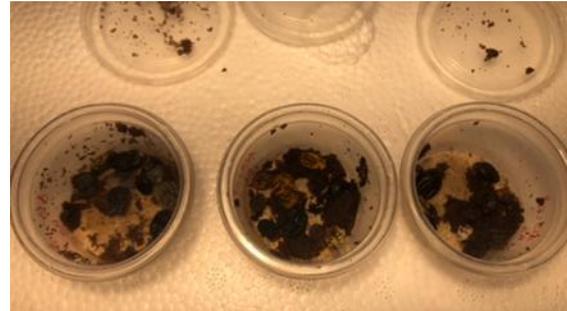
Conteo de garrapatas muertas 14 días



Conteo de garrapatas muertas 14 días



Garrapata infestada por el hongo A21



Conteo de garrapatas muertas 14 días



Garrapata infestada por el hongo A13

## ANEXO P: PREPARACIÓN DE BIOFORMULADOS PARA FASE CAMPO



Preparación del bioformulado A13



Preparación del bioformulado A13



Preparación del bioformulado A21



Preparación del bioformulado A21



Envasado de bioformulados



Envasado de bioformulados

## ANEXO Q: BAÑOS DE ASPERSIÓN A LAS GARRAPATAS



Materiales para la aplicación en campo



Preparación de bioformulados



Ganado infestado



Preparación de parche



Colocación de parches



Colocación de parches



Baño de aspersión aplicado en parches



Colocación de parches



Baño de aspersión aplicado en parches

Baño de aspersión aplicado en parches



Baño de aspersión aplicado en parches

Baño de aspersión aplicado en parches



Ganado con parches



Ganado con parches



Señalética de tratamiento utilizado



Señalética de tratamiento utilizado



Baño de aspersión



Ganado junto a bioformulados



Segundo baño de aspersión



Segundo baño de aspersión



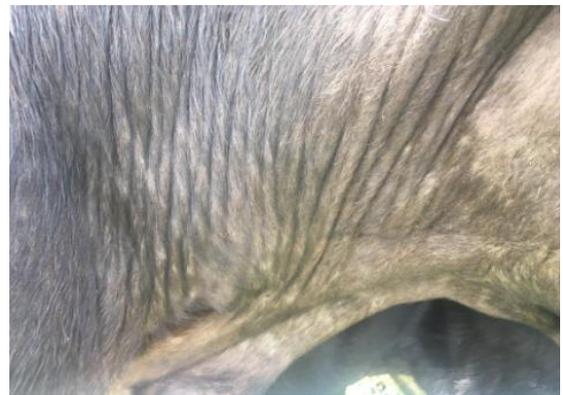
Identificación de garrapatas muertas



Identificación de garrapatas muertas



Identificación de garrapatas muertas



Huellas en la piel de ganado de las garrapatas caídas



Huellas en la piel de ganado de las garrapatas caídas



Ganado a libre pastoreo



epoch

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 04 / 12 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Lisette Estefanía Alarcón Lucio
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Ingeniería en Biotecnología Ambiental
<b>Título a optar:</b> Ingeniera en Biotecnología Ambiental
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo, MSc.



1832-DBRA-UPT-2023