



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



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

**Control de ninfas de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) en  
combinación de *Beauveria* spp. con moléculas orgánicas y químicas**

Autores: Laura Mishelle Herrera Montero

Ana Belén Romero Peláez

Director: Dr. Gelacio Antonio Gómez Mendoza Mgs.

Santo Domingo de los Tsáchilas, Agosto 2022

# INTRODUCCIÓN

## Antecedentes

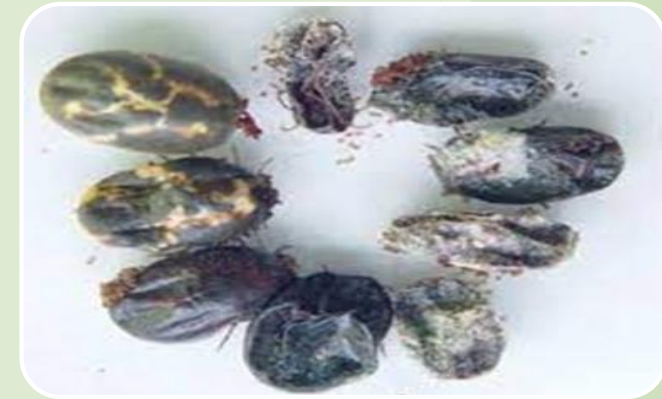
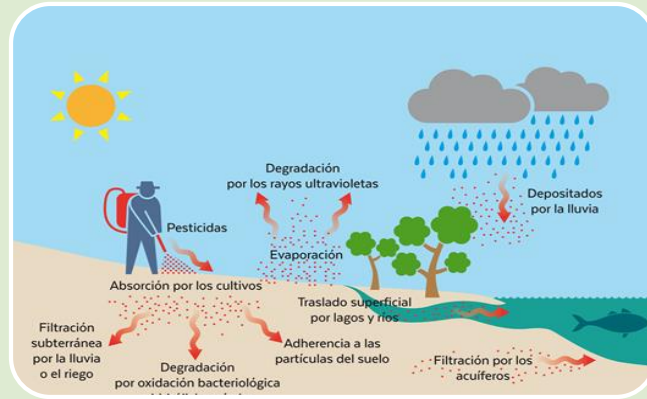
Garrapata ganado bovino, parásita en diversa zonas, con mayor frecuencia en subtropicales y tropicales.

Ecuador basa un porcentaje de su economía en la actividad ganadera.

Uso de insecticidas y acaricidas, causan residualidad, resistencia y contaminación.



# Justificación



Rechazo a nivel mundial ante el uso de insecticidas y acaricidas

Manual técnico de procedimientos para el registro y control de agentes de control biológico, extractos vegetales, preparados minerales, semioquímicos y productos afines de uso agrícola”

Alfa-Cipermetrina resistencia del 65.22% en la Costa y 63.64% en el Oriente

Nuevas tecnologías para la implementación de biocontroladores a base de hongos entomopatógenos para el control de garrapatas

Dar una respuesta disminuyendo las infestaciones causadas por garrapatas mediante una combinación *Beauveria spp.* junto con moléculas orgánicas y químicas para el control de ninfas de garrapata *Rhipicephalus microplus* por aspersión en base a la dosis letal media (DL50)

# Objetivos

## Objetivo General

Evaluar el control de ninfas de garrapata (*Rhipicephalus microplus*) en combinación de *Beauveria* spp. con moléculas orgánicas y químicas en fase de laboratorio.

---

## Objetivo Específicos

- Determinar la Dosis Letal Media (DL50) de *Beauveria* spp, y de extractos botánicos sobre ninfas de garrapatas.
- Determinar la mejor combinación hongo –cipermetrina para control de ninfas de garrapata.
- Seleccionar en base a la DL50 una combinación del extracto botánico para control de ninfas de garrapata.
- Determinar en base a la DL50 la mejor combinación hongo –extractos para control de ninfas de garrapata

# Hipótesis

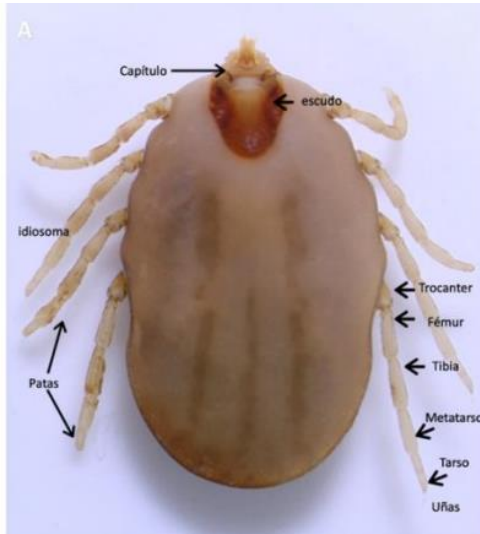
## Hipótesis nula

- ▶ Ho: La interacción entre los hongos entomopatógenos INIAP EESD con otros acaricidas (cipermetrina, extractos orgánicos) no incrementa su eficacia para el control de ninfas de garrapatas en laboratorio.

## Hipótesis alternativa

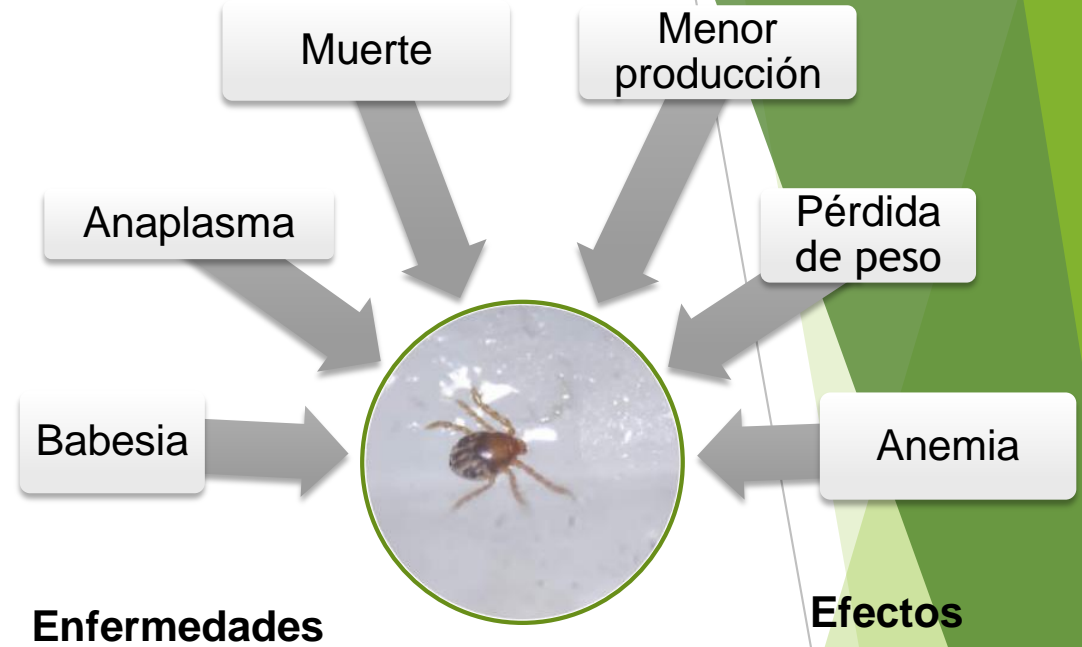
- ▶ H1: La interacción entre los hongos entomopatógenos INIAP EESD con otros acaricidas (cipermetrina, extractos orgánicos) incrementa su eficacia para el control de ninfas de garrapatas en laboratorio.

# Rhipicephalus microplus

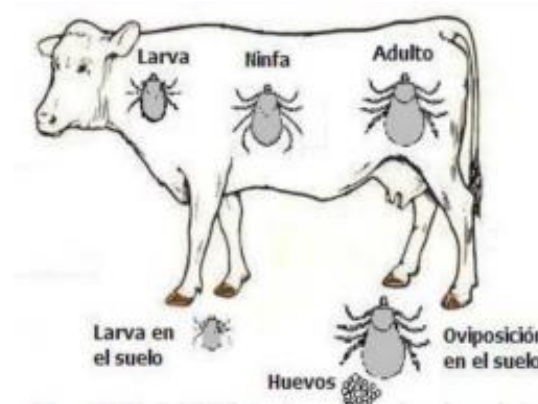


## Taxonomía

- Reino : Animalia
- Phylum : Artropoda
- Subphylum : Chelicerata
- Clase : Arachnida
- Subclase : Acaria
- Orden : Parasitiformes
- Suborden : Ixodida
- Superfamilia : Ixodoidea
- Familia : Ixodidae
- Género: Rhipicephalus



## Ciclo de vida



Un solo huésped  
Dos fases

# Beauveria bassiana.

Hongo deuteromiceto  
Familia Moniliaceae



La beauverina es la toxina que provoca permeabilidad en la membrana de los insectos, causándole la muerte

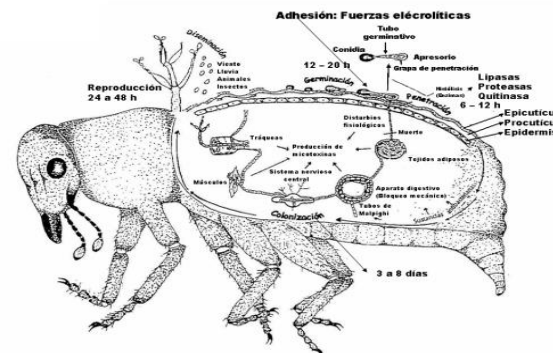
(Fernández, 2006; Barranco & Alatorre, 2002)



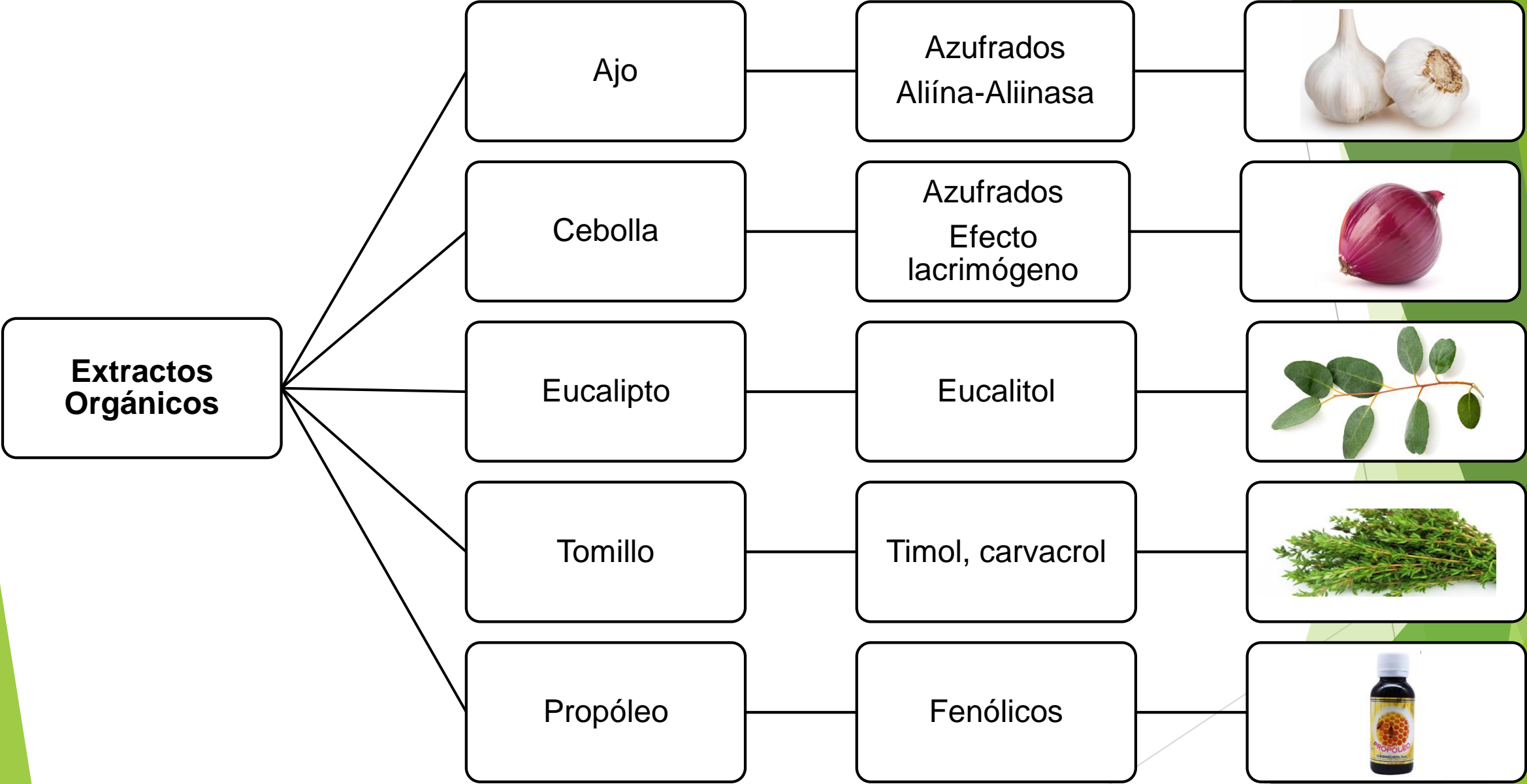
**Efectos**  
Produce enzimas que degradan la cutícula de la garrapata.

## Características

Grados de especificidad  
Variados medios de acción  
No matan instantáneamente



# Compuestos bioactivos





# Derribante (Garrathion)



Antiparasitario externo

Toxicidad moderada grado II

Control de ectoparásitos

Baños de inmersión o  
aspersión

10g de Cipermetrina  
40g de Ethion

# Materiales y métodos

Estación Experimental Santo Domingo INIAP, ubicado en la provincia de Santo Domingo en el Km 38 de la vía Santo Domingo-Quinindé, cantón la Concordia.

## UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



### LEYENDA

- LA CONCORDIA
- PROVINCIA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS
- INIAP

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

**MINISTERIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y PESQUERÍA**  
SANA II  
ESPE

Tema:  
"Determinación de la combinación hongo (*Beauveria Bassiana* Iniap) más control químico y cinco extractos orgánicos para el control de garrapatas en ganado bovino."

Autoras:  
Herrera Laura y Romero Ana

Santo Domingo-Ecuador  
2022

## Materiales

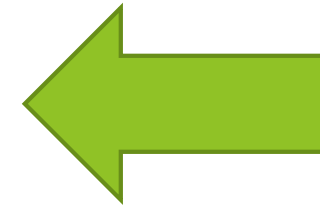
Insumos	Materiales	Equipos
Papa Dextrosa Agar Alcohol Cepas de Beauveria Tween Tetraciclina Agua destilada Extractos de ajo, cebolla, tomillo, eucalipto y propóleo	Vidriería de laboratorio Asas Micropipetas Puntas Guantes Mascarillas Cofia Cubre zapatos Cámara de Neubauer Mechero Algodón Papel Atomizadores Tela fitro	Cámara de flujo laminar Autoclave Microondas Microscopio Estereoscopio Estufa Balanza analítica Centrífuga

## Tratamientos

Tratamientos	Descripción
1	Ajo 2%
2	Ajo 4%
3	Ajo 6%
4	Ajo 8%
5	Ajo 10%
6	Ajo 12%
7	Hongo $1 \times 10^2$
8	Hongo $1 \times 10^3$
9	Hongo $1 \times 10^4$
10	Hongo $1 \times 10^5$
11	Hongo $1 \times 10^6$
12	Hongo $1 \times 10^7$
13	Cipermetrina+Ethion 0.3 ml/ltr
14	Cipermetrina+Ethion 0.4 ml/ltr
15	Cipermetrina+Ethion 0.5 ml/ltr
16	Cipermetrina+Ethion 0.6 ml/ltr
17	Cipermetrina+Ethion 0.8 ml/ltr
18	Cipermetrina+Ethion 1 ml/ltr
19	Testigo (Agua)

F  
A  
S  
E  
  
1

Tratamientos	Denominación
1	4.3% de Ajo+ 7.81x10 <sup>6</sup> esporas/ml
2	4.3% de Ajo+ 7.81x10 <sup>5</sup> esporas/ml
3	4.3% de Ajo+ 7.81x10 <sup>4</sup> esporas/ml
4	4.3% de Ajo+ 7.81x10 <sup>3</sup> esporas/ml
5	4.3% de Ajo+ 7.81x10 <sup>2</sup> esporas/ml
6	4.3% de Ajo+ 7.8x10 <sup>1</sup> esporas/ml
7	Agua



**Tratamientos evaluados en combinación con ajo fresco, Fase 2.**

**Tratamientos evaluados en combinación con derribante, fase 2**



Tratamientos	Descripción
1	0,5 ml/lt de Derribante + 1.61x10 <sup>8</sup> esporas/ml
2	0,5 ml/lt de Derribante +1.61x10 <sup>7</sup> esporas/ml
3	0,5 ml/lt de Derribante +1.61x10 <sup>6</sup> esporas/ml
4	0,5 ml/lt de Derribante +1.61x10 <sup>5</sup> esporas/ml
5	0,5 ml/lt de Derribante +1.61x10 <sup>4</sup> esporas/ml
6	0,5 ml/lt de Derribante +1.61x10 <sup>3</sup> esporas/ml
7	Agua

# Análisis estadístico

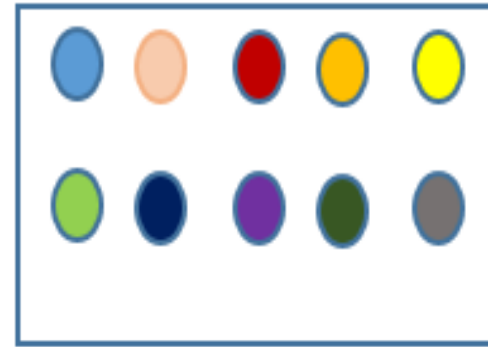
Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro observaciones

Regresión Probit

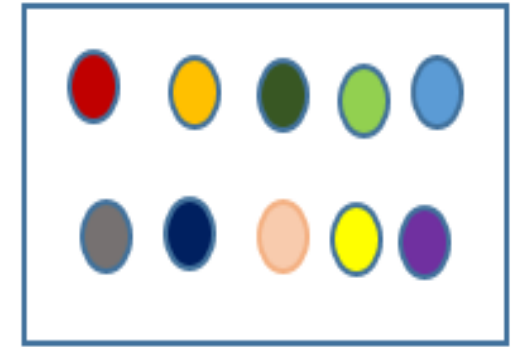
Análisis de Varianza

***Mortalidad.***

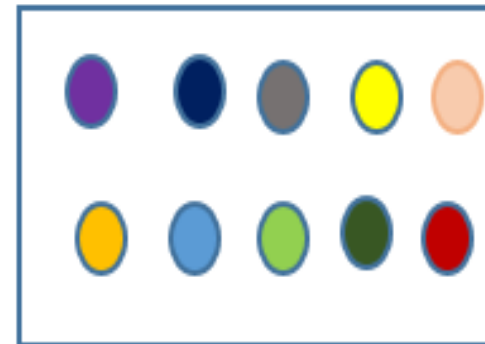
Observación continua a las 24, 48, 96, 144 y 216 horas



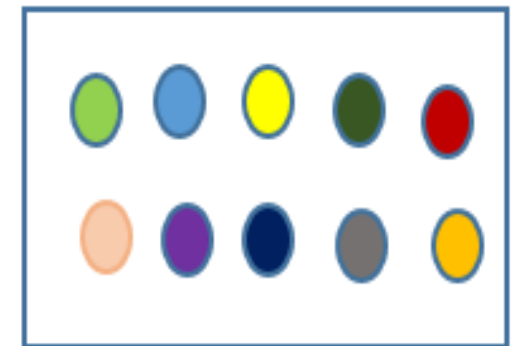
R1



R2



R3



R4

# Metodología

Recolección de Garrapatas.



Producción de ninfas de garrapatas



Obtención de extractos botánicos en sólido



Pruebas de antagonismo.



Ensayos preliminares



Obtención de extractos botánicos en fresco.



Ensayo Definitivo



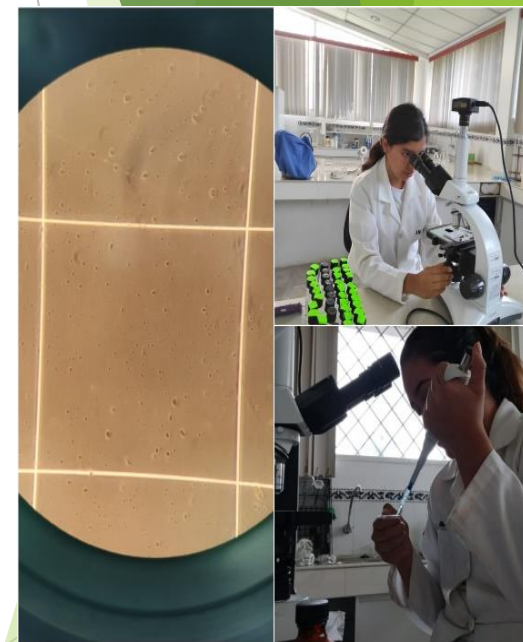
Disoluciones seriadas de hongos entomopatógenos.



Activación de hongos entomopatógenos.



Determinación de la concentración de esporas mediante conteo de conidios





Repique de cepas de hongos entomopatógenos.



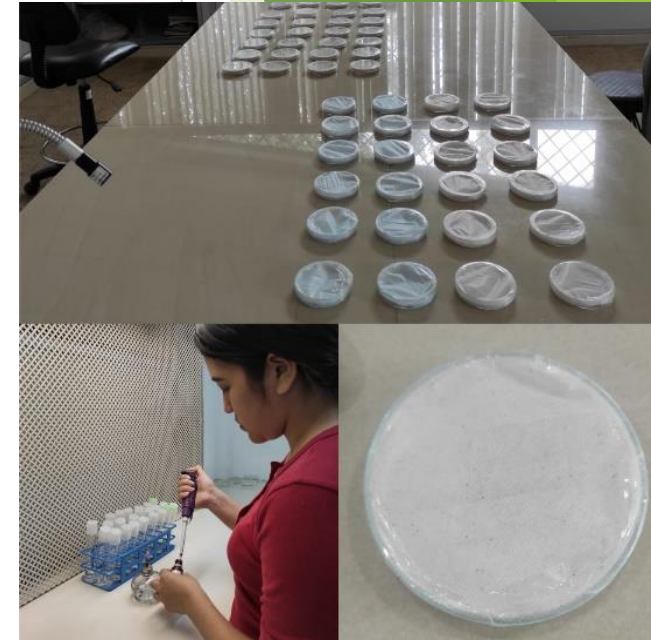
Germinación de conidios



*Fase 1, dosis letal media (DL50) individual.*

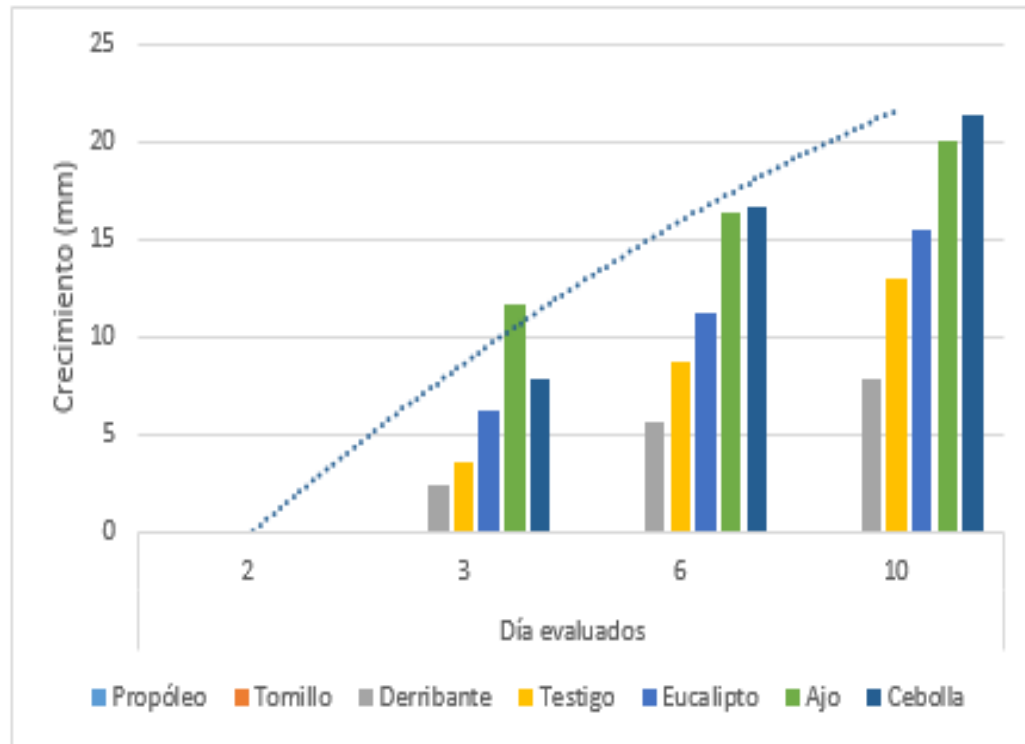


Fase 2, Dosis letal media (DL50) del hongo entomopatógeno en combinación de Cipermetrina más Ethion y extracto de ajo.

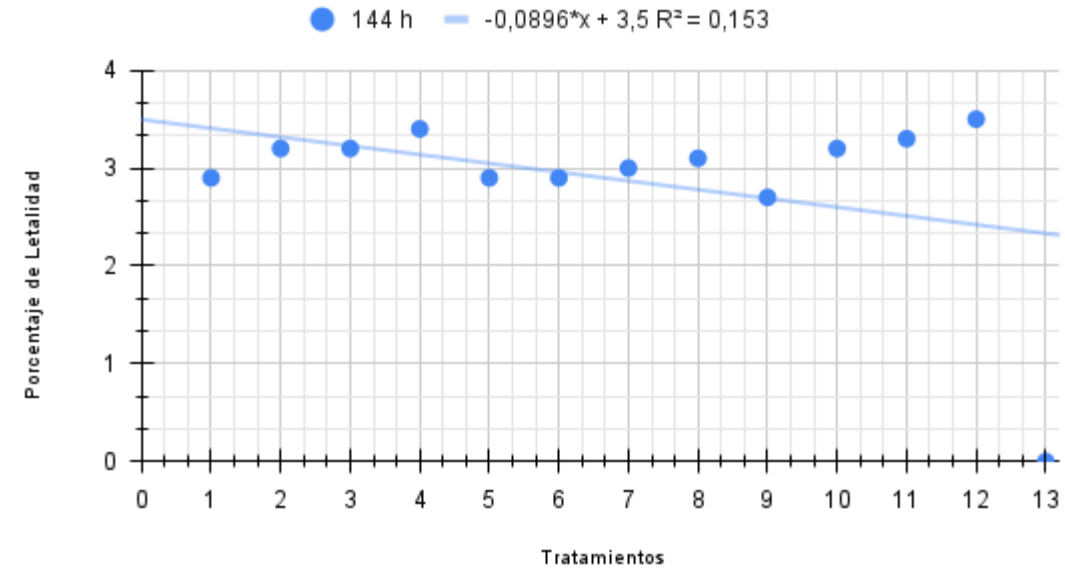


# Resultados

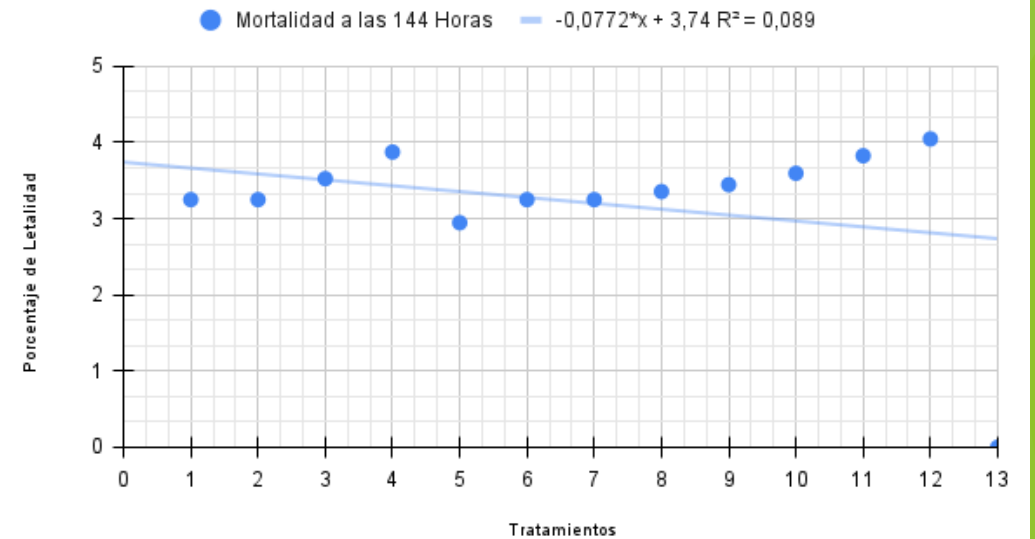
Pruebas de Antagonismo de *Beauveria spp.* en PDA  
combinado con extractos orgánicos



Mortalidad de garrapatas con extractos en molienda seca



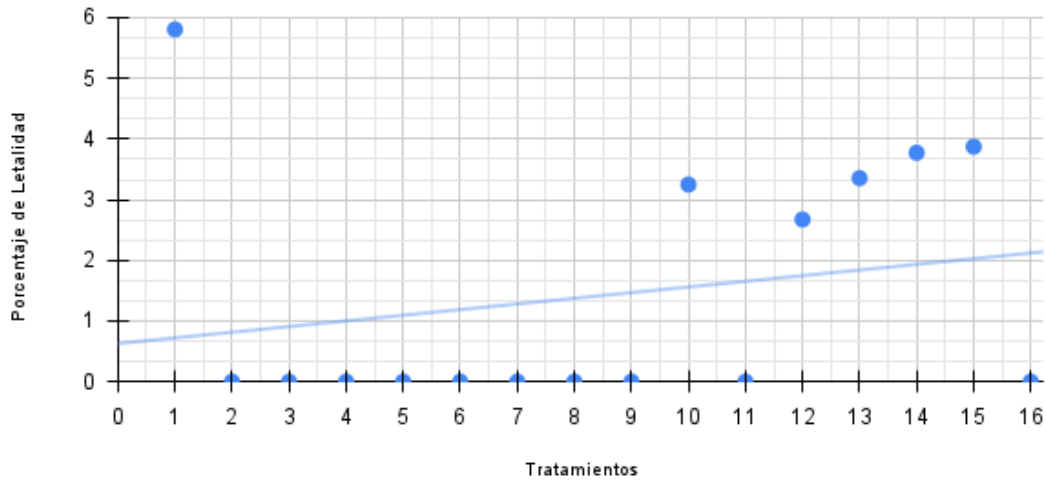
Mortalidad de garrapatas con extractos en molienda seca (50%)



### Porcentaje de Mortalidad con extractos frescos a las 144 horas

Mortalidad de garrapatas con extractos frescos

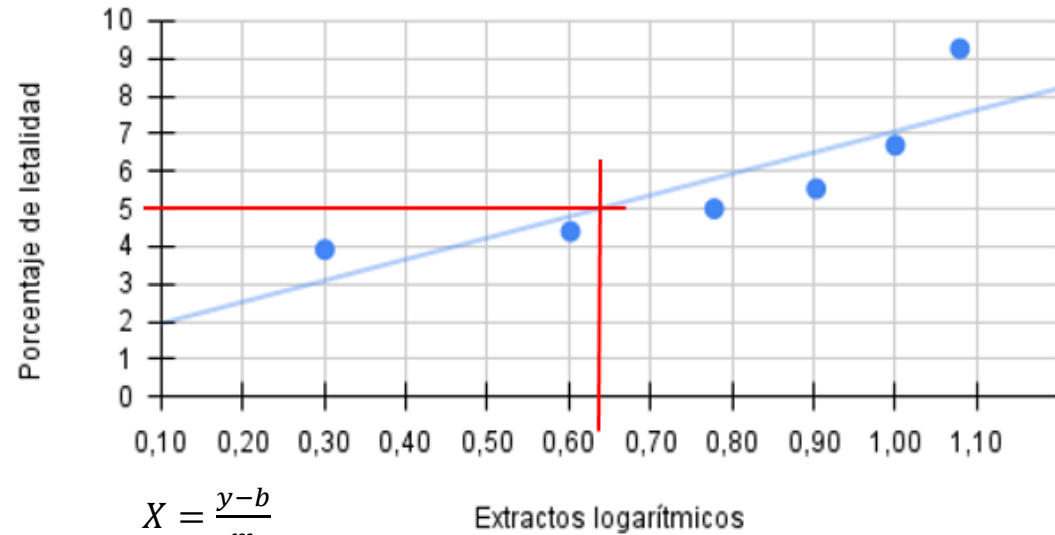
● Mortalidad 144 Horas —  $0,0933 \cdot x + 0,628$   $R^2 = 0,05$



### Dosis Letal media individual de Extracto de ajo.

DL50 Extracto de Ajo

● —  $5,68 \cdot x + 1,39$   $R^2 = 0,704$



$$X = \frac{y-b}{m}$$

$$X = \frac{5-1,39}{5,68}$$

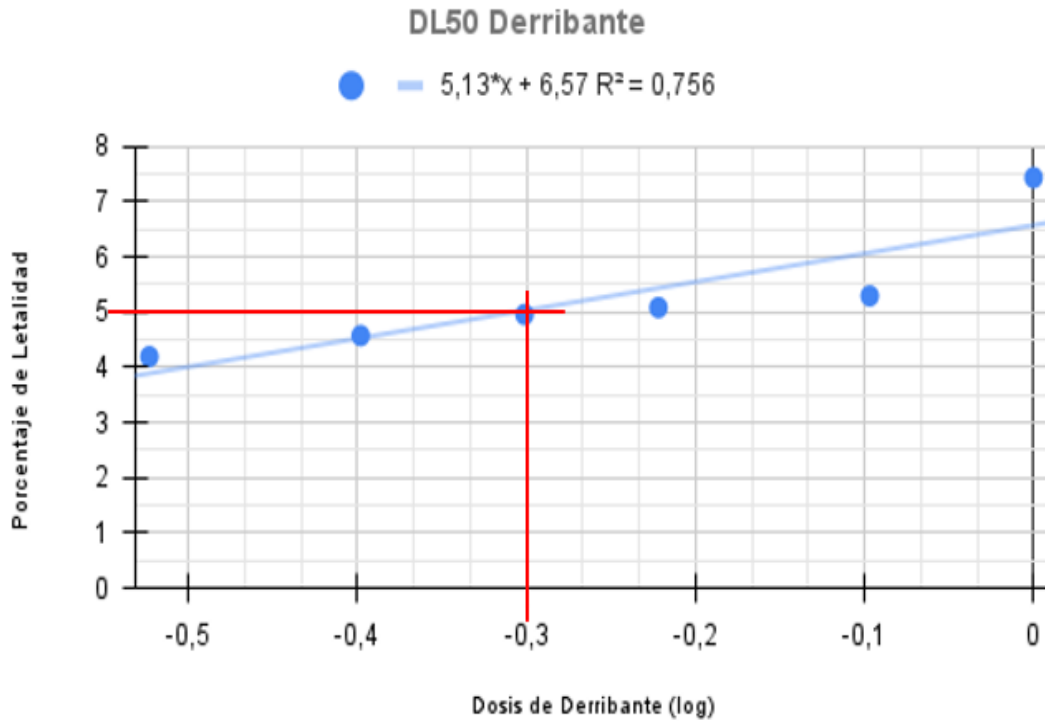
$$X = 0,64$$

$$X = \text{Antilog}(0,6)$$

$$DL\ 50 = 4,3\ \%$$

$$DL50 = 45\text{ml/l}$$

## Dosis letal media individual de Cipermetrina.



$$X = \frac{y-b}{m}$$

$$X = \frac{5-6,57}{5,13}$$

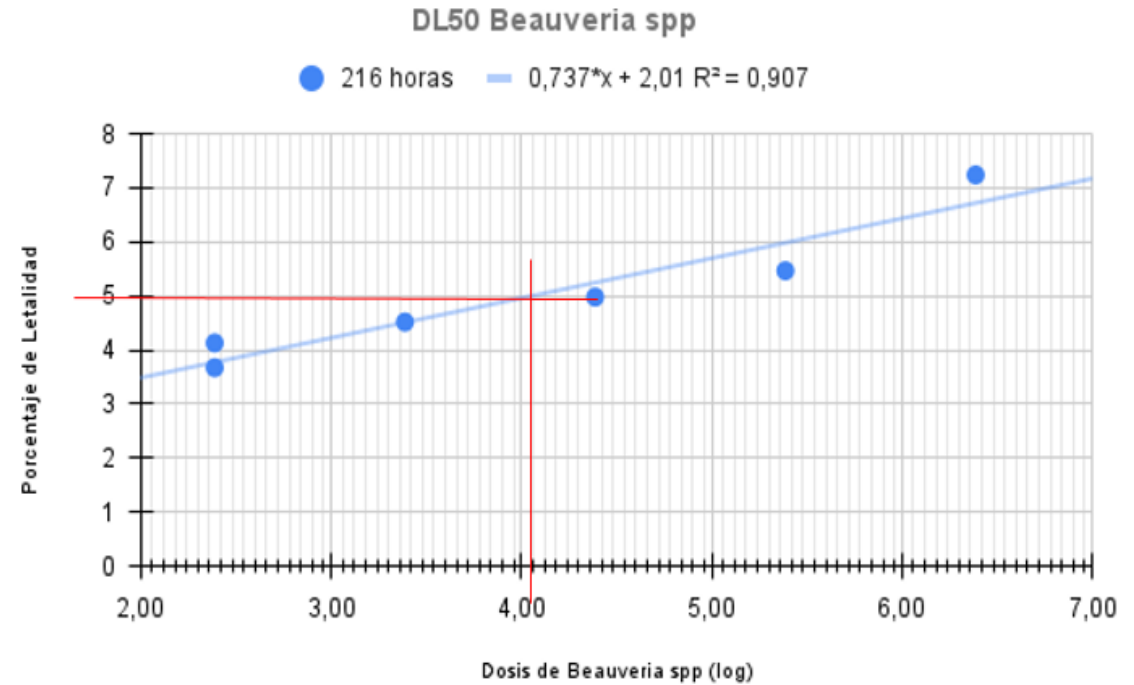
$$X = \text{Antilog} - 0,3$$

$$DL50 = 0,5 \text{ ml/l}$$

## Dosis Letal media *Beauveria* spp.

Solución Madre

$2,44 \times 10^8$  esporas/ml



$$X = \frac{y-b}{m}$$

$$X = \frac{5-2,01}{0,737}$$

$$X = \text{Antilog} (4,06)$$

$$X = 1,14 \text{E} + 04$$

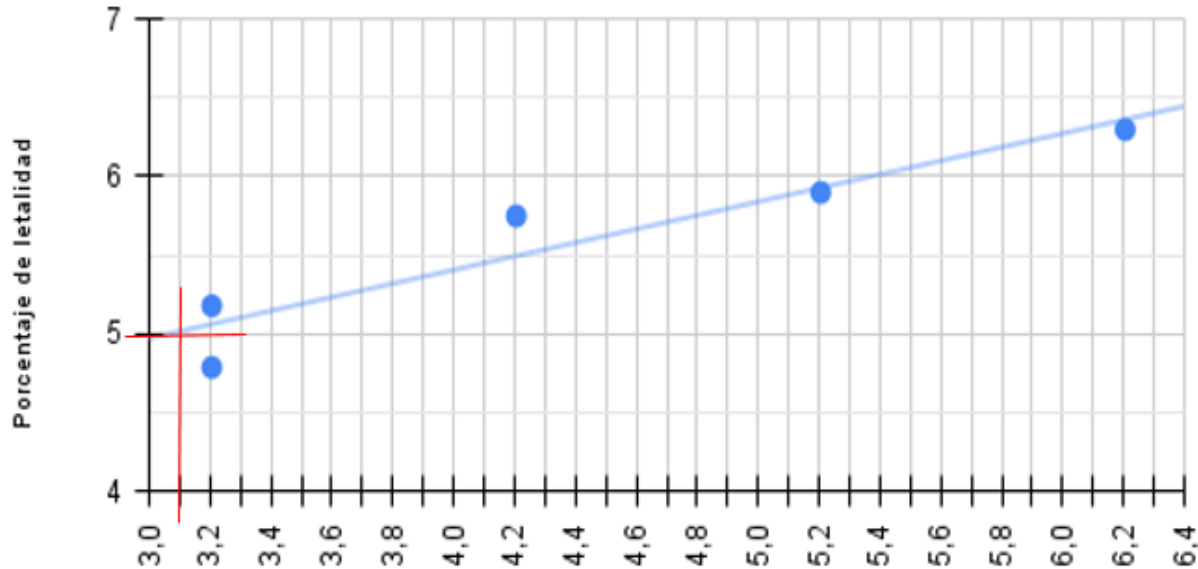
## Dosis letal media de *Beauveria spp* en combinación con cipermetrina.

Solución Madre

$1.61 \times 10^9$  esporas/ml

Efecto Golpe *Beauveria spp* más Derribante

● 216 horas —  $0,433 \cdot x + 3,67$   $R^2 = 0,89$



$$X = \frac{y-b}{m}$$

$$X = \frac{5-3,67}{0,433}$$

$$X = \text{Antilog } 3,1$$

$$DL50 = 1,18 \text{ E} + 03$$

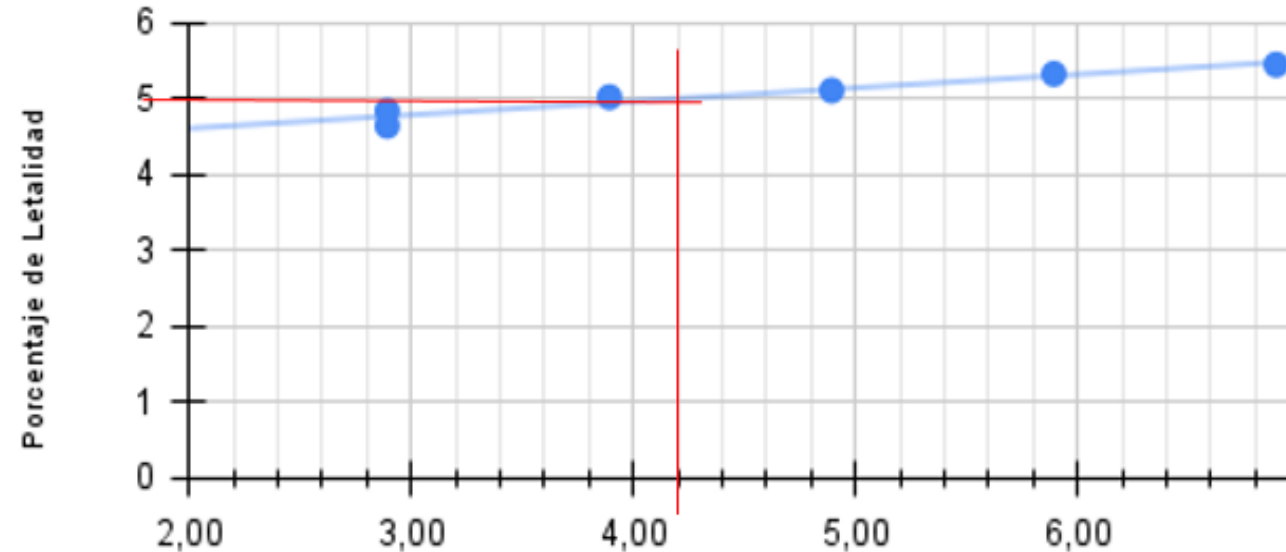
## Dosis letal media de *Beauveria spp* en combinación con extracto de ajo.

Solución Madre

$7.81 \times 10^8$  esporas/ml

Efecto golpe de *Beauveria spp* más Extracto de Ajo

● 216 horas —  $0,178 \cdot x + 4,25$   $R^2 = 0,938$



$$X = \frac{y-b}{m}$$

$$X = \frac{5-4,25}{0,178}$$

$$X = \text{Antilog } 4,2$$

$$DL50 = 1,63 \text{ E} + 04$$

Concentraciones de *Beauveria spp* (Log)

# Conclusiones

- Se estableció que la efectividad del ajo fresco para el control de ninfas de garrapatas se debe a sus compuestos organosazufrados
- Se determinó que la dosis letal media para *Beauveria spp* es de  $1,14 \times 10^4$  esporas/ml y para el extracto de ajo fresco 45 ml/l.
- La mejor combinación hongo-cipermetrina más ethion resultó ser 0,5 ml/l de derribante más  $1,18 \times 10^3$  esporas/ml de *Beauveria spp*.
- La combinación 45ml/l de ajo fresco más  $1,63 \times 10^4$  esporas/ml de *Beauveria spp* resultó la mejor, pero no la más recomendada, para el control de ninfas de garrapatas.
- Se aceptó la hipótesis alternativa, La interacción entre los hongos entomopatógenos INIAP EESD con otros acaricidas (cipermetrina, extractos orgánicos) incrementa su eficacia para el control de ninfas de garrapatas en laboratorio.

# Recomendaciones

- Se recomienda germinar los conidios de hongo por 19 horas aproximadamente antes de su aplicación.
- Se sugiere el uso del DL90 del ajo fresco de forma individual.
- Para la extracción de las moléculas bioactivas, se debe emplear diferentes metodologías que se adapten a la molécula orgánica a evaluar.
- A pesar de que la mejor combinación para para el control de ninfas de garrapata es Derribante más *Beauveria spp*, se recomienda un MIP de extracto de ajo y hongo por separado debido a que no todos los insecticidas a base de organofosforados están aprobados para el empleo sobre vacas lecheras

**GRACIAS**