



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**



**TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**MODALIDAD
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

TEMA:

**USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS COMO ALTERNATIVA EN EL
CONTROL BIOLÓGICO DE GARRAPATAS EN LA PROVINCIA DE SANTO
DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS**

AUTORES:

**BRAVO VERA BILL KENT
CARRANZA MERO KLEVER ANTONIO**

TUTOR:

DR. VICTOR MONTES ZAMBRANO

SANTA ANA - MANABÍ – ECUADOR

2022

DEDICATORIA 1

Esta tesis está dedicada a:

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres Jorge Horacio Bravo Mendoza y Zoila Georgina Vera Loor quienes con su dedicación, amor, paciencia, virtudes y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más en mi vida, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque dios está conmigo siempre.

A mis hermanas Gema Cecilia Bravo y Cinthia Paola Bravo por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento que necesite de ustedes, gracias a toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas, mis sobrinos Cesar Emilio Bravo y Eithan Kaled Bravo quienes han sido y serán una de mis motivaciones, inspiración y felicidad.

BILL KENT BRAVO VERA

DEDICATORIA 2

Este trabajo de tesis investigativo se ha requerido de mucho esfuerzo y mucha dedicación, su finalización no hubiese sido posible sin el apoyo e impulso de cada una de las personas que me motivaron en el recorrido, en primer lugar, se la dedico a Dios por permitirme tener vida, salud y poder realizar uno más de mis propósitos que es ser Médico Veterinario Zootecnista.

A mi padre **MIGUEL MERO (+)** que, aunque no esté en este mundo vive por siempre en mi memoria y habita en mis recuerdos, gracias a sus enseñanzas y consejos me ayudan a enfrentar la vida día a día, gracias padre por haber existido y darme la mejor vida y educación para ser un profesional, sin tu trabajo y esfuerzo a diario no hubiese llegado a esta meta, te debo mucho en la vida y aunque no pueda leer estas líneas van con mucho sentimiento y amor ya que hoy eres la luz de mi vida.

A mi madre **FÁTIMA LOOR** por haberme forjado como la persona que soy, gracias a sus consejos, amor y apoyo incondicional, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron en el camino, eres mi ejemplo de lucha que simplemente me llena de mucho orgullo, te amo y no va a ver manera de devolverte todas las cosas que has hecho por mí, gracias por no abandonarme y haber estado en las buenas y malas conmigo.

A mis padres biológicos Félix Carranza y Edith Mero que a pesar de la distancia me brindaron su ayuda y no me abandonaron.

A mi Tío Walter Mero por brindarme su ayuda en todo lo que me hacía falta y más en los momentos más difíciles de mi vida. A mi tío Cristhian Mero y a mi hermana Josselyn Carranza por apoyarme cuando necesitaba algo y de alguna manera me brindaban su ayuda.

A mi novia Sairy Almeida, no tengo palabras para agradecerte por todo tu apoyo incondicional y que pese a las adversidades nunca me abandono y me guio siempre para que pueda culminar mi carrera, gracias por tus consejos mi amor.

KLEVER ANTONIO CARRANZA MERO

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Veterinarias, Carrera de Medicina Veterinaria por permitirnos formar parte de esta institución.

En general a todos los docentes de cada una de las materias que compartieron sus conocimientos en el aula de clase para aprender y ser unos buenos profesionales.

A las personas que se han involucrado en la realización de nuestro trabajo, sin embargo, merecen reconocimiento especial nuestros padres que con sus esfuerzos y dedicaciones nos ayudaron a culminar nuestra carrera Universitaria y nos dieron el apoyo suficiente para no decaer cuando todo parecía complicado e imposible. Así mismo, agradecemos infinitamente a nuestros hermanos que con sus palabras nos hacían sentir orgullosos de lo que somos.

Nuestros profundo agradecimientos a todas las autoridades y personal del Instituto Nacional De Investigaciones Agropecuarias - Estación Experimental Santo Domingo (INIAP-SD), por confiar en nuestras capacidades especialmente a los ingenieros David Hidalgo, Mercedes Navarrete y Ricardo Ávila por su ayuda y colaboración dentro de nuestro proyecto en el Área de Protección Vegetal.

A nuestro Tutor de Tesis Dr. Víctor Montes por su guía y paciencia que tuvo al explicarnos con sus conocimientos para culminar nuestro trabajo.

A todos nuestros amigos que hicimos en nuestra carrera que de alguna manera fueron parte de nuestras enseñanzas y aventuras.

KLEVER ANTONIO CARRANZA MERO

BILL KENT BRAVO VERA

CERTIFICACIÓN

Dr. Víctor Montes Zambrano, Certifica que el trabajo de titulación en la Modalidad Investigativa titulada: “USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS COMO ALTERNATIVA EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE GARRAPATAS EN LA PROVINCIA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS”, es trabajo original de los Señores Bravo Vera Bill Kent y Carranza Mero Klever Antonio, el que ha sido realizado bajo mi supervisión.

Dr. Víctor Montes Zambrano PhD
TUTOR DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA
TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

**“USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS COMO ALTERNATIVA EN EL
CONTROL BIOLÓGICO DE GARRAPATAS EN LA PROVINCIA DE SANTO
DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS”**

Sometida a consideración del tribunal de defensa designado por el H. Consejo Directivo
como requisito previo a la obtención de título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL TRIBUNAL DE DEFENSA

Dr. Edis Macías Rodríguez, Ph D.
DECANO-PRESIDENTE

Dr. Víctor Montes Zambrano, Ph D.
TUTOR DE TITULACIÓN

Dr. Elvis Robles Macías, Mg. Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Sixto Reyna Gallegos, Ph D
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MVZ. Pilar Rivadeneira Barreiro, Mg Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Los resultados obtenidos en el siguiente trabajo, así como las ideas, conclusiones y recomendaciones, son de propiedad única, total y exclusiva de los autores, queda prohibida la reproducción total o parcial del mismo

Los autores

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
SUMMARY	II
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
III. JUSTIFICACIÓN.....	4
IV. HIPÓTESIS.....	5
V. OBJETIVOS	6
5.1 OBJETIVO GENERAL	6
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
VI. MARCO TEÓRICO	7
6.1. Generalidades	7
6.2. <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	8
6.3. Ciclo Biológico	8
6.4. El clima y las garrapatas	10
6.5. Epidemiología	10
6.6. Importancia económica.....	11
6.7. Hongos Entomopatógenos	11
6.8. Aspectos relacionados con la bioseguridad	12
6.9. Riesgos biológicos en humanos.....	13
6.10. Riesgos biológicos en el ambiente	14
6.11. Características de hongos entomopatógenos	15
6.11.1 <i>Beauveria bassiana</i> (Bálsamo) Vuillemin	15
6.11.2. Ventajas del hongo	16
6.12. <i>Isaria Fumosorosea</i> (Wize)	16
6.12.1. <i>Isaria Fumosorosea</i> (Wize) en el Ecosistema.....	16
6.13. Ciclo de vida de hongos entomopatógenos	17
VII. DISEÑO METODOLÓGICO	19
7.2. Características climáticas de las fincas utilizadas.	20
7.3. Recolección, selección y cría de garrapatas	21
7.4 Efecto del hongo <i>Isaria</i> en potreros artificialmente infectados para el control de la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> (Ensayo 1).....	21
7.4.1 Diseño de parcelas en potrero para la infestación de garrapatas (larvas)	21

7.4.2 Infestación de garrapatas en las parcelas experimentales	22
7.4.3. Tratamientos.....	22
7.4.4. Aplicación en campo.	22
7.4.5. Recuperación de larvas mediante arrastre doble de bandera.....	23
7.5. Evaluación del efecto del hongo <i>Beauveria</i> en baño para el control de la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> en bovinos (Ensayo 2)	23
7.5.1 Selección de animales del hato ganadero	23
7.5.2 Tratamientos.....	24
7.5.3 Variables evaluadas.....	24
7.6. Análisis estadístico	25
VIII. RESULTADOS	26
8.1.- Acción de los tratamientos con <i>Isaria</i> en el control de garrapatas en potrero	26
8.2.- Efecto de los tratamientos en el porcentaje de mantenimiento de garrapatas en los animales.....	27
8.3 Costos de tratamiento contra garrapatas <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	30
8.3.1 Costos de tratamiento en praderas	30
8.3.2 Costos de tratamiento mediante baños de aspersión animales	30
IX. DISCUSIÓN	32
X. CONCLUSIONES	38
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	40
XIII. ANEXOS.....	49
Anexo 1. Colecta de telioginas para la producción de huevos en laboratorio de Protección Vegetal INIAP (Instituto De Investigaciones Agropecuarias).....	49
Anexo 2. Cría de larvas en el laboratorio de Protección Vegetal INIAP (Instituto De Investigaciones Agropecuarias).	49
Anexo 3. División y corte de igualación de parcelas para los ensayos Asogan SD.	50
Anexo 4. Liberación de larvas en parcelas y aplicación de los tratamientos con sus respectivas dosis en la Asogan SD.....	50
.....	51
Anexo 5. Visita de las Unidades experimentales para la aplicación del hongo entomopatógeno <i>Beauveria Bassiana</i> , Anamnesis, Toma de muestras para sus análisis sanguíneos.	51
Anexo 6. Resultados de frotis para la presencia de hemotrópicos (<i>Babesia</i> y <i>Anaplasma</i>) en los animales seleccionados en el ensayo.....	53

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies de garrapatas identificadas en Ecuador.	8
Tabla 2. Datos reales de clima Estación NAMHI Puerto Ila Santo Domingo de Tsáchilas km 34 vía Quevedo.....	20
Tabla 3. Tratamientos para el control de <i>B. microplus</i> en potrero.	22
Tabla 4. Tratamientos para el control de <i>B. microplus</i> mediante baños.	24
Tabla 5. Promedio de garrapatas por tratamiento cosechadas mediante el uso del hongo entomopatógeno <i>Isaria</i> en potreros infestados artificialmente con <i>Rhipicephalus microplus</i>	26
Tabla 6. Porcentaje de mantenimiento de garrapatas para los diferentes tratamientos con <i>B.</i> <i>bassiana</i> del primer ensayo.	27
Tabla 7. Comparación de medianas del primer ensayo en el día 5 después de la primera aplicación.....	27
Tabla 8. Comparación de medianas en el primer ensayo del día 10 después de la primera aplicación.....	28
Tabla 9. Porcentaje de mantenimiento de garrapatas para los diferentes tratamientos con <i>B.</i> <i>bassiana</i> del segundo ensayo.	28
Tabla 10. Comparación de medianas en el día 3 después de la segunda aplicación.	29
Tabla 11. Comparación de medianas en el día 5 después de la segunda aplicación.	29
Tabla 12. Costos de los tratamientos para el control de garrapatas <i>R. microplus</i> en potrero.	30
Tabla 13. Costos de los tratamientos para el control de garrapatas <i>R. microplus</i> en animales.....	31

RESUMEN

La resistencia a los garrapaticidas de origen químico, así como la falta de productos que eviten contaminación al ambiente e intoxicaciones a los animales, hace que sea necesario desarrollar alternativas para el control de las garrapatas, que no contaminen los productos de la explotación bovina y que a su vez sean inocuos para el ambiente. Este trabajo de investigación se realizó en dos localidades situadas en Santo Domingo de los Tsáchilas durante los meses de septiembre a diciembre del 2021, cuyo objetivo fue conocer la capacidad de acción que tiene *Isaria fumosorosea* como control en larvas de garrapatas aplicado en potrero (experimento 1) y *Beauveria Bassiana* aplicado mediante baño en animales (experimento 2) sobre garrapatas *Rhipicephalus microplus*. Se utilizaron tres diferentes dosis de hongos entomopatógenos T₁ (80 gr), T₂ (160gr), T₃ (240gr), un tratamiento químico T₄ (Ethion+Cipermetrina) y como TestigoT₅ (agua). Los análisis estadísticos utilizados en el experimento 1 fueron un diseño completamente al azar cumpliendo con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, a través de las pruebas Shapiro Wilk y Levene y la prueba de Tukey para comparación de medias; el experimento 2 se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis y para comparación múltiples de las medianas se aplicó la prueba Dwass-Steel-Critchlow-Fligner (DSCF) al 90% de confianza utilizando los softwares R y Jamovi. Los resultados obtenidos en los experimentos 1 y 2 demostraron que el T₄ (Ethion+Cipermetrina) fue más eficiente que los hongos entomopatógenos, mientras que *Isaria fumosorosea* y *Beauveria bassiana* mostraron efecto a partir del quinto y sexto día. Por lo que se concluye que a pesar que el químico fue mejor, los hongos entomopatógenos son una alternativa para el control de garrapatas presentando un efecto aceptable y económico frente al químico. Por lo que se recomienda seguir realizando estudios que permitan validar su eficacia bajo condiciones naturales de campo sobre potreros y animales.

SUMMARY

The resistance to ticks of chemical origin, as well as the lack of products that avoid contamination of the environment and poisoning to animals, makes it necessary to develop alternatives for the control of ticks, which do not contaminate the products of the bovine farm and that in turn are harmless to the environment. This research work was carried out in two locations located in Santo Domingo de los Tsáchilas during the months of September to December 2021, whose objective was to know the capacity of action that *Isaria fumosorosea* has as a control in tick larvae applied in paddock (experiment 1) and *Beauveria Bassiana* applied by bathing in animals (experiment 2) on ticks *Rhipicephalus microplus*. Three different doses of entomopathogenic fungi T1 (80 gr), T2 (160gr), T3 (240gr), a chemical treatment T4 (Ethion + Cypermethrin) and as a Control T5 (water) were used. The statistical analyses used in experiment 1 were a completely random design meeting the assumptions of normality and homogeneity of variance, through the Shapiro Wilk and Levene tests and the Tukey test for comparison of means; experiment 2 applied the Kruskal-Wallis test and for multiple comparison of the medians the Dwass-Steel-Critchlow-Fligner (DSCF) test was applied at 90% confidence using the R and Jamovi software. The results obtained in experiments 1 and 2 showed that T4 (Ethion+ Cypermethrin) was more efficient than entomopathogenic fungi, while *Isaria fumosorosea* and *Beauveria bassiana* showed effect from the fifth and sixth day. So it is concluded that although the chemical was better, entomopathogenic fungi are an alternative for the control of ticks presenting an acceptable and economic effect compared to the chemical. Therefore, it is recommended to continue carrying out studies that allow validating its effectiveness under natural field conditions on paddocks and animals.

I. INTRODUCCIÓN

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es un ectoparásito que se alimenta de sangre y de otros fluidos. Están ubicada en casi todas las regiones subtropicales y tropicales ganaderas del mundo, La fiebre bovina transmitida por garrapatas es una enfermedad febril causada por los parásitos protozoarios *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* y por la *rickettsia Anaplasma marginale*, estos organismos se multiplican en la sangre destruyen los glóbulos rojos; clínicamente se expresan en su forma aguda por fiebre y anemia, con efectos complementarios, como bajo consumo de alimentos, baja en producción de leche, pérdida de peso y riesgo de muerte de animales (Benavides *et al.*, 2016).

Para el control de las garrapatas en el ganado bovino se ha utilizado diferentes familias químicas, sin embargo, el uso de químicos trae consigo serias desventajas, como son: costos elevados por tratamientos, requerimiento de mano de obra para su aplicación, problemas de contaminación de leche y carne debido a su toxicidad y contaminación al ambiente, ser humano y animales (Cruz, 2010). El constante uso de productos químicos como única alternativa para el control de la garrapata, genera que el parásito logre desarrollar resistencia al químico, lo que puede hacerlo ineficiente, razón por lo que se requiere cambiar de estrategia para su control (Orlando, 2017). Como las garrapatas del tipo *Rhipicephalus microplus*, a los órganos fosforados (OPs), piretroides sintéticos (SPs) y amitraz, descritos alrededor del mundo, depende de la frecuencia de aplicación de los insecticidas, y de los ciclos de vida de los insectos (Rodríguez *et al.*, 2012).

Los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores de las garrapatas diseminadas en el medio ambiente, debido a que provocan infecciones a poblaciones de artrópodos naturalmente, convirtiéndose en los primeros agentes biológicos de elección para ser utilizados en el control de plagas porque son capaces de producir enfermedad y muerte de los insectos. Estos microorganismos infectan a los artrópodos directamente a través de la penetración de la cutícula y ejercen múltiples mecanismos de acción confiriéndoles una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia (Delgado & Ordoñez, 2011).

II. ANTECEDENTES

Zapata & Corrales (2013) en su trabajo “Estudio taxonómico a nivel de género de garrapatas en ganado bovino de la parroquia Alluriquín-Santo Domingo de los Tsáchilas” determinó la relación entre la altitud y la presencia de garrapatas, identificando al género *Boophilus* desde 663 - 1.905 m.s.n.m. situándose en el tren posterior y ubre, a diferencia del género *Amblyomma* que se encontró de 713 m s. n. m. hasta 795 m s. n. m., el mismo que se ubica en el tren posterior y vulva; el género *Ixodes* se encuentra desde 1.019 – 1.856 m s. n. m., principalmente en la cabeza del bovino que se encuentran mayor cantidad en verano.

Bustillos *et al*, (2015) en su trabajo identificó que en la zona de San Miguel de Los Bancos (Pichincha) únicamente existió la especie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. García (2013) evaluó la eficacia in vitro de *Beauveria bassiana* en el control biológico de *Rhipicephalus (Boophilus)*, recolectaron garrapatas hembras adultas (0,200-0,250gr.) de bovinos de la provincia de Ricaurte en el departamento de Boyacá-Colombia, aplicó la técnica de inmersión de adultas de Drummond durante 60 segundos con tres concentraciones de hongo, 10^4 esporas/ml, 10^6 esporas/ml y 10^8 esporas/ml; tratamiento control (agua destilada), este autor concluye que la concentración de 10^8 esporas/ml presentó mejores resultados, en cada una de las variables evaluadas: presencia de micosis (100%), garrapatas muertas por tratamiento (30/30), efecto sobre la reproducción estimada (60,17%), disminución de la ovoposición (40,33%) y porcentaje de eclosión de huevos (24,33%).

Salazar (2019) realizó un estudio para determinar la eficacia de hongos entomopatógenos en el control biológico de *Rhipicephalus microplus*, en la parroquia Linares, cantón El Chaco provincia de Napo, utilizo químico (Ethion+Cipermetrina) y dos géneros de hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*; realizó diferentes tratamientos en un grupo de 16 vacas, donde los resultados obtenidos a partir de 9 días demostró que el control químico presentó una eficacia mayor a 90%, mientras que los tratamientos biológicos fue de 44,16% y 54,19%, por lo que concluye que un manejo biológico constituye una alternativa para el control de garrapatas además de presentar ventajas económicas frente a los tratamientos químico.

Sepúlveda (2012) indica que como característica relevante muy asociada a la inocuidad está la especificidad y selectividad con que actúan los hongos entomopatógenos, ya que sólo controlan una plaga exclusiva por tratarse de sus enemigos naturales. No afectan a otros insectos, permitiendo la conservación de poblaciones de parasitoides, depredadores y polinizadores. Poseen la capacidad de multiplicarse y dispersarse en el ambiente, principalmente a través de insectos que ya están parasitados del hongo lo cual permite contaminar al resto de los insectos plaga. Es inofensivo para cualquier cultivo, resultando compatible con las prácticas habituales de manejo. Es de uso fácil y de almacenar, entre otras cualidades que lo transforman en una excelente opción de control de plagas.

(Gómez *et al.*, 2014) laboratoristas de la SENASA indican las ventajas del uso de microorganismos:

- Son efectivos para el control de plagas
- Mayor seguridad en relación a los productos químicos
- No se acumulan en la cadena alimenticia
- No causan resistencia en la plaga, por lo que es una opción de manejo sostenible
- No dejan residuos tóxicos en los productos, por lo que son de utilidad en la agricultura orgánica
- Son inocuos al hombre, animales y medio ambiente
- No afectan a los insectos benéficos
- Se aíslan fácilmente y se pueden reproducir en medios artificiales

III. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de resistencia a insecticidas y acaricidas es un fenómeno mundial, que junto con los problemas de residualidad ambiental e intoxicaciones (agudas y crónicas) en los animales, ha generado rechazo al uso de esta tecnología y la búsqueda constante de otros métodos para sustituirlos.

En Ecuador, los productos químicos tradicionalmente empleados como Alfa-Cipermetrina, Ivermectina y Amitraz, están perdiendo efectividad, constatándose en la zona $\pm 0,5$ grados de latitud de la línea equinoccial de Ecuador que *Rhipicephalus microplus*, desarrollado resistencia por sobre el 60%, y conforme esta incrementa, volverá obsoleto el uso de estas moléculas (Pérez Otañez, 2019).

El uso de biopesticidas basados en hongos entomopatógenos representa una tecnología viable para el control de las garrapatas en el ganado bovino, permitiendo reemplazar el uso tradicional de agroquímicos en campo y reducir la necesidad de gastos en antibióticos al tratar enfermedades infecciosas en la ganadería transmitidas por la garrapata. Al ser una tecnología amigable con el ambiente brindará la ventaja adicional no necesita el tiempo de retiro en ordeño (3 días) ni en potreros una semana, el cual se requiere al emplear acaricidas convencionales ocasionando pérdidas económicas (Benavides *et al.*, 2016).

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de encontrar alternativas de control biológico con hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* aplicado mediante baños ya que tiene capacidad de afectar las garrapatas ninfas y adultas que se encuentra parasitando al animal e *Isaria fumosorosea* que tiene capacidad de acción en larvas de garrapata aplicadas en pasto, fue realizado en dos haciendas ganaderas, el primer experimento que fue realizado por fumigación en potreros en la Hacienda de la Asociación de ganaderos de Santo Domingo (ASOGAN SD) ubicada en el km 13 de la vía Santo Domingo-Quinindé en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, y el segundo en la Hacienda Emilandia ubicada en el km 35 en la vía Santo Domingo-Alóag, en la parroquia Alluriquín del recinto la Florida.

IV. HIPÓTESIS

Los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Isaria fumosorosea* tienen la capacidad acaricida significativa frente a las garrapatas *Rhipicephalus microplus*, similar al tratamiento químico a base de Ethion+Cipermetrina

V. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el uso de hongos entomopatógenos como alternativa de control biológico en garrapatas en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Conocer la capacidad de acción de *Isaria* en el control de garrapatas en potrero
2. Determinar la mortalidad de las garrapatas *Rhipicephalus microplus*, con el uso de *Beauveria* mediante baño
3. Realizar un análisis costo- beneficio entre los tratamientos aplicado a los animales y al potrero de los hongos entomopatógenos

VI. MARCO TEÓRICO

6.1. Generalidades

Actualmente, la ganadería bovina es una de las actividades pecuarias más explotadas a nivel mundial, y una de las más importantes en América Latina y el Caribe. La ganadería aporta con un 40% del valor de la producción agropecuaria mundial, provee un medio de alimentación, subsistencia y seguridad alimentaria para casi 1.300 millones de personas, por lo que más de 1 billón de personas a nivel mundial depende del sector ganadero (Carrascal, 2019).

Se reporta la existencia de un total de 899 especies que integran la lista de garrapatas identificadas a nivel mundial. En la familia *Ixodidae* se incluyen 713 especies, en el género *Ixodes* se enlistan 249, *Amblyomma*, *Anomalohimalaya*, *Bothriocroton*, *Cosmiomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Margaropus*, *Nosomma*, *Rhipicentor* y *Rhipicephalus* (Bollete A. R et al., 2011).

Debido a su gran capacidad de adaptación y propagación las garrapatas del género *Boophilus* se han podido extender en diversas áreas geográficas de todo el mundo, con diferencias significativas en su comportamiento biológico, y recientemente han sido reclasificadas dentro del género *Rhipicephalus* de acuerdo a su filogenia, de las cinco especies que integran a nivel mundial el género *Rhipicephalus microplus* presenta mayor importancia por su amplia distribución, que incluye a gran parte de América, África, Asia y Australia, excepto Estados Unidos de América donde se encuentra erradicada (Bollete A. R et al., 2011).

La especie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari-Ixodidae)*, la garrapata común del bovino, es sin duda la más dañina. además, es agente transmisor de hemoparásitos (*Babesia spp* y *Anaplasma margínale*). Un animal infestado con más de 30 *Rhipicephalus microplus* adultas, ya es perjudicado productivamente (Oporta, 2017).

Tabla 1. Especies de garrapatas identificadas en Ecuador. Bustillos (2014).

Familia	Especie	Familia	Especie
<i>Ixodidae</i>	<i>Amblyomma</i> <i>cajennense</i>	<i>Argasidae</i>	
	<i>Amblyomma</i> <i>maculatum</i>		
	<i>Amblyomma</i> <i>multipunctum</i>		<i>Rhipicephalus.</i> <i>microplus superan</i>
	<i>Amblyomma</i> <i>naponense</i>		<i>Ornithodoros</i> <i>furcosus</i>
	<i>Amblyomma trsite</i>		<i>Ornithodoros talaje</i>
	<i>Anocentor nitens</i>		
	<i>Haemaphysalis</i> <i>juxtakochi</i>		
	<i>Ixodes boliviensis</i>		

6.2. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Cfsph, (2007), comenta que anteriormente se conocía a esta garrapata como *Boophilus microplus*, pero recientemente se ha convertido en un subgénero del género *Rhipicephalus*. Estas garrapatas poseen una cabeza hexagonal, corto y derecha, el surco anal está ausente o bien poco definido en hembras y levemente en los machos, no poseen festones ni ornamentos.

6.3. Ciclo Biológico

Las garrapatas son ectoparásitos que necesitan alimentarse de sangre para desarrollarse; tienen un ciclo de vida muy complejo con dos fases: una parasitaria (alimentación sanguínea) y otra de vida libre (período de ovoposición y mudas), conocida generalmente

como fase “no parasítica” (Gatto *et al.*, 2006). El ciclo biológico de las garrapatas duras presenta un estado inactivo (huevos) y un estado móvil hematófago (larva, ninfa y adulto); de acuerdo con la especie puede envolver a uno, dos o tres hospederos (Gatto *et al.*, 2006).

El ciclo de vida de una garrapata se inicia cuando las larvas se adhieren a un animal. Para la garrapata *Rhipicephalus microplus*, la fase de desarrollo en el huésped dura entre 19-25 días, luego de lo cual las hembras repletas se desprenden a colocar huevos en el suelo (cada garrapata puede producir hasta 3.000 huevos) (Benavides *et al.*, 2016). Luego de aproximadamente un mes bajo condiciones climáticas favorables (temperaturas de suelo superiores a 25 °C y alta humedad relativa) aparecen las larvas que tienen el tamaño de la punta de un alfiler, con tres pares de patas, ubicadas sobre el borde del pasto en masas de miles de individuos (Benavides *et al.*, 2016).

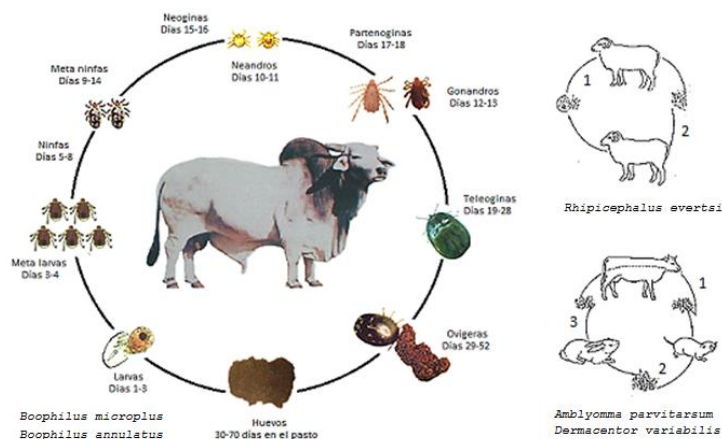


Imagen 1. Ciclo biológico de garrapata *Rhipicephalus microplus*
Fuente: Ortiz H (2014)

Benavides *et al.*, (2016) explican que una vez que han localizado un animal donde alimentarse, luego de una semana sobre el bovino (cuando son prácticamente no detectables) mudan al estadio de ninfa (con cuatro pares de patas), las cuales ya es posible observar cómo pequeños granos de color entre gris-azul oscuro de 1-2 mm de tamaño. Estas garrapatas, luego de una semana adicional, mudan a adultos una semana más tarde, la garrapata hembra ingurgitada (llena de sangre) alcanza un tamaño hasta de 8 mm y está lista para desprenderse del animal para comenzar a poner huevos en él.

6.4. El clima y las garrapatas

El Ecuador continental se divide en tres regiones: Litoral o Costa, Sierra y Oriente (Varela & Ron, 2018). La ubicación del Ecuador, sobre la línea Ecuatorial, produce poca estacionalidad a lo largo del año, hay dos estaciones definidas: húmeda o invierno y seca o verano. La duración de las estaciones varía regionalmente. En la región Costa, la época lluviosa se inicia en diciembre y dura hasta mayo; la época seca tiene lugar entre junio y noviembre (Varela & Ron, 2018).

En regiones de clima tropical o ecuatorial, se considera que las condiciones climáticas que favorecen la presencia de garrapatas son: temperatura óptima entre 26°C – 28°C, humedad relativa entre 75% - 80% y un índice pluvial anual superior a 600mm. Las garrapatas regulan su temperatura corporal de acuerdo con la temperatura de su ambiente, es decir, son sensibles a los cambios ambientales; por lo tanto, pequeñas variaciones la temperatura, humedad y brillo solar, son capaces de afectar su abundancia, distribución y capacidad vectorial (Bolaños, 2016).

El cambio climático tiene efectos negativos en la sobrevivencia de las garrapatas, estas no sobreviven a inundaciones o temperaturas bajas permanentes. En las zonas tropicales, con lluvias regulares, alta humedad y clima cálido, se dan las condiciones óptimas para el desarrollo de varias generaciones de garrapatas por año, de modo que la plaga se hace sentir constantemente. En regiones subtropicales, caracterizadas por temporadas de lluvias y sequías, la intensidad de la plaga es fluctuante (SENASA, 2006).

6.5. Epidemiología

Las garrapatas transmiten patógenos que afectan a poblaciones de animales y humanos, estas enfermedades transmitidas por las garrapatas son de gran impacto tanto para la salud humana y animal. Por ejemplo: *Ixodes* spp., de distribución mundial, es el vector de varios patógenos que afectan a los animales y al hombre, tales como *Borrelia*, *Anaplasma*, *Coxiella*, *Francisella*, *Rickettsia* y *Babesia*, así como los virus de la encefalitis (TBE) que es transmitida por estos parásitos (Bustillos, 2014).

Las garrapatas considerado el ectoparásito del ganado de mayor repercusión económica, después del zancudo, es el segundo vector, de una gran cantidad de enfermedades zoonóticas, por mencionar algunas tenemos: Fiebre Q, Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas, Enfermedad de Lyme (Mutz, 2009).

6.6. Importancia económica

Los costos económicos asociados al control de *Rhipicephalus microplus* superan los US\$109 miles de millones de dólares anuales a nivel global y es probable que, debido al desarrollo de resistencia, estos valores se incrementen en los próximos años (Moncada *et al.*, 2015). La reducción y aún ausencia de efectividad del uso de sustancias química, convierte el control parasitario en un círculo vicioso, donde cada vez se requiere de un mayor consumo de productos, lo que además de incrementar los costos económicos para el productor, tiene implicaciones negativas sobre el ambiente, y la salud tanto de los animales, como de los propios operarios y los consumidores (Moncada *et al.*, 2015).

Los problemas de producción ganadera están estrechamente relacionados con plagas parasitarias, ya que constituyen uno de los principales inconvenientes de importancia económica en países tropicales y subtropicales. Los parásitos tropicales como las garrapatas son los principales vectores de transmisión de enfermedades en el ganado vacuno. Entre las enfermedades tenemos *Babesiosis* y *Anaplasmosis*, además de infectar al ganado, las garrapatas perforan la piel de los animales causándoles heridas por las cuales se facilita el paso de agentes patógenos como bacterias, virus, rickettsias y protozoos (Salazar, 2019).

6.7. Hongos Entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia, en el control biológico de insectos plaga, encontrándose presente en forma natural en el medio ambiente, en el suelo, en restos de cultivos, sobre los cadáveres de insectos, obteniendo su nutrición de otros organismos o de materia orgánica (Gómez *et al.*, 2014).

Los hongos entomopatógenos más importantes utilizados en el control de insectos plaga, son *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* e *Hirsutella thompsonii*. Estos hongos pertenecen a la clase Deuteromycete, orden Moniliales, familia Moniliaceae, las cuales afectan a una serie de insectos plaga de

diferentes órdenes que causan daños en cultivos de importancia económica (Gómez *et al.*, 2014).

La pared celular de los hongos está constituida por polisacáridos (80%), proteínas (3-20%), lípidos, pigmentos y sales inorgánicas en cantidades menores. La quitina forma microfibrillas y es el polisacárido característico de la pared celular en hongos, pero también existe en los insectos. Este polímero es un polisacárido no ramificado, constituido de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc), donde los monómeros están unidos por enlaces β -1,4 y existen tres tipos de quitina: a, b y g (Pucheta *et al.*, 2006).

Los hongos entomopatógenos inician su proceso infectivo en los insectos hospederos cuando las esporas viables son retenidas por contacto en la superficie del integumento, mientras encuentran un espacio propicio para establecer la asociación patógeno-hospedero y formar los túbulos germinales y a veces el apresorio, que facilitarán la invasión del hongo (Pucheta *et al.*, 2006).

6.8. Aspectos relacionados con la bioseguridad

Todos los seres vivos tienen enemigos naturales, entre los que se cuentan depredadores, parásitos y patógenos. Estos últimos, corresponden a agentes biológicos capaces de enfermar e incluso causar la muerte a su hospedero. Los insectos no son la excepción, y como cualquier otro organismo, sucumben ante la infección de virus, bacterias y hongos. Los hongos entomopatógenos producen enfermedades y causan la muerte de insectos y otros artrópodos. Se conocen alrededor de 750 especies de estos hongos, la mayor parte de ellas incluidas en los grupos Hypocreales (*Ascomycota*) y Entomophthorales (*Zygomycota*) (Francisco Urra, 2015).

La especie *Beauveria bassiana* es considerado uno de los agentes de control biológico con mayor eficiencia. Existen investigaciones de todas partes del mundo en el control exitoso de varios tipos de plagas. “*Beauveria bassiana* es un patógeno natural; sus esporas reconocen la cubierta del insecto plaga penetrando en su interior, dentro del cual liberan sustancias que lo digieren y lo destruyen. Si las condiciones ambientales son adecuadas el hongo produce nuevas esporas en el exterior del insecto muerto”. Mediante la utilización de hongos entomopatógenos disminuyen los gastos en baños garrapaticidas y tratamientos

contra hemoparásitos, también disminuye el impacto de la labor ganadera sobre el medio ambiente (Chiriboga *et al.*, 2015).

Isaria fumosorosea ocupa un lugar destacado como uno de los hongos entomopatógenos más conocidos a nivel mundial, con una amplia distribución geográfica (incluyendo zonas templadas y tropicales) y un extenso rango de hospederos, lo cual lo hace un agente de interés para el desarrollo de métodos de control biológico (Gandarilla *et al.*, 2018).

Para que la manifestación epizootica de los hongos entomopatógenos tenga lugar, los factores bióticos y abióticos tienen una enorme influencia. Entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y la persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo se encuentran los rayos ultravioletas, la temperatura, la humedad relativa y los funguicidas. Las esporas de los entomopatógenos tienen requerimientos específicos de agua y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno y que les permiten llevar a cabo el proceso infectivo sobre el hospedero (Pucheta *et al.*, 2006).

El control biológico basado en el uso de hongos entomopatógenos representa una atractiva alternativa de control de las garrapatas, los conidios de estos organismos se adhieren a la cutícula, germinan, forman un apresorio, y finalmente penetran la cutícula provocando un desarrollo masivo en el cuerpo y con ello la muerte. Dentro de estos organismos, se encuentran *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *I. farinosa*, *Lecanicillium lecanii* y *Metarhizium anisopliae*, que han demostrado ser eficientes para la biorregulación de *R. microplus* (Avalos *et al.*, 2015).

6.9. Riesgos biológicos en humanos

Los hongos entomopatógenos usados para el control de insectos son muy seguros, pero pueden causar reacciones alérgicas si son inhalados. Los que trabajan en el laboratorio deben aprender a reconocer y disponer de los contaminantes en forma segura. Siempre conservar las mesas, equipos y ropa de protección limpios (Gómez *et al.*, 2014).

Siempre se debe usar el tipo adecuado de ropa de protección como:

1. Guardapolvos y / o mandiles de laboratorio

2. Máscaras faciales y guantes en los procesos de producción (Gomez *et al.*, 2014)

En el ser humano la respiración de partículas de polvo como en el caso de los excipientes empleados en la formulación posee consecuencias negativas similares a los problemas al respirar humo, pero al adicionar microorganismos como hongos entomopatógenos se presenta una reacción alérgica que daña los alveolos pulmonares junto con un cuadro agudo de fiebre, la cual se conoce como “alveolitis alérgica extrínseca” o “neumonitis por hipersensibilidad” (Hidalgo, 2019).

La alveolitis alérgica extrínseca (AAE), conocida también como neumonitis por hipersensibilidad (NH) comprende un grupo de enfermedades caracterizadas por una reacción inflamatoria inmunológica que afecta a bronquiolos terminales, alvéolos e intersticio pulmonar. Se produce por la inhalación repetida y sensibilización a los polvos orgánicos, entre los que se incluyen bacterias, hongos y proteínas animales, así como algún tipo de sustancia inorgánica de bajo peso molecular (isocianato) (Irún *et al.*, 2011).

6.10. Riesgos biológicos en el ambiente

Los hongos son únicos y sobresalientes entre los microorganismos entomopatógeno porque infectan a los hospedantes a través del tubo germinativo que tiene la capacidad de penetrar y ramificarse dentro del acaro y provocar su muerte debido a las toxinas secretadas (Quesada, 2009).

Es recomendable aplicar en horas de la mañana antes de las 10:00 o en la tarde después de las 16:00 horas, porque las elevadas temperaturas y los rayos ultravioletas pueden dañar la población del hongo. Evitar aplicar con otros químicos como fungicidas o insecticidas, debido a que se pueden afectar las poblaciones del hongo, así como cuidar que los recipientes empleados no hayan sido empleados con fungicidas (Chiriboga *et al.*, 2015).

Después de muerto el insecto, si las condiciones de humedad relativa ambiental son favorables, (mayor o igual al 90%) el hongo emerge al exterior a través de la cutícula principalmente a través de las zonas menos esclerosadas, y esporulación sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros insectos. Si las condiciones externas no son

favorables, el hongo permanece en el interior del insecto, protegido por el integumento, donde puede sobrevivir por algunos meses, hasta que lleguen las condiciones favorables para su esporulación (Valle, 2018).

6.11. Características de hongos entomopatógenos

6.11.1 *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin

Este hongo ha sido aislado de más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de cultivos de importancia económica. La fructificación está constituida por células conidiógenas que forman conidias sucesivas en un raquis que se desarrolla en forma de zigzag (Gómez *et al.*, 2014). Esta fructificación en conjunto de células conidiógenas unidas, se utiliza para el control de plagas como la “broca del café” (*Hypothenemus hampei*), “gorgojo negro del plátano” (*Cosmopolites sordidus*), “palomillas de la col” (*Plutella xylostella*, *Hellula undella*), pulgones, arañas rojas. Los insectos muertos por este hongo presentan una cubierta blanca algodonosa sobre el cuerpo, la cual está formada por el micelio y esporas del hongo (Gómez *et al.*, 2014).

Beauveria bassiana se encuentra clasificado dentro del filo *deuteromycotina* y en la clase *Hyphomycetes* dado que se desconoce una fase sexual en su ciclo de vida, se reproduce asexualmente produciendo conidias. Produce micosis en los insectos, también conocida como muscardina blanca (Fernández, 2006).

Después de 48-60 horas de la muerte de las garrapatas, las hifas comienzan a emerger por los espiráculos, ano y boca a través de las áreas más débiles (regiones intersegmentales). cuando las esporas microscópicas del hongo entran en contacto con las células de la epicutícula del insecto, estas se adhieren e hidratan. Las esporas germinan y penetran la cutícula del insecto. Una vez dentro, las hifas crecen destruyendo las estructuras internas del insecto y produciendo su muerte al cabo de unas horas. Tras ello, si las condiciones ambientales son favorables, pueden emerger del cadáver esporas del hongo con capacidad para ser propagadas de nuevo y reinfestarse a nuevos insectos. Son de acción lenta, su desarrollo y patogenicidad depende de la temperatura (25 °C) y de elevada humedad relativa mayor a (80%) para que su desarrollo (Espinoza, 2017).

6.11.2. Ventajas del hongo

Presenta grados variables de especificidad, pueden ser específico a nivel de la familia o especie muy relacionada en el caso de las cepas sin afectar a las enzimas naturales. Si el entomopatógeno encuentra las condiciones adecuadas para introducirse y colonizar un ecosistema se reproduce y remuevan en forma continua; es decir, se vuelve resistente haciendo innecesario nuevas aplicaciones. No contamina el medio ambiente ni afecta al hombre u otros animales superiores (Espinoza, 2017).

6.12. *Isaria Fumosorosea* (Wize)

El género *Isaria* presenta hifas hialinas a amarillosas, septadas de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de Fiálide, las cuales pueden ser también solitarias. Las Fiálide constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio. Los conidióforos llevan cadenas de conidias estas son hialinas unicelulares y de forma ovoide (Narcizo, 2012).

Este hongo entomopatógeno se caracteriza por presentar colores vistosos como blanco, amarillo, verde pálido, rosa, rojo o púrpura. La estructura conidiogena es un sinema o nomosinema que consiste en hifas compactadas, conidióforos verticilados e irregulares con ramificaciones terminales, en donde surgen racimos ensanchadas en forma de botella, con un cuello distintivo donde nacen las conidias las cuales crecen en cadena en forma basipetala por una célula (Narcizo, 2012).

6.12.1. *Isaria Fumosorosea* (Wize) en el Ecosistema

Reyna, (2002) determinó que, desde las 24 horas siguientes a la inoculación del hongo y antagonista, hay una disminución de la concentración inoculada hasta encontrarse ausente en el sistema. Sin embargo, también se observó un notable descenso del hongo por sí solo en ausencia del antagonista, por lo que también se atribuye a otros factores abióticos del suelo como causantes de tal comportamiento. Indudablemente, que *P. fumosoroseus*, al igual que otros microorganismos del suelo, está sujeto a la acción antagonista de los miembros de la comunidad y es común observar que aún en suelos asperjados con formulados a base de este hongo, es casi imposible recuperarlo.

6.13. Ciclo de vida de hongos entomopatógenos

El ciclo de vida del hongo sobre el huésped se efectúa en cuatro fases: adherencia, germinación, diferenciación y penetración (Bastidas, 2010). Generalmente, las infecciones de tales hospedadores comienzan con la adhesión de conidios (forma asexual esporulada del hongo) en la superficie del exoesqueleto. Si se presentan condiciones de temperaturas y humedad adecuadas (elevada humedad), dichas esporas germinan, crecen en forma de hifas y colonizan la cutícula de la garrapata (Raya, 2018).

Adherencia

La adherencia se produce cuando el conidio del hongo entomopatógeno se adhiere a la cutícula del insecto hospedero. Al respecto, debe ocurrir el reconocimiento y la compatibilidad entre la membrana del conidio y las células epiteliales de la cutícula. Este proceso está enmarcado en dos acciones: una pasiva y otra activa. En la pasiva intervienen fuerzas hidrofóbicas y electrostáticas que facilitan la adherencia a la superficie cuticular. En la activa intervienen sustancias químicas que favorecen el desarrollo del conidio sobre el tegumento del insecto (Araujo, 2009).

Germinación

Una vez establecido, el proceso enzimático entre el conidio del hongo y la membrana cuticular del hospedero se inicia la germinación. Este proceso depende de las condiciones del entorno: humedad, temperatura y nutrientes; y la disponibilidad del insecto (Cedeño, 2014).

Diferenciación

El proceso de diferenciación se inicia con el crecimiento e introducción del aprensorio a través de la membrana cuticular. Este tubo germinativo permite el intercambio de enzimas proteasa, lipasas, quitinasas y estereasas desde el hongo hasta el hospedero. Además de crearse una presión mecánica entre los organismos patógenos y hospedero. Se acelera la migración hacia la epidermis y la hipodermis del insecto (Téllez *et al.*, 2009).

Penetración

Establecido el patógeno dentro del tracto digestivo del insecto, ocurre la multiplicación de las hifas que producen el antibiótico oosporina. Esta sustancia actúa sobre la flora bacteriana del huésped, ocasionando la muerte por toxicidad, desnutrición, daños físicos y posterior momificación (Alcides, 2002).

VII. DISEÑO METODOLÓGICO

El presente trabajo cumplió con algunos objetivos del proyecto institucional “Uso de hongos entomopatógenos para el control de garrapatas en bovino” del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias Estación Experimental Santo Domingo (INIAP-EESD), en el cual se cumplieron las siguientes fases: 1. Conocer la capacidad de acción de *Isaria* en el control de garrapatas en potrero y 2. Determinar la mortalidad de las garrapatas *Rhipicephalus microplus*, con el uso de *Beauveria* mediante baño. Las cepas de hongos entomopatógenos utilizadas fueron obtenidas en el periodo 2010-2014 producto de las colectas de insectos enfermos que cayeron en las trampas de Gualpa de la plantación de palma africana de INIAP-EESD, lo que hace que las cepas utilizadas en el experimento sean nativas de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.

7.1 Localización

Los experimentos de campo fueron ejecutados en dos haciendas diferentes, la fumigación en potrero aplicado en larvas de garrapatas por el hongo *Isaria fumosorosea* se realizó en la Hacienda Ganadera Asogan SD ubicada en el km 13 de la vía Santo Domingo-Quinindé en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas en el mes de agosto a septiembre 2021 (desde 23 de agosto al 21 septiembre), la fumigación mediante baños para el control de garrapatas en el ganado bovino con el uso de *Beauveria* en la Hacienda Emilandia ubicada en el km 35 en la vía Santo Domingo-Alóag, en la parroquia Alluriquín del recinto la Florida entre octubre a diciembre del 2021 (10 noviembre hasta el 10 diciembre).

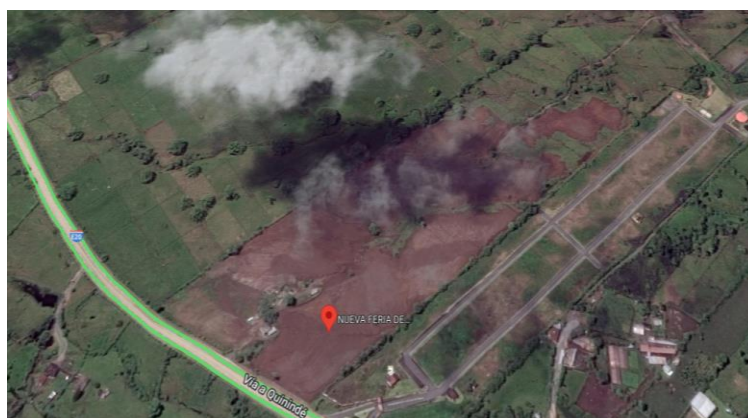


Imagen 2. Hacienda Ganadera Asogan SD.

Fuente. (Google Maps 2022)

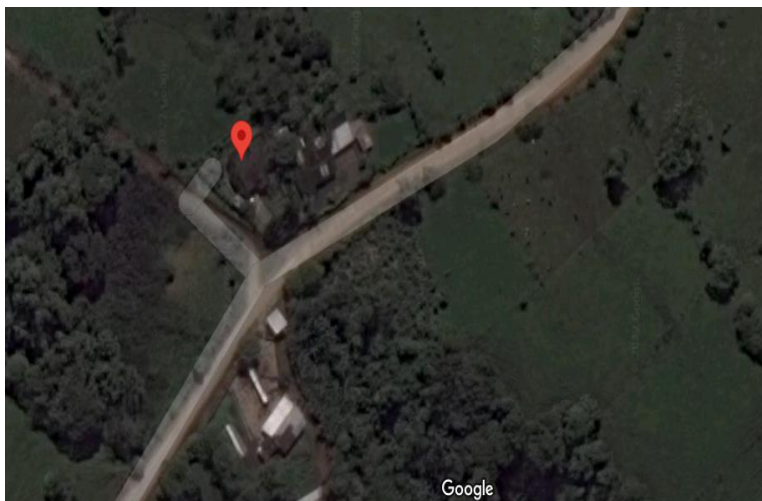


Imagen 3. Hacienda Emiliandia.

Fuente: (Google Maps, 2022).

7.2. Características climáticas de las fincas utilizadas.

Santo Domingo de los Tsáchilas está ubicado en las estribaciones de la Cordillera Occidental, a 133 Km de Quito, capital del Ecuador, se encuentra en una zona climática lluviosa subtropical, a 655 msnm, con una temperatura promedio de 22,9°C y un volumen de precipitaciones de 3000 a 4000 mm anuales. Por su ubicación geográfica, tiene un comercio muy activo, lo que lo convierte en un puerto terrestre de intercambio entre sierra y costa. La actividad más importante es la ganadera, aquí se desarrolla el mayor mercado ganadero del país (GAD, 2022).

Tabla 2. Datos reales de clima Estación NAMHI Puerto Ila Santo Domingo de Tsáchilas km 34 vía Quevedo.

Localidad 1 y 2	T° Media	T° Máxima	T° Mínima	H R Media	Punto de rocío	Heliofanía	Precipitación
-Finca 1	24,58	27,77	22,08	85,42	22,60	797	3005,44
-Finca 2							

7.3. Recolección, selección y cría de garrapatas

En la finca 1 se realizó una colecta de garrapatas teleoginas de la especie *Rhipicephalus microplus* en los bovinos adultos mediante el paso suave de la mano sobre las zonas de mayor presencia de garrapatas (ubres, patas traseras, ancas, etc.) procediendo posteriormente a desprenderlas mediante una pinza procurando no desprender el hipostoma, posterior a ello fueron ubicadas en un plato Petri en cámara húmeda (agua), en el laboratorio de Protección Vegetal de la EESD del INIAP.

En el laboratorio se seleccionaron 200 garrapatas (teleoginas) de la especie *Rhipicephalus microplus*, para la identificación se utilizó la clave dicotómica fotográfica presentada por Bolaños (2016) y basada en Guerrero (1996).

Se tomaron 20 teleoginas por plato Petri y se incubaron a 26,5°C con humedad relativa del 70%, esperando que las teleoginas ingurgitadas realicen la ovoposición, se esperó que esta se dé dentro de los 29 días observándose huevos de color café produciendo un aproximado de 200-250 huevos por hembra. Una vez obtenidos los huevecillos de las garrapatas, fueron transferidas aproximadamente 500 unidades a cada tubo de ensayo estériles de 13 x 100 mm, usando un pedazo de papel toalla humedecido con agua destilada estéril y finalmente se taponaron los tubos de ensayo con algodón para su aireación.

Los huevecillos se incubaron a 26,5°C, aplicando constantemente humedad al papel alternando agua destilada cada 3 días. esperando la eclosión (emergencia) de las larvas por 34 días.

7.4 Efecto del hongo *Isaria* en potreros artificialmente infectados para el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus* (Ensayo 1).

7.4.1 Diseño de parcelas en potrero para la infestación de garrapatas (larvas)

Se estableció un lote de 2.100 m² de parcela útil más bordes, cercado con alambre de púas para restringir el ingreso de animales durante 3 semanas de evaluación, internamente se

delimitaron los tratamientos con cuerdas plásticas de 10 m x 10 m (cuadrícula de 100 m²) dejando entre unidades experimentales un camino de separación de un metro, estableciéndose cinco tratamientos y tres repeticiones (Tabla 3). La semana previa a la instalación del ensayo se realizó un corte de igualación del potrero, uniformizando a una altura a 10 - 20 cm dependiendo del tipo de pasto.

7.4.2 Infestación de garrapatas en las parcelas experimentales

La infestación de las ninfas se realizó con la liberación de 10.000 ninfas de *B. microplus* por cada cuadrícula para proceder a la aplicación de cada uno de sus respectivos tratamientos.

7.4.3. Tratamientos

El hongos fue usado en tres dosis de 80g, 160g y 240g (Ver tabla 3). La primera aplicación se realizó 3 días posterior a la liberación de las ninfas de *Rhipicephalus microplus*, posterior a ello se aplicó los tratamientos cada siete días, por tres ocasiones.

Tabla 3. Tratamientos para el control de *B. microplus* en potrero.

Tratamiento	Dosis/200L de agua/ha	Concentración esporas / tanque	Dosis/Parcela 10L	Concentración esporas/parcelas
1. Agua + Aislado <i>Isaria</i> (80gr)	1600 gr	8x10 ¹⁰	80gr	2,4x10 ⁹
2. Agua + Aislado <i>Isaria</i> (160 gr)	3200 gr	16x10 ¹⁰	160gr	4,8x10 ⁹
3. Agua + Aislado <i>Isaria</i> (240 gr)	4800 gr	24x10 ¹⁰	240gr	7,2x10 ⁹
4. Cipermetrina 10G + Ethion	200 ml			
5. Agua (testigo)				

7.4.4. Aplicación en campo.

1. Las aplicaciones de los tratamientos de *Isaria* se realizaron en horas de la mañana 6:00 am hasta 9:00 am para disminuir el impacto de la radiación solar sobre los tratamientos.
2. Se utilizaron cinco bombas de mochila distintas con capacidad de 20 Litros (tres para los tratamientos biológicos, una para el tratamiento químico y una para el testigo).
3. El aislado *Isaria* que se encuentra en el sustrato solido (arroz) se disolvió en agua más

un adherente no iónico (detergente) a una dosis de 1ml/L (Se utilizó detergente para que las conidias se disolvieran en el agua ya que son hidrófobas).

4. Se dirigió la aplicación al follaje empleando un volumen de 200 L/ha, de la solución.
5. La aplicación del tratamiento químico fue realizada con Cipermetrina 10G + Ethion, por única vez al inicio del experimento.

7.4.5. Recuperación de larvas mediante arrastre doble de bandera

Seis días posterior a la aplicación de los tratamientos se realizaron 4 colectas (días 6-12, 18 y 24 de septiembre del 2021) realizándola en horas de la tarde, mediante sistema de banderas compuesta por una franela blanca de 2 m x 1,6 m fijado en un extremo a un tubo PVC, se utilizaron trajes especiales para la colecta. Una vez realizada la colecta de las banderas cargadas de garrapatas fueron guardadas en bolsas plásticas y llevadas a los laboratorios de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santo Domingo donde fueron almacenadas en refrigeración y posterior a ello se realizó en conteo de las larvas.

7.5. Evaluación del efecto del hongo *Beauveria* en baño para el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en bovinos (Ensayo 2)

7.5.1 Selección de animales del hato ganadero

Se utilizaron 25 unidades experimentales, mediante sorteo se escogieron un grupo de 5 animales para designarlos por cada tratamiento, los bovinos se encontraban infestados naturalmente por garrapatas; para la aplicación de los tratamientos antes y después del baño se los encerraban por grupo en una manga. Para realizar las evaluaciones en los días correspondiente los bovinos se los distinguía por su nombre que contenía en su respectivo arete y por un cartel de diferente color.

Para cada animal se procedió a realizar una ficha obteniendo los datos de la valoración clínica al inicio del experimento, las eventualidades que se presentaron durante el experimento y la valoración clínica al finalizar el experimento. Dentro de los datos que incluyeron las fichas estaban: (nombre, arete, edad, sexo, raza, propietario/finca, ubicación, propósito); dentro de las constantes fisiológicas evaluadas estuvieron: (temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, color de mucosas; y otras (condición corporal, peso corporal, campos pulmonares mediante auscultación, palpación de linfonodos, estado

productivo (preñada o vacía), estado de piel y capa, presencia de secreciones nasales, oculares, vaginales, prepuciales o en pezones.

Se realizó una valoración sanguínea (hemograma) y presencia de hemotrópicos (*Babesia* y *Anaplasma*) a cada uno de los bovinos seleccionados en los tratamientos para así evitar cualquier resultado adverso en los ensayos.

7.5.2 Tratamientos

Cinco tratamientos fueron diseñados de la siguiente manera: tres tratamientos utilizando el hongo *Beauveria bassiana* en tres dosis (80, 160 y 240 gr); un tratamiento de medicación tradicional de control de garrapatas a base de cipermetrina y un tratamiento testigo (agua) (tabla 4). Las aplicaciones de los tratamientos fueron realizados cada 15 días mediante baños con bombas de mochila a los animales.

Tabla 4. Tratamientos para el control de *B. microplus* mediante baños.

Tratamiento	Dosis/tanque 200L	Concentración esporas/ tanque	Dosis/UBA 10L	Concentración esporas/UBA
1.-Agua + Aislado <i>Beauveria</i> (80gr)	1600 gr	8×10^{10}	80gr	$1,6 \times 10^9$
2.-Agua + Aislado <i>Beauveria</i> (160 gr)	3200 gr	16×10^{10}	160gr	$3,2 \times 10^9$
3.-Agua + Aislado <i>Beauveria</i> (240 gr)	4800 gr	24×10^{10}	240gr	$4,8 \times 10^9$
4.-Cipermetrina 10G + Ethion	200 ml			
5.-Agua (testigo)				

Sitio de evaluación. - La región inguinal fue usada para la evaluación de la efectividad del tratamiento, se hacía el conteo de las garrapatas que se mantenían en el animal manualmente y se llevaba en un registro que se comenzó antes de la aplicación de los tratamientos, entre una observación a otra, se asumió que la disminución de las garrapatas en los animales se debió al efecto tratamiento.

7.5.3 Variables evaluadas

La variable que se evaluó a cada una de las parcelas es para obtener el promedio de garrapatas cosechadas mediante el uso del hongo entomopatógeno *Isaria*.

El porcentaje de mantenimiento de garrapatas en los animales se consideró el número de garrapatas iniciales contándolas manualmente en la zona inguinal en el día cero de evaluación durante los 15 días que corresponde a cada baño uso del hongo entomopatógeno *Beauveria* spp, mediante conteo manual posterior a ello se evaluó la viabilidad de la garrapata en cada uno del animal en los días 3, 5, 10 y 15

7.6. Análisis estadístico

Se realizó mediante un diseño completamente al azar cumpliendo con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, a través de las pruebas Shapiro Wilk y Levene respectivamente para obtener los porcentajes de mantenimiento de garrapatas cosechadas en las praderas.

Para el calcular el porcentaje de mantenimiento de garrapatas sobre los animales se calculó la mediana y el rango intercuartil (IQR) como estimadores puntuales y de dispersión, las medianas de los porcentaje de mantenimiento a los diferentes tratamiento fue utilizado la prueba de Kruskal-Wallis y para comparación múltiples de las medianas se aplicó la prueba Dwass-Steel-Critchlow-Fligner (DSCF) al 90% de confianza, los análisis se realizaron con la ayuda de los software R y Jamovi (R Core Team 2019; Jamovi project 2020).

VIII. RESULTADOS

8.1.- Acción de los tratamientos con *Isaria* en el control de garrapatas en potrero

Al evaluar las praderas donde se aplicaron los diferentes tratamientos de *Isaria* (T1, T2, T3, T4, T5) se encontraron diferencias estadísticas entre ellos en todos los días evaluados (6,12,18,24), ver tabla 5.

Se observa en el día 6 diferencia significativa entre los tratamientos, al comparar las medias se observó que el tratamiento químico (T4) generó menor cosecha de garrapatas con un promedio de 223 garrapatas en las praderas evaluadas, seguida de los tratamientos con *Isaria* spp (T1, T2, T3), donde no existió diferencias significativas entre ellos, por el contrario, estos tratamientos fueron diferentes al testigo (T5) compuesto por agua. En las aplicaciones de los días 12 y 18 se observó que el promedio de garrapatas en los grupos T4 y T5 son iguales, pero existieron diferencias significativas con los demás tratamientos (T1, T2, T3), se observó que el promedio de T4 fue menor en las cosechas de estos días. En el día 24 de evaluación la cosecha de garrapatas obtenida en el T4 fue similar a los tratamientos T2 y T3; siendo diferentes el T4 del tratamiento T1(ver tabla 5).

Tabla 5. Promedio de garrapatas por tratamiento cosechadas mediante el uso del hongo entomopatógeno *Isaria* en potreros infestados artificialmente con *Rhipicephalus microplus*.

Tratamiento	Día 6	Día 12	Día 18	Día 24
T1(80g)	334,25 ± 82,35 a	268,00± 77,77 b	154,00± 76,85 b	44,0± 23,70 b
T2 (160g)	402,00± 60,70 a	236,50± 66,85 b	139,50± 51,02 b	37,0± 22,44 ab
T3(240g)	418,75 ± 111,67 a	231,50± 83,22 b	142,00± 51,76 b	40,0± 21,77 ab
T4(Químico)	223,73 ± 73,87 a	55,00 ± 33,11 a	5,75± 5,05 a	0,0± 0,0 a
T5 (Agua)	5172,00± 938,13 b	181,25 ± 50,24 ab	65,50± 40,73 ab	19,5± 11,90 ab
Valor p	1.04e-10 ***	0.00269 **	0.00343 **	0.0215 *

Datos expresados como promedio ± desviación estándar; letras diferentes indica diferencia entre tratamientos a la prueba de Tukey

8.2.- Efecto de los tratamientos en el porcentaje de mantenimiento de garrapatas en los animales

Al realizar la aplicación del hongo entomopatógeno en baños bajo los diferentes tratamientos, se observó que no hay diferencias significativas en los días 3 y 15 de evaluación en relación al porcentaje de mantenimiento de las garrapatas en el animal; sin embargo, en los días 5 y 10 se observaron diferencias entre los porcentajes de mantenimiento entre los tratamientos, ver tabla 6.

Tabla 6. Porcentaje de mantenimiento de garrapatas para los diferentes tratamientos con *B. bassiana* del primer ensayo.

Tratamiento	Día 3 Md (IQR)	Día 5 Md (IQR)	Día 10 Md (IQR)	Día 15 Md (IQR)
T1 (80g)	53,33 (7,28)	35,29 (4,52)	76,47 (52,17)	194,12 (163,91)
T2 (160g)	60,00 (7,28)	43,48 (8,47)	35,08 (21,36)	104,35 (22,4)
T3 (240 g)	82,17 (78,18)	60,00 (57,59)	57,57 (96,66)	104,76 (94,85)
T4 (Químico)	34,14 (49,02)	11,76 (31,71)	33,33 (1,79)	82,35 (143,9)
T5 (Agua)	102,74 (35,22)	112,63 (88,27)	179,17 (67,31)	153,3 (97,29)
Valor p	> 0.6976 ^{ns}	<0,02325 *	<0,0457 *	> 0.7681 ^{ns}

Md= mediana IQR=rango intercuartílico

Cuando se evalúan las medianas de los tratamientos en los días 5 y 10 de aplicación se observa que el T4 y el T2 son diferentes al testigo (T5) en la cantidad de garrapatas de mantenimiento al 90%, sin embargo, estos tratamientos son iguales entre T1 y T3, lo que indica que cualquier tratamiento sea químico o con hongos entomopatógenos sirve como control de la garrapata posterior a su aplicación ver tabla 7 y 8.

En el día 5 y 10 de evaluación el T4 logró un porcentaje menor de mantenimiento de garrapatas 11,76 %, y 33,3% respectivamente, siendo diferente a los demás tratamientos.

Tabla 7. Comparación de medianas del primer ensayo en el día 5 después de la primera aplicación.

Comparación de los tratamientos		W	P. Valor
T1 (80 gr)	T2 (160 gr)	1.329	0.882
T1 (80 gr)	T3 (240 gr)	1.185	0.919
T1 (80 gr)	T4 (Químico)	-1.645	0.773
T1 (80 gr)	T5 (Testigo)	3.102	0.182
T2 (160gr)	T3 (240 gr)	0.739	0.985
T2 (160gr)	T4 (Químico)	-1.926	0.652
T2 (160gr)	T5 (Testigo)	3.693	0.068
T3 (240 gr)	T4 (Químico)	-2.519	0.385
T3 (240 gr)	T5 (Testigo)	1.625	0.780
T4 (Químico)	T5 (Testigo)	3.704	0.067

Tabla 8. Comparación de medianas en el primer ensayo del día 10 después de la primera aplicación.

Comparación entre los tratamientos		W	P. Valor
T1 (80 gr)	T2 (160 gr)	-2.511	0.388
T1 (80 gr)	T3 (240 gr)	-0.148	1.000
T1 (80 gr)	T4 (Químico)	-2.216	0.519
T1 (80 gr)	T5 (Testigo)	2.806	0.274
T2 (160gr)	T3 (240 gr)	1.329	0.882
T2 (160gr)	T4 (Químico)	-0.443	0.998
T2 (160gr)	T5 (Testigo)	3.693	0.068
T3 (240 gr)	T4 (Químico)	-1.185	0.919
T3 (240 gr)	T5 (Testigo)	1.625	0.780
T4 (Químico)	T5 (Testigo)	3.102	0.182

Al realizar una segunda aplicación de los tratamientos a los animales en experimentación, se observa que en los días 3 y 5 existió diferencias significativas entre los tratamientos ver tabla 9.

Tabla 9. Porcentaje de mantenimiento de garrapatas para los diferentes tratamientos con B. bassiana del segundo ensayo.

Tratamiento	Día 3 Md (IQR)	Día 5 Md (IQR)	Día 10 Md (IQR)	Día 15 Md (IQR)
T1 (80g)	50,00 (14,28)	28,57 (11,09)	32,14 (23,53)	80,00 (26,19)
T2 (160g)	45,83 (6,09)	20,83 (2,22)	44,44 (12,70)	75,75 (42,02)
T3 (240 g)	54,71 (21,11)	30,19 (11,88)	50,94 (24,19)	59,57 (5,66)
T4 (Químico)	41,66 (15,68)	17,85 (18,11)	71,42 (30,43)	113,04 (17,86)

T5 (Agua)	74,1 (44,66)	57,70 (20,94)	103,91 (46,32)	81,00 (39,32)
Valor p	<0,03675*	<0,02324 *	>0,1635 ^{ns}	> 0.1077 ^{ns}

Md= mediana IQR=rango intercuartílico

No se observó diferencias significativas en los porcentajes de mantenimiento de garrapatas en los días 10 y 15, donde todos los tratamientos funcionaron iguales.

Cuando se evalúa las medianas de los tratamientos en los días 3 y 5 de aplicación se observa que el T4 y el T2 son diferentes al testigo (T5) en la cantidad de garrapatas de mantenimiento al 90%, sin embargo, estos tratamientos son iguales entre T1 y T3 ver tabla 10 y 11.

Tabla 10. Comparación de medianas en el día 3 después de la segunda aplicación.

Comparación entre los tratamientos		W	P. Valor
T1 (80 gr)	T2 (160 gr)	-1.346	0.877
T1 (80 gr)	T3 (240 gr)	0.444	0.998
T1 (80 gr)	T4 (Químico)	-1.926	0.652
T1 (80 gr)	T5 (Testigo)	2.519	0.385
T2 (160gr)	T3 (240 gr)	1.920	0.655
T2 (160gr)	T4 (Químico)	-1.034	0.949
T2 (160gr)	T5 (Testigo)	3.693	0.068
T3 (240 gr)	T4 (Químico)	-1.920	0.655
T3 (240 gr)	T5 (Testigo)	2.511	0.388
T4 (Químico)	T5 (Testigo)	3.102	0.182

Tabla 11. Comparación de medianas en el día 5 después de la segunda aplicación.

Comparación entre los tratamientos		W	P. Valor
T1 (80 gr)	T2 (160 gr)	-0.148	1.000
T1 (80 gr)	T3 (240 gr)	1.920	0.655
T1 (80 gr)	T4 (Químico)	0.000	1.000
T1 (80 gr)	T5 (Testigo)	3.693	0.068
T2 (160gr)	T3 (240 gr)	1.625	0.780
T2 (160gr)	T4 (Químico)	-0.739	0.985
T2 (160gr)	T5 (Testigo)	3.693	0.068
T3 (240 gr)	T4 (Químico)	-1.034	0.949
T3 (240 gr)	T5 (Testigo)	2.806	0.274
T4 (Químico)	T5 (Testigo)	3.397	0.115

8.3 Costos de tratamiento contra garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

8.3.1 Costos de tratamiento en praderas

Cuando se evaluaron los costos de producción de los tratamientos versus la cantidad de garrapatas cosechadas se puede evidenciar que, aunque el tratamiento T4 resulta menor cantidad de garrapatas cosechadas su costo es de 30,60 USD, mientras que los tratamientos T1, T2 y T3 que utilizan hongo entomopatógeno *Isaria* resultan ser de menor costo que el T4 (14,32; 15,72 y 17,12 USD respectivamente).

Tabla 12. Costos de los tratamientos para el control de garrapatas *R. microplus* en potrero.

Actividades	Cant.	Valor Uni.	T1	T2	T3	T4
		(USD)	80g	160g	240g	
Hongos	800g	3,51	0,35	0,70	1,05	-
Mano de obra	4h	12,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Ethion+Cipermetrina	100ml	7,50	-	-	-	4,50
Agua	200L	0,31	0,15	0,15	0,15	0,15
Detergente	150g	0,50	0,08	0,08	0,08	
Total, aplicación			3,58	3,93	4,28	7,65
Aplicaciones			4	4	4	4
Total, Tratamiento			14,32	15,72	17,12	30,60
Promedios de cosecha			800+229	815+2163	832+259	285+93

T5 (testigo) 5438+956

8.3.2 Costos de tratamiento mediante baños de aspersión animales

Al evaluar los costos incurridos en los baños de aspersión al diferente tratamiento comparado con los porcentajes de mantenimiento de garrapatas observados en la tabla 7, se observa que en los días 5 y 10 de aplicación los mejores tratamientos son el T4 con un costo de 13.86 el T2 con 9,10 USD

Tabla 13. Costos de los tratamientos para el control de garrapatas *R. microplus* en animales.

Actividades	Cant.	Valor Uni.	T1	T2	T3	T4
		(USD)	80g	160g	240g	
Hongos	800g	3,51	0,35	0,70	1,05	-
Mano de obra	3H	12,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Ethion+Cipermetrina	100ml	7,50	-	-	-	2,81
Agua	125L	0.31	0,12	0,12	0,12	0,12
Detergente	150g	0.50	0,08	0,08	0,08	
Total, aplicación			4,55	4,90	5,25	6,93
Aplicaciones			2	2	2	2
Total, Tratamiento			9,10	9,80	10,50	13,86
Md +IQR de mantenimiento			54,65+10,3	48,68+7,3	53,59+13,7	41,30+21,9
T5=92,45+27,6						

IX. DISCUSIÓN

En el Ecuador, y en el resto de zonas tropicales y subtropicales del mundo la actividad ganadera se ve influenciada por *Rhipicephalus microplus*, los cuales son parásitos artrópodos hematófagos causantes de lesiones provocadas al alimentarse de la sangre y la inoculación de toxinas que afectan a los bovinos en todas sus edades, por lo tanto, la infestación por garrapatas trae aparejado muchos síntomas no propios, sino de enfermedades que ellas transmiten siendo estas; Anaplasmosis bovina , Piroplasmosis bovina (causada por *Babesia bovis* y *B. bigémina* principalmente y por *B. divergens*), y la fiebre Q (*Rickettsia burnetti*), causándoles anemia, siendo estas, desde la más insignificante hasta la que puede producir la muerte, siempre dependiendo de la carga parasitaria, del estado general del animal de su condición fisiológica y del ambiente.

Debido a la gran resistencia de las garrapatas que están generando los insecticidas y que es uno de los principales problemas que afectan a los productores bovinos, especialmente las garrapatas del género *Rhipicephalus* B. (Díaz-Alonso *et al.*, 2006), se realizó en este estudio la implementación de una alternativa de control, que fue el uso de hongos entomopatógenos (*Isaria fumosorosea* y *Beauveria bassiana*) en el control biológico de garrapatas apoyados en los conocimientos expresados por Gálvez, *et al.*(2017) donde expresan que los hongos entomopatógenos como el *Metharrizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* han demostrado tener gran potencial para el control biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* así mismo Guzmán, *et al* (2019) indican que los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plagas, debido a que se vuelven persistentes y hacen innecesarias nuevas aplicaciones, no contaminan el medio ambiente ni afectan al hombre u otros animales superiores.

La aplicación de hongos entomopatógenos en el ganado bovino fue realizada en horas de la mañana para disminuir el impacto de la radiación solar sobre los tratamientos ya que no son resistentes y pierden su efecto, así como menciona Hernández (2002) que los hongos entomopatógenos son seres vivos que no son resistentes algunas condiciones climáticas.

Para poder establecer algún método de control de la garrapata fue esencial contar con un sistema que determine la presencia de las fases, tanto parasitas en el hospedero como no parasitas en los pastos, una manera fácil y útil fue una técnica llamada arrastre de doble bandera, como Ruvalcaba (1996) ha usado la técnica de arrastre con bandera, sin embargo, no existen estudios comparativos que involucren diferentes técnicas para el muestreo de pastizales infestados con la fase larval de vida libre de *B. Microplus*. Es importante señalar que los ganaderos deben contar con una metodología segura, práctica, de poca variabilidad, para determinar el grado de infestación de los potreros, antes de introducir ganado.

En el primer experimento donde se evaluó la acción de la aplicación de *Isaria* en los pastos, una vez evaluadas las praderas en los días 6, 12, 18 y 24, la presencia de diferencias estadísticas en las evaluaciones de los tratamientos fue debido a que el día 6 de cosecha de garrapata el T5 se observó la mayor recolección de garrapatas a diferencia de los demás tratamientos evidenciando que el T4 ethion/cipermetrina generó menor cosecha de garrapatas con un promedio de 223 larvas debido a su efecto inmediato de acción sobre las garrapatas, tal como lo señala Membreño *et al* (2015) indica que éstas mueren dos días posterior a su aplicación, ocasionando un efecto del 99,8% sobre huevo, larva, ninfas y adultas, de *B. microplus* quedando inmediatamente paralizados (Cerdeña *et al* 2015).

En las aplicaciones de los días 12 y 18 se observó que el T4 nuevamente obtuvo un menor promedio de garrapatas cosechadas, esto se explica porque según Junquera (2022) si la dosis no ha sido lo suficientemente alta se recuperan del choque del químico.

En el día 24 de evaluación la cosecha de garrapatas obtenida en el T4 fue similar a los tratamientos T2 y T3; siendo diferentes el T4 obtuvo un promedio de 0 esto debido al efecto de residualidad que contiene el químico indicado por Junquera (2022), sin embargo, no hay estudios comparativos donde se haya realizado el control de *Isaria* sp en larvas de garrapatas, pero sí estudios realizados de su acción sobre otros insectos como *Eublemma amabilis* donde indica Das P *et al*, (2019) que la larva fueron muy afectada por *Isaria* y la mortalidad a medida que los días aumentan. Así mismo Morales (2019) demuestra que después de una tercera aplicación para el control de larvas de *Amblyomma cajennense* aplicados al pasto, el tratamiento con *M. anisopliae* y fipronil tuvieron efecto mostrando

una reducción de larvas de garrapatas, ya que con un mayor control de hongos entomopatógenos mayor efecto se obtendrá.

Otros estudios han reportado una eficacia de *M. anisopliae* para el control de larvas de *R. microplus* que va del 60% al 97% dependiendo de la cepa y la concentración de conidios, las larvas son el estado de desarrollo más susceptible a los hongos entomopatógenos (Cruz-Avalos et al 2015).

En el caso de la aplicación del primer baño de *Beauveria spp* en bovinos del segundo experimento se observó que en el día 3 de evaluación en relación al porcentaje de mantenimiento de las garrapatas, no hubo diferencias significativas. Esto debido a que el hongo (*Beauveria bassiana*) en nuestro estudio mostró diferencias a partir del quinto día en adelante, como indica Briones (2021) donde *Beauveria bassiana*, a partir del día 7 post-aplicación tiene mayor efecto en el control de las garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, de igual manera Ethion/Cipermetrina que fue utilizado como uno de los tratamientos aplicados. Salazar (2019) demostró en su investigación que el tratamiento químico con Ethion/Cipermetrina en el control de garrapatas fue más eficiente en los días 7 y 9 en comparación a los tratamientos biológicos y testigo.

En los días 5 y 10 donde se obtuvo mayor control en garrapatas fue con el T4, ya que presentó menor porcentaje de mantenimiento de garrapatas con un 11,76% y 33,33% respectivamente, estos resultados son similares a los de Salazar, (2019) que en sus 6 tiempos de conteos el que menor número promedio de garrapatas presentó, fue el tratamiento químico con un 3,11% en el día 7 y 2,11% en el noveno día. En cuanto al control biológico con un menor porcentaje de mantenimiento de garrapatas a partir del 5to y 10mo día fue el T1 con un 35,29% y T2 con el 35,08% haciendo comparación con Briones *et al*, (2021) donde sus resultados fueron a partir del 7mo día en los tratamientos T3 (80gr), T4 (160gr) y T5 (240gr) obteniendo valores significativos en la reducción del número de garrapatas, así mismo García P, et al (2013) en su estudio realizado en bovinos infestados artificialmente, demostraron la eficacia del hongo sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* al disminuir la cantidad de larvas, ninfas y adultas, desde los 7 a los 21 días de la inoculación fúngica.

Las diferencias no significativas que se presentó en el día 15 en la primera aplicación mediante baños se debió posiblemente al incremento de garrapatas debido a una reinfestación tal y cual lo indica Muñoz (2007) que la gran variabilidad en datos y comportamientos se atribuyeron a reinfestaciones en los pastizales, ya que los tratamientos solo fueron aplicados a los animales más no en los potreros. De otra parte, la presencia de lluvias posiblemente favoreció a la proliferación de las garrapatas donde los animales pastoreaban ayudando a la reinfestación tal como lo manifiesta Bustillos (2014) que la precipitación influye significativamente en la infestación de garrapatas; además, observa que el número de garrapatas aumenta de acuerdo a la época lluvia y de sequía de 19 a 34 teleoginas por animal respectivamente.

Para la segunda aplicación de *Beauveria*, en los días 3 y 5 hubo diferencias significativas entre todos los tratamientos, siendo el T4 el que obtuvo menor porcentaje de mantenimiento de garrapatas con un 41,66 % y 17,85% esto debido a que contiene un mayor control en las garrapatas como lo indica Domínguez *et al* (2010) que en la actualidad los acaricidas químicos como; arsenicales, piretroides sintéticos, carbamatos, amidinas e ivermectinas siguen siendo usados como método principal evitar la presencia de garrapatas en bovinos lo que permite reducir su población.

No obstante, para estos primeros días detrás del T4 como el menor en porcentajes de mantenimiento de garrapatas en el animal, sigue siendo como alternativa el control biológico como el T2 que mostró un porcentaje de 45,83% y 20,83% durante las primeras semanas de control hubo también disminución en los porcentajes de mantenimientos, resultados similares fueron encontrados por Salazar (2019) que evidenció que *M. anisopliae* y *B. Bassiana* disminuyeron la infestación de *Rhipicephalus microplus* en el ganado vacuno, entre una a dos semanas aproximadamente, así mismo Kaaya *et al* (1996) con la aplicación de estos mismos hongos obtuvieron efecto de control más prolongados de entre una a tres semanas post-aplicación, esto debido a que los hongos entomopatógenos normalmente son de acción lenta, ya que depende generalmente de las condiciones ambientales de temperatura y de elevada humedad relativa para que su desarrollo y acción patógena sea la adecuada, tardan una semana para eliminar su víctima o al menos que esta

deje de alimentarse (González-Castillo *et al*,2012).

Pérez J. (2007) asegura que la mortalidad ocasionada a *Boophilus microplus* por *Beauveria bassiana* en condiciones de campo, con aplicaciones repetidas cada 15 días, en horas de baja radiación solar, el porcentaje de mortalidad disminuyó con el paso de los días debido a que había una interacción entre el ambiente, las garrapatas del animal y los hongos. En el presente estudio el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* disminuyeron por dos semanas en cada una de las aplicaciones. En el ensayo de Martínez-Tinajero *et al* (2014) presentan resultados similares con efectos de *M. anisopliae* tiene mayor control de garrapatas por dos semanas.

Unas de las ventajas al no haber infestado a los bovinos artificialmente es que su ubicación puede detectarse a simple vista en zonas como la ubre, cuello, abdomen, rabo y orejas sin causar mucho estrés al animal, como al infestar artificialmente ya que sería una desventaja al coger garrapatas ingurgitada, de un hospedero y que sea llevada al laboratorio para que cumpla en su fase de eclosión de sus larvas y trasladarlas a un nuevo hospedero lo que pueden producir la transmisión de importantes patógenos que pueden causar graves enfermedades parasitarias. Así mismo es de mayor facilidad al momento del control de fumigación y conteo del área a experimentar.

Los hongos entomopatógenos dependerán del nivel de control de cada plaga como lo indica González -Castillo *et al* (2012), en este caso se utilizaron dos cepas diferentes entre animales y pradera como *Isaria spp.* y *Beauveria Bassiana sp.* cada una para su diferente estadio de garrapata, en este caso la ventaja de *Isaria sp*, aunque no hay mayores investigaciones utilizadas en garrapatas, pero es más eficaz en el estadio de huevo y larva como indica Benites *et al* (2019) *Beauveria Bassiana sp.* infecta y controla de manera efectiva las poblaciones de garrapatas (*Boophilus microplus*) presentes en el ganado bovino Fernández (2006).

Para realizar el análisis económico se calcularon los costos de mano de obra y los costos de los productos aplicados para las diferentes dosis en cada uno de los ensayos, tanto en pradera como en baños, se pudo observar que el que presentó mayor costo, fue

ethion/cipermetrina seguido por los tratamientos de hongos entomopatógenos que obtuvieron menor costo, es importante aclarar, que aunque el ethion/cipermetrina obtuvo mayor control en mantenimiento de garrapatas en los bovinos, no asegura la sostenibilidad ganadera y no se descarta como alternativa de control en garrapatas a los hongos entomopatógenos, similares resultado obtuvo Salazar (2019) que el tratamiento químico obtuvo mayor costo económico seguido de *Beauveria* mientras que tratamiento *M. anisoplae* fue el que tuvo menor costo, Fernández (2006) indica que el control biológico aumenta debido a la frecuencia de aplicaciones. Monzón, A. (2002) en su estudio indica que el uso excesivo de plaguicidas provoca efectos negativos en el suelo, el agua y el ambiente, además ha contribuido a aumentar los problemas de plagas debido al desarrollo de resistencia y a la destrucción de los enemigos naturales llegando incluso afectar la salud de las personas.

X. CONCLUSIONES

1. En el día 6 el tratamiento T4 Ethion+Cipermetrina fue el que presentó mayor eficacia a partir de la primera aplicación con un promedio de 224 garrapatas, sin embargo, la acción de *Isaria fumosorosea* se presenta como una alternativa en el control biológico de garrapatas en potrero, observando en el T1(80gr) un promedio en cosecha de 334 garrapatas
2. El tratamiento T4 compuesto por Ethion+Cipermetrina se observó un menor porcentaje de mantenimiento de garrapatas del 11,76% seguido del T1 (80 gr) con el 35,29% resultando ser un tratamiento viable y una alternativa para el control de garrapata a partir del día 5 de la primera aplicación mediante baños de aspersión.
3. El uso de hongos entomopatógenos *Isaria fumosorosea* y *Beauveria Bassiana*, resultaron ser una alternativa en el control biológico en garrapatas tanto en potreros como en los animales, debido a que presentó un mejor costo en comparación con el Químico (Ethion+Cipermetrina).

XI. RECOMENDACIONES

1. El uso de hongos entomopatógenos debería ser usada como una estrategia de manejo sanitario en el ganado bovino como alternativa para el control biológico en garrapatas ya que por sus ventajas que estos presentan se puede disminuir la utilización de químico que genera resistencia en las garrapatas y contaminación de sus residuos.
2. Para que exista un buen manejo y control de los hongos entomopatógenos en garrapatas deberían ser aplicados donde no haya radiación solar ya que este es un principal factor destructivo que afecta la persistencia y los inactiva.
3. Realizar nuevos estudios que permitan validar su eficacia bajo condiciones naturales de campo sobre potreros y animales y evidenciar una mejor respuesta en el control de garrapatas.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Alcides Moino Jr, R. S. (2002). Hongos y nematodos. Obtenido de <https://bit.ly/3qDvzzP>
2. Á. Peña Irún, M. G. (2011). Alveolitis alérgica extrínseca. Recuperado el 31 de marzo de 2021, de <https://bit.ly/39wtMHg>
3. Araujo., E. (2009). Hongos entomopatógenos: importante herramienta para el control de “moscas blancas” (Homoptera: *Aleyrodidae*). Obtenido de <https://bit.ly/3t5JaSb>
4. Avalos, A. C., Vázquez, C. C., Lezama, R., Vitela, I., & Sahagún, C. (2015). Selección de aislados de hongos entomopatógenos para el control de *Rhipicephalus Microplus* (Acari: *Ixodidae*). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 175-180.
5. Bastidas, A. (2010). Diversidad genética de una colección de hongos entomopatógenos mediante marcadores moleculares AFLP. Obtenido de <https://bit.ly/30sH2I9>
6. Benavides, E., Romero, J., & Villamil, L. (2016). Las garrapatas del ganado bovino. Obtenido de <https://bit.ly/3qunzBr>
7. Benites Amaya, K. B., & Llanos Caballero, J. E. E. (2019). Efecto de la coinoculación de *Beauveria bassiana* e *Isaria fumosorosea* sobre la viabilidad de larvas de *Spodoptera eridania* en condiciones de laboratorio. Obtenido de <https://bit.ly/3EThYND>
8. Bolaños, D. (2016). Distribución geográfica y caracterización taxonómica de las especies de garrapatas que afectan al ganado bovino en la provincia de Los Ríos. Obtenido de <https://bit.ly/3byyAgP>

9. Botello, A. R., Botello, A. L., Borroto, C. N., Suárez, M., Pérez, D. A., Rodríguez, Y. V., ... & Gort, A. M. (2011). Control de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus)*. Obtenido de <https://bit.ly/3LCJd0U>
10. Bustillos, R. (2014). Ecología parasitaria de la garrapata (*acarí: ixodidae*) en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador. Obtenido de <https://bit.ly/30twCYu>
11. Bustillos, R., Carrillo, J., Jacho, G., Enríquez, S., & Rodríguez, R. (2015). Comportamiento Poblacional de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador. Obtenido de <https://bit.ly/3vcVDoX>
12. Carr Espinoza, L. A. (2016). Utilización del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para el control de garrapatas (*Ixodes ricinus*) en hatos ganaderos de la zona de Pueblo viejo. Obtenido de <https://bit.ly/3cvjSHR>
13. Carrascal, R. C. (2019). Cambio climático y seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el Caribe. Impacto de buenas prácticas de producción ganadera con bajas emisiones de gases de efecto invernadero en la seguridad alimentaria, la nutrición y el medio ambiente. Obtenido de <https://bit.ly/3veB9My>
14. Cedeño V. (2014). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Obtenido de <https://bit.ly/3kZOdAY>
15. Cerda, P., Silva, L., Gutiérrez, W., Mieres, J. J., París, E., & Ríos, J. C. (2015). Intoxicaciones veterinarias en Chile reportadas al Centro de Información Toxicológica de la Pontificia Universidad Católica de Chile (CI TUC). Revista de Toxicología. 32(2), 117-120. Obtenido de <https://bit.ly/3L7c1iE>

16. Cfsph, The Center for Food Security Public Health. (2007). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Garrapata del ganado del sur, garrapata del ganado bovino. Obtenido de <https://bit.ly/3sd2I9b>
17. Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). *Beauveria Bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras. Obtenido de <https://bit.ly/3ewZojv>
18. Cruz, R. R. (2010). Rosario, C. R., Domínguez, G. D. I., Rojas, R. E., Ortiz, E. M., & Martínez, I. F. (2010). Estrategias para el control de la garrapata *Boophilus microplus* y la mitigación de la resistencia a los pesticidas. Obtenido de <https://bit.ly/2PLxB4d>
19. Das, P., Borah, B., Saikia, P., TH, S., & Chakraborty, D. (2019). Efficacy of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* against *Eublemma amabilis* (Noctuidae: Lepidoptera): a predator of lac insect, *Kerria lacca* (Kerr). Obtenido de <https://bit.ly/38qV3gx>
20. Delgado, P. M., & Ordoñez, B. M. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. Obtenido de <https://bit.ly/3rzxpDt>
21. Díaz-Alonso, M. A., Rodríguez-Vivas, R. I., Fragoso-Sánchez, H., & Rosario-Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los *ixodicidas*. Archivos de medicina veterinaria, 38(2), 105-113. Obtenido de <https://bit.ly/3rXxD9p>
22. Domínguez-García, D. I., Rosario-Cruz, R., Almazán-García, C., Oaxaca, J. A. S., & De la Fuente, J. (2010). *Boophilus microplus*: Aspectos biológicos y moleculares de la resistencia a los acaricidas y su impacto en la salud animal. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 12(2), 181-192. Obtenido de <https://bit.ly/3ES8ClT>

23. Francisco Urrea. (2015). Hongos Entomopatógenos como control de plagas de insectos. Obtenido de <https://bit.ly/3l4QIli>
24. Fernández, J. A. (2006). Evaluación de la eficiencia del control de garrapatas (*Boophilus microplus*) con tres frecuencias de aplicación de BAZAM® (*Beauveria bassiana*). Obtenido de <https://bit.ly/3OCDjj7>
25. GAD Municipal Santo Domingo. (2022). Obtenido de <https://bit.ly/3LRVbEU>
26. Gálvez, A. B., Segura, R. P., & Gómez-Vázquez, A. (2017). Control biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* con hongos entomopatógenos/Biological Control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with Entomopathogenic Fungi. CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias, 6(12), 33-62. Obtenido de <https://bit.ly/3ju0ZaK>
27. Gandarilla, F., Morales, L., Pereyra, B., Santos, M., & Quintero, I. (2018). Producción de unidades infectivas de *Isaria fumosorosea* (*Hypocreales: Cordycipitaceae*) a partir de aislados nativos del noreste de México mediante 3 estrategias de propagación. Elsevier, 81-89.
28. García, D. (2013). Evaluación in vitro del efecto de *Cordyceps Beauveria bassiana* en el control biológico de la fase adulta de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Obtenido de <https://bit.ly/3t7IpZ2>
29. García-Lina, P., & Osorio-Miranda, J. (2013). Evaluation of natural origin products for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle artificially infested. Obtenido de <https://bit.ly/3vgEVGp>

30. Gómez, H., Zapata, A., Torres, E., & Tenorio, M. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. Obtenido de <https://bit.ly/3t7LEzz>
31. González-Castillo, M., Aguilar, C. N., & Rodríguez-Herrera, R. (2012). Control de insectos-plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas. Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, 4(8), 42-55. Obtenido de <https://bit.ly/37PCeDR>
32. Guzmán, D. R., Almuiña, Y., Hernández, D. G., & los Baños, A. (2019). Los hongos entomopatógenos y su posible uso en el manejo de *lasioderma serricorne*. CUBA TABACO, 66. Obtenido de <https://bit.ly/3JBFcc3>
33. Hernández, C. E. (2006). Estudio de garrapatas del género *Ixodes* en roedores sigmodontinos y el pudú en la décima región. Obtenido de <https://bit.ly/3cewz8y>
34. Hernán Chiriboga P. Graciela Gómez B. Karla Garcés E. (2015). IICA. Obtenido de <https://bit.ly/3oPyTCj>
35. Hidalgo Mata David Adrián. (2019). Desarrollo de una metodología de Peletización para *Beauveria bassiana* con insumos Peruanos. Recuperado el 31 de Marzo de 2021, de <https://bit.ly/3ug4XY9>
36. Kaaya, G. P., Mwangi, E. N., & Ouna, E. A. (1996). Prospects for Biological Control of Livestock Ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, Using the Entomogenous Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium Anisopliae*. Journal of invertebrate pathology, 67(1), 15-20. Obtenido de <https://bit.ly/3LWdCYz>
37. Martínez-Tinajero, J. J., Izaguirre-Flores, F., Aguirre-Medina, J. F., Ley de Coss, A., Osorio-López, M. W., & Jáuregui-Jiménez, R. (2014). Control

biológico de garrapata (*Boophilus*) con diferentes cepas de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) sorokin en bovinos. AGRO. Obtenido de <https://bit.ly/3Jzl7mU>

38. Membreño Rodríguez, H. J., & Ortiz Ayal, D. C. (2015). Efectividad de los garrapaticidas (piretroides, amidinas, organofosforados) in vitro bajo las condiciones ambientales de la finca experimental " Las Mercedes", municipio de Managua durante junio–septiembre 2015 (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria, UNA). <https://bit.ly/37DVHBB>
39. Moncada, A., Villar, D., Chaparro, J., Arizala, J., & Mahecha, L. (2015). Aproximación al uso de hongos entomopatógenos y vacunas para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos: revisión. Obtenido de <https://bit.ly/30xfn8I>
40. Monzón, A. (2002). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Obtenido de <https://bit.ly/3juJk31>
41. Morales, A. Y. (2019). Evaluación de tres agentes biológicos para el control de larvas de garrapatas (*Amblyomma cajennense*) en potreros del Club Hípico de Zamorano, Honduras. Obtenido de <https://bit.ly/3JtqeEQ>
42. Mutz, I. (2009). Las infecciones emergentes transmitidas por garrapatas. Obtenido de <https://bit.ly/3t7FSOi>
43. Muñoz, A. G. (2007). Eficiencia de BAZAM® (*Beauveria bassiana*) y METAZAM® (*Metarhizium anisopliae*) en el control de garrapatas (*Boophilus microplus*) en ganado lechero de Zamorano, Honduras. Obtenido de <https://bit.ly/3JOWYZZ>

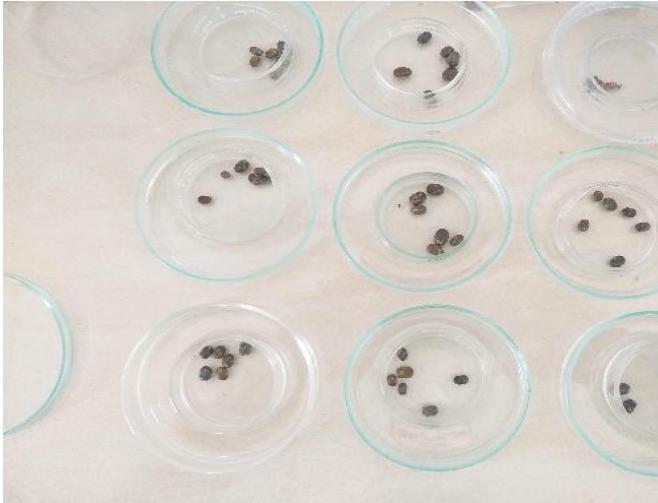
44. Narcizo, J. (2012). PATOGENICIDAD DE (*Isaria fumosorosea* Wize) (*Ascomycota: Hypocreales*) CONTRA (*Diaphorina citri* Kuwayama) (*Hemiptera: Psyllidae*) Y OTROS INSECTOS PLAGA. Obtenido de <https://bit.ly/3buXpKu>
45. Oporta, J. (2017). Control microbiano de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (*Acari: Ixodidae*) del ganado bovino, con hongos entomopatógenos en condiciones de laboratorio. Obtenido de <https://bit.ly/2OiGCl2>
46. Orlando, A. R. (2017). Manejo integrado de la garrapata (*Rhipicephalus microplus*). Obtenido de <https://bit.ly/3rydBzw>
47. Ortiz, H. (2014). Duración actual de la metamorfosis en la fase no parasítica de *rhipicephalus microplus*. Obtenido de <https://bit.ly/3qwZQ3h>
48. Pérez León, J. M. (2007). Efecto de diferentes medios biológicos en el control de las garrapatas de bovinos (Doctoral dissertation, Tesis de Maestría. La Habana, Cuba: Ministerio de Educación Superior Estación Experimental de Pastos y Forrajes). Obtenido de <https://bit.ly/3E5V45f>
49. Pérez Otañez, X. F. (2019). Distribución de la resistencia a los acaricidas, Ivermectina y alfacipermetrina en garrapatas *Boophilus microplus* y posibles factores de riesgo asociados ± 0.5 grados de latitud de la línea equinoccial Ecuador. (Tesis de Maetría). Universidad Central del Ecuador, Quito. Obtenido de <https://bit.ly/3vLXEea>
50. Pucheta, M., Flores, A., Rodríguez, S., & Torre, M. d. (2006). Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. Recuperado el 15 de octubre de 2020, de <https://bit.ly/3rBmMzZ>

51. Quesada, M. E. (19 de octubre de 2009). Importancia Agrícola y Biotecnológica Importancia Agrícola y Biotecnológica de los Hongos Entomopatógenos. Obtenido de csic.es: <https://bit.ly/3wwy9Lx>
52. R Core Team (2019). R: A Language and environment for statistical computing. (Versión 3.6) [Computer software]. Retrieved from Obtenido de <https://bit.ly/3JhxxQV>
53. Raya, D. (2018). Los hongos entomopatógenos endófitos mejoran la nutrición férrica y el crecimiento vegetal. Obtenido de <https://bit.ly/38nehAX>
54. Reyna, J. C. (2002). Destino del hongo Entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize & Brown) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en suelos Agrícolas. Obtenido de <https://bit.ly/3fpMzrq>
55. Rodríguez, R. I., E. Hodgkinson, J., & J. Trees, A. (2012). Resistencia a los acaricidas en *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus: situación actual y mecanismos de resistencia. Obtenido de <https://bit.ly/3enGk77>
56. Rodríguez-Vivas, R. I., Rosado-Aguilar, J. A., Ojeda-Chi, M. M., Pérez-Cogollo, L. C., Trinidad-Martínez, I., & Bolio-González, M. E. (2014). Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. Ecosistemas y recursos agropecuarios, 1(3),295-308. Obtenido de <https://bit.ly/39DF8MA>
57. Salazar, D. M. (2019). Evaluación in vivo de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) y *Beauveria bassiana* (Balls) sobre garrapatas (Acari: Ixodidae) que parasitan el ganado vacuno, en El Chaco, Ecuador. Obtenido de <https://bit.ly/2ODC3S7>
58. Senasa. (2006). producción-animal. Obtenido de <https://bit.ly/38JHUg7>

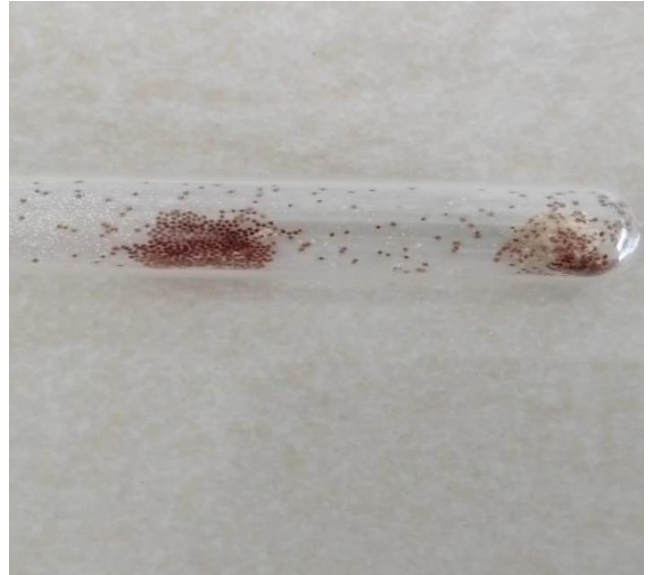
59. Sepúlveda, M. (2012). Hongos entomopatógenos BioINIA: Tecnología limpia para el control de plagas agrícolas. Obtenido de <https://bit.ly/3eszWvk>
60. Téllez, A., Guadalupe, M., Ramírez, C., & Mercado, Y. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. Obtenido de <https://bit.ly/3rARtVX>
61. The jamovi project (2020). jamovi. (Version 1.2) [Computer Software]. Retrieved from. Obtenido de <https://bit.ly/3LOESs2>
62. Varela, A., & Ron, S. (2018). Geografía y Clima del Ecuador. Obtenido de <https://bit.ly/3cbTDVi>
63. Valle, M. R. (03 de octubre de 2018). Repositorio Digital De Ciencia, Tecnología e Innovación De Acceso Abierto. Obtenido de <https://bit.ly/3ukfbGC>
64. Víctor Hernández. (2002). Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae*, *M. a. var. acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons*. SAGARPA-SENASICA-DGSV.T, 5. Obtenido de <https://bit.ly/33bnNYn>
65. Yari Briones et al, J. R.-V. (27 de 10 de 2021). Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatos en ganado bovino. Rev Inv Vet Perú, 7. Obtenido de <https://bit.ly/3rHMhlm>
66. Zapata, N. G., & Corrales, L. M. (2013). Estudio taxonómico a nivel de genero de garrapatas en ganado bovino de la parroquia Alluriquín-Santo Domingo de los Tsáchilas. Obtenido de <https://bit.ly/2OjMMkT>

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Colecta de telioginas para la producción de huevos en laboratorio de Protección Vegetal INIAP (Instituto De Investigaciones Agropecuarias).



Anexo 2. Cría de larvas en el laboratorio de Protección Vegetal INIAP (Instituto De Investigaciones Agropecuarias).



Anexo 3. División y corte de igualación de parcelas para los ensayos Asogan SD.



Anexo 4. Liberación de larvas en parcelas y aplicación de los tratamientos con sus respectivas dosis en la Asogan SD.





Anexo 5. Visita de las Unidades experimentales para la aplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria Bassiana*, Anamnesis, Toma de muestras para sus análisis sanguíneos.





Anexo 6. Resultados de frotis para la presencia de hemotrópicos (*Babesia* y *Anaplasma*) en los animales seleccionados en el ensayo.



**LABORATORIO DE DIAGNOSTICO CLINICO
UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
ESTENSION EL CARMEN**



CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

Direc.: Km. 32 Vía Chone - Santo Domingo. Telf.: 0983283318

FECHA DE RECPCIÓN 24/9/2021

TELEFONO:

PROPIETARIO: Dr. Victor Montes

UBICACIÓN: Santo Domingo de los Tsachilas

HACIENDA: s/n

RESPONSABLE: Dr. Fernando Mejia Ch. Mg. Sc.

ESPECIE: Bovina

PRUEBA SOLICITADA: Frotis de Gota Fina (FGF)

MUESTRA RECIBIDAS 25

RESULTADOS

N° de muestra	Identificación	Edad	Sexo	Técnica/Método empleado	ANAPLASMOSIS	
					Positivo	Negativo
M1	Kamy	s/n	H	FGF		-
M2	Verenice	s/n	H	FGF		-
M3	Anai	s/n	H	FGF		-
M4	Zury	s/n	H	FGF		-
M5	Fiuzza	s/n	H	FGF		-
M6	Chila	s/n	H	FGF		-
M7	Fina	s/n	H	FGF		-
M8	Beky	s/n	H	FGF	+	
M9	Gordy	s/n	H	FGF	+	
M10	Milena	s/n	H	FGF	+	
M11	Lady	s/n	H	FGF	+	
M12	Marthy	s/n	H	FGF	+	
M13	Itsi	s/n	H	FGF	+	
M14	Americana	s/n	H	FGF	+	
M15	Dalia	s/n	H	FGF	++	
M16	Josefa	s/n	H	FGF	+	
M17	Grety	s/n	H	FGF	+	
M18	Laura	s/n	H	FGF	+	
M19	Perla	s/n	H	FGF		Coagulada
M20	Karen	s/n	H	FGF		-
M21	Norma	s/n	H	FGF	++	
M22	Manchas	s/n	H	FGF	++	
M23	Lucia	s/n	H	FGF	++	
M24	Pamela	s/n	H	FGF	++	
M25	Gema	s/n	H	FGF	++	

+ Infección leve

++ Infección moderada

+++ Infección Grave

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesados en el laboratorio

Resumen de resultados:

17 POSITIVOS

Mvz. K. Fernando Mejia Chanaluiza, Mg. Sc.
Responsable de Laboratorio

