



**ESPE**

**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS**  
**INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA**  
**AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO**  
**DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: “EVALUACIÓN *in vivo* DE *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) y**  
***Beauveria bassiana* (Balls) SOBRE GARRAPATAS (Acari: Ixodidae) QUE**  
**PARASITAN EL GANADO VACUNO, EN EL CHACO, ECUADOR”**

**AUTOR: MOROCHO SALAZAR, DAYCY VIVIANA**

**DIRECTOR: ING. TIGRERO SALAS, JUAN OSWALDO**

**SANGOLQUÍ**

**2019**



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, *“EVALUACIÓN in vivo DE Metarhizium anisopliae (Metchnikoff) Y Beauveria bassiana (Balls) SOBRE GARRAPATAS (ACARI: IXODIDAE) QUE PARASITAN EL GANADO VACUNO, EN EL CHACO, ECUADOR”*, fue realizado por la señorita *Morocho Salazar, Daycy Viviana*, el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 16 de julio de 2019

Firma:

**Ing. Juan Oswaldo Tigrero Salas**

C.C 1703750404



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Yo, *Morocho Salazar, Daycy Viviana*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *“Evaluación in vivo de Metarhizium anisopliae (Metchnikoff) y Beauveria bassiana (Balls) sobre garrapatas (Acari: Ixodidae) que parasitan el ganado vacuno, en El Chaco, Ecuador”*, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

**Sangolquí, 16 de julio de 2019**

Firma:

*Daycy Viviana*

**MOROCHO SALAZAR, DAYCY VIVIANA**

C.C. 1722585013



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**AUTORIZACIÓN**

*Yo, **Morocho Salazar, Daycy Viviana**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación “**Evaluación in vivo de Metarhizium anisopliae (Metchnikoff) y Beauveria bassiana (Balls) sobre garrapatas (Acari: Ixodidae) que parasitan el ganado vacuno, en El Chaco, Ecuador**”, en el Repositorio Institucional cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.*

**Sangolquí, 16 de julio de 2019**

Firma:

  
.....

**MOROCHO SALAZAR, DAYCY VIVIANA**

C.C. 1722585013

**DEDICATORIA**

A Dios

A mis padres Alonso y Karola

A mi hermana Shirley y mi sobrina Renatta

**VIVIANA**

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres por el amor y apoyo incondicional que me brindan, además del esfuerzo y trabajo diario que dedican para salir siempre adelante sin importar las adversidades.

A mi hermana por impulsarme en concluir mi carrera universitaria y por la gran amistad que tenemos.

A Renatta por la motivación que me da día tras día, su fortaleza me inspira a seguir adelante y a llegar más lejos.

A Kike por el apoyo incondicional durante el desarrollo de este trabajo.

A Dieguito por la ayuda brindada.

Al Ing. Tigrero por el acompañamiento durante toda la realización de la tesis, y por sus consejos acertados.

A Sr. Homero Erazo por creer en la investigación y poner a disposición su finca ganadera.

A Sandra Enríquez por sus conocimientos.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

### CARÁTULA

|                                  |      |
|----------------------------------|------|
| CERTIFICACIÓN .....              | i    |
| AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD ..... | ii   |
| AUTORIZACIÓN.....                | iii  |
| DEDICATORIA .....                | iv   |
| AGRADECIMIENTO .....             | v    |
| ÍNDICE DE CONTENIDO .....        | vi   |
| ÍNDICE DE TABLAS.....            | x    |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....           | xi   |
| RESUMEN.....                     | xii  |
| ABSTRACT .....                   | xiii |

### CAPÍTULO I

#### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

|                         |   |
|-------------------------|---|
| 1.1 Antecedentes .....  | 1 |
| 1.2 Problema.....       | 3 |
| 1.2.1 Efectos .....     | 3 |
| 1.2.2 Causas.....       | 4 |
| 1.3 Justificación.....  | 4 |
| 1.4 Objetivos .....     | 6 |
| 1.4.1 General .....     | 6 |
| 1.4.2 Específicos ..... | 6 |

|     |                |   |
|-----|----------------|---|
| 1.5 | Hipótesis..... | 6 |
|-----|----------------|---|

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LA LITERATURA

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 2.1   | Hongos entomopatógenos .....  | 7  |
| 2.2   | Características .....   | 8  |
| 2.3   | Proceso de infección.....   | 10 |
| 2.3.1 | Adhesión.....   | 11 |
| 2.3.2 | Germinación .....   | 11 |
| 2.3.3 | Penetración .....   | 12 |
| 2.3.4 | Crecimiento .....   | 13 |
| 2.3.5 | Dispersión.....   | 13 |
| 2.4   | Sistema inmune de insectos contra los hongos entomopatógenos .....                              | 14 |
| 2.4.1 | Barreras físico-químicas.....   | 15 |
| 2.4.2 | Sistema humoral.....  | 15 |
| 2.4.3 | Respuesta inmune celular.....   | 16 |
| 2.5   | Factores que influyen en el establecimiento y acción de los hongos entomopatógenos .....        | 17 |
| 2.5.1 | Humedad relativa (HR) .....   | 18 |
| 2.5.2 | Temperatura ambiental (T).....  | 18 |
| 2.5.3 | Radiación solar.....  | 19 |
| 2.5.4 | Microambiente .....   | 19 |
| 2.6   | Generalidades de los hongos entomopatógenos ( <i>M. anisopliae</i> y <i>B. bassiana</i> ) ..... | 20 |
| 2.6.1 | <i>Metarhizium anisopliae</i> .....   | 20 |



|       |   |    |
|-------|---|----|
| 2.6.2 | Beauveria bassiana .....  | 21 |
| 2.7   | Garrapata <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....                    | 22 |
| 2.7.1 | Clasificación taxonómica <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....     | 23 |
| 2.7.2 | Especies de garrapatas identificadas en Ecuador .....                         | 24 |
| 2.7.3 | Características morfológicas <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> ..... | 25 |
| 2.7.4 | Ciclo de vida de la familia <i>Ixodidae</i> .....                             | 27 |
| 2.8   | Métodos de control de garrapatas .....  | 29 |
| 2.8.1 | Control químico .....   | 29 |
| 2.8.2 | Control biológico .....   | 32 |
| 2.9   | Pérdidas económicas que ocasionan las garrapatas .....                        | 34 |

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 3.1   | Ubicación del lugar de investigación ..... | 36 |
| 3.1.1 | Ubicación Política .....                   | 36 |
| 3.1.2 | Ubicación Geográfica .....                 | 36 |
| 3.1.3 | Ubicación Ecológica .....                  | 38 |
| 3.2   | Materiales .....                           | 38 |
| 3.2.1 | Materiales de campo .....                  | 38 |
| 3.2.2 | Biológicos .....                           | 38 |
| 3.2.3 | Químico .....                              | 39 |
| 3.3   | Métodos .....                              | 39 |
| 3.3.1 | Área de estudio .....                      | 39 |

|  |    |
|--|----|
| 3.3.2 Selección de los animales.....       | 39 |
| 3.3.3 Aplicación de los tratamientos ..... | 39 |
| 3.3.4 Diseño experimental.....             | 41 |
| 3.3.5 Análisis de datos.....               | 42 |

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

|  |    |
|--|----|
| 4.1 Resultados .....   | 44 |
| 4.1.1 Identificación de las especies de garrapatas presente en el área de estudio..... | 44 |
| 4.1.2 Análisis comparativo de los tratamientos.....                                    | 48 |
| 4.1.3 Análisis Económico.....  | 54 |
| 4.2. Discusión .....   | 56 |
| 4.2.1 Identificación de la especie de garrapata presente en el área de estudio.....    | 56 |
| 4.2.2 Eficacia del control de los tratamientos .....                                   | 57 |
| 4.2.3 Análisis Económico.....  | 60 |

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

|                          |    |
|--------------------------|----|
| 5.1 Conclusiones .....   | 61 |
| 5.2 Recomendaciones..... | 61 |
| 5.3 Bibliografía.....    | 63 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1</b> <i>Análisis de varianza para la variable número de garrapatas presentes en vacas expuestas a 4 tratamientos en 6 mediciones de tiempo.....</i>                             | 48 |
| <b>Tabla 2</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar del número de garrapatas presentes en vacas lecheras expuestas a 3 tratamientos y un testigo. ....</i>                         | 49 |
| <b>Tabla 3</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar del número de garrapatas presentes en vacas lecheras expuestas a tres tratamientos, un testigo y 6 tiempos de conteo. ....</i> | 50 |
| <b>Tabla 4</b> <i>Coefficientes de correlación de Pearson (Coefficientes/probabilidades) entre el número garrapatas y parámetros ambientales .....</i>                                    | 51 |
| <b>Tabla 5</b> <i>Promedio del número de garrapatas y eficacia de 3 tratamientos en control de la infestación de <i>B. microplus</i> en ganado lechero. ....</i>                          | 53 |
| <b>Tabla 6</b> <i>Estimación de los costos variables para el control en campo de las garrapatas <i>B. microplus</i> en vacas lecheras. ....</i>   | 54 |
| <b>Tabla 7</b> <i>Estimación de los beneficios económicos netos de los tratamientos usados para el control en campo de las garrapatas <i>B. microplus</i> en vacas lecheras .....</i>     | 55 |
| <b>Tabla 8</b> <i>Análisis de dominancia de los tratamientos aplicados para el control en campo de las garrapatas <i>B. microplus</i> en vacas lecheras. ....</i>                         | 55 |
| <b>Tabla 9</b> <i>Análisis del TRM para los tratamientos no dominados en el control de las garrapatas <i>B. microplus</i> que infestan vacas lecheras en El Chaco, Ecuador. ....</i>      | 56 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Figura 1</b>  | Esquema de la penetración y estructura de la cutícula del insecto .....                 | 10 |
| <b>Figura 2</b>  | Estructura del Gnathostoma.....   | 26 |
| <b>Figura 3</b>  | Características morfológicas <i>Rhipicephalus microplus</i> .....                       | 26 |
| <b>Figura 4</b>  | Estadios de evolución de las garrapatas.....  | 27 |
| <b>Figura 5</b>  | Ciclo biológico de <i>Rhipicephalus microplus</i> .....                                 | 29 |
| <b>Figura 6</b>  | Finca María José.....   | 37 |
| <b>Figura 7</b>  | Instituto de Investigación en Salud Pública y Zoonosis (CIZ).....                       | 37 |
| <b>Figura 8</b>  | Croquis diseño experimental. ....   | 42 |
| <b>Figura 9</b>  | <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> (Izq: Hembra, Der: Macho) .....                | 44 |
| <b>Figura 10</b> | Hembra <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> .....                                   | 45 |
| <b>Figura 11</b> | Macho <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> .....                                    | 45 |
| <b>Figura 12</b> | Hembra <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> .....                                   | 46 |
| <b>Figura 13</b> | Macho <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> .....                                    | 46 |
| <b>Figura 14</b> | Gnathostoma.....  | 47 |
| <b>Figura 15</b> | Espolones en la Coxa I .....  | 47 |
| <b>Figura 16</b> | Promedio $\pm$ error estándar del número de garrapatas .....                            | 49 |
| <b>Figura 17</b> | Promedio $\pm$ error estándar del número de garrapatas presentes .....                  | 51 |
| <b>Figura 18</b> | Diagramas de dispersión entre la variable # de garrapatas y parámetros ambientales..... | 52 |

## RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo determinar la eficacia de hongos entomopatógenos (HE) en el control biológico de *R. (Boophilus) microplus*. El estudio se realizó en agosto y septiembre de 2018 en la parroquia Linares, cantón El Chaco provincia del Napo. Se utilizaron 16 vacas (Holstein x Brown Swiss) que presentaban infestación natural con garrapatas del ganado, el ensayo se distribuyó en cuatro grupos por tratamiento: T<sub>1</sub> (*M. anisopliae*), T<sub>2</sub> (*B. bassiana*), T<sub>3</sub> (Químico), T<sub>4</sub> (Testigo). El diseño fue completamente al azar con 16 UE y 4 repeticiones. Los tratamientos se aplicaron a los días 0, 15, 30 y 45; se monitoreó el número de garrapatas engurgitadas mayores a 4.5mm antes de la aplicación y después en los días 0, 1, 3, 5, 7, 9. Además, se tomaron muestras de garrapatas y se las llevó al CIZ para identificar la especie. Para el análisis estadístico se utilizó ANAVA con modelos mixtos y se realizaron pruebas de comparación de medias DGC al 5%. Los resultados obtenidos demuestran que la única especie de garrapata presente en el lugar de estudio fue *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; el control químico presentó una eficacia mayor a 90%, mientras que en los tratamientos biológicos la eficacia de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, fue de 44.16% y 54.19% al noveno día. Por lo que se concluye que un manejo biológico constituye una alternativa para el control de garrapatas además de presentar ventajas económicas frente a los tratamientos químicos.

### **PALABRAS CLAVE:**

- **GARRAPATAS**
- **HONGOS ENTOMOPATÓGENOS**
- **CONTROL BIOLÓGICO**

## ABSTRACT

The present study was aimed to determine the efficacy of entomopathogenic fungi (EF) in the biological control of *R. (Boophilus) microplus*. The study was conducted in August and September of 2018 in Linares parish, El Chaco canton, Napo province. Sixteen cows (Holstein x Brown Swiss) that had natural infestation with cattle ticks were used, the essay was divided into four groups per treatment: T<sub>1</sub> (*M. anisopliae*), T<sub>2</sub> (*B. bassiana*), T<sub>3</sub> (Chemical), T<sub>4</sub> (Witness). The design was completely random with 16 UE and 4 repetitions. The treatments were applied on days 0, 15, 30 and 45; The number of engorged ticks greater than 4.5mm before application and then on days 0, 1, 3, 5, 7, 9 was monitored. In addition, tick samples were taken to the CIZ to identify the species. For the statistical analysis, ANAVA was used with mixed models and tests of comparison of 5% DGC means were performed. The results obtained show that the only tick species present at the study site was *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; chemical control showed an efficacy greater than 90%, while in biological treatments the efficacy of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, was 44.16% and 54.19% on the ninth day. Therefore, it is concluded that biological management constitutes an alternative for the control of ticks in addition to presenting economic advantages over chemical treatments.

### KEYWORDS:

- TICKS
- ENTOMOPATHOGENIC FUNGI
- BIOLOGIC CONTROL

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Antecedentes

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. Según la (FAO, 2017) la ganadería aporta con un 40% del valor de la producción agropecuaria mundial, provee un medio de alimentación, subsistencia y seguridad alimentaria para casi 1300 millones de personas, por lo que más de 1 billón de personas a nivel mundial depende del sector ganadero.

América Latina es la región que más exporta carne de res y de ave a nivel mundial (FAO, 2017). El sector ganadero ha crecido a un ritmo acelerado debido a la alta demanda de productos derivados de la ganadería bovina y a la expansión poblacional, sin embargo, el sector ganadero requiere de grandes extensiones de tierra (aproximadamente un tercio de las tierras de cultivo en todo el mundo), lo que genera conflictos para abarcar tierras productivas, para la producción ganadera y para el manejo del hato. Además de esta competencia por tierras, el ganado vacuno se enfrenta a adversidades climáticas que juegan un papel primordial en la sanidad de los animales (FAO, 2014).

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. Son ectoparásitos que

se alimentan de la sangre de los animales para su sobrevivencia. Representan un problema de producción y salud pública, en especial por los efectos negativos en la aparición de enfermedades agudas y crónicas, cuadros infecciosos, deterioro de la piel del animal, exposiciones traumáticas y tóxicas, e incluso pueden llevar a la muerte del animal (Bustillos *et al.*, 2015)

Entre las enfermedades que transmiten las garrapatas a los animales domésticos está la fiebre por garrapatas, *babesiosis* y *theileriosis*. Además de infectar al ganado, las garrapatas perforan la piel de los animales causándoles heridas por la cuales se facilita el paso de agentes patógenos como bacterias, virus, rickettsias y protozoos. Otra de las consecuencias que provoca esta plaga es la pérdida de sangre, lo que puede desembocar en una anemia, menor ingesta de alimentos, pérdida de peso por toxinas e irritación, parálisis letal, severas toxemias, micosis, miasis y merma en la producción de carne y leche (Barandika, 2010; BAYER, 2012; Bustillos *et al.*, 2015)

El problema sanitario y productivo que genera éste ácaro ha sido motivo de varias investigaciones para el control del ectoparásito en el ganado. Guerrero *et al.*, (2012), citado por (Araque *et al.*, 2014), explica que los métodos más usados para el control de garrapatas son los acaricidas químicos, los mismos que presentan moléculas con propiedades específicas para ácaros. Las industrias de agroquímicos fueron desarrollando productos para el control de garrapatas, afirmando que su uso tenía gran eficacia y poder residual, lo que incentivó al ganadero a un uso desmedido de los garrapaticidas creando una alta resistencia al producto (Araque *et al.*, 2014).

La resistencia a los acaricidas y los problemas de manejo de insumos veterinarios constituyen las mayores limitantes para el control de garrapatas. La implementación de microorganismos para



el control de garrapatas es una nueva tendencia biológica, en la que comúnmente usan hongos entomopatógenos como: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Lecanicillium lecanii*. Existen varias recomendaciones sobre el uso de este tipo de hongos para el control de garrapatas, pero la información sobre experimentos y ensayos en campo es muy limitada. Bajo estos precedentes, se desea con esta investigación determinar la eficacia que tiene el uso de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* para el control de garrapatas, además de determinar su rentabilidad.

## **1.2 Problema**

Según (Benavides *et al.*, 2016) la presencia de garrapatas ha causado problemas de manejo en el 80% de la ganadería bovina mundial. El uso indiscriminado de acaricidas químicos evidenció una disminución en la eficiencia, por lo que hizo más difícil el manejo sanitario del ganado bovino. Los ganaderos ahora presentan problemas de control de garrapatas ya que los productos comerciales de acaricidas tienen escaso éxito en el manejo de estas.

En Ecuador existe escasa información de control biológico de garrapatas en el sector ganadero. Sin embargo, se están implementando proyectos de investigación como: identificación de especies de garrapatas del ganado vacuno, dinámica poblacional del parásito, relación que tienen con el medio ambiente y manejo sanitario con extractos botánicos (Bustillos, 2014).

### **1.2.1 Efectos**

Los cuatro géneros de hongos: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* y *Verticillium* reducen paulatinamente la presencia de garrapatas, aportan con un control eficaz y libre de contaminantes

químicos y además de mantener parámetros zoonosanitarios aceptables, existe una notable disminución en los costos, ya que los microorganismos son mucho más económicos que los productos químicos (Porfirio & Schwentesius, 2015).

### 1.2.2 Causas

El control químico desde hace mucho tiempo atrás ha sido, la alternativa más empleada para muchas ganaderías. Consiguiendo así que las garrapatas se hayan adaptado a una gran variedad de hábitats y tengan una distribución cosmopolita (Martínez *et al.*, 2016).

Varias de las investigaciones con los hongos entomopatógenos (*Metarhizium flavoviridae*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*) fueron desarrolladas en laboratorio con varias especies de garrapatas, obteniendo resultados de hasta el 100 % de mortalidad tras la aplicación del tratamiento; sin embargo, en ensayos sobre animales *in vivo* no se han logrado niveles de mortalidad estándar, debido a la variabilidad de los factores climáticos que se tiene tanto en laboratorio como en el campo (Junquera, 2017). En campo es escasa la información de control de garrapatas con hongos entomopátogenos, por lo que en la actualidad se están realizando este tipo de investigaciones.

### 1.3 Justificación

La amplia distribución de la garrapata sobre el ganado bovino en Ecuador, convierte a este ácaro en una de las plagas que más afecta la ganadería del país, ya que puede causar daños

directos (disminución considerable de peso) e indirectos (transmisión de enfermedades) al huésped, los cuales conllevan implicaciones económicas para los ganaderos.

El control de las garrapatas comúnmente realizado en las ganaderías, es mediante la utilización de productos químicos siendo los organofosforados, los piretroides sintéticos, las amidinas y las lactonas macrocíclicas las moléculas registradas y de mayor uso. Productos químicos han sido de gran ayuda en el control de estos ácaros, no obstante, inconvenientes como la resistencia que las garrapatas han desarrollado a los acaricidas químicos, los residuos presentes en productos cárnicos y lácteos, la contaminación producida al usar este tipo de productos, los residuos presentes en productos derivados de la ganadería vacuna y los costos, son motivos por los cuales los ganaderos han recurrido a la búsqueda de otras alternativas.

Con la finalidad de encontrar medidas de control biológico, se han realizado investigaciones con el uso de hongos entomopatógenos como *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii* que son una de las estrategias usadas *in vitro* e *in vivo* para el control de garrapatas (Bautista *et al.*, 2017). En el Ecuador son escasos los ensayos con microorganismos entomopatógenos en campo, por lo que es importante empezar una investigación que permita determinar la eficacia del control biológico frente al que manejan los ganaderos de forma convencional. Pinguave (2016), evaluó el efecto acaricida del hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* en el control de las garrapatas en el ganado vacuno, sin embargo, es el único estudio realizado en Ecuador, razón por la cual se enfatiza el estudio de hongos entomopatógenos como medida de control de garrapatas en el trópico. Mediante la

obtención de los resultados de este estudio, se podrá recomendar a los campesinos el uso hongos entomopatógenos comerciales para control de garrapatas.

## 1.4 Objetivos

### 1.4.1 General

- Evaluar el efecto de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en el control de garrapatas (Acari: Ixodidae) que parasitan el ganado lechero.

### 1.4.2 Específicos

- Identificar las especies de garrapatas que se encuentran infestando el ganado del sitio de investigación.
- Realizar un análisis comparativo del control de garrapatas mediante: cepa de *Metarhizium anisopliae*, cepa de *Beauveria bassiana* y Derribante (producto químico).
- Determinar el tratamiento más económico.

## 1.5 Hipótesis

**H0:** No existe diferencia significativa en el control de garrapatas con *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y Derribante (producto químico).

**H1:** Existe diferencia significativa en el control de garrapatas con *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y Derribante (producto químico).

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LA LITERATURA

#### 2.1 Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos abarcan un amplio grupo de microorganismos vivos, filogenéticamente diverso entre los que se conocen aproximadamente 100 géneros y más de 750 especies que pueden parasitar a poblaciones de insectos (Rodríguez *et al.*, 2006). La mayoría de las especies se encuentran en las divisiones Zigomicota (Entomophthorales), Deuteromicota (Hifomicetos) y Ascomicota (Rodríguez *et al.*, 2006), siendo los hongos entomopatógenos más numerosos pertenecientes a la clase Deuteromicetos (Hifomicetos) (Araujo & Henrique, 2008). Entre los géneros más importantes están *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium* (FAO, 2014).

Muchas de las especies de hongos entomopatógenos son implementadas en programas de manejo biológico, especialmente en cultivos, invernaderos, campos, sembríos, pastos, productos almacenados, silvicultura y para la erradicación de insectos vectores y plagas de importancia médica y veterinaria (Lacey *et al.*, 2001). Los microorganismos entomopatógenos se encuentran comúnmente en la naturaleza (Rodríguez *et al.*, 2006), en hábitats acuáticos, terrestres y subterráneos (Araujo & Henrique, 2008), proveen múltiples servicios como agentes de control biológico para los sistemas agroecológicos (Motta & Murcia, 2011) y se usan habitualmente en prácticas agrícolas para el control de insectos plaga. Los hongos entomopatógenos como enemigos naturales pretenden alcanzar la destrucción total o parcial de las plagas, provocando

enfermedad y muerte de los insectos (Téllez *et al.*, 2007), y proyectándose a su vez a alcanzar un control que no produzca daños económicamente importantes (González *et al.*, 2012).

El control biológico con hongos entomopatógenos en insectos plaga, infunde reconocimientos importantes por los logros que ha conseguido al eliminar o mantener en niveles óptimos las plagas en cultivos (que no causen daño) y a su vez de regular las poblaciones de insectos (Motta & Murcia, 2011). Según García *et al.*, (2008) constituyen una de las prácticas más influyentes en el control de plagas invertebradas, ya que prácticamente todos los insectos son susceptibles alguna afección causadas por hongos y el 80% de enfermedades en insectos son producidas por organismos entomopatógenos en hábitats naturales (Motta & Murcia, 2011).

## **2.2 Características**

Varios son los medios de control biológico con importancia agrícola, en los que se puede destacar a organismos predadores, parasitoides y algunos entomopatógenos como hongos, bacterias, virus, nematodos y protozoarios, no obstante, en los hongos entomopatógenos se puede encontrar mayor aceptación debido a la amplia descripción de sus características entre las que predomina, su distribución cosmopolita, gran variedad de especies, capacidad de atacar insectos plaga originando epizootias y a la especificidad y selectividad que muestra con determinados patógenos, ya que algunos tienen amplio rango de hospederos y otros simplemente se restringen a unas pocas especies de insectos (Cañedo & Ames, 2004; García *et al.*, 2008; Araujo & Henrique, 2008).

Además de las características promisorias los hongos como organismos entomopatógenos se destacan por numerosas ventajas: efectividad como controlador biológico de insectos (García *et al.*, 2008), capacidad para infectar todas las etapas de vida del hospedero (Araujo & Henrique, 2008), tienen ciclos de reproducción corto, facilidad para producción masiva (Urtubia & France 2007), capacidad para multiplicarse y dispersarse en el ambiente a través de insectos parasitados (Sepúlveda *et al.*, 2012), no fomentan la contaminación en la naturaleza, son inocuos para el hombre y para otros organismos benefactores (Cañedo & Ames, 2004); no desarrollan resistencia y no deja residuos en alimentos (García *et al.*, 2008).

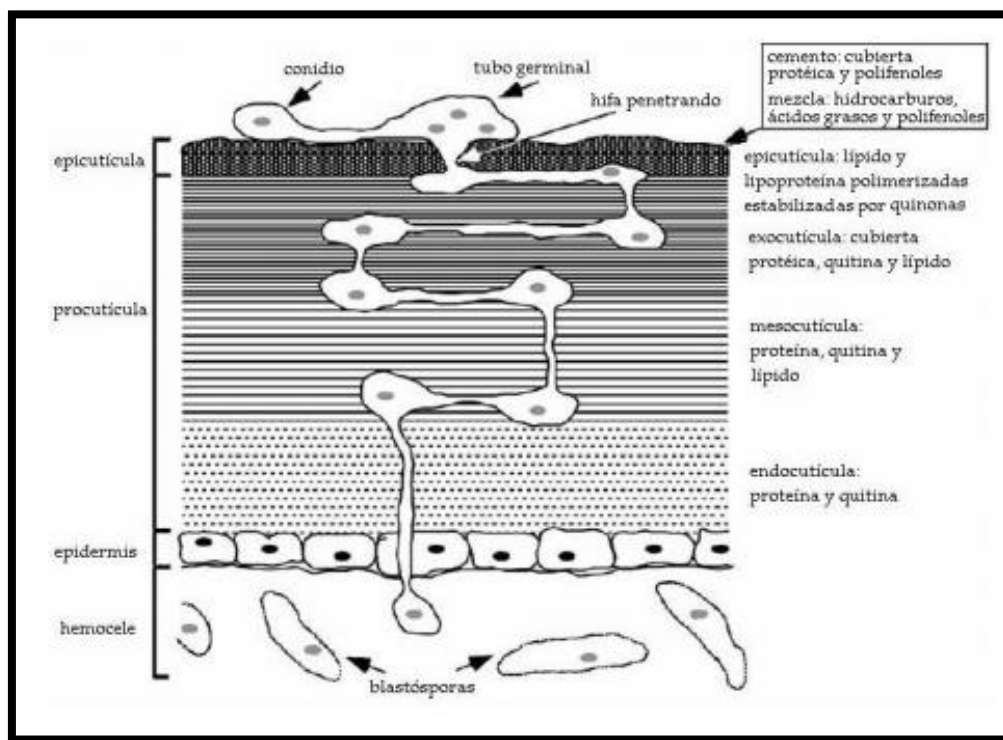
Contrarrestando a las ventajas existen procesos que restringen el total desarrollo de los hongos entomopatógenos, interfiriendo así efectos bióticos y abióticos que causan inhibición en el crecimiento (Lacey & Goettel, 1995). Condiciones ambientales, factores ecológicos y algunos procesos interactivos merman la efectividad del hongo para control de insectos plaga, aspectos como temperatura, humedad relativa, sensibilidad a rayos UV, resistentes a la desecación, patogenicidad, virulencia, hospederos a los que infecta activamente, comportamiento del hospedante, antagonistas microbianos, y presencia de pesticidas (Araujo & Henrique, 2008; Motta & Murcia, 2011; Valencia, 2015).

González *et al.*, (2012) los hongos entomopatógenos pueden subsistir de dos formas, la primera es a manera de parásito sobreviviendo de su hospedero, y la segunda es saprofita, permaneciendo sobre material que se encuentra en descomposición. El gran potencial de ciertos hongos les permite sobrevivir de forma natural con poblaciones de insectos benéficos sin afectar a los polinizadores, parasitoides y depredadores de su entorno (Sepúlveda *et al.*, 2012). Además,

se puede evidenciar que los hongos entomopatógenos parasitan insectos pertenecientes a los órdenes Hymenoptera, Hemiptera, Diptera, Lepidoptera, Coleoptera y Orthoptera (Valencia, 2015).

### 2.3 Proceso de infección

De los agentes de control biológico, los hongos tienen mecanismos de infección diferentes, ya que no necesitan ser ingeridos por el hospedero, sino que infectan al insecto por contacto y adhesión de esporas viables sobre la superficie del integumento (Motta & Murcia, 2011). El proceso infectivo de los hongos entomopatógenos se divide en cinco fases de desarrollo: adhesión, germinación, penetración, crecimiento y dispersión.



**Figura 1.** Esquema de la penetración y estructura de la cutícula del insecto  
Fuente: (Schapovaloff, 2012)



### 2.3.1 Adhesión

El proceso de adhesión inicia con un mecanismo de selección natural del propágulo fúngico con respecto al insecto huésped (Motta & Murcia, 2011). Las esporas viables se unen a la epicutícula bajo ciertos requerimientos, los medios nutricionales y las condiciones ambientales que demandan las esporas, permiten llevar a cabo el proceso de infección (Rodríguez *et al.*, 2006). En la mayoría de los casos la adhesión de la espora a la epicutícula no es específica, ya que puede estar influenciada por causales como: hidrofobicidad de la pared celular de la conidia (Araujo & Henrique, 2008), propiedades físicas, químicas y electrostáticas en la superficie del conidio-hospedero, hongos con presencia de glicoproteínas, mucopolisacáridos o enzimas (Schapovaloff, 2012), proteínas cuticulares, cubierta protectora mucilaginosa del conidio (Motta & Murcia 2011), hidrofobicidad de la epicutícula del insecto, topografía cuticular, presencia de setas o espinas del hospedero (Valencia, 2015) y la adhesina que es una molécula sintetizada por el hongo (Téllez *et al.*, 2007).

### 2.3.2 Germinación

Carrillo & Blanco (2009) determinan que el proceso de germinación se da una vez que el conidio encontró el espacio adecuado para establecer la unión patógeno-huésped. Sin embargo, es necesario que la humedad y las propiedades antidesecantes de la cubierta mucilaginosa del conidio faciliten su hidratación, teniendo en cuenta esta consideración comienza la emergencia del tubo germinativo por crecimiento apical del hongo (Rodríguez *et al.*, 2006). El tubo germinativo crece sobre la superficie de la epicutícula hasta formar una estructura de penetración denominado apresorio; el tamaño del tubo germinativo puede variar y en muchos de los casos al

igual que el apresorio no llega a formarse (Monzón, 2008). Taxones como *Beauveria* no conforman apresorio (Araujo & Henrique, 2008).

El tubo germinativo tiene la función de rastrear zonas específicas en la superficie de insecto hospedero, reconociendo los sitios receptores donde penetrarán los cuerpos hifales; el apresorio sirve de adhesión de la espora y además está relacionado con la capacidad de atravesar la cutícula por mecanismos físicos o enzimáticos (Rodríguez *et al.*, 2006; Schapovaloff, 2012). El porcentaje de germinación resulta de la intervención de varios factores como: exposición de las conidias a ambientes diversos, proceso y duración de la germinación, agresividad del hongo, tipo de espora, susceptibilidad del huésped, composición química de la cutícula del hospedero y respuesta inmune del insecto (Araujo & Henrique, 2008; Schapovaloff 2012; Valencia, 2015).

### **2.3.3 Penetración**

La penetración comienza cuando el conidio germinado encuentra las condiciones físico-químicas adecuadas y los estímulos correspondientes (Monzón, 2008). La hifa infectiva se encarga de penetrar el exoesqueleto del hospedero mediante la combinación de dos procesos, uno mecánico y el otro enzimático. El primero consiste en la deformación cuticular, rompiendo zonas esclerosadas y membranosas por la presión que ejerce la hifa invasiva. El mecanismo enzimático consiste en la degradación del tejido del tegumento por acción de enzimas hidrolíticas como proteasas, quitinasas, lipasas (González *et al.*, 2012). Estas enzimas facilitan el ingreso de las estructuras de penetración al huésped y a su vez le proporcionan nutrientes para el desarrollo del hongo (Rodríguez *et al.*, 2006). Sin embargo, el modo de penetración está ligado a factores propios de la cutícula del insecto, grosor, esclerotización y la presencia de sustancias anti

fúngicas y nutricionales (Valencia, 2015), así también influyen las reacciones inmunológicas del insecto ante un cuerpo desconocido: melanización, fagocitosis nodulación y encapsulamiento (Motta & Murcia, 2011).

#### **2.3.4 Crecimiento**

Una vez que el hongo atraviesa la cutícula debe vencer el sistema inmunológico del hospedero antes de entrar a la hemolinfa y desarrollarse dentro del insecto (Valencia, 2015). En el hemocele la mayoría de los hongos pasan por una fase de transición de micelio a levadura, que en el caso de Ascomycota forman blastosporas y en el caso de Entomophthorales forman cuerpos hifales o protoplastos, éstas estructuras miceliarias se multiplican, se dispersan e invaden el cuerpo del insecto causando una septicemia (Schapovaloff, 2012; Téllez *et al.*, 2007) El período de incubación del hongo entomopatógeno dependerá de las especies, del tipo de insecto hospedero y principalmente de las condiciones ambientales (Schapovaloff, 2012).

El huésped previo a su muerte desarrolla cambios fisiológicos anormales como convulsiones, carencia de coordinación, comportamientos alterados, cambios de color y parálisis (Téllez *et al.*, 2007). Las micotoxinas, la degradación del tejido cuticular, la absorción de nutrientes, la deshidratación de las células y la competencia por el oxígeno disuelto disponible causan la muerte del insecto por combinación de estos factores (Téllez *et al.*, 2009; Valencia, 2015).

#### **2.3.5 Dispersión**

Una vez colonizado totalmente los tejidos y órganos internos del hospedero este muere y se da por finalizado el proceso parasítico del hongo, para dar inicio a la fase saprofítica. En ésta fase el

hemocele es invadido por las masas miceliales que emergen por las membranas intersegmentales y por las aberturas naturales del insecto (González *et al.*, 2012; Araujo & Henrique, 2008).

Si las condiciones de temperatura y humedad relativa son propicias, las estructuras miceliales entran a su fase de esporulación dentro de las siguientes 24 a 48 horas. Es en esta fase que el insecto muerto adquiere una coloración característica de acuerdo al hongo, por ejemplo, verde si es *Metarhizium* y blanco si es *Beauveria*. Sin embargo, si los factores climáticos no son los adecuados el hongo permanece en estado vegetativo. La esporulación en la mayoría de los casos puede ocurrir en cadáveres de insectos, pero también en animales que siguen vivos (Araujo & Henrique, 2008; Monzón, 2008; Téllez *et al.*, 2007).

Las unidades infectivas (esporas y conidios) esporulados sobre el cadáver se adhieren o ponen en contacto con otro insecto por acción de diferentes factores como el agua, viento, hombre y algunos organismos, permitiendo que el ciclo infectivo comience de nuevo. La diseminación puede ser un proceso activo (Entomophthorales) o pasivo (Ascomycota), dependiendo de las características de la espora y del esporangio (Schapovaloff, 2012).

## **2.4 Sistema inmune de insectos contra los hongos entomopatógenos**

Los insectos poseen diferentes mecanismos de defensa que se activan como respuesta inmune al ataque de patógenos microbianos. El sistema inmune de los insectos actúa por reconocimiento de patrones, desencadenando en la defensa por funciones inmunes como: 1) barreras físico-químicas, 2) sistema humoral, 3) respuesta inmune celular, las cuales son independientes, pero

que en todo momento actúan en forma sincronizada para suprimir la infección (Tellez *et al.*, 2009; Martínez, 2014).

#### **2.4.1 Barreras físico-químicas**

La primera barrera de defensa del insecto contra los patógenos es la cutícula, y está diseñada para proteger y prevenir el ingreso de elementos perjudiciales al hemocele. La cutícula está conformada por dos capas: la epicutícula que está constituida por ceras, lípidos, lipoproteínas que evitan la transpiración y tienen acción antimicrobiana, y la procutícula que forma el 95% de la cutícula y se caracteriza por darle rigidez a la capa, ya que está integrada por quitina y otras proteínas estructurales (Muñoz, 2015; Téllez *et al.*, 2009).

Durante una infección microbiana se manifiestan mecanismos de defensa en la cutícula, secretan ácidos grasos de cadena corta y lípidos, pero también se producen peptidasas fúngicas, proteasas e inhibidores de proteasas fúngicas que estimulan la protección del insecto ya que inhiben el proceso infectivo de los conidios (Téllez *et al.*, 2007).

#### **2.4.2 Sistema humoral**

La hemolinfa es el medio donde se ejecutan varios procesos del sistema humoral del insecto, entre las que se enlistan: la síntesis de péptidos antimicrobianos, la melanización y la coagulación (Muñoz, 2015).

**Coagulación:** Es un mecanismo usado por los insectos para reparar heridas y daños físicos en el exoesqueleto, prevenir el ingreso de patógenos y para evitar la pérdida de hemolinfa. La

coagulación se da por una masiva producción enzimática en la hemolinfa, donde el coagulógeno (proteína) se transforma en coagulina y mediante polimerización forma el coágulo (Campa, 2002).

**Melanización:** Esta línea de respuesta inmune actúa de forma inmediata al percibir ingreso de patógenos a la hemolinfa, de tal manera que cicatriza rápidamente las heridas en el exoesqueleto y a su vez la melanina se encarga de encapsular a los cuerpos infecciosos. En el proceso de melanización secreta ciertas sustancias tóxicas que afectan a los patógenos y provoca el obscurecimiento de la zona afectada por presencia de melanina (Giraldo, 2014).

**Péptidos antimicrobianos:** De todos los procesos de respuesta inmune del insecto la síntesis de péptidos antimicrobianos es la última línea de defensa, ya que actúa cuando existe un gran número de microorganismos dentro del hemocele y se activa después de 6 a 12 horas de iniciada la infección. Los péptidos antimicrobianos son sintetizados en el cuerpo graso y en una menor cantidad en otros tejidos del insecto, además son de tamaño pequeño lo que permite su fácil movilización en la hemolinfa para controlar a los patógenos. La amplia gama de péptidos es liberada en la hemolinfa para participar en el combate de la infección teniendo en cuenta que puede actuar por dos mecanismos: uno por lisis celular y el otro por formación de poros en la membrana celular (Giraldo, 2014; Muñoz, 2015; Orozco, 2013).

### **2.4.3 Respuesta inmune celular**

La segunda línea inmunológica de los insectos es la respuesta celular, éste proceso se lleva a cabo en la hemolinfa por células específicas denominadas hemocitos. Los hemocitos reaccionan

inmediatamente ante una infección microbiana porque reconocen, controlan y eliminan a los patógenos mediante respuestas de defensa como fagocitosis, nodulación y encapsulación (Giraldo, 2014; Orozco, 2013).

**Fagocitosis:** Es una reacción en respuesta a la defensa inmune celular. Se refiere a la destrucción intracelular de cuerpos o materiales extraños a la hemolinfa. Por lo general la fagocitosis en insectos se lleva a cabo por tres diferentes hemocitos: granulocitos, plasmátocitos y oenocitoides (Giraldo, 2014).

**Nodulación:** Los nódulos se forman en respuesta a la invasión de una gran cantidad de cuerpos extraños que no pudieron ser eliminados por fagocitosis. Los microorganismos son encapsulados por varias capas de hemocitos, creando micro agregados que a su vez crecen y originan las nodulaciones, éstas pueden o no ser melanizadas para una rápida aniquilación de los microorganismos (Campa, 2002).

**Encapsulación:** Es una respuesta multicelular cuyo objetivo es eliminar a los agentes invasores de gran tamaño como parásitos, nematodos y protozoos. Los hemocitos se adhieren a la diana rodeándola para formar una cápsula que es fuertemente melanizada. Al interior de la cápsula el patógeno muere por productos citotóxicos reactivos o por asfixia (Martínez, 2014).

## **2.5 Factores que influyen en el establecimiento y acción de los hongos entomopatógenos**

Los hongos entomopatógenos en su proceso infeccioso interactúan con varios componentes ambientales. Los factores climáticos cumplen un papel importante en la sobrevivencia, crecimiento y producción del entomopatógeno. La influencia de un conjunto de factores

climáticos como la temperatura, humedad relativa y radiación solar afectan las reacciones fisiológicas del hospedero, densidad y la distribución espacial. Sin embargo, el ciclo reproductivo de hongos entomopatógenos y el desarrollo de epizootias naturales difiere entre especies (Ortiz *et al.*, 2011; Schapovaloff, 2012).

### **2.5.1 Humedad relativa (HR)**

La HR es un factor clave en la germinación, crecimiento micelial y esporulación del hongo entomopatógeno. La germinación del conidio generalmente se efectúa con una HR que oscila entre el 90%-100%, estableciendo como HR óptima del 94%. Una HR del 45% permite al entomopatógeno sobrevivir, sin embargo, disminuye la viabilidad del conidio. Además, con una HR alta se puede desarrollar naturalmente una epizootia (Martínez, 2010; Carrillo & Blanco, 2009; Schapovaloff, 2012).

### **2.5.2 Temperatura ambiental (T)**

Al igual que la HR, la temperatura ambiental es uno de los factores abióticos relevantes dentro del proceso infeccioso de entomopatógenos. Los hongos son susceptibles a los cambios extremos de temperatura, ya que no poseen cualidades de protección y defensa, lo que les hace propensos a disminuir su desempeño y estabilidad. La eficacia de los microorganismos puede variar por influencia de la temperatura ambiental, el rango óptimo está entre los 20-30 °C, sin embargo, cada especie de hongo requiere de una temperatura en particular, así mismo la etapa de desarrollo en la que se encuentre el patógeno dependerá de condiciones térmicas específicas. La germinación de los conidios se da con temperaturas de entre 15-35 °C, siendo la óptima de 25-30



°C. Las epizootias pueden ser afectadas por temperaturas inferiores de 10°C y superiores a 35 °C (Martínez, 2010; Schapovaloff, 2012).

### **2.5.3 Radiación solar**

La exposición de los hongos entomopatógenos a la radiación UV ocasiona retardo en la germinación y esporulación de los conidios. La viabilidad de los conidios merma cuando recibe luz ultravioleta del espectro solar, la inactivación se da por longitudes de onda menores a 320 nm. La radiación UV causa alteración en la división celular, actividad enzimática, transporte iónico, permeabilidad de la membrana y metabolismo de los fosfatos (Araujo & Henrique, 2008; Martínez, 2010; Schapovaloff, 2012).

### **2.5.4 Microambiente**

Las condiciones microclimáticas en la superficie de los huéspedes no favorecen el desempeño del patógeno, se determina que la temperatura, humedad relativa y pH de la piel/pelaje del animal hospedero difieren de los rangos estándar que describen las investigaciones como óptimos para un correcto proceso infectivo del entomopatógeno. La temperatura en la piel del hospedero varía de 28-40 °C, mientras que los hongos se desarrollan óptimamente a temperaturas de 20-30 °C; la humedad relativa en el pelaje del animal es baja, con lo que disminuiría la viabilidad de los conidios ya que su requerimiento es alto; el pH alcalino es el ideal para hongos, sin embargo, las pieles de los animales tienen pH ácidos entre 4.5-7.6 (Polar *et al.*, 2009).

## 2.6 Generalidades de los hongos entomopatógenos (*M. anisopliae* y *B. bassiana*)

### 2.6.1 *Metarhizium anisopliae*

El hongo *M. anisopliae* pertenece a la familia *Moniliaceae* y se puede desarrollar en coleópteros de las familias *Elateridae* y *Curculionidae*. Este hongo deuteromicete se adapta a varias condiciones climáticas y es conocida por provocar la enfermedad de la muscardilla verde, además de ser un agente patógeno en más de 200 especies de insectos (Suquilanda, 2017).

Es un hongo entomopatógenos muy usado en la agricultura, sin embargo, en los últimos años se ha implementado su uso en la parte sanitaria del ganado bovino. En varios estudios se ha demostrado que *M. anisopliae* ataca a la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en sus estadios de larva y adulta repleta, además de causar reducción en la fecundidad y la emergencia de las larvas de *R. microplus* (Bazán, 2002).

Cuando el insecto es infectado por *M. anisopliae* las esporas germinan, producen blastosporas y micelio, penetran la cutícula de los ácaros y crecen de manera rápida dentro del individuo, lo que le genera la muerte. *M. anisopliae* tiene la facultad de producir dos grupos de toxinas: destruxinas y citocalacinas, las mismas que actuarán paralizando al insecto en el primer caso e inhibiendo la respuesta inmune en el segundo (Suquilanda, 2017).

A nivel de laboratorio de han realizado múltiples análisis con este hongo, en el estudio de (Kaaya *et al.*, 1996) se trató hembras de garrapatas *R. microplus* con  $7.5 \times 10^8$  conidias/ml de *M. anisopliae* y resultó en un 92% de efectividad a las 24 horas de realizada la aplicación; en la investigación realizada por Kaaya & Hasan (2000), se reportó que *M. anisopliae* reduce la

incubación de huevos de 40-50% e induce a la mortalidad de hembras pletóricas en un 48%; según Rodríguez *et al.*, (2011) mediante la experimentación *in vitro* e *in vivo* con *M. anisopliae* mostraron resultados favorables que van del 50-100% de eficacia en el control de la *R. microplus* en todas sus fases de desarrollo, afectando así la eclosión, longevidad e índice reproductivo.

### **2.6.2 *Beauveria bassiana***

Hongo deuteromicete que pertenece al orden Moniales, su distribución es mundial y es común observarlo en los suelos, restos vegetales y otros insectos, de los cuales se puede aislar. *B. bassiana* es altamente específico y es muy utilizado como biocontrolador de insectos plaga (Suquilanda, 2017).

El mecanismo de acción de *B. bassiana* es similar al de *Metarhizium anisopliae*, es decir que pasa por las fases de adherencia, germinación, penetración y esporulación. La beauverina es una de las toxinas más conocidas de este hongo, la cual tiene efectos patógenos en los insectos que afecta, provocando la permeabilidad de la membrana y causando la muerte. En el proceso de infección el insecto presenta síntomas como, pérdida del apetito, decoloración del integumento, hinchazón, flacidez, parálisis, muerte y momificación, la muerte del insecto se da en aproximadamente 72 horas de haber aplicado la dilución conidial (Suquilanda, 2017).

En estudios realizados con *B. bassiana* a nivel de laboratorio, se observó un buen acoplamiento, ya que en el proceso de infección el hongo produce enzimas hidrolíticas extracelulares (proteasas y quitinasas), que actúan de forma patógena en el insecto degradando la cutícula de la garrapata (Merchán, 2015).

## 2.7 Garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Las garrapatas son ácaros hematófagos que parasitan a diferentes huéspedes: mamíferos, reptiles, aves y humanos (García *et al.*, 2010). Estos ácaros se han distribuido a nivel mundial, por lo que se describen como cosmopolitas a excepción de unas pocas que se localizan en regiones específicas. Estos ácaros parasitan a su huésped perjudicando la parte sanitaria del rebaño y originan efectos negativos, de tal manera que puede llegar a causar anemia, estrés, decaimiento, bajas tasas de preñez o de engorde, disminución del rendimiento productivo del animal, merma en la producción de carne y leche, heridas que provocan el brote de otras enfermedades, parálisis y en muchos de los casos puede causar hasta la muerte del animal (SENASA, 2017; Oporta, 2017).

La garrapata del ganado, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, es específica del bovino, sin embargo, parasita diferentes huéspedes como: búfalos, caballos, asnos, cabras, ovejas, ciervos, cerdos, perros, tapires, entre otros animales silvestres (Pérez, 2016). Es el ectoparásito más dañino que aqueja el ganado bovino, ya que dificulta los procesos de reproducción, afecta a la producción de carne, leche y pieles, disminuye la condición corporal y perjudica el mantenimiento físico a nivel general del animal, aumentando la mortalidad del rebaño. Además, provoca heridas que facilitan el ingreso de otros insectos perjudiciales (moscas y gusanos) y es vector de hemoparásitos (*Babesia* sp. y *Anaplasma marginale*) (Oporta, 2017).

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* está distribuida en diversas áreas de todo el mundo, en África, Asia, Australia y en América, excepto Estados Unidos donde ya fue erradicada (Ojeda-chi *et al.*, 2011). Representan un problema sanitario en las regiones tropicales y subtropicales

(Fernández, 2006). *R. microplus* está catalogada como el ectoparásito más importante a nivel económico, ya que su control requiere de recursos monetarios que superan los US\$ 109 miles de millones de dólares anuales a nivel mundial (Moncada *et al.*, 2015).

### 2.7.1 Clasificación taxonómica *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Las garrapatas pertenecen al Phylum Arthropoda, Subphylum Chelicerata, Clase Arachnida, Subclase Acari, Orden Parasitiformes, Suborden Ixodida, Superfamilia Ixodoidea, Familias Ixodidae, Argasidae, Nuttallidae (Gutiérrez, 2006; Nava *et al.*, 2017). Sin embargo, solo las familias Ixodidae y Argasidae son las más influyentes, ya que son las más comunes dentro de los problemas sanitarios en la producción ganadera (Bustillos, 2014).

La familia Ixodidae está integrada por los géneros: *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Anomalohimalaya*, *Bothriocroton*, *Cosmiomma*, *Margaropus*, *Nosomma*, *Rhipicentor* y *Rhipicephalus* incluidas las 5 especies que pertenecen al género *Boophilus*: *R. microplus*, *R. decoloratus*, *R. annulatus*, *R. geigy* y *R. kohlsi* (Barandika, 2010; Domínguez *et al.*, 2010; Estrada, 2015).

### Clasificación taxonómica *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

| NIVEL        | UBICACIÓN       |
|--------------|-----------------|
| Orden        | Parasitiformes  |
| Suborden     | Ixodida         |
| Superfamilia | Ixodoidea       |
| Familia      | Ixodidae        |
| Subfamilia   | Rhipicephalinae |

Género *Rhipicephalus (Boophilus)*

Especie *R. microplus*

Fuente: (Barandika, 2010)

## 2.7.2 Especies de garrapatas identificadas en Ecuador

En el Ecuador la parasitosis de garrapatas es uno de los problemas que afronta la ganadería del trópico y subtropical. A pesar de constituir un problema sanitario y económico para el país, se tienen pocas investigaciones relacionadas con el tema. Mediante varios estudios realizados se pudieron reportar las siguientes especies de garrapatas en el Ecuador.

### Especies de garrapatas identificadas en Ecuador

| <b>FAMILIA</b>   | <b>ESPECIE</b>                             |
|------------------|--|
|                  | <i>Amblyomma cajennense</i>                |
|                  | <i>Amblyomma maculatum</i>                 |
| <b>Ixodidae</b>  | <i>Amblyomma multipunctum</i>              |
|                  | <i>Amblyomma naponense</i>                 |
|                  | <i>Amblyomma trsite</i>                    |
|                  | <i>Anocentor nitens</i>                    |
|                  | <i>Haemaphysalis juxtakochi</i>            |
|                  | <i>Ixodes boliviensis</i>                  |
|                  | <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> |
| <b>Argasidae</b> | <i>Ornithodoros furcosus</i>               |
|                  | <i>Ornithodoros talaje</i>                 |

Fuente: (Bustillos, 2014).

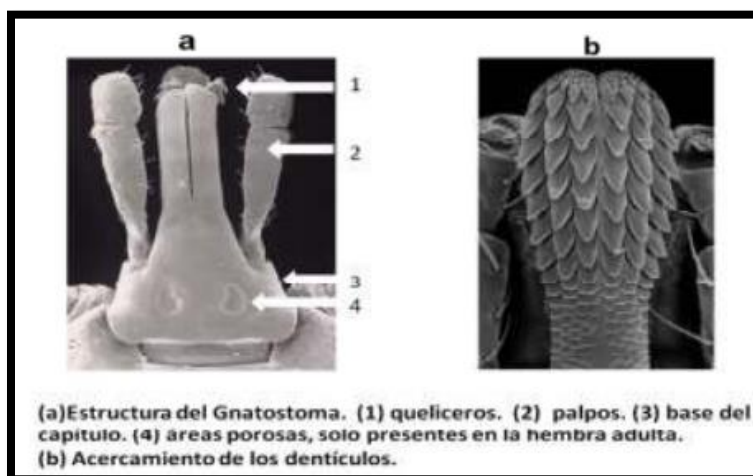
### 2.7.3 Características morfológicas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

*Rhipicephalus microplus* es un ectoparásito de tamaño pequeño o mediano, son monocoloradas, en sus fases no ingurgitadas presentan tonalidades rojizas que van hasta caoba y en su etapa adulta adquieren un color marrón a azul grisáceo, el cuerpo tiene aplanamiento en la zona dorsoventral y además tiene forma ovalada-rectangular (Cruz n.d.; Roque, 2007).

Cota (2015), describe que el cuerpo de la garrapata adulta de *Rhipicephalus microplus* está dividido en dos secciones: el capítulo o gnatostoma (en la parte anterior) y el idiosoma (en la parte posterior). El capítulo (Figura 2) está conformado por dos quelíceros que son órganos que cortan la piel del huésped, una estructura de succión llamado hipostoma con presencia de denticulos (4/4) y dos pedipalpos que protegen el hipostoma y permiten adherirse al hospedero (Pulido *et al.*, 2016). Las garrapatas *Boophilus* tienen un capítulo con base hexagonal (Roque, 2007). Las hembras adultas en la base del capítulo, visto de la parte dorsal, presenta dos órganos sensoriales o áreas porosas (Cota, 2015).

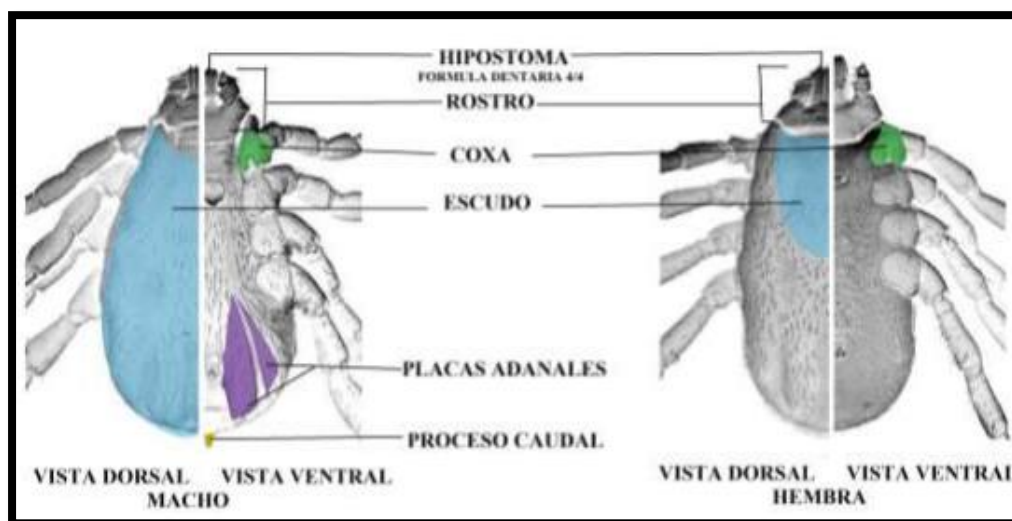
En el idiosoma se puede observar a la cutícula dorsal engrosada que se denomina escudo, característica que diferencia a los Ixódidos de los Argásidos (Cota, 2015). Los machos adultos están completamente cubiertos por el escudo, mientras que las larvas, ninfas y hembras adultas están cubiertas por el escudo esclerificado apenas en un tercio de la parte anterior (Pulido *et al.*, 2016), *Rhipicephalus microplus* en su escudo no presenta ornamentas (Pérez, 2016). El orificio anal, ubicado en la parte ventral, en hembras es poco definido y en machos es levemente perceptible (Roque, 2007). Los machos tienen cuatro placas adanales y un proceso caudal (Pérez,

2016). Las larvas de *Rhipicephalus microplus* tienen tres pares de patas, mientras que las ninfas y adultos poseen cuatro pares con fuertes garras en sus extremos (Cruz, n.d.).



**Figura 2.** Estructura del Gnathostoma

Fuente: (Cota, 2015)



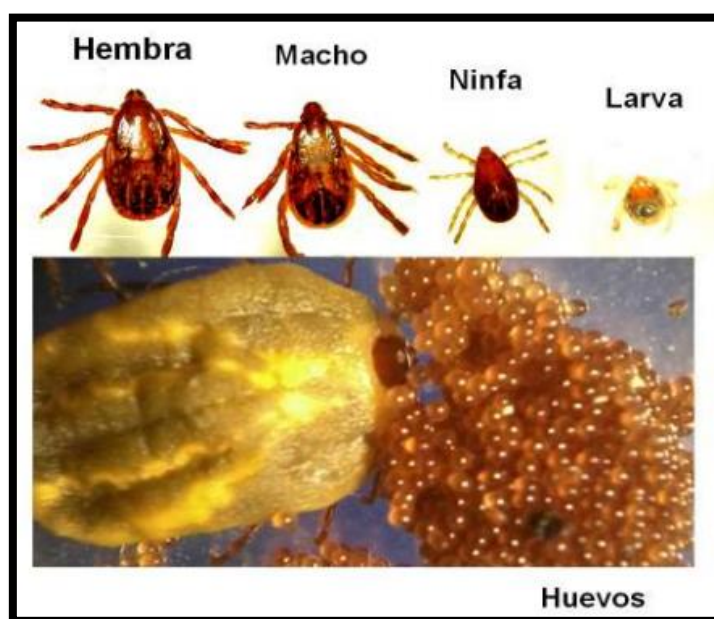
**Figura 3.** Características morfológicas *Rhipicephalus microplus*

Fuente: (Pérez, 2016)



### 2.7.4 Ciclo de vida de la familia *Ixodidae*

Las garrapatas dentro de su ciclo biológico cuentan con cuatro estadios de evolución (Figura 4): huevo, larva, ninfa, adulto. Cada uno de estos estadios durante su etapa de vida, busca a un hospedero del cual se alimentará y crecerá para desarrollarse de forma natural. Las garrapatas tienen un ciclo de vida complejo que se divide en dos fases: una parasitaria y otra de vida libre (Barandika, 2010; Rodríguez *et al.*, 2006).



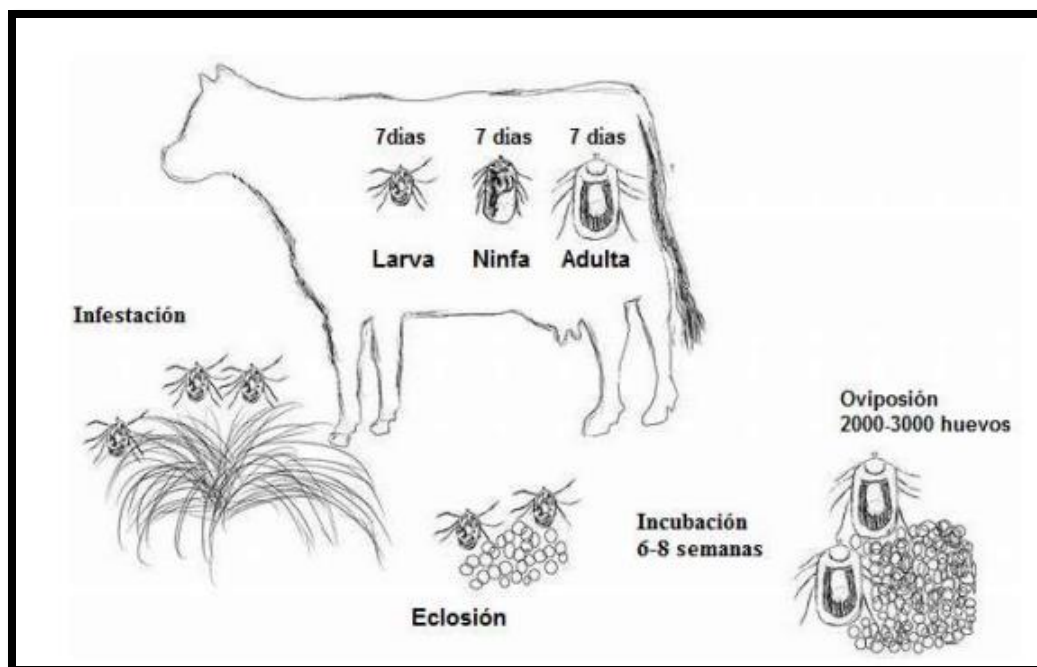
**Figura 4.** Estadios de evolución de las garrapatas  
**Fuente:** (Cota, 2015)

#### 2.7.4.1 Ciclo biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Las garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitan a un solo hospedero, se caracterizan porque se desarrollan en dos fases: una fase parasitaria y otra no parasitaria. En la primera fase pasan los tres estadios de su ciclo (larva, ninfa, adulta) en el animal, durante aproximadamente 3 a 4 semanas; la segunda fase ocurre fuera del hospedero, la hembra

ingurgitada se desprende y cae al suelo para ovopositar, los huevos eclosionan y emergen las larvas que se disponen en los extremos de la vegetación para anclarse al nuevo huésped (BAYER, 2012; Moncada *et al.*, 2015).

Sobre el hospedero se dan dos mudas en las garrapatas (de larva a ninfa y de ninfa a adulta). Las larvas al encontrar un huésped se alimentan y luego de 4 a 7 días mudan al estadio de ninfa, transcurridos de 5 a 7 días la ninfa se alimenta de su huésped para poder transformarse en una garrapata adulta (Pérez, 2016). Las garrapatas adultas parasitan al hospedero; los machos (gonandro) ingieren pequeñas cantidades de sangre, lo suficiente para sobrevivir y fecundar a la hembra, mientras que las hembras aumentan su volumen hasta 250 veces su peso al alimentarse de la sangre de su hospedero durante 12 días (Cota, 2015; Mosquera, 2016). La ovoposición tiene lugar tras la fecundación de las hembras y el desprendimiento del huésped, la hembra (Teologina) deposita entre 2000 a 3000 huevos y después de este proceso muere, al cabo de 6-8 semanas revientan los huevecillos. Con la copulación de una hembra y un macho comienza de nuevo el ciclo biológico de la garrapata. (BAYER, 2012).



**Figura 5.** Ciclo biológico de *Rhipicephalus microplus*  
Fuente: (Pérez, 2016)

## 2.8 Métodos de control de garrapatas

### 2.8.1 Control químico

Durante muchos años los acaricidas químicos han sido utilizados como primera opción para controlar las infestaciones de garrapatas en ganado bovino. Existen dos formas de combatir al ácaro, una en el campo (fase libre) y otro sobre el ganado bovino (fase parasitaria). Sin embargo, el control de *B. microplus* está direccionado en mayor porcentaje a la forma parasitaria (Rodríguez *et al.*, 2006).

Los productos garrapaticidas de origen químicos están clasificados por grupos con semejanza en la estructura química y sitio de acción, entre los que se puede citar: organofosforados,

carbamatos, piretroides, fenilpirazolonas, formamidinas (amitraz), inhibidores de quitina y lactonas macrocíclicas (ivermectina) (Benavides *et al.*, 2016; Rodríguez *et al.*, 2006).

En el intento de mantener un hato completamente sano y evitar pérdidas productivas y económicas, el ganadero creó un falso sentido de seguridad sanitaria en el sector pecuario, a tal punto que sobredimensionó el uso de los acaricidas, dando como resultado la resistencia a los productos químicos en las garrapatas (Díaz, 2012).

#### **2.8.1.1 Grupos usados para el control químico**

**Organofosforados:** se caracterizan por inhibir la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (neurotransmisor), produciendo hiperexcitación del sistema nervioso central de los insectos (Díaz, 2012; Rodríguez *et al.*, 2006).

**Piretroides:** provocan un bloqueo de la actividad motriz, convulsiones, descoordinación de movimientos, irritabilidad, parálisis, letargo y muerte del insecto. Los piretroides tienen un efecto residual en aproximadamente 15 días (Díaz, 2012; Rodríguez *et al.*, 2006).

**Formamidinas:** existe una sobre estimulación de las sinapsis, dando lugar a temblores, convulsiones, anorexia, desprendimientos e interrupción de la reproducción. El producto de mayor uso es el Amitraz (Díaz, 2012).

**Fenilpirazolonas:** las transmisiones de los impulsos nerviosos son inhibidos ya que estimula la liberación de GABA ácido gamma amino butírico, lo que provoca parálisis en el insecto (Díaz, 2012).

**Carbamatos:** su mecanismo de acción es inhibir la enzima acetilcolinesterasa, lo que causa la pérdida de coordinación muscular, tetanización, convulsiones y finalmente la muerte del insecto (Díaz, 2012; Rodríguez *et al.*, 2006).

**Lactonas macrocíclicas:** cesa el estímulo nervioso y produce un estado irreversible de descanso, parálisis flácida y muerte del parásito. Tienen acción tóxica sobre ecto y endoparásitos. El producto más conocido es la Ivermectina (Díaz, 2012; Rodríguez *et al.*, 2006).

### 2.8.1.2 Producto químico Derribante

Derribante es un producto antiparasitario externo utilizado como tratamiento control de ectoparásitos del ganado bovino, equino y ovino. Es una emulsión insecticida-acaricida que está compuesta por dos principios activos: Ethión + Cipermetrina High Cis, que tienen mecanismos de acción diferentes. Su composición determina que por cada 100 ml del producto contiene 10g de Cipermetrina High Cis y 40g de Ethión, proporción de (1:4) que fue desarrollada con el fin de combatir la resistencia de los ectoparásitos a los acaricidas tradicionales. Es la primera mezcla que contiene Cipermetrina High Cis, con 80% de los isómeros Cis con mayor actividad en lugar de solamente 50% que contiene la Cipermetrina común (JAMES BROWN, n.d.; Junquera, 2017).

La combinación de organofosforados y piretroides, teóricamente, debería actuar de manera sinérgica logrando un mayor control de los parásitos, no obstante, las poblaciones de plagas son cada vez más resistentes por lo que los productos químicos no obtienen el resultado deseado. Además de la poca eficacia, las sustancias activas en conjunto representan un riesgo en la seguridad de los seres humanos, ambiente y otros seres vivos. Derribante presenta un grado de

toxicidad moderado grado II, lo que advierte que durante su aplicación se deben implementar medidas preventivas y de seguridad. Tras la administración del producto el periodo de espera para consumir carne o leche deberá ser de dos días mínimo. Adicional se deberá seguir las instrucciones de uso y en casos de emergencia observar las indicaciones especificadas en la etiqueta de cada producto (JAMES BROWN, n.d.; Junquera, 2017).

### **2.8.1.3 Desarrollo de resistencia**

El empleo de diversos métodos de control químico ha generado que las plagas se hagan resistentes a diferentes factores. La resistencia se define como la condición genética que adquieren un grupo de garrapatas, para adaptarse exitosamente a una dosis de químicos, que para una población normal serian letales, de tal manera que les permita sobrevivir a la exposición de los garrapaticidas ( Cruz *et al.*, 2016).

Roush (1993) en ( Cruz *et al.*, 2016) determina que la resistencia se manifiesta por mutaciones genéticas naturales, mas no por el uso irracional de acaricidas. Estas mutaciones permiten que una pequeña parte de una población (alrededor de 1 en 1 000 000 de individuos) pueda resistir y sobrevivir a las aplicaciones de productos químicos para garrapatas.

### **2.8.2 Control biológico**

El objetivo principal del control biológico es la implementación de medidas alternativas que contrarrestan y disminuyan el uso de productos químicos. A pesar de que es una nueva técnica de control ofrece múltiples beneficios, entre los que se puede destacar: evita daños a nivel ambiental como contaminación de suelos y aguas subterráneas, procura el cuidado la entomofauna benéfica

como abejas y otros polinizadores, y actúa como alternativa biorracional y amigable con el entorno (Merchán, 2015).

El control biológico de plagas se centra en controlar a los patógenos de forma efectiva de tal manera que se mantenga dentro de los parámetros económicos y zoosanitarios óptimos para su uso y aplicación en ganaderías bovinas (Arguedas *et al.*, 2008). Los agentes de control biológico están constituidos por microorganismos patógenos tales como: bacterias, virus, protozoarios, nematodos y hongos (Bazán, 2002).

(Piguave, 2016) afirma que se emplean hongos entomopatógenos para regular naturalmente poblaciones de artrópodos e insectos; entre ellos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* han mostrado tener potencial en el control de garrapatas con una efectividad superior al 70 %, aunque, la desventaja de este tipo de control es que los hongos mencionados pierden actividad al estar expuestos a las condiciones climáticas y a la luz solar.

### **2.8.2.1 Hongos entomopatógenos**

Son pocos los estudios en que los hongos entomopatógenos son usados para el control de garrapatas en ganado vacuno, sin embargo, ya se han probado 17 especies de hongos en varias investigaciones (Samsinakova *et al.*, 1974 en Bazán, 2002). Existen 700 especies de hongos aproximadamente de los cuales apenas el 10% son útiles para controlar plagas e insectos (Rodríguez *et al.*, 2014).

Dentro de los hongos entomopatógenos se toman en cuenta conceptos de patogenicidad, virulencia y agresividad, ya que las especies de hongos actúan de maneras diferentes. En cuanto a

patogenicidad se entiende que es la capacidad de un organismo en causar enfermedad; la virulencia en cambio es el grado de patogenicidad con que un microorganismo causa la muerte a su huésped en condiciones específicas y; la agresividad se define como la capacidad que tiene un patógeno para atacar a su hospedero (Bazán, 2002).

## **2.9 Pérdidas económicas que ocasionan las garrapatas**

Las garrapatas son una de las plagas más importantes a nivel mundial debido a las pérdidas económicas que ocasionan en animales de producción pecuaria (Porfirio & Schwentesius, 2016). Este ectoparásito tiene distribución global y gran adaptabilidad, por lo que requiere una ardua atención para desarrollar programas de control y erradicación, principalmente en el continente americano. A nivel mundial se estimaron pérdidas económicas cercanas a los 7 billones de dólares, de los cuales 1 billón perteneció a Latinoamérica (Castro *et al.*, 2010).

Una garrapata adulta durante la fase parasitaria ingiere aproximadamente entre 2 a 3 ml de sangre de su huésped, y a su vez causa la pérdida de 1 gr/día en el peso del animal (Araque *et al.*, 2014). En el caso de las garrapatas del género *Boophilus* spp. se estima que induce a la pérdida de peso vivo en la relación de 0,26 kg por garrapata adulta al año (Rodríguez *et al.*, 2014).y en el caso de *Amblyomma* spp. hasta 1.09 kg/garrapata/año (BAYER, 2012); éste insecto hematófago producirá efectos secundarios en su huésped entre los que se destaca: irritación, anemia (Porfirio & Schwentesius, 2016), disminución en la ganancia de peso, depreciación del cuero por perforaciones entre el 20-30% (Rodríguez *et al.*, 2014), merma en la producción de carne y leche, transmisión de otras enfermedades por protozoarios, bacterias y virus en ganado de leche puede provocar el daño y perdida de uno o más cuartos de la glándula mamaria, baja fertilidad, mayor



tiempo de engorde del animal, dificultan el mejoramiento genético de los predios debido a las infestaciones y exportación de ganado (Cruz *et al.*, 2016).

Según la FAO, los costos que generan los controles sanitarios de garrapatas en un hato ganadero van del 20-40% de la producción total, es decir alrededor de \$7 millones de dólares al año. Y para los costos de control de enfermedades transmitidas por garrapatas se encuentran valores que van de los \$13.9 a los \$18.7 billones de dólares por año (Rodríguez *et al.*, 2014). En Australia se estima que anualmente se pierde \$4 millones de dólares en la cría de ganado, de los cuales el 49% representan los costos para control de garrapatas y el 51% pérdidas de producción de leche, carne y cuero (Leal *et al.*, 2003). En el Ecuador las garrapatas y las moscas de los pastizales ocasionan grandes pérdidas económicas en la ganadería, por las mermas directas en los rendimientos y por la transmisión de patógenos, alrededor del 75% de bovinos se encuentran infestados por garrapatas, lo que origina pérdidas económicas muy significativas (Díaz, 2015).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación del lugar de investigación

##### 3.1.1 Ubicación Política

El presente estudio se desarrolló en la finca “María José” ubicada en la parroquia Linares, cantón El Chaco, provincia de Napo. La parroquia de Linares se encuentra delimitado: al Norte por las parroquias El Chaco y Gonzalo Díaz de Pineda ubicadas en el cantón El Chaco; al Sur con la parroquia Sumaco en el cantón Quijos; al Este con las parroquias Gonzalo Díaz de Pineda en el cantón El Chaco y San José de Payamino en el Cantón Loreto; al Oeste con las parroquias Sardinias en cantón El Chaco y San Francisco de Borja en cantón Quijos (GAD-LINARES, 2015).

La identificación de la especie de garrapatas se realizó en los laboratorios del Instituto de Investigación en Salud Pública y Zoonosis (CIZ), ubicado en la Universidad Central del Ecuador.

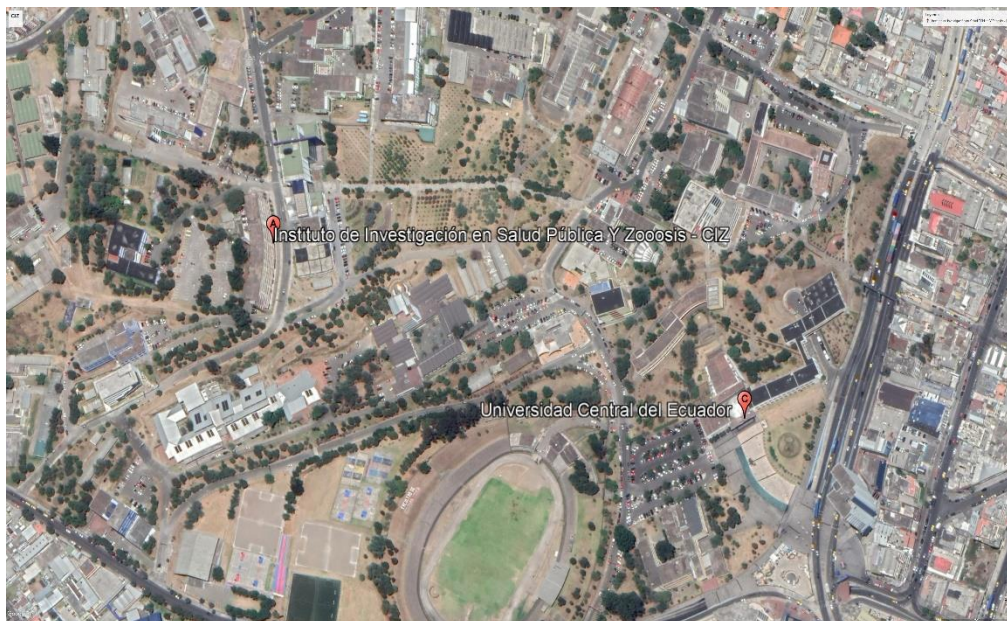
##### 3.1.2 Ubicación Geográfica

La parroquia de Linares se encuentra ubicada al noroeste de la Provincia del Napo entre las coordenadas  $1^{\circ}1'53.9''$  de latitud Sur y  $77^{\circ}39'59.88''$  de longitud Oeste, con un rango altitudinal de 1 445 – 3 460 m.s.n.m (Figura 6) (GAD-LINARES, 2015).

El CIZ se encuentra ubicado en la provincia de Pichincha, cantón Quito. En las coordenadas  $0^{\circ}11'57''$  de latitud Sur y  $78^{\circ}30'21''$  de longitud Oeste, a una altura de 2 857 m.s.n.m (Figura 7).



**Figura 6.** Finca María José  
**Fuente:** (Google-Earth, 2019)



**Figura 7.** Instituto de Investigación en Salud Pública y Zoonosis (CIZ)  
**Fuente:** (Google-Earth, 2019)

### 3.1.3 Ubicación Ecológica

La parroquia de Linares posee un clima húmedo con temperaturas que oscilan los 16.5 °C, precipitaciones que van desde los 1 200 mm a 3 000 mm y predominio de dos estaciones bien marcadas: de noviembre-febrero (invierno) y de marzo-octubre (verano). Linares posee tres tipos de ecosistemas, el primero es el Bosque Siempreverde Montano, que tiene dominio del territorio parroquial ocupando un 66.27% de la superficie, mientras que el Bosque Siempreverde Montano Bajo representa el 22.18% del territorio, y el Bosque Siempreverde Montano Alto se reduce a extensiones menores de 580 ha con el 2.68% (GAD-LINARES, 2015).

## 3.2 Materiales

### 3.2.1 Materiales de campo

- Ficha de registro de animales
- Guantes quirúrgicos
- Bomba de mochila
- Esfero
- Botas
- Soga
- Jeringuilla
- Cámara fotográfica

### 3.2.2 Biológicos

- *Beauveria bassiana* (BIO-BASS)

- *Metarhizium anisopliae* (BIOTA)

### 3.2.3 Químico

- Derribante (Ethión + Cipermetrina)

## 3.3 Métodos

### 3.3.1 Área de estudio

El área general de la finca en estudio consistió en 48 ha de pasturas. Los forrajes principales en la zona estudiada son pasto miel y maní forrajero. Durante los meses de agosto, septiembre de 2018 se desarrolló el estudio.

### 3.3.2 Selección de los animales

Se seleccionaron 16 animales (Holstein x Brown Swiss) con 60 meses  $\pm$  24 meses de edad, con pesos corporales promedio de  $461 \pm 83$  kg, y con la respectiva identificación. Los animales seleccionados tuvieron una infestación natural de garrapatas. Quince días antes de empezar con el estudio no se aplicó el tratamiento químico, el desparasitante utilizado en la finca fue Derribante (Ethión + Cipermetrina); esto con la finalidad de que las poblaciones de garrapatas sean representativas para una adecuada evaluación del ensayo.

### 3.3.3 Aplicación de los tratamientos

Se establecieron tres grupos experimentales de cuatro animales cada uno y un grupo testigo de cuatro animales. El grupo uno se trató con *Metarhizium anisopliae* (BIOTA) a una concentración

de  $1 \times 10^9$  conidia/ml con Tween 80 al 1%, mientras que para el grupo dos se usó *Beauveria bassiana* (BIO-BASS) a una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/ml con Tween 80 al 1%, y por último el grupo tres que fue el control químico Derribante (Ethión + Cipermetrina), utilizando una dosis de 1,5 ml/L de agua.

Los hongos entomopatógenos se mezclaron a una dosis de 2,5 ml/L con agua más Tween 80 al 1% y se rociaron 3 litros de la mezcla sobre los animales, teniendo en cuenta que se direcciona la boquilla de la bomba en contra la dirección del pelo del animal; se usaron dos bombas de aspersión de 15 litros de capacidad; en el caso del tratamiento químico se ocupó tres litros de la mezcla por animal, añadiendo 1,5 ml/L del producto Derribante.

(Alonso *et al.*, 2007), los tratamientos con entomopatógenos fueron aplicados cada 15 días (0, 15, 30, 45); mientras que para el tratamiento químico se realizaron dos aplicaciones (en los días 0 y 30). Después de la aplicación de los tratamientos a cada grupo de animales se le permitió pastorear. Los animales fueron tratados por la mañana durante el ordeño, entre las 6 a.m. y las 9 horas a.m.

Antes de la aplicación de cada tratamiento (día 0), durante el período experimental, la carga de garrapatas se evaluó contando visual y manualmente el número de hembras engurgitadas mayores de 4,5 mm, el conteo se realizó en el lado izquierdo del animal, y se multiplicó por dos para obtener el número total de garrapatas (Alonso *et al.*, 2007). Para mejorar el proceso de toma de datos, se realizó un álbum fotográfico de todos los animales por tratamiento con su respectiva identificación, se imprimió las fotos tomadas de cada uno de los animales se les clasificó por tratamiento y se utilizó a manera de pictograma. La ubicación de las garrapatas se señaló con

mayor precisión por las manchas o prominencia de huesos del animal lo que facilitaba la señalización con bolígrafo sobre el pictograma de cada animal. Para cada día de conteo se usó una impresión, de esta manera se iba señalando la ubicación de las garrapatas que no cayeron durante el paso de los días.

Los conteos de garrapatas hembras engurgitadas se registraron en los días 0, 1, 3, 5, 7 y 9 postratamiento (PT) (Alonso *et al.*, 2007). El ganado fue observado los días de aplicación del tratamiento y se inspeccionó cualquier reacción adversa.

### 3.3.4 Diseño experimental

Para este estudio se utilizó un DCA bifactorial con tres tratamientos y cuatro repeticiones. Además, se consideró un tratamiento control con cuatro repeticiones. Cada uno de los 16 animales que fueron seleccionados representó una unidad experimental.

$$Y_{ij} = u + t_i + E_{ij}$$

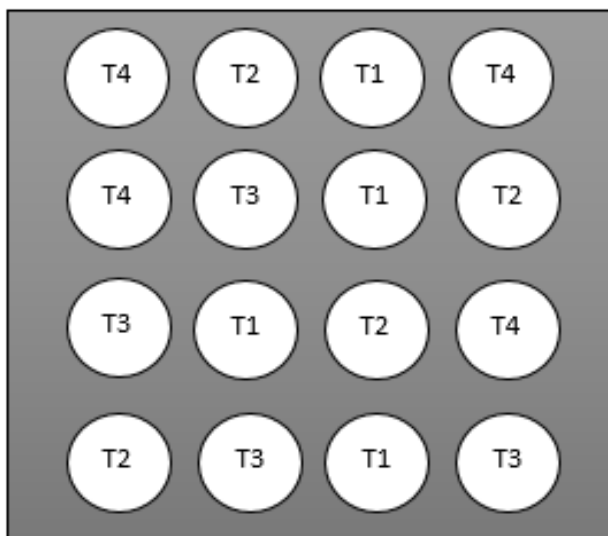
**Donde:**

$Y_{ij}$  = eficacia de control

$u$  = media o promedio general

$t_i$  = efecto de los tratamientos (T1, T2, T3)

$E_{ij}$  = error experimental



*Figura 8.* Croquis diseño experimental.

### 3.3.5 Análisis de datos

Las variables de estudio que se midieron son:

- a. Número de especies de garrapatas: Se tomaron muestras de 10 garrapatas en 10 vacas, se colocaron en tubos de ensayo rotulados con 10 ml de alcohol étílico al 70% y se las transportó a los laboratorios del CIZ. Para la identificación de las especies de garrapatas se observaron las siguientes estructuras morfológicas: Gnathostoma, hipostoma, palpos, surco anal, capitulo, coxa I y placas adanales siguiendo las claves de Labruna (n.d.).
- b. Número de garrapatas/unidad bovina/tratamiento: se monitoreó la población de garrapatas presentes en cada animal a través de los conteos visuales y manuales antes de la aplicación de cada tratamiento y posteriormente también se contaron y señalaron en las impresiones fotográficas en los días 0, 1, 3, 5, 7 y 9 después de aplicar cada uno de los tratamientos.



Para el análisis estadístico se utilizó ANAVA con modelos mixtos. Además, se realizaron pruebas de comparación de medias DGC al 5%

El análisis comparativo del control de garrapatas para los tratamientos biológicos y químico, se realizó mediante el conteo de las garrapatas vivas sobre el animal antes y después de la aplicación de los tratamientos, estos datos permitieron desarrollar el porcentaje de efectividad de cada uno de los tratamientos. La eficacia de los tratamientos se determinó por medio del modelo descrito en (Alonso et al., 2007).

$$\% \text{ Eficacia} = \frac{(\bar{x} \text{ del no. garrapatas en grupo control}) - (\bar{x} \text{ del no. garrapatas en grupo tratado})}{(\bar{x} \text{ del no. garrapatas en grupo control})} * 100$$

**Donde:**

$\bar{x}$ = Promedio

La evaluación económica del tratamiento más rentable, se realizó mediante la técnica de análisis de presupuesto parcial de Perrin et al., 1976. Para el presente estudio se evaluó el efecto de los tratamientos sobre el control de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, por lo que no se obtuvo datos de producción final o rendimiento. El análisis económico enfocado al presupuesto parcial permitió determinar la relación costo-beneficio de cada uno de los tratamientos. Sin embargo, se realizó un ajuste a lo planteado en la metodología de presupuestos parciales, debido a que el beneficio económico neto por tratamiento fue reemplazado por la efectividad de los tratamientos para el combate de garrapatas en ganado vacuno, esto permitió desarrollar una comparación económica adecuada (Ávalos & Villalobos, 2018).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

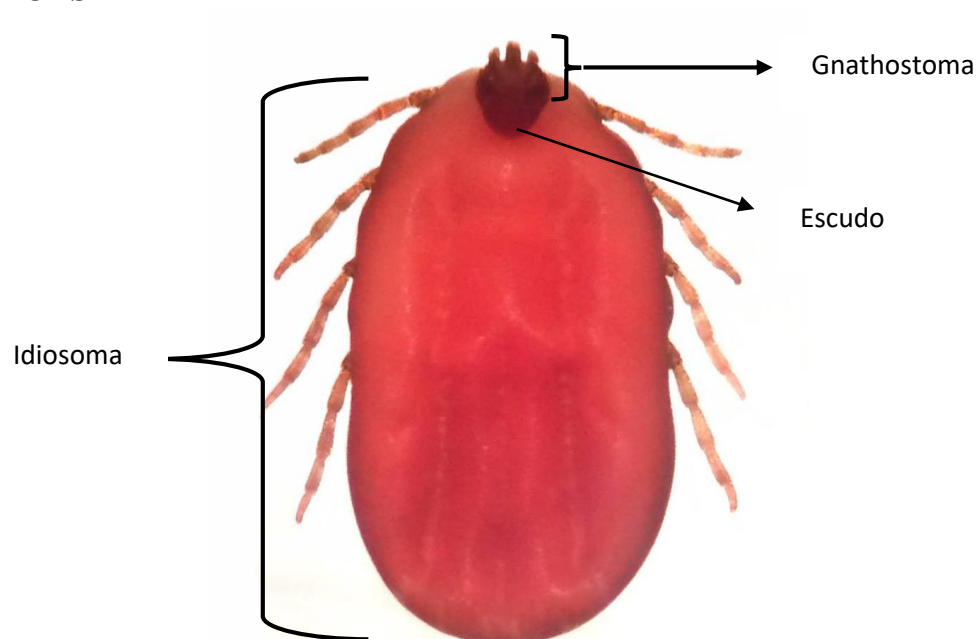
#### 4.1 Resultados

##### 4.1.1 Identificación de las especies de garrapatas presente en el área de estudio

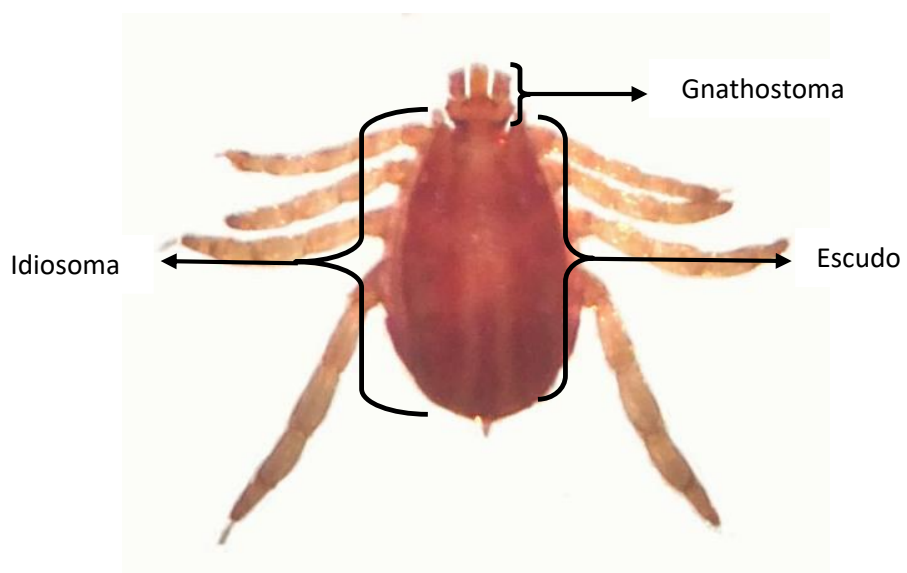
Para la identificación de las especies de garrapatas se observaron las siguientes estructuras morfológicas: Gnathostoma, hipostoma, palpos, surco anal, capitulo, coxa I y placas adanales siguiendo las claves de Labruna (n.d.). Determinando que en el 100% de las muestras recolectadas en el lugar de experimentación se obtuvo la presencia de *Riphacephalus (Boophilus) microplus* en todas sus etapas.



**Figura 9.** *Riphacephalus Boophilus microplus* (Izq: Hembra, Der: Macho)

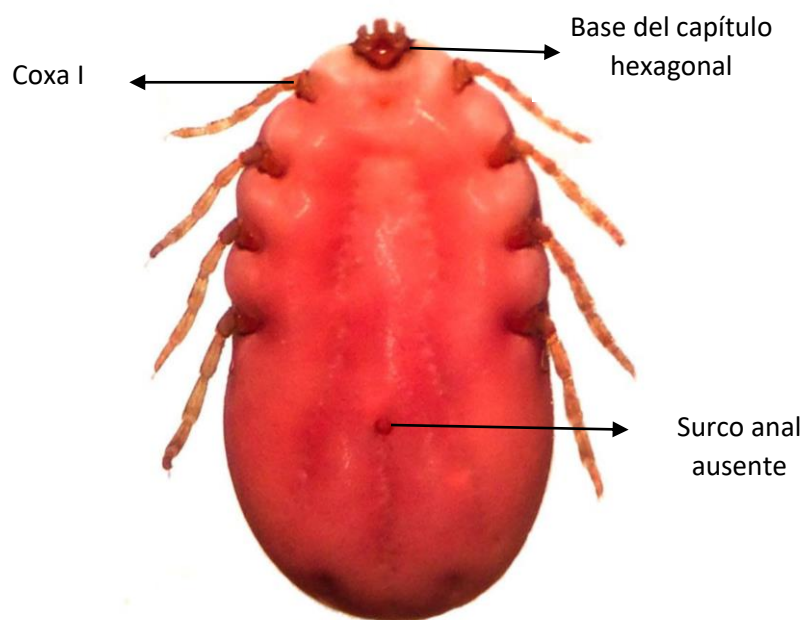
**PARTE DORSAL**

*Figura 10. Hembra Rhipicephalus Boophilus microplus*

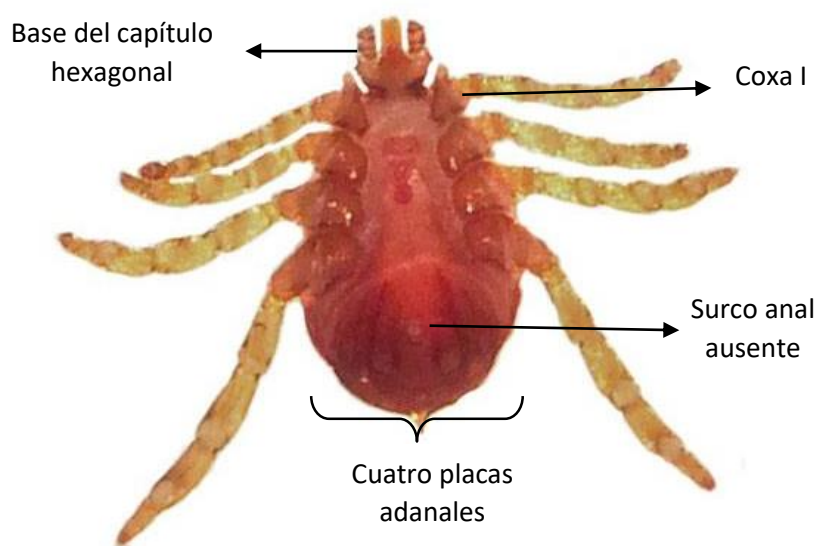


*Figura 11. Macho Rhipicephalus Boophilus microplus*

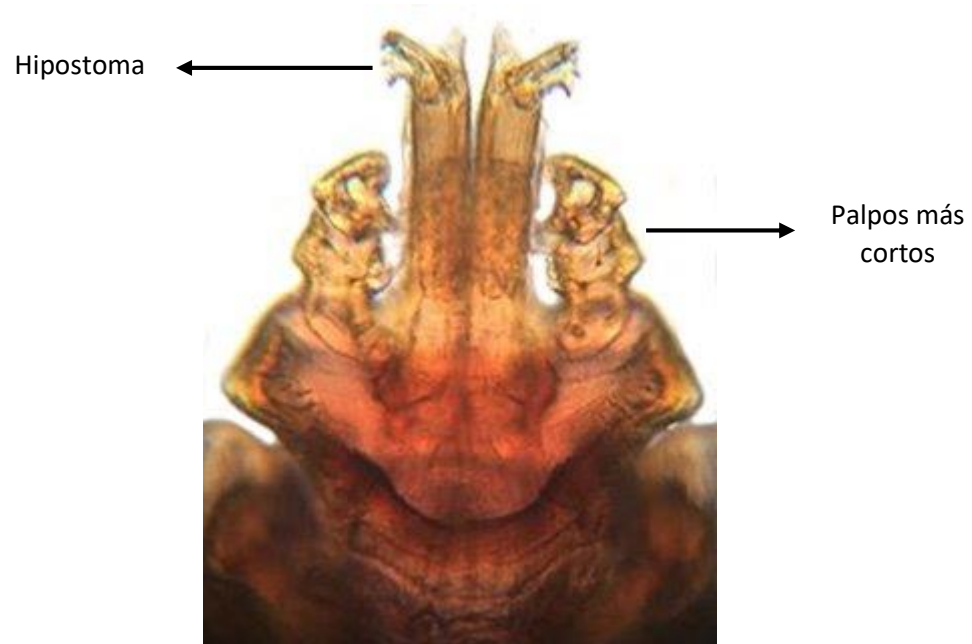
**PARTE VENTRAL**



*Figura 12. Hembra Rhipicephalus Boophilus microplus*



*Figura 13. Macho Rhipicephalus Boophilus microplus*

**VISTA MICROSCÓPICA**

*Figura 14.* Gnathostoma



*Figura 15.* Espolones en la Coxa I

## Clave para la identificación de los géneros de adultos de la familia Ixodidae del Ecuador

### Labruna (n.d.)

El género de garrapatas identificado en todas las muestras tomadas durante el ensayo fue *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, se presentan con las siguientes características:

1. El surco anal está ausente tanto en machos como en hembras.
2. El Gnathostoma en machos y hembras es corto, el escudo siempre se presenta sin adornos.
3. La base del capítulo tiene forma hexagonal.
4. Se observa en la Coxa I dos espolones muy pequeños, palpos más cortos que el Hipostoma. No hay festones. Los machos presentan 4 placas adanales. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

#### 4.1.2 Análisis comparativo de los tratamientos

En el análisis de varianza ANAVA con modelos mixtos se encontró diferencias significativas en la interacción Tratamiento:Tiempo para la variable número de garrapatas presentes en vacas lecheras expuestas a 3 tratamientos y un testigo, en 6 tiempos de conteo (Tabla 1). El tratamiento químico con Derribante (Ethión + Cipermetrina) a los 7 y 9 días fue más eficiente en el control de garrapatas en comparación a los tratamientos biológicos y testigo (Tabla 3 y Figura 17).

**Tabla 1**

*Análisis de varianza para la variable número de garrapatas presentes en vacas expuestas a 4 tratamientos en 6 mediciones de tiempo.*

| Variable           | Gl | F      | p-valor |
|--------------------|----|--------|---------|
| Tratamiento        | 3  | 263,85 | <0,0001 |
| Tiempo             | 5  | 22,95  | <0,0001 |
| Tratamiento:Tiempo | 15 | 7,76   | <0,0001 |

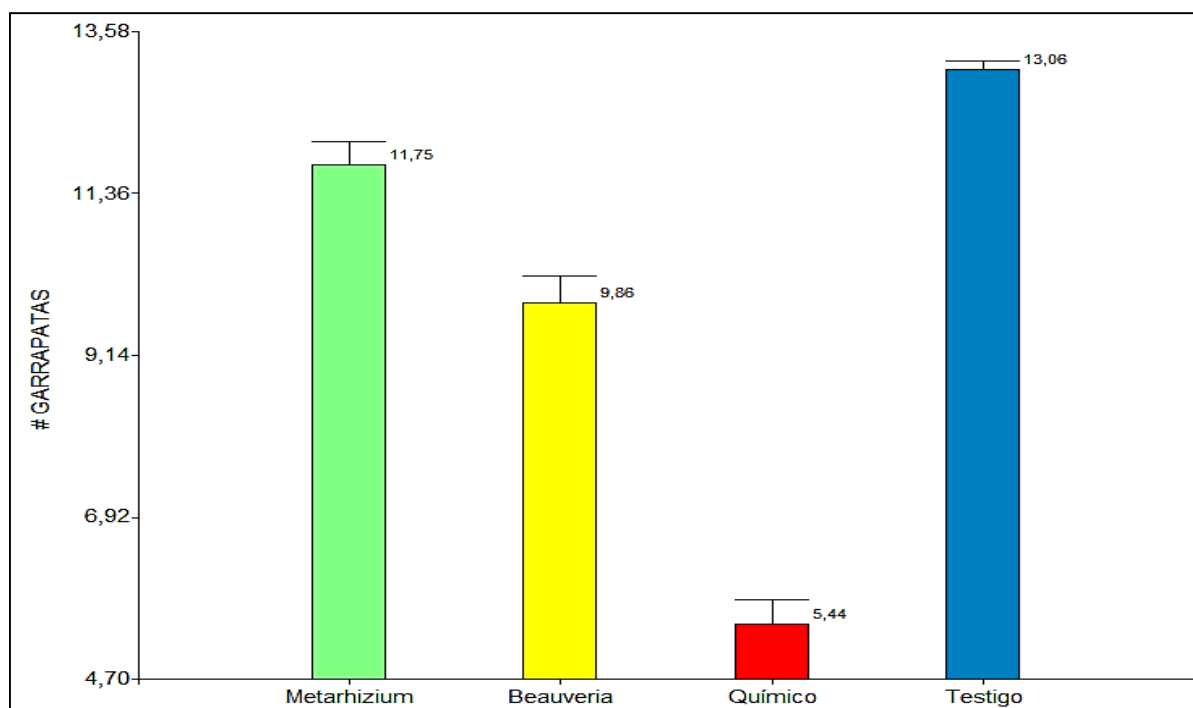
Existen diferencias significativas (Tabla 2, Figura 16) determinadas con la prueba de comparación de medias DGC entre los tratamientos, siendo el tratamiento químico el que presentó menor número promedio de garrapatas vivas/animal  $5,45 \pm 0,25$ , comparado con el resto de tratamientos.

**Tabla 2**

*Promedio  $\pm$  error estándar del número de garrapatas presentes en vacas lecheras expuestas a 3 tratamientos y un testigo.*

| Tratamiento          | Promedio $\pm$ E.E. del número de garrapatas |   |
|----------------------|--|---|
| Testigo              | 13,06 $\pm$ 0,12                             | a |
| <i>M. anisopliae</i> | 11,75 $\pm$ 0,29                             | b |
| <i>B. bassiana</i>   | 9,86 $\pm$ 0,34                              | c |
| Químico              | 5,45 $\pm$ 0,25                              | d |

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



**Figura 16.** Promedio del número de garrapatas presentes en vacas lecheras por tratamiento

Existen diferencias significativas (Tabla 3, Figura 17) determinadas con la prueba de comparación de medias DGC entre los tratamientos y los 6 tiempos de conteo de garrapatas,

siendo el tratamiento químico al día 7 y 9 los que presentaron menor número de garrapatas comparado con el resto de tratamientos, obteniendo  $3,11 \pm 0,60$  y  $2,11 \pm 0,60$  a los días 7 y 9 respectivamente.

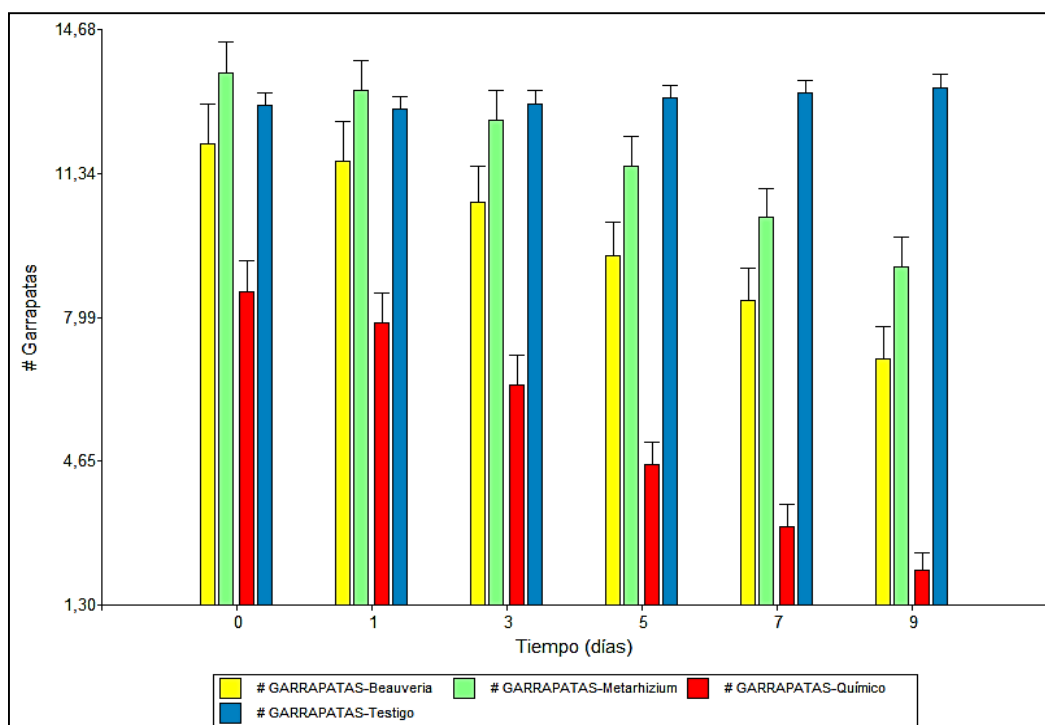
**Tabla 3**

*Promedio  $\pm$  error estándar del número de garrapatas presentes en vacas lecheras expuestas a 3 tratamientos, un testigo y 6 tiempos de conteo.*

| <i>Tiempo (días)</i> | <i>Tratamiento</i>   | <i># Garrapatas</i> |   |
|----------------------|----------------------|---------------------|---|
| <b>0</b>             | <i>M. anisopliae</i> | $13,66 \pm 0,70$    | a |
|                      | <i>B. bassiana</i>   | $12,03 \pm 0,83$    | a |
|                      | Testigo              | $12,93 \pm 0,30$    | a |
|                      | Químico              | $8,59 \pm 0,60$     | b |
| <b>1</b>             | <i>M. anisopliae</i> | $13,26 \pm 0,70$    | a |
|                      | <i>B. bassiana</i>   | $11,61 \pm 0,83$    | a |
|                      | Testigo              | $12,83 \pm 0,30$    | a |
|                      | Químico              | $7,87 \pm 0,60$     | b |
| <b>3</b>             | <i>M. anisopliae</i> | $12,56 \pm 0,70$    | a |
|                      | <i>B. bassiana</i>   | $10,66 \pm 0,83$    | a |
|                      | Testigo              | $12,96 \pm 0,30$    | a |
|                      | Químico              | $6,42 \pm 0,60$     | b |
| <b>5</b>             | <i>M. anisopliae</i> | $11,51 \pm 0,70$    | a |
|                      | <i>B. bassiana</i>   | $9,43 \pm 0,83$     | b |
|                      | Testigo              | $13,09 \pm 0,30$    | a |
|                      | Químico              | $4,57 \pm 0,60$     | c |
| <b>7</b>             | <i>M. anisopliae</i> | $10,33 \pm 0,70$    | a |
|                      | <i>B. bassiana</i>   | $8,38 \pm 0,83$     | b |
|                      | Testigo              | $13,21 \pm 0,30$    | a |
|                      | Químico              | $3,11 \pm 0,60$     | d |
| <b>9</b>             | <i>M. anisopliae</i> | $9,16 \pm 0,70$     | b |
|                      | <i>B. bassiana</i>   | $7,01 \pm 0,83$     | b |
|                      | Testigo              | $13,33 \pm 0,30$    | a |
|                      | Químico              | $2,11 \pm 0,60$     | d |

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





**Figura 17.** Promedio del número de garrapatas presentes en vacas lecheras en 6 tiempos de conteo

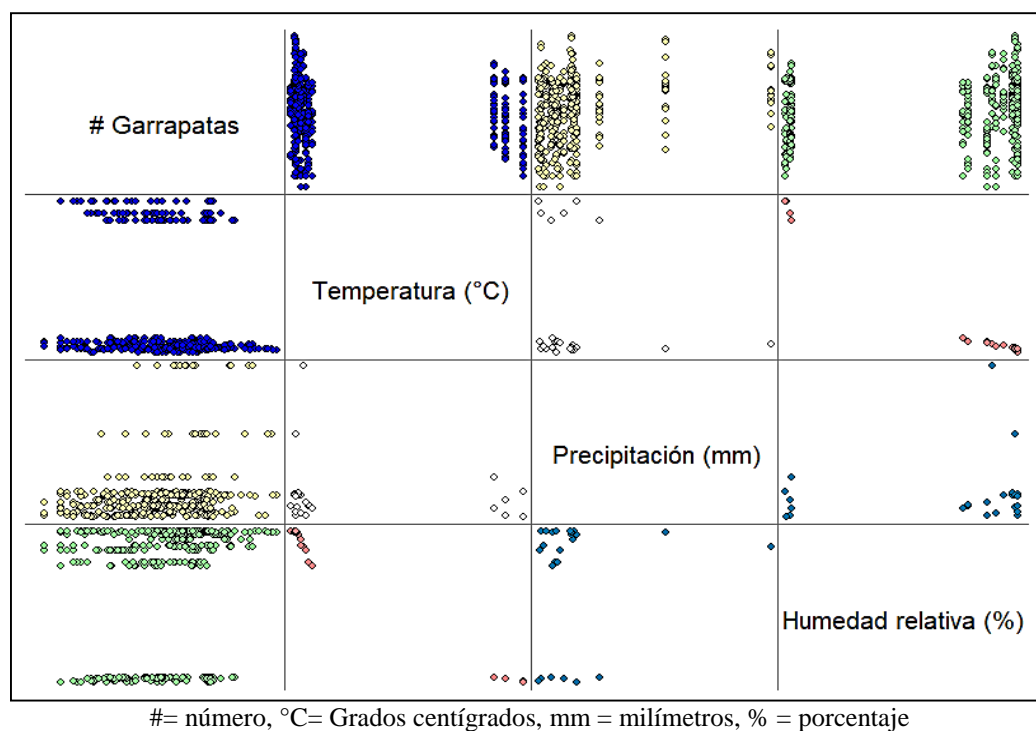
### Relación entre el número de garrapatas y parámetros ambientales

El número de garrapatas presentó un efecto significativo con los parámetros ambientales, sin embargo, los valores de rho no son representativos (Tabla 4 y Figura 18). El análisis de correlación entre la variable número de garrapatas y Temperatura (°C), Precipitación (mm), y Humedad Relativa (%), no presentó una correlación significativa.

**Tabla 4**

*Coefficientes de correlación de Pearson (Coeficientes/probabilidades) entre el número de garrapatas y parámetros ambientales*

|                      | # Garrapatas | Temperatura (°C) | Precipitación (mm) | Humedad relativa (%) |
|----------------------|--------------|------------------|--------------------|----------------------|
| # Garrapatas         | 1            | < 0,01           | < 0,01             | < 0,01               |
| Temperatura (°C)     | -0,15        | 1                | 0,01               | 0,00                 |
| Precipitación (mm)   | 0,22         | -0,14            | 1                  | 0,01                 |
| Humedad relativa (%) | 0,16         | -0,99            | 0,14               | 1                    |



**Figura 18.** Diagrama de dispersión entre la variable # de garrapatas y parámetros ambientales

El promedio del número de garrapatas y la eficacia de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y el tratamiento Químico (Derribante), en control a la infestación natural de hembras engurgitadas de *Boophilus microplus* se muestra en la Tabla 5.

Para el tratamiento *M. anisopliae*, la eficacia en el control de garrapatas *B. microplus* es visible a partir de la segunda aplicación, alcanzando un porcentaje máximo de control del 44.16% al día 9 de haber sido aplicado el tratamiento. Para el caso de *B. bassiana* el mayor porcentaje de eficacia se reportó en la cuarta aplicación al día 9 post-tratamiento con el 54,19%. Sin embargo, el tratamiento Químico con Derribante fue el que mayor eficacia presentó en el control de garrapatas, alcanzando al final de las dos aplicaciones valores de 92.21% y 95.04% respectivamente.

**Tabla 5**

*Promedio del número de garrapatas y eficacia de 3 tratamientos en control de la infestación de B. microplus en ganado lechero.*

| Aplicación | Días de conteo | Promedio garrapatas adultas engurgitadas |                    |         |         | Eficacia (%)         |                    | Eficacia (%) |  |
|------------|----------------|--|--------------------|---------|---------|----------------------|--------------------|--------------|--|
|            |                | <i>M. anisopliae</i>                     | <i>B. bassiana</i> | Químico | Testigo | <i>M. anisopliae</i> | <i>B. bassiana</i> | Químico      |  |
| <b>1</b>   | 0              | 14.98                                    | 13.04              | 10.81   | 12.25   | 0                    | 0                  | 11.76        |  |
|            | 1              | 14.63                                    | 12.67              | 9.42    | 12.06   | 0                    | 0                  | 21.89        |  |
|            | 3              | 14.04                                    | 11.83              | 8.80    | 12.11   | 0                    | 2.31               | 27.33        |  |
|            | 5              | 13.07                                    | 10.16              | 6.47    | 12.18   | 0                    | 16.58              | 46.88        |  |
|            | 7              | 12.03                                    | 9.29               | 5.23    | 12.51   | 3.84                 | 25.74              | 58.19        |  |
|            | 9              | 11.10                                    | 7.71               | 3.73    | 12.50   | 11.20                | 38.32              | 70.16        |  |
| <b>2</b>   | 0              | 11.30                                    | 9.89               | 5.65    | 13.31   | 15.10                | 25.69              | 57.55        |  |
|            | 1              | 10.96                                    | 9.33               | 5.18    | 13.22   | 17.10                | 29.43              | 60.82        |  |
|            | 3              | 10.35                                    | 8.50               | 3.56    | 13.25   | 21.89                | 35.85              | 73.13        |  |
|            | 5              | 9.79                                     | 7.87               | 2.64    | 13.36   | 26.72                | 41.09              | 80.24        |  |
|            | 7              | 9.26                                     | 7.25               | 1.32    | 13.20   | 29.85                | 45.08              | 90.00        |  |
|            | 9              | 7.60                                     | 6.38               | 1.06    | 13.61   | 44.16                | 53.12              | 92.21        |  |
| <b>3</b>   | 0              | 13.61                                    | 14.48              | 10.12   | 12.69   | 0                    | 0                  | 20.25        |  |
|            | 1              | 13.12                                    | 14.12              | 9.83    | 12.48   | 0                    | 0                  | 21.23        |  |
|            | 3              | 12.40                                    | 12.68              | 8.24    | 12.80   | 3.13                 | 0.94               | 35.63        |  |
|            | 5              | 10.51                                    | 10.99              | 5.86    | 12.90   | 18.53                | 14.81              | 54.57        |  |
|            | 7              | 8.73                                     | 9.26               | 4.00    | 12.89   | 32.27                | 28.16              | 68.97        |  |
|            | 9              | 7.69                                     | 7.42               | 2.95    | 12.88   | 40.30                | 42.39              | 77.10        |  |
| <b>4</b>   | 0              | 14.77                                    | 10.71              | 7.79    | 13.49   | 0                    | 20.61              | 42.25        |  |
|            | 1              | 14.33                                    | 10.34              | 7.06    | 13.59   | 0                    | 23.91              | 48.05        |  |
|            | 3              | 13.45                                    | 9.65               | 5.09    | 13.67   | 1.61                 | 29.41              | 62.77        |  |
|            | 5              | 12.68                                    | 8.72               | 3.29    | 13.92   | 8.91                 | 37.36              | 76.36        |  |
|            | 7              | 11.32                                    | 7.72               | 1.90    | 14.23   | 20.45                | 45.75              | 86.65        |  |
|            | 9              | 10.24                                    | 6.56               | 0.71    | 14.32   | 28.49                | 54.19              | 95.04        |  |

### 4.1.3 Análisis Económico

Para el análisis económico se determinaron los costos relevantes en el ensayo, donde se detallan el valor de cada uno de los productos biológicos y químico utilizados; no se consideraron mano de obra, ni costo del agua para la aplicación ya que no fueron costos que tuvieran influencia dentro de la investigación. Debido a la distancia del lugar de experimentación, el costo de transporte de los insumos si se tomó en cuenta. Los costos variables del ensayo se detallan en la (Tabla 6), determinando que el producto químico presentó mayor costo de ensayo, seguido del producto biológico *Beauveria bassiana*, mientras que para *Metarhizium anisopliae* el costo fue menor.

**Tabla 6**

*Estimación de los costos variables para el control en campo de las garrapatas B. microplus en vacas lecheras.*

| Producto             | Presentación comercial (ml) | Costo del producto (\$) | Costo del transporte (\$) | Costo total del producto | Cantidad de producto utilizado (4 vacas) | Costo unitario por presentación (\$)(©) | Número de aplicaciones | Costos variables del ensayo (\$)(®) |
|----------------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|--|---|------------------------|-------------------------------------|
| <i>M. anisopliae</i> | 1000                        | 10                      | 3.75                      | 13.75                    | 7.5ml*4=30ml                             | 0.014                                   | 4                      | 1.65                                |
| <i>B. bassiana</i>   | 1000                        | 14                      | 3.75                      | 17.75                    | 7.5ml*4=30ml                             | 0.018                                   | 4                      | 2.13                                |
| Químico              | 100                         | 7.85                    | 3.75                      | 11.60                    | 4.5ml*4=18ml                             | 0.116                                   | 2                      | 4.18                                |

ml= milímetros, \$= dólares,

© Costo total/cantidad utilizada

®Costo unitario\*cantidad de veces de uso del producto\*cantidad de producto utilizado

El beneficio neto de la aplicación de los tratamientos durante el desarrollo del ensayo, determinó que el tratamiento Químico obtuvo mayor beneficio en el control de garrapatas *R. microplus*, mientras que tratamiento *M. anisopliae* presentó el menor beneficio (Tabla 7). La dominancia entre los tratamientos demostró que *M. anisopliae* fue el que tuvo menor costo, por lo que no fue dominado, al igual que los tratamientos restantes como se puede observar en la (Tabla 8).

**Tabla 7**

*Estimación de los beneficios económicos netos de los tratamientos usados para el control en campo de las garrapatas B. microplus en vacas lecheras.*

| BENEFICIO NETO DE LA APLICACIÓN |                   |
|---------------------------------|-------------------|
| Tratamiento                     | No. de garrapatas |
| <i>M. anisopliae</i>            | 18.03             |
| <i>B. bassiana</i>              | 20.05             |
| Químico                         | 25.92             |

No. =número

**Tabla 8**

*Análisis de dominancia de los tratamientos aplicados para el control en campo de las garrapatas B. microplus en vacas lecheras.*

| Tratamiento                            | Costo que varían (CV)(\$) | Beneficio neto (BN) No. de garrapatas | Observación de cambio de tratamientos | Conclusión  |
|--|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| <i>M. anisopliae</i> (T <sub>1</sub> ) | 1.65                      | 18.03                                 |                                       | No dominado |
| <i>B. bassiana</i> (T <sub>2</sub> )   | 2.13                      | 20.05                                 | De T <sub>1</sub> a T <sub>2</sub>    | No dominado |
| Químico (T <sub>3</sub> )              | 4.18                      | 25.92                                 | De T <sub>2</sub> a T <sub>3</sub>    | No dominado |

\$= dólares, No.= número

El tratamiento biológico con *B. bassiana* fue el que mostró la mayor tasa de retorno marginal, y por lo tanto fue el producto que presento un mejor costo-beneficio para el control de garrapatas *B. microplus*, en la (Tabla 9) se puede observar los resultados.

**Tabla 9**

*Análisis del TRM para los tratamientos no dominados en el control de las garrapatas B. microplus que infestan vacas lecheras en El Chaco, Ecuador.*

| Tratamiento          | Costo que varían (CV) (\$) | Beneficio neto (BN) No. de garrapatas | $\Delta$ BN | $\Delta$ CV | TRM (%) ( $\Delta$ BN/ $\Delta$ CV)*100 |
|----------------------|----------------------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|
| <i>M. anisopliae</i> | 1.65                       | 18.03                                 |             |             |   |
| <i>B. bassiana</i>   | 2.13                       | 20.05                                 | 2.02        | 0.48        | 420.83                                  |
| Químico              | 4.18                       | 25.92                                 | 5.87        | 2.05        | 286.34                                  |

\$= dólares, No.= número, %= porcentaje.

## 4.2. Discusión

### 4.2.1 Identificación de la especie de garrapata presente en el área de estudio

En el presente estudio únicamente se identificó la presencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Resultados similares fueron determinados en estudios realizados por Bustillos (2014) en el Cantón San Miguel de los Bancos, provincia de Pichincha. Díaz (2015) en su ensayo determina que existió un solo género de garrapatas en el ganado, la identificación realizada por claves pictóricas y dicotómicas permitió establecer la presencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el cantón Patate, parroquia la Matriz. Albán (1966) reportó en Santo Domingo de los Tsáchilas la presencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en ganado vacuno y equino.

Autores como Díaz *et al.*, (2007), BAYER (2012) y Bustillos (2014) mencionan que la ecología de las garrapatas está determinada por zonas con humedades relativas mayores a 80%, temperatura promedio de 26-28°C y pisos climáticos que pueden ir desde el nivel del mar hasta los 2 900 m.s.n.m., estas condiciones climáticas se encuentran con mayor frecuencia en zonas tropicales y subtropicales.

#### 4.2.2 Eficacia del control de los tratamientos

Durante el ensayo la eficacia de los hongos entomopatógenos en el control de las garrapatas engurgitadas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en vacas lecheras demostró que: *Metarhizium anisopliae* a una concentración de  $1 \times 10^9$  conidias/ml obtuvo al noveno día después de la segunda aplicación una eficacia del 44,16%, mientras que *Beauveria bassiana* a una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/ml presentó en la cuarta aplicación al día 9 el 54,19%, siendo éstos los porcentajes máximos alcanzados en todo el ensayo. En el estudio realizado por Díaz *et al.*, (2007) determinaron que la eficacia de control de hembras *B. microplus* con *Metarhizium anisopliae* Ma34  $1 \times 10^8$  conidias/ml consiguió entre el 40-91.2% a partir de la segunda aplicación hasta el final del experimento y al séptimo día de tratamiento. Arguedas *et al.*, (2008) la fase *in vivo* se realizó en ganado de doble propósito y se aplicó *Metarhizium anisopliae* a  $1 \times 10^{10}$  conidias/ml para el control de teleóginas, se obtuvo a partir del día 3 una mortalidad  $>7\%$  y un efecto letal a partir del quinto día, además se observó una disminución del 59% del número de garrapatas en el grupo no tratado comparado con el 79% del grupo tratado, los autores detallan que existe mayor susceptibilidad a la infestación de garrapatas en animales de origen europeo comparado con los de descendencia cebuína.

En los ensayos de campo realizado por López *et al.*, (2009) lograron disminuir en un 75% la infestación de *B. microplus* en ganado Holstein x Cebú utilizando *Metarhizium anisopliae* (cepa 137bm) a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidias/ml. En el presente estudio se utilizaron cruza de Holstein x Brown Swiss, obteniendo el control de la garrapata del ganado *B. microplus* hasta un 44, 16% de efectividad con la aplicación de *Metarhizium anisopliae*  $1 \times 10^9$  conidias/ml.

(Bautista *et al.*, 2017) en su estudio en campo controlaron *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* mediante el uso de hongos entomopatógenos, determinando la capacidad patógena de las cepas de HE que parasitan las garrapatas del ganado, con el uso de *B. bassiana* ( $1,3 \times 10^{12}$  conidias/ml) obtuvieron el 76,66% de patogenicidad a los 37,3 días de haber sido inoculada la garrapata, con las cepas de *M. anisopliae* registraron una patogenicidad de 47,71% a los 10 días con  $1 \times 10^8$  conidias/ml y 37,75% a los 44,5 días con  $1,3 \times 10^{12}$  conidias/ml, además el porcentaje de mortalidad más altos registraron las cepas de *M. anisopliae*  $1,3 \times 10^{12}$  conidias/ml y  $1 \times 10^8$  conidias/ml con 81,82% y 78,45% respectivamente, y la cepa comercial de *B. bassiana* ( $1,3 \times 10^{12}$  conidias/ml) presentó el porcentaje más bajo de mortalidad 67,42%. Esto difiere del presente estudio ya que *B. bassiana* ( $2 \times 10^8$  UFC/ml) fue más eficaz en el control de garrapatas con respecto a la aplicación de *M. anisopliae* ( $1 \times 10^9$  conidias/ml) en un periodo menor.

En el presente estudio el tratamiento Químico con Derribante fue el que mayor eficacia presentó en el control de garrapatas, alcanzando al final de las dos aplicaciones valores de 92.21% y 95.04% respectivamente, mientras que el control con los hongos entomopatógenos presentó menores porcentajes de eficacia, lo cual se contrapone a la tesis realizada por Espinoza (2005) donde evaluaron el efecto de *M. anisopliae* cepa Yara ( $2,5 \times 10^{12}$  conidias/ml) y *B. bassiana* cepa Zamorano ( $2,8 \times 10^{11}$  conidias/ml) en el control de *Boophilus microplus*, en el resultado del ensayo determinaron que los tratamientos no fueron estadísticamente diferentes en el control de garrapatas, tanto con los productos biológicos como el químico (Amitraz).

En el estudio realizado por Camargo *et al.*, (2016) usaron el producto Metarril SP Organic que está basado en *M. anisopliae* más el 10% de aceite mineral para control de *Rhipicephalus*



*microplus* bajo condiciones de campo, obteniendo eficacia de control en un rango de 8.53 a 90.53%, estos autores detallan que el uso de aceites en mezclas fúngicas mejora notablemente su eficacia ya que ayuda a proteger el conidio bajo condiciones extremas ambientales y permite una mejor adhesión hongo-artrópodo. Sin embargo, en el ensayo realizado en El Chaco el rango de eficacia que presentó el tratamiento *M. anisopliae* sin uso de aceites minerales fue de 3.84% a 44.16%.

En el presente estudio los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. bassiana* disminuyeron la infestación de *Rhipicephalus microplus* en el ganado vacuno, donde se observó que el efecto controlador de los hongos sobre las garrapatas que fueron aplicadas con el producto duró entre una a dos semanas aproximadamente. En el ensayo de (López *et al.*, 2009) presentan resultados similares con efectos de *M. anisopliae* que permanecen dos semanas, sin embargo, (Kaaya *et al.*, 1996) con la aplicación de estos mismos hongos obtuvieron efectos de control más prolongados de entre una a tres semanas post-aplicación.

Este estudio se realizó en campo durante verano en los meses de agosto, septiembre 2018, por lo que se evidenció una alta carga parasitaria, sin embargo, los resultados determinan que no existe correlación significativa del número de garrapatas con los factores medioambientales en ninguno de los tratamientos. En Bustillos (2014) señala que el factor época tuvo correlación con la carga parasitaria durante su estudio ( $r=-0.57$  y  $p\text{-valor}<0.05$ ), determinando que la precipitación influye significativamente en la infestación de garrapatas, además establece que en temporada de sequía la cantidad de garrapatas aumenta considerablemente a 34 teologinas/animal y desciende en época de invierno a 19 teologinas/animal aproximadamente.

En los diferentes trabajos realizados *in vivo* existe variabilidad en cuanto a la efectividad del control biológico en garrapatas, se estima que podría haber una mayor influencia por los factores climáticos, origen de la cepa, micro-clima en la piel del hospedero, tolerancia de las cepas a temperaturas altas y rayos UV (Bustillos, 2014; Polar *et al.*, 2009).

#### **4.2.3 Análisis Económico**

En el presente estudio se determinó que el tratamiento biológico con *Beauveria bassiana* obtuvo la mejor tasa de retorno con 420.83% es decir que por cada dólar invertido del insumo se puede obtener 4 veces más beneficio económico en el control de garrapatas *Rhipicephalus Boophilus microplus*. Fernández (2016) también reportó que el control biológico con *Beauveria bassiana* es menos costoso que el tratamiento químico, donde el precio unitario del insumo fúngico era inferior al producto químico, pero dependiendo del número de aplicaciones el costo podría variar ya que se requiere de mano de obra y mayor cantidad del producto. (Porfirio & Schwentesius, 2016) afirman que el control biológico con microorganismos entomopatógenos son una alternativa viable a mediano plazo, además de ser 61% más económico que el tratamiento con acaricidas. Esto se contrapone al estudio realizado por Espinosa (2005) donde se determina que el uso del producto químico resultó ser más económico comparado al control biológico con hongos entomopatógenos.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- *Rhipicephalus Boophilus microplus* era la única especie que parasitaba el ganado vacuno.
- La eficacia en el control de garrapatas *B. microplus* es visible a partir de la segunda aplicación con *M. anisopliae*, alcanzando un porcentaje máximo de control del 44.16% al día 9 de haber sido aplicado el tratamiento. *B. bassiana* presentó el mayor porcentaje de eficacia en la cuarta aplicación al día 9 post-tratamiento con el 54,19%. Sin embargo, el tratamiento Químico con Derribante fue el que mayor eficacia presentó en el control de garrapatas, alcanzando al final de las dos aplicaciones valores de 92.21% y 95.04% respectivamente.
- El producto biológico con el menor costo (*M. anisopliae*) no reportó mayor control de garrapatas, fue *B. bassiana* que presentó el mejor costo-beneficio comparado con el insumo químico, según el análisis de la TRM, el cual demostró llegar a 420.83%.

#### 5.2 Recomendaciones

- Se recomienda realizar un nuevo estudio donde se incluyan cepas de microorganismos que sean propias del lugar, mejorando la calidad de los productos biológicos se podría obtener un mayor control de la garrapata del ganado.
- Implementar varias estrategias de manejo en el control de garrapatas en las que se podría destacar, el uso de otros organismos entomopatógenos, control de garrapatas en potreros, vacunación y un adecuado uso de acaricidas para evitar la resistencia.

- El uso de microorganismos entomopatógenos debería ser usada como una estrategia de manejo sanitario en el ganado, el uso de productos químicos para el manejo de garrapatas no debería ser la única opción, ya que la implementación de alternativas nuevas permite evitar la resistencia a acaricidas, reduce el costo de producción, y además no contamina al ambiente.

### 5.3 Bibliografía

- Alonso-Díaz, M. A., García, L., Galindo-Velasco, E., Lezama-Gutierrez, R., Angel-Sahagún, C. A., Rodríguez-Vivas, R. I., & Fragosó-Sánchez, H. (2007). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, *147*(3–4), 336–340. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.030>
- Araque, A., Ujueta, S., Bonilla, R., Gómez, D., & Rivera, J. (2014). RESISTENCIA A ACARICIDAS EN *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* DE ALGUNAS EXPLOTACIONES GANADERAS DE COLOMBIA. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, *17*(1), 161–170.
- Arguedas, M., Álvarez, V., & Bonilla, R. (2008). Eficacia del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en el control de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Agronomía Costarricense*, *32*(2), 137–147.
- Barandika, J. (2010). LAS GARRAPATAS EXÓFILAS COMO VECTORES DE AGENTES ZONÓTICOS: ESTUDIO SOBRE LA ABUNDANCIA Y ACTIVIDAD DE LAS GARRAPATAS EN LA VEGETACIÓN, E INVESTIGACIÓN DE LA PRESENCIA DE AGENTES PATÓGENOS EN GARRAPATAS Y MICROMAMÍFEROS. Retrieved from [https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/922/2009ON-BARANDIKA\\_IZA, JESÚS FÉLIX.pdf?sequence=1](https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/922/2009ON-BARANDIKA_IZA, JESÚS FÉLIX.pdf?sequence=1)
- Bautista Gálvez, A., Pimentel Segura, R., & Gómez-Vázquez, A. (2017). Control biológico de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* con hongos entomopatógenos. *CIBA Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, *6*(12), 33. <https://doi.org/10.23913/ciba.v6i12.68>
- BAYER. (2012). Manual Bayer de la Garrapata. Retrieved from <https://www.sanidadanimal.bayer.com.mx/es/animales-productivos/bovinos/manuales-bayer/manual-bayer-de-la-garrapata.php>
- Bazán, M. (2002). *Efecto de Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) en el control biológico de (*Boophilus*) *microplus* *Canestrini* (Acari: Ixodidae) en ganado bovino estabulado (Universidad de Colima). Retrieved from [http://digeset.uco.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Marcelino Bazan Tene.pdf](http://digeset.uco.mx/tesis_posgrado/Pdf/Marcelino Bazan Tene.pdf)
- Benavides, E., Romero, J. y, & Villamil, L. (2016). *Las garrapatas del ganado bovino. Guía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio climático*. Retrieved from <http://repiica.iica.int/docs/B4212e/B4212e.pdf>
- Bustillos, R. (2014). *ECOLOGÍA PARASITARIA DE LA GARRAPATA* (Acari: Ixodidae) EN BOVINOS EN DOS ÁREAS GEOGRÁFICAS DEL ECUADOR. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6612/1/T-UCE-0014-002.pdf>
- 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. *Revista Tecnológica - ESPOL*, *28*(4), 68–77. Retrieved from <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/403/283>
- Campa, Á. (2002). *DETERMINACIÓN DE MOLÉCULAS QUE INTERVIENEN EN EL*

*SISTEMA INMUNE DEL CAMARÓN BLANCO (Penaeus vannamei) EN RESPUESTA AL USO DE INMUNOESTIMULANTES.*

- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Retrieved from [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=IFfNuqTeit8C&oi=fnd&pg=PA1&dq=caracteristicas+de+hongos+entomopatógenos&ots=XBF-AIGQf1&sig=o01jynDMSAjPRi-tk9FQUUdqKA#v=onepage&q=caracteristicas de hongos entomopatógenos&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=IFfNuqTeit8C&oi=fnd&pg=PA1&dq=caracteristicas+de+hongos+entomopatógenos&ots=XBF-AIGQf1&sig=o01jynDMSAjPRi-tk9FQUUdqKA#v=onepage&q=caracteristicas+de+hongos+entomopatógenos&f=false)
- Castro, E., Rifran, R., Gonzalez, P., Piaggio, J., Gil, A., & Schumaker, T. (2010). Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by in vitro bioassays. *Vet Parasitol*, 169(1–2), 172–177. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20056329>
- Cota, S. (2015). CONTROL BIOLÓGICO E INTEGRADO DE LA GARRAPATA “HYALOMMA LUSITANICUM” EN EXPLOTACIONES SILVO-AGRO-CINEGÉTICAS DE ECOSISTEMA MESOMEDITERRÁNEO. *Biological Control*, 21(3), 230–248. Retrieved from <http://eprints.ucm.es/29995/1/T36038.pdf>
- Cruz, F. (n.d.). Clínica de los bovinos I. Retrieved from <http://www.ammveb.net/clinica/garrapatas.pdf>
- Delia Inés Domínguez-García, Rodrigo Rosario-Cruz, Consuelo Almazán-García, Jorge Alberto Saltijera Oaxaca, & José De la Fuente. (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. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/939/93913070001.pdf>
- Díaz, E. (2012). Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos Rhipicephalus microplus. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5(1), 72–81. Retrieved from <http://revistas.ut.edu.co/index.php/ciencianimal/article/view/128/127>
- Díaz, S. (2015). *IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE GARRAPATAS EN GANADO BOVINO DE LA PARROQUIA LA MATRIZ DEL CANTÓN PATATE*. Universidad Técnica de Ambato.
- Estrada, A. (2015). Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 34(1), 53–65. Retrieved from <https://pdfs.semanticscholar.org/b274/937c8d9fa9ec80e3a88b8d419e699732311b.pdf>
- FAO. (2014). Ganado y producción animal. Retrieved from [http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/animal\\_production.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/animal_production.html)
- FAO. (2017). El papel de la FAO en la producción animal. Retrieved from <http://www.fao.org/animal-production/es/>
- GAD-LINARES. (2015). Mapeo de regulación e intervenciones definidas por otros niveles de gobierno con incidencia en el territorio parroquial. GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO PARROQUIAL RURAL DE LINARES Linares- EL Chaco-Napo. Retrieved from [http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL\\_SNI/data\\_sigad\\_plus/sigadplusdiagnostico/1560505200001\\_PDYOT](http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/1560505200001_PDYOT)

PRELIMINAR 1\_16-06-2015\_21-53-53.pdf

- García, M., Capello, S., Leshner, J., & Molina, R. (2008). Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico. *División Académica de Ciencias ...*, 15(27), 25–28. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Hongos+Entomopatogenos+como+una+alternativa+en+el+control+Biologico#0>
- Giraldo, P. (2014). *Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos y hemolinfa de larvas de Lucilia eximia (Diptera: Calliphoridae)*. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/39649/1/43161917.2014.pdf>
- González-Castillo, M., Aguilar, N., & Rodríguez-Herrera, R. (2012). Control De Insectos-Plaga En La Agricultura Utilizando Hongos Entomopatogenos: Retos Y Perspectivas. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*, 4(8), 42–53. Retrieved from <http://www.postgradoeinvestigacion.uadec.mx/divulgacionAQM.html>
- Google-Earth. (2019). Google Earth PRO. Retrieved from <https://earth.google.com/web/>
- Gutiérrez Osorio, J. D. (2006). *Identificación de órganos blanco en garrapatas de la especie Boophilus microplus para anticuerpos-antigarrapata de bovinos inducidos por el inmunógeno Tick- Vac MK del Laboratorio Limor de Colombia S.A mediante metodos de Inmunoperoxisadasa* (Universidad Javeriana). Retrieved from <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8285/tesis265.pdf?sequence=1>
- Junquera, P. (2017). CONTROL BIOLÓGICO de GARRAPATAS y ácaros del ganado con DEPREDADORES (aves, hormigas y ácaros), PARASITOIDES (avispa) y PATÓGENOS (bacterias, hongos, nematodos y virus). Retrieved from [http://parasitipedia.net/index.php?option=com\\_content&view=article&id=133&Itemid=207](http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=133&Itemid=207)
- Kaaya, G., & Hasan, S. (2000). Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Experimental and Applied Acarology*, 24(12), 913–926. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1010722914299>
- Kaaya, G., Mwangi, E., & Ouna, E. (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. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201196900038>
- Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H. K., & Vail, P. (2001). Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biological Control*, 21(3), 230–248. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0938>
- Lacey, L. A., & Goettel, M. S. (1995). Current developments in microbial control of insect pests and prospects for the early 21st century. *Entomophaga*, 40(1), 3–27. <https://doi.org/10.1007/BF02372677>
- Maranhão, E. A. de A., & Maranhão, E. H. de A. (2013). Hongos Entomopatógenos: Importante Herramienta Para El Control De “Moscas Blancas” (Homoptera:

- Aleyrodidae). *Anais Da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, 5(0), 209–242. Retrieved from <http://www.journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/view/180>
- Martínez-Tinajero, J.J; Izaguirre-Flores, F; Aguirre-Medina, J.F; Ley de Coss, A; Osorio-López, M. W. J.-J. (2016). Control Biológico De Garrapata (*Boophilus Spp.*) Con Diferentes Cepas De *Metarhizium Anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin En Bovinos. Retrieved from <http://www.produccion-animal.com.ar/>
- Martínez Castrillón, L. C. (2010). *Desarrollo de un prototipo de formulación con hongos entomopatógenos para el manejo de Demotisca neivai Bondar (Coleoptera: Chrysomelidae)* (Universidad Nacional de Colombia). Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/2722/>
- Moncada, A., Villar, D., Chaparro, J., Angulo, J., & Mahecha, L. (2015). Aproximación al uso de hongos entomopatógenos y vacunas para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos: revisión • Approach to the use of entomopathogenic fungi and vaccines paragraph sustainable control of ticks in farming systems: revi. *Avances En Investigación Agropecuaria*, 19(3), 55–72. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83743886006>
- Monzón, A. (2008). Producción y uso de hongos entomopatógenos. Retrieved from Fundación para el desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua website: [file:///C:/Users/dakar/Downloads/Produccion y uso hongos.pdf](file:///C:/Users/dakar/Downloads/Produccion%20y%20uso%20hongos.pdf)
- Motta, P., & Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Redalyc*, 6(2), 77–90. Retrieved from <http://www.redalyc.org/html/928/92819767006/>
- Muñoz, A. (2015). *Estudio de la interacción molecular hésped-patógeno utilizando el modelo insecto-hongo Galleria mellonella-Fusarium oxysporum, mediante la caracterización de genes, proteínas y péptidos de defensa provenientes de la respuesta humoral innata y del ataque*. Retrieved from [http://tesis.udea.edu.co/bitstream/10495/3094/1/MuñozGómezA\\_2015\\_EstudioInteraccionMolecular.pdf](http://tesis.udea.edu.co/bitstream/10495/3094/1/MuñozGómezA_2015_EstudioInteraccionMolecular.pdf)
- Nava, S., Venzal, J., Daniel, G., Martins, T., & Guglielmone, A. (2017). *Ticks of the Southern Cone of America: Diagnosis, Distribution, and Hosts with Taxonomy, Ecology and Sanitary Importance* (Project Ma). Retrieved from <https://books.google.es/books?id=33nUDAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Ojeda-chi, M. M., Rodríguez-vivas, R. I., & Galindo-velasco, E. (2011). Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Revisión. *SciELO*, 2(2), 177–192. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v2n2/v2n2a5.pdf>
- Oporta, J. (2017). Control microbiano de la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) del ganado bovino, con hongos entomopatógenos en condiciones de laboratorio. Retrieved from <http://repositorio.una.edu.ni/3547/1/tnl72o61.pdf>
- Orozco, A. (2013). *IMPACTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE Plodia interpunctella*



*EN SU RESPUESTA INMUNE Y SUSCEPTIBILIDAD A Bacillus thuringiensis.*  
Universidad Autónoma de León.

- Ortiz-Catón, M., Alatorre-Rosas, R., Valdivia-Bernal, R., Ortiz-Catón, A., Medina-Torres, R., & Alejo-Santiago, G. (2011). Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos. *Revista Biociencias*, 1(2), 42–53.
- Pérez, X. (2016). *RESISTENCIA A ALFA-CIPERMETRINA, IVERMECTINA Y AMITRAZ EN GARRAPATAS Rhipicephalus microplus (Canestrini, 1887) COLECTADAS EN CUATRO LOCALIDADES.* Universidad Central del Ecuador.
- Piguave, R. (2016). *Evaluación del efecto acaricida del hongo entomopatógeno (Lecanicillium lecanii) en el control de las garrapatas en el ganado vacuno.* Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20789>
- Polar, P., Moore, D., Kairo, M. T. K., & Ramsubhag, A. (2009). Topically applied myco-acaricides for the control of cattle ticks: Overcoming the challenges. *Diseases of Mites and Ticks*, 46, 119–148. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9695-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9695-2_11)
- Porfirio, I., & Schwentesius, R. (2016). *Control biológico de Garrapata con Microorganismos.* (November 2015).
- Porfirio, I., & Schwentesius Rindermann, R. (2015). *Agricultura orgánica de México.* Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/289768055\\_Control\\_biologico\\_de\\_Garrapata\\_con\\_Microorganismos](https://www.researchgate.net/publication/289768055_Control_biologico_de_Garrapata_con_Microorganismos)
- Pulido, A., Castañeda, R., Ibarra, H., Gómez, L., & Barbosa, A. (2016). Microscopía y principales características morfológicas de algunos ectoparasitos de interés veterinario. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 27(1), 91–113. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i1.11449>
- Rodríguez, R., Torres, J., Ramirez, G., Rosado, J., Aguilar, A., Ojeda, M., & Bolio, M. (2014). *Manual técnico: Control de parásitos internos y externos que afectan al ganado bovino en Yucatán, México.* Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/268223768\\_Rodriguez-Vivas\\_RI\\_Torres\\_AJF\\_Ramirez\\_CGT\\_Aguilar\\_RJA\\_Aguilar\\_CAJ\\_Ojeda\\_CMM\\_Bolio\\_GME\\_2011\\_Manual\\_tecnico\\_Control\\_de\\_parasitos\\_internos\\_y\\_externos\\_que\\_afectan\\_al\\_ganado\\_bovino\\_en\\_Yucatan\\_Mexico\\_UADY-C/dow](https://www.researchgate.net/publication/268223768_Rodriguez-Vivas_RI_Torres_AJF_Ramirez_CGT_Aguilar_RJA_Aguilar_CAJ_Ojeda_CMM_Bolio_GME_2011_Manual_tecnico_Control_de_parasitos_internos_y_externos_que_afectan_al_ganado_bovino_en_Yucatan_Mexico_UADY-C/dow)
- Rodríguez, S., Bióloga, N., Pucheta Díaz, M., Flores Macías, A., Navarro, S. R., De, M., & Torre, L. (2006). MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. *Dec*, 31(12). Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/339/33901204.pdf>
- Roque, E. (2007). *Rhipicephalus ( Boophilus ) microplus; Garrapata del ganado del sur, garrapata del ganado bovino.* Retrieved from the Center for Food Security & Public Health website: [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/boophilus\\_microplus-es.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/boophilus_microplus-es.pdf)
- Schapovaloff, M. (2012). *Diversidad y patogenicidad de especies de hongos entomopatógenos en insectos plaga de la yerba mate Ilex paraguariensis en la provincia de Misiones (Universidad de La Plata).* Retrieved from

- [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/25996/Documento\\_completo\\_en\\_baja\\_resolucion.pdf?sequence=2](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/25996/Documento_completo_en_baja_resolucion.pdf?sequence=2)
- Sepúlveda, M. E., Gerding, M., & France, A. (2012). Control de plagas con hongos entomopatógenos. *Centro Tecnológico de Control Biológico*, pp. 24–26. <https://doi.org/10.1038/4681014a>
- Sociedad Colombiana de Entomología., E., LÓPEZ, G., & ORDUZ, S. (2009). Revista colombiana de entomología. In *Revista Colombiana de Entomología* (Vol. 35). Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-04882009000100008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882009000100008)
- Suquilanda, M. (2017). MANEJO ABROECOLÓGICO DE PLAGAS. Retrieved from [http://balcon.magap.gob.ec/mag01/magapaldia/libro/Manejo agroecológico de plagas MSV.pdf](http://balcon.magap.gob.ec/mag01/magapaldia/libro/Manejo_agroecologico_de_plagas_MSV.pdf)
- Téllez Jurado, A., Guadalupe, M., Ramírez, C., & Flores, Y. M. (2007). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. © 2009 *Revista Mexicana de Micología.*, 30, 80. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v30/v30a7.pdf>
- Urtubia, I., & France, A. (2007). FORMULACIONES DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA CONTROL DE PLAGAS EN AGRICULTURA. Retrieved from Control website: <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR34779.pdf>
- Valencia, C. (2015). *Caracterización de aislamientos de hongos entomopatógenos de los géneros Beauveria y Metarhizium asociados a insectos plaga de palma de aceite (Elaeis guineensis Jacq.)* (Universidad Nacional de Colombia). Retrieved from [http://www.bdigital.unal.edu.co/49760/1/TESIS\\_HONGOS\\_ENTOMOPATGENOS.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/49760/1/TESIS_HONGOS_ENTOMOPATGENOS.pdf)