UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO

"Revisión documental del uso de entomopatógenos en el control de garrapatas *Rhipicephalus microplus* del ganado bovino"

AUTOR:

LUIS DAVID OÑA HERRERA

DIRECTOR DEL PROYECTO:

Dr. Willan Orlando Caicedo Quinche, PhD

PUYO-ECUADOR

2020

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Quien suscribe Luis David Oña Herrera con C.I. 1722077292, hace constar que es autor del Proyecto de Investigación/Trabajo de integración Curricular título: "Revisión documental del uso de entomopatógenos en el control de garrapatas *Rhipicephalus microplus* del ganado bovino", el cual constituye una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del Tutor de dicho trabajo, Dr. Willan Orlando Caicedo Q., PhD. En tal sentido, manifestado la originalidad de la conceptualización del trabajo como interpretación de datos y elaboración de conclusión dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el texto de dicho Trabajo.

En el cantón Pastaza, a los 21 días del mes de agosto del 2020.

_____

Luis David Oña Herrera.
C.I. 1722077292.

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El proyecto de investigación titulado: "REVISIÓN DOCUMENTAL DEL USO DE ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE GARRAPATAS *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* DEL GANADO BOVINO", fue aprobado por los siguientes miembros del tribunal.

Dr. Julio C. Muñoz Rengifo, PhD.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Segundo B. Valle Ramírez, PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MSc. Patricio F. Naranjo Delgado
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

URKUND

Document Information

Analyzed document	Proyecto Tesis Final.docx (D78373021)
Submitted	8/31/2020 12:42:00 AM
Submitted by	
Submitter email	agr2015145@uea.edu.ec
Similarity	3%
Analysis address	wcaicedo.uea@analysis.urkund.com

Sources included in the report

SA	**UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA / PROYECTO MASAPANTA 2019.docx** Document PROYECTO MASAPANTA 2019.docx (D46514435) Submitted by: wcaicedo@uea.edu.ec Receiver: wcaicedo.uea@analysis.urkund.com	8
W	URL: https://labpv-umsnh.mx/_files/200000106-1475514f06/Los%20Microorganismos%20y%20su%... Fetched: 11/19/2019 2:00:16 AM	1
SA	**tesis garrapatas dvms final biblioteca.doc** Document tesis garrapatas dvms final biblioteca.doc (D54527297)	1
W	URL: https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8952/Trabajo%20de%20gra... Fetched: 2/6/2020 9:53:17 PM	1

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

Oficio No. 213-SAU-UEA-2020
Puyo, 31 de agosto de 2020

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Proyecto de Investigación correspondiente al egresado OÑA HERRERA LUIS DAVID C.I. 1722077292, con el Tema: **"Revisión documental del uso de entomopatógenos en el control de garrapatas Rhipicephalus microplus del ganado bovino"**, de la carrera, Ingeniería Agropecuaria. Director del proyecto Dr. Willan Orlando Caicedo Q., PhD, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 3%, Informe generado con fecha 31 de agosto de 2020 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,



Ing. Italo Marcelo Lara Pilco MSc.
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

DEDICATORIA

Este logro le dedico a una persona muy especial para mí, la cual le llevo presente en mi corazón que gracias a ella logre alcanzar este sueño trazado, la que me enseñó a nunca rendirme sino a seguir luchando hasta alcanzar las metas deseadas. A mi padre que gracias a su esfuerzo, trabajo y dedicación estoy aquí alcanzando este sueño anhelado. A mi abuelo que con sus ocurrencias a la distancia me daba ánimo para seguir encaminado para alcanzar sueño tan anhelado.

AGRADECIMIENTO

Ante todo, agrades a Dios por darnos la vida, darnos las fuerzas para seguir en adelante y alcanzar los sueños trazados en la vida. A mis padres que, con su esfuerzo, trabajo y sacrificio me ayudaron a conseguir esta meta tan anhelada.

A la Universidad Estatal Amazónica la cual me recibió con sus puertas abiertas permitiéndome entrar en ella para adquirir los conocimientos brindados intelectualmente en la especialidad que uno eligió y ser un profesional del mañana con valores competitivos.

A mi director de investigación: Dr. Willan Caicedo, PhD por su paciencia, tolerancia y compresión, quien me brindo sus conocimientos adquiridos para poder terminar con éxito mi estudio superior.

A los miembros del Tribunal que examinaron mi proyecto y me dieron sus sugerencias para la culminación de este proyecto de grado.

RESUMEN

El manejo de los entomopatógenos utilizados como controladores biológicos es una alternativa nueva, la cual busca controlar las plagas y enfermedades que afectan a las producciones agrícolas como pecuarias, con la acción de las bacterias, nematodos y hongos controlan las poblaciones de microorganismos maléficos, reduciendo los niveles de propagación y generando la erradicación total del microorganismo. En las zonas tropicales y subtropicales de Ecuador existen explotaciones ganaderas dedicadas a la producción de carne y leche, las cuales son afectadas por el ataque de ácaros de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, provocando una serie de problemas directos e indirectos que afectan al ganado bovino.

La presente investigación tuvo como objetivo analizar documentalmente el actual uso de los entomopatógenos para el control de las garrapatas *R. microplus* que afectan al ganado bovino en las condiciones de la Amazonia ecuatoriana. Para ello se realizó la búsqueda y recopilación de la información a través de las bases de datos de los distintos navegadores existentes, se analizó detenidamente la información encontrada, se identificó las principales características morfológicas, fisiológicas y patogénicos de los distintos entomopatógenos, la cual sirve como base para determinar el grado de eficiencia que tiene cada entomopatógeno, en donde la rentabilidad es reducir los gastos económicos en la compra de productos químicos.

Por esta razón los mejores resultados fueron clasificados y analizados, según el grado de eficacia de cada uno de los entomopatógenos. Por ejemplo, las bacterias *Bacillus thuringiensis* las concentraciones que mejor destararon fueron $2x10^7$ y $5x10^8$ esporas/mL, que controlan los estados de ninfa y adulto, produciendo una mortalidad del 85% a 93% de los individuos, *Lysinibacillus sphaericus* destaco la mejor concentración fue $2x10^6$ esporas/mL, que controla el estado adulto, generando una mortalidad del 83%.

Las mejores concentraciones de nematodos fueron con *Heterorhabditis bacteriophora* a 2400 y 300 juveniles (IJ), donde controlaron los estadios de larva y adulto, produciendo una mortalidad 97,7% a 95,6% de los individuos. *Steinernema carpocapsae* destaco la mejor concentración de 250 juveniles (IJ), en la cual controlo el estado larvario, con una mortalidad del 90% de los individuos. Del mismo modo la utilización de hongos como *Beauveria bassiana* la concentración efectiva fue $2,5x10^{7}$ a $1,3x10^{12}$ conidios/mL, que controlan el estado adulto, con una mortalidad del 90% a 67,42% del individuo. Metarhizium anisopliae la dosis efectiva es $6,01x10^{7}$ a $1x10^{12}$ conidios/mL, controlan el estado adulto y ninfa, generando una mortalidad del 90% a 91,2%, respectivamente estos entomopatógenos constituye una alternativa ecológica para el control de las garrapatas *R. microplus*.

ABSTRACT

The management of entomopathogens used as biological controllers is a new alternative, which seeks to control pests and diseases that affect agricultural and livestock productions, with the action of bacteria, nematodes and fungi, they control the populations of malefic microorganisms, reducing the levels of propagation and generating the total eradication of the microorganism. In the tropical and subtropical areas of Ecuador there are livestock farms dedicated to the production of meat and milk, which are affected by the attack of Rhipicephalus (Boophilus) microplus tick mites, causing a series of direct and indirect problems that affect cattle.

The objective of this research was to document the current use of entomopathogens for the control of R. microplus ticks that affect cattle in the conditions of the Ecuadorian Amazon. To do this, the search and collection of information was carried out through the databases of the different existing browsers, the information found was carefully analyzed, the main morphological, physiological and pathogenic characteristics of the different entomopathogens were identified, which serves as base to determine the degree of efficiency of each entomopathogenic, where profitability is to reduce economic expenses in the purchase of chemical products.

For this reason, the best results were classified and analyzed, according to the degree of efficacy of each of the entomopathogens. For example, the *Bacillus thuringiensis* bacteria concentrations that best showed were $2x10^7$and $5x10^8$ spores/mL, which control the nymph and adult stages, producing a mortality of 85% and 93% of the In individuals*, Lysinibacillus sphaericus* highlighted the best concentration was $2x10^6$ spores/mL, which controls the adult state, generating a mortality of 83%.

The best concentrations of nematodes were with *Heterorhabditis bacteriophora* at 2400 and 300 juveniles (IJ), where they controlled the larval and adult stages, producing a mortality from 97.7% to 95.6% of the individuals. *Steinernema carpocapsae* highlighted the best concentration of 250 juveniles (IJ), in which I control the larval stage, with a mortality of 90% of the individuals. In the same way, the use of fungi such as *Beauveria bassiana*, the effective concentration was $2,5x10^{7}$ and $1,3x10^{12}$ conidia/mL, which control the adult state, with a mortality of 90% and 67,42% of the individual. *Metarhizium anisopliae* the effective dose is $6,01x10^{7}$ and $1x10^{12}$ conidia/mL, they control the adult and nymph stage, generating a mortality of 90% and 91.2%, respectively, these entomopathogens constitute an alternative Ecological for the control of *R. microplus* ticks.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I 1
1.1 INTRODUCCIÓN 1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 5
1.3.1. OBJETIVO GENERAL 6
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 6
CAPÍTULO II 7
2.1 Características Generales de las garrapatas 7
2.2. Morfología de las garrapatas 9
2.3. Ciclo biológico 10
2.4. Estrategias de control para garrapatas 13
2.4.1. Control químico 13
2.4.2. Mecanismo de resistencia a los productos garrapaticidas 13
2.4.3. Control biológico 14
2.5. Características generales de las bacterias gram positivas 15
2.5.1. *B. thuringiensis* 15
2.5.2. L. sphaericus 17
2.5.3. Condiciones de crecimiento 18
2.6. Características generales de los nematodos entomopatógenos 19
2.6.1. Características Morfológicas 19
2.6.2. Steinernematidae 20
2.6.3. Heterorhabditidae 21
2.7. Características generales de los hongos entomopatógenos 22
2.7.1. *B. bassiana* 26
2.7.2. Características Morfológicas 26
CAPÍTULO III 28
3.1. Localización 28
3.2. Tipo de investigación 29
3.3. Metodología de la investigación 29
CAPÍTULO IV 32
4 Resultados 32
4.1 Características morfológicas, fisiológicas y patogénicas de los principales entomopatógenos. 32

4.1.1 Bacterias entomopatógenos. 32
4.1.2 Nemátodos entomopatógenos. 33
4.1.3 Hongos entomopatógenos. 34
4.2 Eficacia y rentabilidad de los principales entomopatógenos. 36
4.2.1 Eficacia 36
4.2.1 Rentabilidad 41
CAPÍTULO V 43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 43
CAPÍTULO VI 45
REFERENCIAS 45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de la garrapata *R. microplus.* 8
Tabla 2. Clasificación Taxonómica. 16
Tabla 3. Clasificación Taxonómica de los nemátodos. 19
Tabla 4. Clasificación Taxonómica de *B. bassiana*. 26
Tabla 5. Condiciones de Crecimiento. 27
Tabla 6. Resultados Obtenidos en laboratorio con la eficacia del uso de las Bacterias entomopatógenos para el control de garrapata *R. microplus*. 36
Tabla 7. Datos obtenidos de la eficacia de los nematodos entomopatógenos para el control de garrapata *R. microplus* a nivel de laboratorio 37
Tabla 8. Datos obtenidos de la eficacia de *B. bassiana* en el control de garrapata *R. microplus* a nivel de laboratorio. 39
Tabla 9. Datos obtenidos de la eficacia *M. anisopliae* en el control de garrapata *R. microplus* a nivel de laboratorio. 40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figure 1. Morfología de las garrapatas ..... **¡Error! Marcador no definido.**
Figure 2. Ciclo de vida de las garrapatas. 13
Figure 3. Ciudad del Puyo 28

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

El uso de los entomopatógenos como controladores biológicos es una alternativa nueva, la cual busca controlar las plagas y enfermedades que afectan a las distintas producciones agrícolas como pecuarias, con la acción de patógenos benéficos como las bacterias, nematodos, hongos, hormigas reguladoras entre otros, controlan las poblaciones de microorganismos maléficos las cuales alcanzan niveles más bajos de propagación y de erradicación (Guedez, Castillo, Cañizales y Olivar, 2010). Los entomopatógenos son organismos vivos, utilizados para el control de garrapata *R. microplus* que afectan al ganado bovino, controlan las poblaciones de garrapatas, bajan los niveles de propagación, evita el ingreso de enfermedades que causan problemas en la salud de los animales, son controladores naturales de las garrapatas (Cotes, 2015). Es una alternativa innovadora en donde busca reducir el uso excesivo de los garrapaticidas, ya que las garrapatas han obtenido resistencia a estos productos (León, 2018).

La utilización de las bacterias entomopatógenos como *Bacillus thuringiensis* y *Lysinibacillus sphaericus* producen toxinas las cuales destruyen la barrera del epitelio del huésped, dejando paso a las bacterias que realicen los ciclos de esporulación en donde inducen la muerte del huésped (Grijalba et al., 2015). Los nematodos viven en simbiosis con las bacterias *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapsae*, su mecanismo de acción es penetrar las aberturas naturales del huésped, una vez ingresado regurgita la bacteria la cual ayuda a la muerte del hospedero (Cubillas y Lara, 2016). El manejo de los hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* su mecanismo de acción es atacar por medio de esporas donde ingresan al interior del huésped en donde liberan toxinas provocando la muerte del insecto (Martínez, 2010).

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se le conocía anteriormente con este nombre, en el transcurso del tiempo cambio al nombre de *Rhipicephalus microplus* que se encuentra hasta ahora en la actualidad (Polanco y Ríos, 2016). A las garrapatas se les conoce como ácaros artrópodos, pertenecen a dos familias que son Ixodidae que comprenden a las garrapatas duras y Argasidae que son garrapatas blandas (Rodríguez et al., 2014). Son ectoparásitos hematófagos que se alimentan de la sangre del huésped para cumplir su ciclo de vida, se encuentran encima de la piel de los animales, provocan daños directos e indirectos, los daños indirectos provocan deterioro de la piel, disminución de la producción de carne y leche, baja ganancia de peso, baja natalidad, estrés entre otras posibles causas, los daños directos son producidos por patógenos del género *Babesia* como *Babesia bovis, Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* que provocan la piroplasmosis (babesiosis) y anaplasmosis (López y Duarte, 2010).

La presencia de las garrapatas ha causado problemas de manejo en el 80% de la ganadería bovina mundial, el uso indiscriminado de acaricidas químicos ha evidenciado una disminución en la eficacia de controlar las garrapatas, en donde las garrapatas han creado resistencia a estos productos (Benavides, Romero y Villamil, 2016). En el Ecuador existe poca información sobre el control biológico de las garrapatas *R. microplus* que afectan al ganado bovino (Bustillos, 2014).

Las bacterias entomopatógenos como *B. thuringiensis* y *L. sphaericus* que se utilizaron para el control de garrapatas *R. microplus* en condiciones de laboratorio, los resultados que se obtuvieron fueron que, al utilizar diferentes concentraciones de esporas, causa una mortalidad del 93% y 83% que controlan los diferentes estados de adulto y ninfa (Portela, Chaparra y López, 2013). El uso de los nematodos como *H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* utilizado a diferentes concentraciones de juveniles, producen una mortalidad del 97,7% y 90% en los estados de larva y adultos en condiciones de laboratorio (Monteiro et al., 2014). Los hongos entomopatógenos como *B. bassiana* y *M. anisopliae* utilizados en condiciones de laboratorio a diferentes concentraciones de conidios se obtuvo una

mortalidad del 90% y 91% controlando los diferentes estados larvario y adulto de las garrapatas (Salazar, 2019).

1.2 JUSTIFICACIÓN

Los métodos de control biológico constituyen una alternativa sostenible en el control de las plagas y enfermedades, el propósito principal consiste en utilizar agentes patógenos como: bacterias, nematodos patógenos, hormigas reguladoras y hongos entomopatógenos, todos estos agentes son encargados de controlar a las plagas de diferentes estadios (Cotes, 2015). La utilización de Bacterias Gram positivas (*Bacillus* sp. *Lysinibacillus* sp. y *Paenibacillus* sp.), se caracteriza en la producción de esporas las cuales producen toxinas que destruyen la barrera del epitelio intestinal, favoreciendo el paso de las bacterias a la hemolinfa en donde suceden los ciclos de esporulación y división provocando septicemia y muerte del insecto. El uso de Bacterias Gram negativas como *Serratia* sp. *Yersinia* sp. y *Chromobacterium* sp. son menos efectivas en el control biológico ya que no poseen estructuras de resistencia (esporas) (Grijalba, Hurst, Ibarra, Jurat y Jackson, 2015).

El uso de controladores biológicos como nematodos entomopatógenos del género (*Steinernema* sp. *Heterorhabditidae* sp.) son parásitos obligados, se caracterizan por vivir en simbiosis con las bacterias del género (*Xenorhabdu*s y *Photorhabdus*) de la familia Enterobacteriaceae (Rodríguez, Hernández y Gómez, 2012).

El manejo de hongos entomopatógenos del género (*Beauveria* sp. *Metarhizium* sp. *Paecilomyces* sp. y *Verticillium* sp.) se han empleado eficientemente para el control de garrapatas, anteriormente conocidas como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y ahora como *R. microplus* (Polanco y Ríos, 2016). en el ganado bovino, han aportado grandes beneficios a las producciones ganaderas, ya que hay una reducción de gastos económicos por la compra de productos químicos y menor riesgo de contaminación ambiental (Noboa y Quelal, 2015). Los hongos entomopatógenos atacan principalmente por medio de las esporas, las cuales

reconocen la cubierta del insecto y penetran al interior del cuerpo, liberando toxinas que destruyen al insecto, si las condiciones ambientales son adecuadas el hongo produce nuevas esporas en el exterior del insecto muerto. Poseen 2 mecanismos de ataque: el mecanismo físico le causa pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, falta de apetito, letargo, melanización (color oscuro), parálisis y muerte; en cambio el mecanismo químico consiste en la acción enzimática las cuales atacan internamente, en donde las hifas empiezan a emerger por los espiráculos si las condiciones de humedad y de temperatura son adecuadas ocurre la producción de conidios y nuevamente ocurre el ciclo de infestación (Martínez, 2010).

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las zonas tropicales y subtropicales de Ecuador existen explotaciones ganaderas dedicadas a la producción de carne y leche, las cuales son afectadas principalmente por el ataque de ácaros garrapatas *Rhipicephalus microplus*, en los diferentes estados (larva, ninfa y adulto), provocan una serie de problemas directos e indirectos al animal. Las garrapatas provocan daños directos como la pérdida de la ganancia de peso, disminución de la producción cárnica y lechera, daños en la piel, pérdida de sangre del animal, anemia y estrés del animal, los daños indirectos son provocados por patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*, dejan heridas que se infectan y provocan enfermedades como piroplasmosis o babesiosis y anaplasmosis.

Para controlar las garrapatas se emplean frecuentemente garrapaticidas que se comercializan en el mercado nacional, sin embargo, las garrapatas han creado resistencia a estos productos, generando que los productores gasten más recursos económicos en la compra de estos productos. No obstante, en otros países se están empleando eficientemente programas de control biológico por medio de Bacterias Gram positivas (*Bacillus* sp. *Lysinibacillus* sp. y *Paenibacillus* sp.), nematodos entomopatógenos del género (*Steinernema* sp. y *Heterorhabditidae* sp.) que viven en simbiosis con las bacterias del género (*Xenorhabdus* y *Photorhabdus*), y hongos entomopatógenos del género (*Beauveria* sp. *Metarhizium* sp. *Paecilomyces* sp. y *Verticillium* sp.).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- Analizar documentalmente el actual uso de los entomopatógenos para el control de garrapatas *R. microplus* del ganado bovino, atendiendo los criterios que se generan en la amazonia ecuatoriana.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características morfológicas, fisiológicas y patogénicas de los principales entomopatógenos usados para el control de garrapatas *R. microplus* del ganado bovino en la amazonia ecuatoriana.
- Identificar la eficacia y rentabilidad de los principales entomopatógenos usados para el control de garrapatas *R. microplus* del ganado bovino en la amazonia ecuatoriana.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Características Generales de las garrapatas

Las garrapatas son ácaros artrópodos en el cual comprenden dos familias que son: Ixodidae que comprenden garrapatas duras, y Argasidae que se conocen como garrapatas blandas, como se observa en la Tabla (1) (Rodríguez et al., 2014). Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos importantes, al momento de alimentarse necesitan sangre durante una parte de su ciclo de vida (Cortes, Betancourt, Cárdenas y Pulido, 2010).

Rhipicephalus microplus anteriormente llamado (*Boophilus microplus*), causa mayor daño económico en las producciones ganaderas que se encuentran en las regiones tropicales y subtropicales de Centroamérica, Suramérica y Australia, son consideradas como uno de los factores importantes que limitan las producciones ganaderas de todo el mundo (Avalos, Vásquez, Gutiérrez, Mendoza y Sahagún, 2015). Las garrapatas son ectoparásitos que se encuentran sobre la piel del huésped provocando daños negativos, los cuales son directos e indirectos, los daños directos son provocados por medio de patógenos del género *Babesia* de la familia Babesiidae, orden Piroplasmida, las 3 especies de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* provocan la piroplasmosis (babesiosis) y anaplasmosis, los daños indirectos provocan deterioro de la piel, disminución de la producción de leche y carne y desarrollo lento de los animales (Rodríguez et al., 2014).

Las garrapatas duras de la familia Ixodidae presentan cuerpos ovalados, aplastados con una placa dura llamada quitinosa, la cual cubre la parte anterior de la región dorsal de la hembra y a los machos completamente toda la superficie dorsal, esta placa se llama escutum o escudo, el capitulum está bien desarrollado en la parte anterior del cuerpo, presenta basis de forma variada pero siempre igual a cada género o especie, los géneros que conforman esta familia son: *Boophilus, Dermacentor, Rhipicephalus, Anocentor, Margaropus, Aponomma, Rhipicentor* e *Ixodes* (López y Duarte, 2010).

Las garrapatas blandas de la familia Argasidae presentan cuerpos aplanados, sin escudo dorsal, tegumento rugoso con pliegues cubiertos de tubérculos, tienen capitulo ventral, con pedipalpos parecidos a las patas, ojos laterales y en ocasiones cuando se presentan surcos supracoxales hay estigmas muy pequeños, los géneros que conforman esta familia son: *Argas, Otobius* y *Ornithodoras* (Medina, 2013).

2.1.1. Clasificación taxonómica

Tabla 1. *Clasificación Taxonómica de la garrapata R. microplus.*

Reino:	Animalia
Phylum:	Artropoda
Subphylum:	Chelicerata
Clase:	Arachnida
Subclase:	Acaria
Orden:	Acarina
Grupo:	Parasitiforme
Suborden:	Ixodida
Superfamilia:	Ixodoidea
Familias:	Argasidae, Ixodidae
Géneros:	*Dermacentor, Rhipicephalus, Haemaphysalis,Margaropus, Aponomma, Rhipicentor, Boophilus, Argas, Ornithodoras, Ixodes, Hyalomma, Otobius, Anocentor*.

Fuente: Tomado de (Muñoz, 2013).

2.2. Morfología de las garrapatas

Las garrapatas se distinguen fácilmente de los insectos ya que su cuerpo no está claramente definido, la familia Ixodidae se caracterizan por tener un escudo dorsal, el cual cubre todo el cuerpo del macho y las hembras cubre una parte de ellas ya que permite que el abdomen crezca y que se agrande para contener hasta dos centímetros cúbicos de sangre, en todos los estadios evolutivos presentan un rostro terminal con hipostoma grande y dentado, los palpos se insertan a los lados de la piezas bucales y se componen de cuatro segmentos, el segundo de estas piezas importantes para la diferenciación de los géneros, en la parte anterior se localiza el capítulo y es visible dorsalmente, las placas especulares se localizan posterior a la coxa IV. Los ojos se localizan en la región dorsal y están ubicados cada uno al lado del escudo a nivel del segundo y tercer par de patas, se cree que los ojos solo perciben luz y movimiento, no todos los géneros de garrapatas presentan ojos, las adultas y ninfas tiene cuatro pares de patas y las larvas tres pares de patas, las garrapatas duras presentan surcos llamados festones, los cuales pueden presentarse en ambos sexos, como se puede observar en la Figura (1) (Medina, 2013).

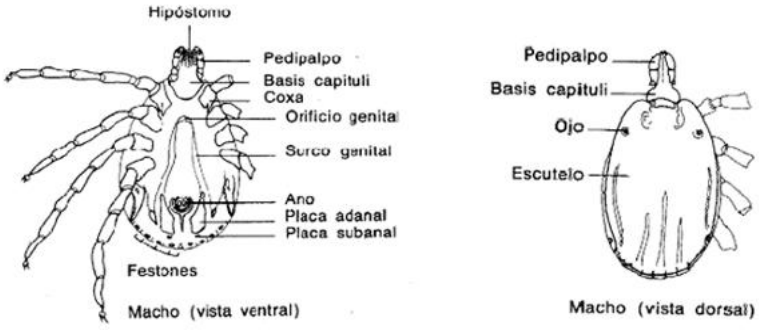


Figura 1. Morfología de las garrapatas tomado de Muños (2013).

2.3. Ciclo biológico

Cópula

Las garrapatas se reproducen sexualmente, las hembras tienen doble ovario, el útero y la vagina desembocan en la abertura externa o poro genital, el macho tiene un aparato reproductor el cual cuenta con testículos, el vaso deferente tiene una abertura que lleva al exterior la cual produce cápsulas o espermatóforos que contiene muchos espermazoos, en la familia Argasidae la cópula se efectúa en la fase adulta después de la nutrición en donde abandona al huésped, en la familia Ixodidae la cópula se realiza durante la alimentación en la fase adulta, la hembra después de realizar la cópula busca un lugar abrigado para poner los huevos en condiciones favorables en el suelo (Rodríguez y Ríos, 2012).

Ovoposición

Las hembras fecundadas para comenzar a poner los huevos retractan el capítulo y el escudo, la vesícula se extienden la cual se encuentra ubicada entre el capítulo y el escudo, la vesícula se agranda formando dos lóbulos, por medio de glándulas secretan una sustancia viscosa, una vez expulsados los huevos al exterior por medio del oviducto son recubiertos por esta sustancia pegajosa (Nitelet y Vallejos, 2011).

Fase de desarrollo

Las garrapatas presentan un ciclo de vida hemimetábolo de metamorfosis incompleta, se desarrolla por cuatro estadios de desarrollo que son: huevo, larva, ninfa y adulto, el estadio de larva se diferencia de los demás estadios porque solo posee tres pares de patas, los demás estadios poseen cuatro pares de patas, presentan dos fases de desarrollo intermedio, la primera fase es la de mutación, esta se caracteriza por el desprendimiento de la piel del exterior o de la cutícula conocida como (muda), la larva pasa de ninfa y de ninfa pasa a adulto, estos eventos ocurren después de alimentarse de sangre del huésped (Polanco, 2016).

El ciclo de vida de las garrapatas empieza al inicio de la eclosión del huevo cuando es ovipositado por la hembra en un lugar que cuenta con las condiciones adecuadas, la larva emerge aproximadamente a la semana y busca un huésped del cual alimentarse, para ello utiliza sus órganos sensoriales que son estímulos por olor, dióxido de carbono, luz, corriente de aire, humedad y calor esto nos indica la presencia del huésped, está acechando en las partes altas de la vegetación para unirse con el huésped y alimentarse de la sangre del hospedero, cuando se caen al suelo realizan la muda dependiendo de la temperatura y la humedad que se encuentre, puede tomar desde cinco días a varias semanas (Muños y Casanueva, 2011).

Las ninfas se desarrollan después de la muda de larva, tiene sus mismas características excepto que pueden vivir por más tiempo, las especies de garrapatas de uno a dos huéspedes la ninfa se alimenta de sangre del huésped y muda sobre el en un corto tiempo, mientras las garrapatas de tres huéspedes la ninfa cae al suelo donde puede mudar dentro de dos semanas aproximadamente (Díaz, 2015).

En los adultos se puede diferenciar el sexo de las garrapatas, las especies que mudan del estado de ninfa sobre el huésped, unas salen de la piel de la ninfa y se unen en otro sitio del huésped como es el caso de las hembras, mientras otras garrapatas salen de la piel de la ninfa y se alimentan de la sangre directamente, las garrapatas de tres huéspedes sus estadios larvales son similares a los otros estadios, se diferencias porque pueden permanecer sin alimento por largo tiempo, la duración del ciclo depende de la adaptación de las especies de garrapatas que se encuentra en el habitad (Díaz, 2015).

Fase parasitaria

Empieza cuando las larvas recién nacidas se encuentran en las puntas de los pastos, perciben el acercamiento de los animales por medio de la respiración o por las corrientes de aire que generan, cuando entran en contacto con el huésped trepan y se fijan en el cuero, iniciando el proceso de alimentación, a través de su aparato bucal absorben la sangre del individuo, comienza el cambio de estados a

ninfa y adulto esto dura aproximadamente 18 días, en la etapa adulta las hembras y los machos se aparean encima del ganado donde las hembras se encuentran fertilizadas, las hembras cuando se alimentan congestionan la sangre de hecho se consideran que las garrapatas femeninas son máquinas condensadoras ya que al ingerir la sangre, separan la parte sólida como los glóbulos blancos, los glóbulos rojos y las plaquetas de la parte líquida, que es el plasma que es devuelto una parte de ella a los animales, al reducir la parte líquida de la sangre las hembras pueden aumentar su capacidad de almacenamiento, reteniendo solo las proteínas que se usarán en la producción de huevos(Azevedo y Oliveira, 2019).

Fase de vida libre

En la etapa de adulto las hembras se encuentran fertilizadas y se alimentan más, tienen la apariencia que están hinchadas, se desprenden del ganado y caen al suelo para comenzar a poner huevos, las hembras buscan un lugar seguro que no les afecte las condiciones ambientales una vez protegidas comienza a metabolizar los componentes de la sangre para la formación de los huevos, cada hembra produce aproximadamente de 3.000 a 4.000 huevos que dan origen a nuevas larvas que se les conoce como micuins las cuales permanecen en el suelo a lado de las cáscaras de huevo, duran algunos días esperando que la cutícula se endurezca para juntarse y levantarse en el primer tallo de planta que encuentren a la espera que pase el animal. Las condiciones climáticas influyen en el desarrollo y la supervivencia de las garrapatas como son temperatura y humedad como se aprecia en la Figura (2) la cual representa el ciclo completo de la garrapata del ganado (Azevedo y Oliveira, 2019).

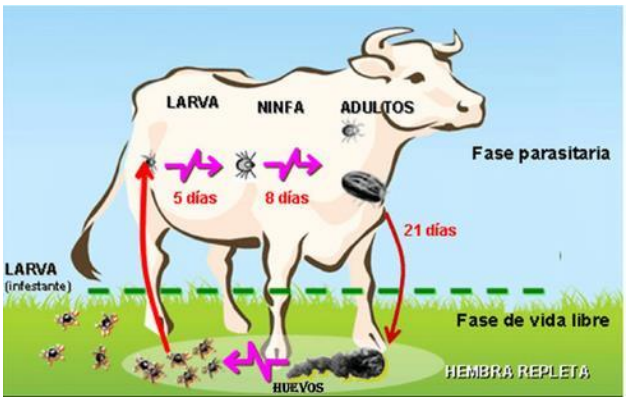


Figura 1. Ciclo de vida de las garrapatas, obtenido de (Azevedo y Oliveira)

2.4. Estrategias de control para garrapatas

2.4.1. Control químico

Según Gonzáles (2012) los métodos de control químico tratan de controlar la propagación de las garrapatas que tienen como función principal romper su ciclo de vida a través de la aplicación de productos químicos como la ixodicidasa, organofosforados, piretroides, amidinas, endectocidas, fenilpirazolonas e inhibidores del desarrollo.

León (2018) mencionó que la mayoría de los acaricidas utilizados para el control de las garrapatas son insecticidas de contacto, los cuales penetran a través de los espiráculos de la garrapata solubilizando rápidamente los quimiorreceptores de los órganos nerviosos de la garrapata, provocando parálisis y la muerte inmediata.

2.4.2. Mecanismo de resistencia a los productos garrapaticidas

Las garrapatas han desarrollado importante resistencia hacia los garrapaticidas, han contrarrestado el efecto tóxico que producen estos productos con la capacidad de adaptarse en un ambiente contaminado, en donde cierto porcentaje de la población sobrevive y trasfiere los genes de resistencia a la siguiente generación teniendo una ventaja hacia esta clase de productos, los individuos más susceptibles

son eliminados y predominan los más fuertes (Fuertes, Domínguez, Ramírez, Estrada y Martínez, 2016).

Una población de garrapatas cuando crea resistencia hacia un producto químico, los componentes que le integran no serán efectivos, si se aplica otro producto de la misma clase, familia o grupo químico no surtiría efecto alguno, en estos casos es necesario hay que hacer rotaciones de productos químicos (Furlong, Martins y Prata, 2010).

2.4.3. Control biológico

El control biológico se describe como una alternativa controladora natural amigable con el ambiente. Con el uso de organismos vivos, se controla la población de garrapatas, entre estas alternativas se han empleado diferentes entomopatógenos (bacterias, nematodos, hongos y hormigas reguladoras) que son controladores naturales de las garrapatas (Cotes, 2015).

Según León (2018) el método de control biológico trata de reducir gastos económicos en la compra de productos químicos, en la cual busca alternativas de manera más eficiente como es la implementación de cruzas de animales resistentes a las garrapatas, aplicar técnicas de cuidado y manejo de los animales, efectuar mantenimientos a los potreros que pasan los animales.

Los métodos de control biológico constituyen una alternativa más sostenible, en el control de las garrapatas, en el cual, el propósito principal es la utilización de agentes entomopatógenos como las Bacterias Gram positivas (*Bacillus* sp. *Lysinibacillus* sp. y *Paenibacillus* sp.) estas producen toxinas que destruyen la barrera del epitelio intestinal, favoreciendo el paso de las bacterias a la hemolinfa en donde suceden los ciclos de esporulación y división provocando septicemia y muerte del insecto (Grijalba et al., 2015).

El uso de hongos entomopatógenos del género (*Beauveria* sp. *Metarhizium* sp. *Paecilomyces* sp. y *Verticillium* sp.) se caracteriza por atacar por medio de las esporas las cuales reconocen la cubierta del insecto en donde penetran al interior del cuerpo del insecto, liberando toxinas que destruyen al insecto, la enfermedad que ocasionan se llama muscardina blanca, esta se caracteriza por la momificación del insecto atacado, si las condiciones ambientales son adecuadas el hongo produce nuevas esporas en el exterior del insecto muerto, antes de matar al hospedero, se encuentra parasitando. Su mecanismo de acción es físico y químico; el mecanismo físico le causa pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, falta de apetito, letargo, melanización (color oscuro) y parálisis con la muerte del insecto, en cambio el mecanismo químico consiste en la acción enzimática que ataca internamente, las hifas empiezan a emerger por los espiráculos si las condiciones de humedad y de temperatura son las adecuadas ocurre la producción de conidios en donde nueva mente ocurre el ciclo de infestación (Martínez, 2010).

2.5. Características generales de las bacterias gram positivas

2.5.1. *B. thuringiensis*

Es un bacilo Gram positivo de flagelación peritica, es un microorganismo anaerobio facultativo, contiene quimiorganótrofo con actividad de catalasa, pose la capacidad de fermentar glucosa, fructosa, trealosa, maltosa, ribosa, y de hidrolizar gelatina, almidón, glucógeno, esculina y N-acetil-glucosamina. El proceso que se característica los *Bacillus* es de esporulación produce una inclusión parasporal desarrollada por uno o más cuerpos cristalinos de naturaleza proteica que son tóxicos para distintos invertebrados, especialmente larvas de insectos, estas proteínas se denominan Cry del (inglés, Crystal) constituyen unas de las bases del insecticida biológico más difundido a nivel mundial (Sauka y Benintende, 2012).

La clasificación taxonomía de *B. thuringiensis* se observa en la Tabla (2).

Tabla 2. *Clasificación Taxonómica.*

Reino:	Procariota
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	Bacillaceae
Género:	*Bacillus*
Especie:	*thuringiensis*

Fuente: Obtenido de (Delgado, 2011).

Características Morfológicas

Es un bacilo gram positivo flagelado esporulado que se caracteriza por la formación de un cuerpo paraesporal o cristal de proteína, conocido como δ-endotoxina, estos cristales se forman durante la esporulación y tienen actividad tóxica para larvas de insectos. La δ-endotoxina puede variar en tamaño y forma según la variedad de *B. thuringiensis*, en un medio de cultivo puede producir varias formas de cristales, como romboidal de tipo amorfo, bipiramidal, cuboidales, bipiramidales y esféricos, en donde se señalan que la forma más común es la bipiramidal. Las colonias de *B. thuringiensis* crecidas en placa puede variar la morfología en el medio de cultivo utilizado, en agar las colonias son circulares con bordes irregulares de perfil plano y de color marfil, el diámetro que avanza en la placa de cultivo depende directamente de la densidad de colonias, la textura es seca y cerosa apreciándose en colonias maduras en un círculo central que posee una superficie brillante y lisa debido a la esporulación de las células (Carrera, 2010).

Ciclo de vida

B. thuringiensis se desarrolla presentando dos fases, la fase de crecimiento vegetativo y la fase de esporulación, cuando la bacteria se encuentra en un ambiente rico en nutrientes esta se multiplica exponencialmente por fisión binaria, la temperatura óptima para el crecimiento es de (26 a 30 ºC), el pH puede variar de (5,5 a 8,5) siendo el rango óptimo (6,5 a 7,5), cuando la fase de crecimiento vegetativo se detiene sebe que está limitada por la disponibilidad de algún nutriente esencial o por condiciones del medio ambiente son desfavorables. Cuando las condiciones del medio ambiente son desfavorables empieza la fase de esporulación que coincide con el cambio de fase de crecimiento, en esta fase se produce en forma simultánea la formación de esporas y de cristal, la célula se la denomina esporangio a las esporas y a los cristales que son liberados al medio tras la lisis celular (Onco, 2018).

Factores de virulencia producidos por *B. thuringiensis*

Han desarrollado una serie de factores de virulencia que le permiten infectar a sus blancos con mayor eficiencia, estos factores son fosfolipasas, proteasas, quitinasas, exotoxinas o exotoxinas y termolábiles, son toxinas que funcionan como análogos de ATP y las proteínas VIP, que son proteínas insecticidas que se producen en la fase vegetativa del crecimiento. Se propone que estos factores ayudan a la bacteria en la infección del insecto (Carrera, 2010).

2.5.2. L. sphaericus

Lysinibacillus anteriormente se le conocía como *B. sphaericus* en donde fue reasignado el nuevo género, se le conoce por la producción de peptidoglicanos que contienen lisina y ácido aspártico, es una bacteria aeróbica gram positiva, con espora circular terminal la cual está ampliamente distribuida en el suelo y en ambientes acuáticos. Es un bacilo que mide 1.5 a 5 micras de largo, con bordes redondos, forman colonias beta hemolíticas de color blanco crema traslucido y bordes regulares (Hernández, 2014).

2.5.3. Condiciones de crecimiento

Este microorganismo su metabolismo es aerobio se desarrolla en amplios rangos de temperatura entre 30 ºC y 45 ºC máxima y mínima de 5 ºC a 15 ºC, no fermenta la glucosa, no reduce nitratos, la fenilalanina positiva es sensible a bajas concentraciones de penicilina y tetraciclina presenta resistencia al cloranfenicol y a la estreptomicina, es un alcalofilo obligado que producen gran cantidad de proteasa alcalina extracelular (Hernández, 2014).

Toxinas que produce

Algunas cepas producen toxinas antibacteriales, esferilicosina, toxina binaria, capa S y mosquitocidas vegetativas llamadas Mtx1, Mtx2 y Mtx3 que son producidas durante la fase de crecimiento (Grijalba et al., 2015).

Mecanismo de acción

La bacteria requiere ser ingerida por el insecto para actuar y así desarrollar la infección dentro de las larvas de los mosquitos se basa en histología, por lo general las cepas afectan las membranas peritrófica del intestino medio que muere la larva, la mayoría de las larvas de los dípteros se alimentan de bacterias y algas una vez en el intestino medio, la bacteria comienza a degradar las células de la membrana epitelial, al mismo tiempo en que la bacteria crece y esporula se producen toxina que atraviesa la membrana epitelial de las células sensibles que se encuentre en el lumen de larva, lo que da lugar a la intoxicación de las mismas. Después de la muerte de la larva las células vegetativas de *L. sphaericus* junto con la flora normal del intestino crecen hacia afuera de los tejidos finos de la larva muerta, en consecuencia, la región posterior del intestino medio aparece inflamada en las larvas infectadas, las que también llegan a manifestar temblores, lentitud y no pueden mudar (Hernández, 2014).

2.6. Características generales de los nematodos entomopatógenos

Los nematodos entomopatógenos son organismos vivos que tiene forma de gusanos, son redondos de cuerpo blando, no son segmentados, tienen diferentes estilos de vida ya sea de predadores o parásitos obligados de insectos como son lepidópteros, coleópteros y dípteros, se encuentran de forma natural en el suelo, son capaces de perseguir y localizar a los insectos por señales quimio receptoras, vibraciones y emanaciones de dióxido de carbono. Los géneros de entomopatógenos más usados para el control biológico de plagas son (*Steinernema* sp. y *Heterorhabditidae* sp.) por la rapidez que elimina a sus hospederos en (24 a 48 horas), por la alta virulencia que se debe a la asociación de bacterias simbióticas, así *Steinernema* asociado con Xenorhabdus y *Heterorhabditidae* con Photorhabdus (Ramírez, Madrigal y Jazo, 2016).

La clasificación taxonómica de los nematodos entomopatógenos se observa en Tabla (3).

Tabla 3. *Clasificación Taxonómica de los nemátodos.*

Reino:	Animalia
Phylum:	Aschelmyntes (Nematoda)
Clase:	Secernentea
Orden:	Rhabditida
Familia:	Heterorhabditidae y Steinemematidae
Género:	*Heterorhabditis* y *Steinernema*
Especie:	sp.

Fuente: Tomado de (Becerra, 2015).

2.6.1. Características Morfológicas

Los nematodos se les conoce con el nombre vulgar de gusanos redondos por la forma de su cuerpo en un corte transversal, su cuerpo es alargado, cilíndrico y no segmentado, la cavidad de su cuerpo es un pseudohemoceloma y su cuerpo está cubierto de una cutícula la cual no hay variaciones, tienen un sistema excretor rudimentaria y no poseen sistema circulatorio ni respiratorio, presenta un sistema

nervioso, reproductor y digestivo que está bien desarrollado, el ano y el gonoporo del macho se unen para formar la cloaca, la mayoría son de vida libre en medios ambientes acuáticos y terrestres mientras otros parasitan plantas y animales. Las principales diferencias entre los nematodos fitoparásitos y los nematodos entomopatógenos es la ausencia del estilete, los entomopatógenos están en simbiosis con las bacterias, su esófago está dividido en el corpus, istmo y bulbo basal, los machos pueden presentar o no bursa, el poro excretor puede estar localizado anterior o posteriormente al anillo nervioso (Cubillas y Lara, 2016).

Los nematodos juveniles miden entre 500 a 800 micrómetros asociados a una bacteria simbiótica específica, estas bacterias se encuentran en una estructura llamada receptáculo bacterial originalmente llamado vesícula intestinal, este receptáculo está localizado entre el esófago y la porción anterior del intestino y es el resultado de la modificación de las dos células anteriores de la porción ventricular del intestino, la morfología del receptáculo bacterial está influenciado por los niveles de colonización, edad y estado nutricional del nematodo (Ramírez et al., 2016).

2.6.2. *Steinernematidae*

Son parásitos obligados de insectos, los nematodos juveniles de tercer estadio trasportan la bacteria del género *Xenorhabdus* sp. en el receptáculo intestinal, el poro excretor está localizado anteriormente al anillo nervioso, las hembras son grandes con longitud del cuerpo variable que tienen cutícula lisa o anulada, sin campos laterales ni poro excretor visible, cabeza redonda, el sistema reproductivo es didélfico, amfidélfico, los machos son más chicos que las hembras, no tienen bursa contiene papilas genitales de 21 a 23, en estado juvenil presenta un estoma hundido con o sin cutícula del segundo estadio juvenil, los campos laterales pueden tener de 4-9 hendiduras o campos laterales, contiene cola es conoide o filiforme (Cubillas y Lara, 2016).

2.6.3. *Heterorhabditidae*

Contiene la bacteria del género *Photorhabdus* sp. los nematodos juveniles presentan el poro excretor en la parte posterior del anillo nervioso, las hembras de primera generación son hermafroditas presentan una cabeza trunca de 6 labios cónicos bien desarrollados, tienen estomago ancho, el poro excretor usualmente esta al final del esófago, ovotestis amfidélfico reflejado. Las hembras amfimícticas de segunda generación son más pequeñas que las hembras hermafroditas presentan papila labial prominente tienen un sistema reproductivo amfidélfico, los machos presentan un testículo reflejado, la cabeza de la espícula es corta, presentan bursa con 9 pares de papilas genitales (Cubillas y Lara, 2016).

El nematodo juvenil normalmente mantiene la cutícula del segundo estadío juvenil ya que el estado pre-infectivo no muda especialmente si no hay suficientes nutrientes de manera que presenta una doble cutícula la cual lo protege de factores ambientales adversos, aumenta su virulencia, la cabeza presenta diente dorsal prominente, la cutícula es estriado, el diente dorsal les ayuda a penetrar al interior del insecto hospedero por las membranas inter-segméntales (Cubillas y Lara, 2016).

Ciclo de vida

Una vez que los nematodos localizan el hospedero penetran a través de las aberturas naturales como boca, ano y espiráculos en algunos casos a través de la cutícula, una vez que está en el hemoceloma del insecto regurgita la bacteria simbiótica, en la hemolinfa del insecto, la bacteria prolifera en el cuerpo del insecto produce diversos compuestos antimicrobiales que suprimen el crecimiento de microorganismos antagónicos creando así un ambiente favorable para la reproducción y desarrollo del nematodo , la bacteria también ayuda a la muerte del insecto y en proveer nutrientes al nematodo (Cubillas y Lara, 2016).

El insecto infectado muere en las siguientes 48 a 72 horas, el nematodo se alimenta junto con la bacteria simbiótica de los tejidos del insecto mientras la infección va progresando el tejido del hospedero es consumido. Los nematodos juveniles en el 3 estadio mudan pasando al 4 estadio juvenil en donde se desarrolla en adulto, la primera generación de hembra y de macho de los dos géneros se reproducen de 1 a 3 generaciones en el cadáver del insecto, cuando el alimento escasea la bacteria se asocia nuevamente al nematodo juvenil en donde este emerge del cadáver para buscar un nuevo hospedero repitiendo así el nuevo ciclo (Ramírez, Madrigal y Jazo, 2016).

2.7. Características generales de los hongos entomopatógenos

Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos se caracterizan por no ser ingeridos por los insectos para ser controlados, estos microorganismos pueden infectar directamente a los insectos a través de la penetración de la cutícula o por los espiráculos, en donde los mecanismos de acción actúan directamente en el hospedero evitando que desarrollo resistencia, estos mecanismos se dividen en las siguientes etapas (Noboa y Quelal, 2015).

Adherencia de la conidia en la cutícula del insecto

Los hongos entomopatógenos para poder atacar a los insectos, debe la conidia adherirse a la superficie cuticular para penetrar la pared celular, la interacción entre la conidia y la cutícula dependen de las sustancias mucilaginosas que cubren la conidia en donde se encuentran enzimas y además de la conformación morfológica del integumento que favorece la germinación de la conidia, pueden adherirse al azar de acuerdos a los pliegues intersegmentales o a la rugosidad de la superficie de la cutícula (Buenrostro, 2012).

Germinación de las conidias en la cutícula del artrópodo

El proceso de germinación ocurre aproximadamente 12 horas en la cual necesita una humedad alta mayor al 90%, las conidias en temperaturas altas son invasivas patógenas, la germinación es más rápida, fisiológicamente la germinación de las conidias es la actividad metabólica, morfológicamente la célula vegetativa de una conidia es en forma de tubo germinativo que crece en la superficie cuticular, en la cual se forma un apresorio que penetra directamente a la cutícula, la célula apresorio le permite adherirse a la superficie cuticular (Mejía, Menjivar y Núñez, 2010).

Penetración de la cutícula.

La penetración de las hifas se da como resultado de la degradación enzimática de la cutícula como es la presión mecánica ejercida por el tubo germinativo, en este proceso participa un mecanismo físico como químico, el mecanismo físico consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe la área esclerotizadas y membranosas de la cutícula, el mecanismo químico consiste en la acción enzimática de las lipasas, proteasas y quitinasas, las enzimas tienen un efecto específico sobre cada uno de los componentes de la cutícula, como son las lipasas que desintegra los lípidos, las quitinasas desintegran la quitina, la cual es la sustancia que le confiere resistencia y dureza a la cutícula, las proteínas presentes en la cutícula son desintegradas por enzimas proteolíticas producidas por el hongo (Buenrostro, 2012).

La producción de toxinas.

Los hongos entomopatógenos son responsables de la mortalidad del hospedero, por el rápido crecimiento del hongo el cual indica la muerte del insecto, ocurre por el crecimiento vegetativo en donde la ruptura de áreas membranosas o esclerotizadas es inminente, produciéndose altos niveles de micosis, la muerte es rápido aproximadamente dura 48 horas o menos, esto es atribuido a la producción

de toxinas permitiendo que otros organismos invadan el hemocele resultante en el crecimiento reducido del hongo dentro del hospedero.

B. bassiana produce toxinas en donde erosionan el granuloma permitiendo que las blastosporas invadan el hemocele, los cuerpos hifales proliferan únicamente después de la muerte del huésped, las toxinas entomogenas son de particular importancia en el proceso de infección, las toxinas como beauvericina, beaverolidos, bassianolides, isarolides, acido oxálico, destruxinas y tochalasinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por perdida de fluido (Noboa y Quelal, 2015).

Muerte del hospedero

Cuando *B. bassiana* está creciendo saprotrófico en un hospedero produce cambios de conducta como son perdida de coordinación, bajo consumo de alimento entre otros, cuando se produce la muere el insecto ocurre antes que el hongo colonice totalmente el hemocele del insecto, debido a la acción de las toxinas, con la muerte del insecto finaliza la fase parasitaria e inicia la fase saprofita en donde a través de los tejidos del insecto, comienza la competencia con la flora bacteriana intestinal, en la cual produce oosporein un pigmento antibiótico rojo que le da una coloración característica al cadáver en la cual reduce el crecimiento de bacterias, el tiempo de la muerte depende de la cepa del hongo, del hospedero y de las condiciones ambientales (Buenrostro, 2012).

Desarrollo de la fase del micelio

En esta fase aparecen pequeñas manchas mecanizadas en los sitios de infección por donde penetro el entomopatógeno, se observa algunas coloraciones rojizas en el insecto hospedero, los hongos producen sustancias antibacterianas que impiden la descomposición del insecto manteniéndose como una momia, el tiempo que dura la colonización es de 3 a 8 días dependiendo de la cepa del hongo, estos insectos sirven como depósitos para los hongos durante condiciones adversas (Echavarría, 2013).

Emergencia del micelio hacia el exterior

Después de la muerte del insecto si las condiciones de humedad son favorables, el hongo emerge al exterior a través de la cutícula, si las condiciones no son favorables el hongo permanecen en el interior del insecto protegido por el integumento, en donde puede sobrevivir por algunos meses hasta que lleguen las condiciones favorables para su esporulación (Echavarría,2013).

Esporulación

Se trata cuando las hifas empiezan a emerger por los espiráculos ano y boca, a través de las áreas más débiles si las condiciones de humedad y temperatura son las adecuadas ocurre la producción de conidios o esporas en un periodo de tiempo de 24 a 48 horas, esta fase el insecto muerte adopta la coloración característica del hongo involucrado (Buenrostro, 2012).

Dispersión de las unidades infectadas

La dispersión de las conidias o las esporas del hongo son unidades infectivas, en la cual la diseminación es por las condiciones ambientales, en donde los conidias buscan nuevos hospederos para iniciar su ciclo de infección nuevamente (Noboa y Quelal, 2015).

2.7.1. *B. bassiana*

B. bassiana es un hongo entomopatógeno que pertenece a la clase Deuteromycetes, su estructura reproductiva es conidial, en donde se clasifican en hongos superiores (imperfectos), esta clase de hongos se encuentran parasitando un alto número de especies de insectos, su mecanismo de acción es tanto físico como químico, las esporas que producen reconocen la cubierta de los insectos en donde penetran en el interior del cuerpo del insecto, liberan sustancias que lo digieren y destruyen al insecto esta enfermedad se llama muscardina blanca, en donde se puede observar el aspecto de una momificación al insecto atacado, si las condiciones ambientales son adecuadas el hongo produce nuevas esporas en el exterior del insecto muerto (Castillo et al., 2012).

B. bassiana se clasifica de la siguiente manera como se observa en la Tabla (4).

Tabla 4. *Clasificación Taxonómica de B. bassiana.*

Reino:	Fungí
División:	Amastigomicotina
Subdivisión:	Deuteromycotina
Clase:	Hyphomcycete
Orden:	Moniliales
Familia:	Moniliaceae
Género:	*Beauveria*
Especie:	*bassiana*

Fuente: Tomado de (Noboa y Quelal, 2015).

2.7.2. Características Morfológicas

Echavarría (2003) mencionó que *B. bassiana* tiene la forma de algodón blanco, en donde toma la apariencia amarillenta o rosado pálido en el transcurso de los días, se vuelve polvorienta de color crema producto de las esporas, el reverso es blanco o amarillo pálido.

B. bassiana es un entomopatógeno que se clasifica en hongos superiores o en hongos imperfectos, al ramificar el micelio forma las estructuras llamadas conidióforos, posee hifas septadas las cuales contienen las estructuras reproductivas llamadas conidióforos, en las cuales se desarrollan las conidias que tienen forma globosa o subglobosa, presenta un cuello corto, las estructuras de las conidias forman grandes grupos, los conidióforos se agrupan en forma compacta constituyendo los sinemas, las conidias tienen la superficie lisa de apariencia hialina de color blanco cremoso posee esterigmas alternados en zigzag alargada en su extremo distal llamado raquis (Vázquez, 2018).

Las condiciones de crecimiento de los hongos entomopatógenos se aprecia en la Tabla (5).

Tabla 5. *Condiciones de Crecimiento.*

Factor	**Requerimiento**
pH	5.7 a 5.9
Temperatura	Crecimiento entre 25 a 30 °C (mínimo 10°C y máximo 30°C)
Humedad	94% aproximado
Necesidades nutricionales	Sacarosa, fuentes de carbono (glucosa, almidón, pectina) y nitrógeno (peptona)

Fuente: Obtenido de (Martínez, 2010).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

El presente trabajo de investigación, se realizó en la provincia de Pastaza en la ciudad de Puyo, en la cual es parte de la amazonia ecuatoriana, su clima es cálido húmedo, tiene una precipitación anual de 4405 mm, la temperatura va 18ºC a 30ºC aproximadamente, se encuentra a 950 msnm como se observa en la Figura (3) (Meteored, 2020). En donde se busca recopilar información sobre el uso de entomopatógenos en el control de garrapatas *R. microplus* del ganado bovino en la amazonia ecuatoriana.

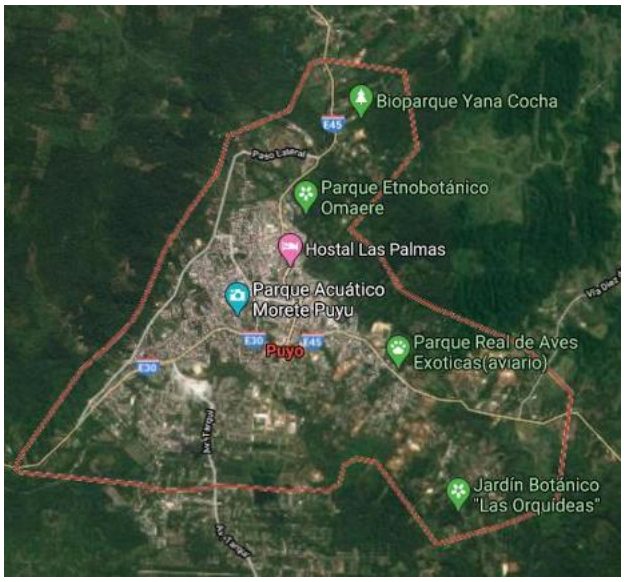


Figure 2. Ciudad de Puyo Obtenido de (Google Maps, 2020).

3.2. Tipo de investigación

En el siguiente estudio se empleó un diseño de revisión documental sobre el conocimiento actual sobre el uso de entomopatógenos para el control de garrapatas *R. microplus* del ganado bovino en la amazonia ecuatoriana.

3.3. Metodología de la investigación

La presente investigación tiene por objetivo, el análisis documental del actual uso de los entomopatógenos para el control de garrapata *R. microplus* del ganado bovino, atiendo los criterios que se generan en la amazonia ecuatoriana, para esto se recopilará información en la base de datos Scopus, Science Direct, Springerlink, Annual, Scielo, Latindex y Google Académico entre otras fuentes de información, se seleccionaron estudios de los últimos 10 años, no se tendrá restricción alguna con el idioma de las publicaciones encontradas. Se procederá a revisar el título, autores, resumen y los resultados de cada documento encontrado, para determinar si los resultados son pertinentes y aplicables a nuestro tema de estudio.

Se describirá las características morfológicas, fisiológicas y patogénicas de los principales entomopatógenos usados para el control de garrapatas *R. microplus* del ganado bovino en la amazonia ecuatoriana. Se identificará las principales características morfológicas de las bacterias identificando macroscópicamente por el color de las colonias, tipo de bordes de las colonias, superficie de la colonia, tamaño de las colonias (µm), diámetro de las colonias (mm) y microscópicamente endospora, formas de cristal, forma de esporas, bipiramidal entre otros (Carreras, 2010). Las bacterias presentan fisiologías como crecimiento de las colonias, tiempo de germinación, tipo de pH (Calvo y Zúñiga, 2010). Las bacterias patogénicas se determinan por el tipo de toxinas que producen, capacidad de resistencia, invasión de célula y tejidos (Fonseca et al., 2013).

Los nemátodos se caracterizan morfológicamente y fisiológicamente su cuerpo alargado (µm), no presenta segmentos, no presenta sistema circulatorio ni respiratorio, estado nutricional del nemátodo entre otros (Cubillo y Lara, 2016). La patogenicidad se determina por la suplementación de nutrientes esenciales para el nematodo por la bacteria, retención de la bacteria dentro del intestino del nemátodo, tipos de toxinas que producen (Rodríguez, Hernández y Gómez, 2012).

Para identificar las principales características morfológicas de los hongos se determinó macroscópicamente el tamaño de la colonia (µm), color de la colonia, superficie de la colonia, aspecto de la colonia etc. y microscópicamente hifas septadas, formas de la conidia, diámetro de las conidias (mm), conidióforo, crecimiento micelial entre otros (Noboa y Quelal, 2015). La fisiología de los hongos se caracteriza por la velocidad de germinación, producción de conidios (esporulación), tiempo de germinación, unidades infectivas (Gerónimo et al., 2016). Las características patogénicas de los hongos se determinan por la tasa de infección (%), tipos de toxinas que producen, supervivencia al sistema inmunitario del huésped (Falconi, Flores y Castellanos, 2010). Se organizará la información en una base de datos que contenga la información respectiva.

Para la identificación de la eficacia y rentabilidad de los principales entomopatógenos usados para el control de garrapatas *R. microplus* en condiciones de la amazonia ecuatoriana, se procedió a la identificación de los entomopatógenos como bacterias, nemátodos y hongos en donde se determinó el grado de efectividad que tiene cada uno de ellos para controlar este tipo de acaro.

El grado de efectividad de las bacterias se determina cuando controlan uno de los diferentes estadios de la garrapata *R. microplus* que afectan al ganado bovino, se determina por el mayor o menor porcentaje de concentración al momento de la aplicación de la dosis, en donde se determina valor de la eficacia (%), mortalidad días (%) entre otros, se aplicó en condiciones in vitro (Lormendez et al., 2019).

En estudios resientes se afirma que a nivel mundial la dosis que demuestra mayor efectividad en el uso de los nemátodos se encuentra por encima de 10^5 (JI) que controlan uno de los estadios de la garrapata *R. microplus*, provocando mortalidad (%), Tiempo letal media (TL50), valor de la eficacia (%), reproducción masiva, los estudios se efectuaron en condiciones in vitro o controladas (Rodríguez, Hernández y Gómez, 2012). Para determinar la eficacia de los hongos entomopatógenos se analisó el mayor o menor porcentaje de concentración al momento de la aplicación de la dosis, en donde se controla uno de los diferentes estadios de la garrapata *R. microplus*, se valoró la mortalidad producida (%), Tiempo letal medio (TL50), tiempo de infestación entre otros, los ensayos se realizaron en condiciones in vitro (Gálvez, Segura y Vázquez, 2017).

El uso de las bacterias entomopatógenos como controladores biológicos para las garrapatas *R. microplus* que afectan al ganado bovino, los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente con el programa ANOVA con una prueba Tukey, en la cual se comparó que dosis es más efectiva al momento de la aplicación (Gerónimo et al., 2016). Los resultados obtenidos sobre el uso de los nemátodos como controladores biológicos se analizaron con el software Biostat versión 5.0, para validar los resultados, se analizó mediante la prueba Kruskal- Wallis, en la cual se comparó cual de la dosis es más efectiva (Monteiro et al., 2019). En estudios realizados sobre el uso de los hongos entomopatógenos para el control de garrapata *R. microplus*, los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con el programa ANOVA con una prueba Tukey, en donde se comparó cuáles de las dosis es más efectiva al momento de la aplicación, (Salazar, 2015). Se seleccionará y se procederá a elaborar tablas de análisis que contengan los mejores resultados de los diferentes entomopatógenos para el control de la garrapata *R. microplus* que afectan al ganado bovino.

CAPÍTULO IV

4 Resultados

4.1 Características morfológicas, fisiológicas y patogénicas de los principales entomopatógenos.

4.1.1 Bacterias entomopatógenos.

B. thuringiensis

Es un bacilo Gram positiva flagelado, durante la fase de esporulación produce cristales, las colonias son de color blanco grisáceo, la superficie es plana, presenta bordes irregulares o lobulados, el diámetro de las colonias es 1 a 1,2 mm, la forma de las colonias es circulares. Microscópicamente la forma de las esporas es oval, la cual se encuentra asociado a un cristal paraesporal de forma bipiramidal esférico, de color azul (Solís, 2010).

La fisiología de *B. thuringiensis* se caracteriza por el tiempo de germinación es de 3 a 6 días aproximadamente, la velocidad de crecimiento, el tipo de pH es 6,5 a 7,5 dependiendo del cultivo que se encuentre (Calvo y Zúñiga, 2010).

La patogenicidad de *B. thuringiensis* es generar varios tipos de toxinas como fosfolipasas, enterotoxina, thuricina, quitinasas, tasa de infección, la capacidad de resistencia comprende de la formación de la endospora que protege de las condiciones ambientales adversas, forma un cristal paraesporal, la invasión de célula y tejido se genera a partir que el acaro ingiere el cristal, disolviéndose en el aparato digestivo provocando intoxicación y posterior mente la muerte (Carrera, 2010).

L. sphaericus

Es una bacteria Gram positiva, forma colonias beta hemolíticas, el color de la colonia es blanco crema translucido, presenta bordes regulares y microscópicamente el ancho mide 0,61 a 1 (µm) y 1,5 a 5 (µm) de largo, bordes redondeados, la forma de la espora es raqueta (Gómez, Hernández y Corrales, 2010).

L. sphaericus se caracteriza fisiológicamente por el tiempo de germinación es de 5 a 8 días aproximadamente, el pH óptimo es 7, la velocidad de crecimiento depende de las condiciones ambientales se encuentre (Garzón, Andrade, Lozano y Vanegas, 2010).

Las características patogénicas *L. sphaericus* es producir toxinas esferilicosina, toxina binaria, capa s y mosquitocidas vegetativas, capacidad de resistencia es la cual sobrevive a las condiciones ambientales, invasión de células y tejidos es el mismo mecanismo de acción de *B. thuringiensis* (Zamora, 2010).

4.1.2 Nemátodos entomopatógenos.

Steinernematidae

Se caracteriza morfológicamente por trasportar la bacteria del género *Xenorhabdus* sp. en su intestino, cuerpo alargado de forma cilíndrica, no presenta segmentos, su cuerpo es pseudohemoceloma, no poseen sistema circulatorio ni respiratorio, el sistema nervios, digestivo y reproductivo están bien desarrollado (Cubillo y Lara, 2016). La característica patogénica de *Steinernematidae* es cuando alcanzado la hemolinfa, donde la bacteria es liberada para propagarse, producen toxinas enzimáticas proteolíticas, destructoras de proteínas, el nematodo se alimenta del tejido del hospedero para desarrollarse (Vázquez, 2010).

Heterorhabditis

Se asocia con la bacteria del género *Photorhabdus* sp. los nematodos juveniles presentan el poro excretor en la parte posterior del anillo nervioso, las hembras de primera generación son hermafroditas, las hembras amfimícticas de segunda generación son más pequeñas que las hembras hermafroditas presentan papila labial prominente tienen un sistema reproductivo amfidélfico (Cubillas y Lara, 2016). El grado de patogenicidad seda cuando ingresa al huésped por uno de los orificios naturales ya sea boca, ano o por los espiráculos, en ciertos casos utiliza el diente dorsal para romper la cutícula del huésped y entrar directamente ala hemocele, el tiempo que dura es 12 días (Vázquez, 2010).

4.1.3 Hongos entomopatógenos.

B. bassiana

Es considerado un hongo filamentoso que se caracteriza morfológicamente por el crecimiento en forma de algodón blanquecino inicial, el color cambia en el transcurso de los días a amarillento, se vuelve de aspecto lanoso polvoriento de color crema producto de las esporas, el reverso es blanco pálido, superficie de la colonia acolchada, diámetro de la colonia en 10 días 15 a 32 mm (Freitas, 2016). Microscópicamente presentan hifas septadas, hialinas de paredes lisas, tamaño hifas 1 a 2 (µm), forma de los conidios ovoide con base sub esférica, tamaño de las conidias 3 a 2 (µm) (Freitas, 2016).

B. bassiana se caracteriza fisiológicamente por la germinación de conidios que es el conteo del número de conidios germinados en un área determinada, la producción de conidios o esporulación se determina por las condiciones de crecimiento favorables como temperatura, humedad, pH y nutrientes, la tasa de crecimiento se trata de la muestra tomada de una concentración de cepa de hongo, la cual es sembrada en una caja Petri en donde se desarrolla, midiendo el diámetro del cultivo por varios días (Cañizales, Guedez, Castillo y Olivar, 2015).

La patogenicidad de *B. bassiana* se determina por generar toxinas como beauvericina, beauverolidos, ácidos oxálico y tochalasinas, tasa de infección, supervivencia al sistema inmunitario es donde penetran en el interior del cuerpo del insecto, liberan sustancias que lo digieren y destruyen al huésped esta enfermedad se llama muscardina blanca (Noboa y Quelal, 2015).

M. anisopliae

Es considerado un hongo deuteromycete, sus características morfológicas son, el color de las colonias es amarillento verdoso, marrón oscuro, presentan margen micelial blanco, cuando esporula se torna verde oliva. Microscópicamente se caracterizan por presentar hifas hialinas, los conidióforos son ramificados en dos a tres septos, el color de las esporas es oliváceo, el diámetro de los conidios es 1,5 a 2,5 mm, las fiálides son de forma cilíndricas, el diámetro de las fiálides es 2 a 4 mm, los conidios son de forma cilíndrica, la longitud de los conidios es 4 a 10 mm (Valbuena y Álzate, 2010).

Características fisiológicas de *M. anisopliae* son las siguientes, tasa de crecimiento se determina por la muestra tomada de la concentración de la cepa de hongo, la cual es sembrada en la caja Petri para que su desarrollo, midiendo el diámetro por varios días, la producción de conidios se trata de las condiciones favorables de crecimiento, la germinación de conidios es el conteo del número de conidios germinados y no germinados en un área determinada (Obando, Bustillo, Castro y Mesa, 2013).

La característica patogénica de *M. anisopliae* se establece por la generación de toxinas que son destruxinas y citocalacinas, tasa de infestación, supervivencia al sistema inmunitario del huésped es donde penetran en el interior del cuerpo del huésped, liberan sustancias que lo digieren y destruyen al huésped (Salazar, 2019).

4.2 Eficacia y rentabilidad de los principales entomopatógenos.

4.2.1 Eficacia

Tabla 6. *Resultados Obtenidos en laboratorio con la eficacia del uso de las Bacterias entomopatógenos para el control de garrapata R. microplus.*

Entomopatógeno	Huésped	Dosis esporas/mL	Estadio	Número Huésped	Tiempo Duración	Mortalidad	Referencia
B. thuringiensis (cepa comercial)	*R. microplus*	$2x10^7$	Ninfa	20	10 días	85%	(Lormendez et al., 2019)
B. thuringiensis (aislado)	*R. microplus*	$5x10^8$	Adulto	15	15 días	93%	(Portela, Chaparro y López, 2013)
B. thuringiensis (aislado)	*R. microplus*	$1,25x10^6$	Adulto	20	10 días	77,08%	(Fernández et al., 2010)
L. sphaericus (aislado)	*R. microplus*	$2x10^6$	Adulto	25	12 días	83%	(Segura et al., 2020)

Fuente: Adaptado de (Lormendez et al., 2019), (Portela, Chaparro y López, 2013), (Fernández et al., 2010) y (Segura et al., 2020).

En estudios realizados a nivel de laboratorio, se señala que el uso de las cepas de *B. thuringiensis* sirven como controladores biológicos de la garrapata *R. microplus*. (Lormendez et al., 2019) menciona que el ensayo realizado en laboratorio se manejó una muestra de 20 individuos, en estadio ninfal, en donde se aplicó una dosis de $2x10^7$ esporas/mL, el tiempo de duración fue 10 días, en la cual se observó una mortalidad del 85% de los individuos. De forma similar (Fernández et al., 2010) utilizó una población de 20 individuos en estadio adulto, la cual se aplicó una dosis $1,25x10^6$ esporas/mL, la duración del tiempo fue 10 días, se generó una mortalidad 77,08% de la población. De igual forma (Portela, Chaparro y López, 2013) manipulo 15 individuos en estadio adulto, aplicando una dosis de $5x10^8$ esporas/mL, el tiempo de duración estuvo 15 días, produciendo una mortalidad 93% del total de los

individuos, en efecto nos demuestra que la dosis con mayor grado de efectividad es $5x10^8$ esporas/mL, que controlando el estado adulto, del mismo modo el tiempo de duración se alarga a 15 días, garantizando un alto grado de mortalidad. La utilización de la cepa *L. sphaericus* en condiciones de laboratorio, se manipulo 25 individuos en estadio adulto, en donde se colocó una dosis $2x10^6$ esporas/mL, la prueba duro 12 días, generando una mortalidad 83% del total de la población, al igual que la dosis más alta el tiempo de duración es un factor importante al momento de control garrapata *R. microplus,* los resultados obtenidos se observa en la Tabla (6).

Tabla 7. *Datos obtenidos de la eficacia de los nematodos entomopatógenos para el control de garrapata R. microplus a nivel de laboratorio.*

Entomopatógeno	Huésped	Dosis Juveniles(IJ)	Estadio	Número Huésped	Tiempo Duración	Mortalidad	Referencia
H. bacteriophora (aislado)	*R. microplus*	200	Larva	15	15 días	80%	(Carvajal 2012)
H. bacteriophora (aislado)	*R. microplus*	2400	Larva	30	20 días	97,7%	(Monteiro et al., 2014)
H. bacteriophora (aislado)	*R. microplus*	300	Adulto	25	10 días	95,6%	(Oliveria et al., 2010)
S. carpocapsae (aislado)	*R. microplus*	250	Larva	20	15 días	90%	(Reis, 2010)
S. carpocapsae (aislado)	*R. microplus*	119	Adulto	20	20 días	85%	(Aquino et al., 2019)

Fuente: Obtenido de (Carvajal 2012), (Monteiro et al., 2014), (Oliveria et al., 2010), (Reis, 2010) y (Aquino et al., 2019).

Así como el manejo de las bacterias y hongos son importantes, el estudio de los nematodos es una alternativa nueva como controladores biológicos de la garrapata *R. microplus,* los resultados obtenidos se dieron en condiciones de laboratorio. (Carvajal, 2012) señalo que la muestra utilizada, fue de 15 individuos en estado larvario, la dosis aplicada de *H. bacteriophora* fue de 200 juveniles(IJ), el tiempo de duración de la muestra fue 15 días, se generó una mortalidad del 80% de los individuos. Del mismo modo (Monteiro et al., 2014) indicó que una población de 30 individuos en estado larvario, se aplicó una dosis de *H. bacteriophora* 2400 juveniles (IJ), el tiempo transcurrido fue de 20 días, llegando alcanzar una mortalidad del 97,7% del total de la población. Así mismo (Oliveira et al., 2010) manipulo una muestra de 25 individuos en estado adulto, colocando una dosis *H. bacteriophora* de 300 juveniles(IJ), aproximadamente duro 10 días, de los cuales se produjo una mortalidad 95,6% de los individuos. En conclusión, se demuestra que la dosis *H. bacteriophora* que lleva mayor concentración de juveniles(IJ) provoca una alta mortalidad de la población de individuos en estado larvario, del mismo modo el tiempo de duración es largo. De igual forma si se utiliza una dosis *H. bacteriophora* baja de juveniles(IJ), produce una baja mortalidad de los individuos, el tiempo transcurrido es alto como se observa en la Tabla (7).

Reis (2010) menciono que las pruebas realizadas se hicieron con una población de 20 individuos en estado larvario, se puede aplicar una dosis *S. carpocapsae* de 250 juveniles(IJ), aproximadamente dura 15 días, en donde llegan alcanzar una mortalidad del 90% de los individuos. Igualmente (Aquino et al., 2019) señalo que la utilización de una muestra de 20 individuos en estado adulto, se aplica una concentración *S. carpocapsae* de 119 juveniles(IJ), el tiempo aproximado es 20 días, generando una mortalidad del 85% de individuos, de igual manera se observa que la dosis alta de *S. carpocapsae* de juveniles(IJ), generan una alta tasa de mortalidad y el tiempo que transcurre es igual mente largo como si se utilizara la cepa de *H. bacteriophora.*

Tabla 8. *Datos obtenidos de la eficacia de B. bassiana en el control de garrapata R. microplus a nivel de laboratorio.*

Entomopatógeno	Huésped	Dosis Conidios/mL	Estadio	Número Huésped	Tiempo Duración	Mortalidad	Referencia
B. bassiana (cepa comercial)	*R. microplus*	2×10^8 2×10^8	Ninfa Adulto	15 15	20 días	54,19% 54,19%	(Salazar, 2019)
B. bassiana (cepa aislada)	*R. microplus*	1×10^8 1×10^8	Larva Ninfa	12 12	10 días	57% 57%	(Valbuena y Álzate, 2010)
B. bassiana (cepa comercial)	*R. microplus*	$1{,}3 \times 10^{12}$	Adulto	10	15 días	67,42%	(Gálvez, Segura y Vázquez, 2017).
B. bassiana (cepa comercial)	*R. microplus*	$2{,}5 \times 10^7$	Adulto	20	15 días	90%	(Tofiño et al., 2017)

Fuente: Obtenido de (Salazar, 2019), (Valbuena y Álzate, 2010), (Gálvez, Segura y Vázquez, 2017) y (Tofiño et al., 2017).

En estudios realizados a nivel de laboratorio, el uso de B. bassiana busca controlar uno de los diferentes estadios de garrapata R. microplus, en efecto se trata de observar la mayor efectividad posible. (Salazar, 2019) señalo que los estudios realizados a una población de 15 individuos en estado ninfa y adulto, se aplicó una dosis de $2x10^8$ conidios/mL, el tiempo de duración fue 20 días, en donde se alcanzó una mortalidad 54,19% de la población de ninfa y adulto. Por esta razón (Valbuena y Álzate, 2010) utilizaron una muestra de 12 individuos en estado larvario y ninfa, se utilizó una dosis de $1x10^8$ conidios/mL, aproximadamente duro 10 días, generando una mortalidad del 57% en larvas y ninfa. De forma similar (Gálvez, Segura y Vázquez, 2017) utilizo una población de 10 individuos en estado adulto, en la cual administro una dosis de $1{,}3x10^{12}$conidios/mL, 15 días duro

aproximadamente, produjo una mortalidad del 67,42% de la población de adulto. De igual manera (Tofiño et al., 2017) manipulo una población de 20 individuos en estado adulto, se aplicó una dosis $2,5x10^7$ conidios/mL, el tiempo de duración fue 15 días, con una mortalidad del 90% de la población adulta. Como resultados de la investigación se determinó que la mayor concentración de conidios/mL, genera una alta tasa de mortalidad controlando el estado adulto, el tiempo de duración es alto, del mismo modo si se utiliza una baja concentración de conidios/mL, produce una baja mortalidad de ninfa y adulto, el tiempo de duración es alto como se aprecia en la Tabla (8).

Tabla 9. *Datos obtenidos de la eficacia M. anisopliae en el control de garrapata R. microplus a nivel de laboratorio.*

Entomopatógeno	Huésped	Dosis Conidios/mL	Estadio	Número Huésped	Tiempo Duración	Mortalidad	Referencia
M. anisopliae (cepa aislada)	*R. microplus*	6,01 x 10^7	Adulto	10	15 días	95%	(Valle, Caicedo y Masapanta, 2020)
M. anisopliae (cepa comercial)	*R. microplus*	1,3 x 10^{12}	Adulto	20	15 días	81,82%	(Gálvez y Segura, 2017)
M. anisopliae (cepa aislada)	*R. microplus*	1 x 10^8 1 x 10^8	Larva Ninfa	22 22	15 días	84% 84%	(Valbuena, 2010)
M. anisopliae (cepa comercial)	*R. microplus*	1 x 10^{12} 1 x 10^{12}	Ninfa Adulto	16 16	15 días	91.2% 91.2%	(Salazar, 2019)

Fuente: Obtenido de (Valle, Caicedo y Masapanta, 2020), (Gálvez y Segura, 2017), (Valbuena, 2010) y (Salazar, 2019).

A continuación, se muestra los resultados obtenidos de *M. anisopliae* en el control de uno de los estados de garrapata *R. microplus* a nivel de laboratorio. Según (Valle, Caicedo y Masapanta, 2020) utilizó una muestra de 10 individuos en estado adulto, donde aplicó una dosis de 6,01x10^7conidios/mL, el tiempo de duración fue 15 días, produciendo una mortalidad 95% de los individuos adultos. De forma similar (Gálvez y Segura, 2017) señalo que una población de 20 individuos en estado adulto, se aplica una dosis 1,3x10^{12} conidios/mL, aproximadamente duro 15 días, generando una mortalidad del 81,82% de los individuos adultos. Del mismo modo (Valbuena, 2010) manejo una población de 22 individuos de estado larva y ninfa, en donde se utilizó una dosis de 1x10^8 conidios/mL, 15 días duro aproximadamente, produciendo una mortalidad del 84% de la población de larva y ninfa. De igual manera (Salazar, 2019) manipuló 16 individuos de estado ninfa y adulto, en la cual se aplicó una dosis de 1x10^{12} conidios/mL, durante 15 días, causando una mortalidad del 91,2% de los individuos ninfa y adulto. Como resultado final una cepa aislada presenta mayor concentración de conidios/mL, conduce una alta tasa de mortalidad, el tiempo trascurrido es corto, si se utiliza una cepa comercial de menor concentración la mortalidad baja y tiempo trascurrido es alto, como se observa en la Tabla (9).

4.2.1 Rentabilidad

A continuación, se muestra la rentabilidad de las Bacterias.

Portela, Chaparra y López (2013) menciono que los gastos económicos para aislar la cepa *de B. thuringiensis* son más bajos, a nivel de laboratorio los estudios realizados, se manejó la mejor concentración 5x10^8 esporas/mL, el tiempo de duración fue 15 días, generando una mortalidad 93% del total de la población. De forma similar la compra de la cepa comercial de *B. thuringiensis* a una concentración de 2x10^7 esporas/mL, el tiempo de infestación es más rápido 10 días, produce una mortalidad del 85%, los ensayos realizados se llevó acabo en laboratorio, los gastos económicos son altos (Lormendez et al., 2019).

Rentabilidad de los nematodos entomopatógenos.

Monteiro et al. (2014) señalo que los aislamientos de los nematodos *H. bacteriophora* se demoran en la obtención de la dosis, los ensayos realizados fueron en laboratorio, la dosis utilizada fue 2400 juveniles(IJ), el tiempo de infestación es alto 20 días, con una mortalidad de 97,7%, los gastos generados son altos.

De la misma forma la rentabilidad de los hongos se aprecia a continuación.

Tofiño et al. (2017) indico que la cepa aislada de *B. bassiana* a una concentración de $2{,}5x10^{7}$ conidios/mL es efectiva, el tiempo de infestación es 15 días aproximadamente, produce una mortalidad del 90%, los gastos generados son bajos. Del mismo modo la utilización de la cepa comercial de *M. anisopliae* a una concentración $1x10^{12}$ conidios/mL, el tiempo de infestación dura 15 días aproximadamente, se generó una mortalidad del 91,2%, los ensayo realizados fueron a nivel de laboratorio en los gastos económicos son altos por la compra de la cepa (Salazar, 2019).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- En conclusión, se determinó que las características morfologías, fisiológicas y patogénicas de las Bacterias, Nematodos y Hongos son importantes al momento de la formulación de la dosis, en donde se evalúa el tipo de toxinas que produce cada uno, tiempo de germinación, color, forma y tamaño de la colonia, las bacterias se caracterizan por formar un cristal paraesporal, los nematodos se caracterizan por vivir en simbiosis con una bacteria ya que se ayudan mutuamente, los hongos se caracterizan por causar la muscaria blanca, se determinó que los entomopatógenos son capaz de sobrevivir a condiciones ambientales por sus características morfológicas, en donde son capaces de controlen la garrapata *R. microplus*.
- La eficacia en el control de garrapata *R. microplus* presento la Bacteria *B. thuringiensis* a mayor concentración de $5x10^8$ y $2x10^7$ esporas/mL, controlando el estado adulto y ninfa, generando una mortalidad 93% y 85% de los individuos. De forma similar los resultados que más destacaron en el uso de los nematodos *H. bacteriophora* fue 2400 juveniles(IJ) que controlo el estado larvario, produciendo una mortalidad del 97,7% de la población. Así como las bacterias y nematodos tienen su dosis letal, los hongos como *B. bassiana* y *M. anisopliae* tienen su concentración letal que fue $2,5x10^7$y $6,01x10^7$ conidios/mL, que controla el estado adulto, generando una mortalidad de 90% y 95% de la población.
- Los gastos generados con el manejo de entomopatógenos como Bacterias y Hongos que controlen la garrapata *R. microplus* son bajos económicamente, ya que se dieron en condiciones de laboratorio, se aislaron la cepa de patógenos, aplicaron a los diferentes estadios de la garrapata *R. microplus*, el tiempo de infestación fue largo.

RECOMENDACIONES

- La utilización de las bacterias y hongos entomopatógenos en programas de manejo de garrapatas *R. microplus*, es una nueva alternativa, el buen funcionamiento dependerá de las condiciones ambientales que se presenten las pruebas de campo, las pruebas de virulencia dependerán de la capacidad de las bacterias y hongos para infectar los diferentes estados de desarrollo de las garrapatas, las condiciones en campo son mucho más variables que las encontradas en laboratorio, esto podría mostrar diferencias representativas en los resultados encontrados en los dos escenarios.

- Este tipo de control reduce de forma significativa la aplicación de acaricidas químicos, suprime el aparecimiento de enfermedades, los animales no se maltratan, el impacto ambiental es minino, el riesgo de adquirir resistencia por parte de la plaga es nulo, de esta forma se desea obtener una mayor rentabilidad en las explotaciones ganaderas.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS

Aquino T, Ruiz J, Ortiz D. Y., Julio C, y Jiménez C (2019). Supervivencia de nematodos entomopatógenos en emulsiones oleosas y efectividad en el control de garrapatas adultas ingurgitadas (Acari: Ixodida). Revista Journal of nematology, 51, dol: 10.21307/jofnem-2019-001.

Avalos, C. A., Vásquez, C. C., Gutiérrez, L. R., Mendoza, V. I., y Sahagún, A. C., (2015). Selección de aislados de hongos entomopatógenos para el control de Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae),18(2),175-180.

Benavides E, Romero J, y Villamil L (2016). Las garrapatas del ganado bovino. Guía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio climático, recuperado de http://repiica.iica.int/docs/B4212e/B4212e.pdf.

Buenrostro, D. G., (2012). Aislamiento y efectividad de *Beauveria bassiana* villemin para el control biológico de la cucaracha urbana *Periplaneta americana L.* Tesis doctoral, Universidad Autónoma De Nuevo León, Chile.

Bustillo, R. (2014). Ecología parasitaria de la garrapata (Acari: Ixodidae) en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador, recuperado de http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6612/1/T-UCE-0014-002.pdf.

Cañizales L, Guedez C, Castillo C, y Olivar R (2015). Caracterización de aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* y su patogenicidad en *Hypothenemus* hampei (coleóptera: curculionidae, scolytinae), Revista Biológica, 14 (34), 31-42.

Calvo P, y Zúñiga D (2010). Caracterización Fisiológica De Cepas De Bacillus spp. Aisladas De La Rizósfera De Papa (*Solanum Tuberosum*), Revista Biológica, 9 (1), 31-39.

Carrera, M. (2010). “Producción De *Bacillus Thuringiensis*, Berliner A Nivel De Laboratorio”. Tesis De Grado, Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Carvajal, E. (2012). “Heterorhabditis indica, una alternativa para el control biológico de Boophilus microplus”, Santa Clara, Tesis de posgrado, Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas, Cuba.

Castillo, E. C., Cañizalez, M. L., Valera, R., Godoy, C. J., Guedez, C., Olivar, R., y Morillo, S. (2012). Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en trujillo-venezuela, XI (23), 1690-3226.

Coello, A. (2015). Caracterización e identificación de garrapatas en bovinos de 3 islas en la provincia de Galápagos. Tesis de grado, Universidad San Francisco De Quito, Quito, Ecuador.

Cortés, A. J., Betancourt, A. J., Cárdenas, A. J., y Pulido, A. L. (2010). Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus)microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia). Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu,11(1), 73-84.

Cubillo G, y Lara Y (2016). Potencialidad y Retos del Uso de Nematodos Entomopatógenos para el Control Biológico de Plagas. I: Control biológico mediante una asociación simbiótica NEP-Bacteria. Revista Invurnus, 11 (1), 27-36.

Delgado, J. (2011). "Aislamiento Y Caracterización De Cepas De *Bacillus Thuringiensis* Con Actividad Mosquitocida Nativas En Oaxaca". Tesis De Posgrado, Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario De Investigación Para El Desarrollo Integral Regional Ipn- Ciidir- Oaxaca, Oaxaca, México.

Díaz, F. (2015). "Identificación Taxonómica De Garrapatas En Ganado Bovino De La Parroquia La Matriz Del Cantón Patate". Tesis de grado, Universidad Técnica De Ambato, Cevallos, Ecuador.

Echavarría, C. (2013). Desarrollo de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. En Medios Líquidos Para Control Del "Picudo De La Yema Del Manzano" De Arteaga, Coahuila. México. Tesis de grado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México.

Falconi F, Flores A y Castellanos P (2010). Letalidad de hongos entomopatógenos sobre Dysdercus peruvianus (Hemiptero: pirrhocoridae). Revista Peruana de Biología, 17 (2), 1727-9933.

Fernández M, Peña G, Martínez R, Romo A, Hernández V, Bravo A y Pérez D (2010). Evaluación de la patogenicidad de Bacillus thuringiensis para una cepa de la garrapata, Rhipicephalus microplus, Resistente a pesticidas químicos. Revista Journal of Insect Science, 10 (186), 1-6.

Gálvez, B. A., Segura, P. R., y Vázquez G. A. (2017). Control biológico de *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* con hongos entomopatógenos. Revista Iberoamericana de las ciencias biológicas y agropecuarias, 6 (12), dol: 10.23913/ciba. v6i12.68.

Garzón, D. J., Andrade, R. D., Lozano, C. L., y Vanegas P. S. (2017). Caracterización fisiológica y genética de cepas nativas de Bacillus sphaericus, Revista Biotecnología, 4 (1), 18-10.

Gerónimo, C. J., Cruz, T. M., Cruz, P. M., Ortiz, F. C., y García C. S. (2016). Caracterización de aislamientos nativos de Beauveria bassiana y su patogenicidad hacia Hypothenemus hampei, en Tabasco, México, Revista Entomológica, 42 (1), 28-35.

González, D. (2012). Evaluación De La Efectividad De Cuatro Ingredientes Activos Sobre El Control De Garrapatas (Género: Ixodes) En Ganado Bovino, Tesis de posgrado, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín, Colombia.

Guedez C, Castillo C, Cañizales L, y Olivar R (2010). CONTROL BIOLÓGICO: UNA HERRAMIENTA PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE Y SOSTENIBLE. Revista Control Biológico, 7 (13), 1690-3228.

Ramírez, P. (2017). "Identificación de nuevos antígenos con potencial inmunoprotector en tejidos de intestino y ovario de la garrapata del ganado *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*, a través de un enfoque inmunoproteómico", Tesis doctoral, Centro De Investigación Y Asistencia En Tecnología Y Diseño Del Estado De Jalisco, Guadalajara, México.

López, L. J., Duarte, J. H. (2010). Estudio Epidemiológico de la prevalencia e identificación de garrapatas en el ganado bovino del Municipio de San Pedro de Lovago– Chontales. Tesis de posgrado, Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.

Lormendez, C. C., Fernández M, Adames M, Hernández, M. V., Zúñiga F, Flores G, Lina L, y Peña G (2019). Mass production of a S-layer protein of Bacillus thuringiensis and its toxicity to the cattle tick Rhipicephalus microplus, Revista scientific reports, 6, obtenido de https://doi.org/10.1038/s41598-019-53854-3.

Martínez, L. (2010). *Desarrollo De Un Prototipo De Formulación Con Hongos Entomopatógenos Para El Manejo De Demotispa Neivai Bondar (Coleoptera: Chrysomelidae).* Maestría En Ciencias Agrarias, Bogotá, Colombia.

Medina, R. (2013). "*Evaluación De Resistencia A Ixodicidas Y Efectividad De La Vacuna Bm86 En El Grado De Infestación Por Garrapata Boophilus Sp. En Las Razas De Ganado Bovino Charoláis, Simmental, Brangus Negro Y Comercial",* Tesis de maestría, México.

Mejía, M. G., Menjivar, G. A., y Nuñes, G. E. (2010). Evaluación de hongos entomopatógenos como biocontroladores de Bactericera (Paratrioza)cockerelli (Homóptera: Psyllidae: Triozinae) en papa (*Solanum tuberosum*) a nivel de laboratorio, Tesis de grado, El salvador.

Monteiro C, Coelho L, Ferrería, G. L., Fernández, K. E., Dolinski C, Furlong J, y Azevedo, C. M. (2014). Efficacy of entomopathogenic nematodes in insect cadaver formulation against engorged females of Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae) insemi-field conditions. Revista Elzevir, 11 (6), 101313.

Muños, E. L., y Casanueva, E. M. (2011). Estado Actual Del Conocimiento De Las Garrapatas (Acari: Ixodida) Asociadas A Canis Familiaris L. Scielo, 65(2), 0717-6538.

Guillén, X. N., y Muñoz, E. L. (2013). Estudio Taxonómico A Nivel De Género De Garrapatas En Ganado Bovino En La Parroquia Alluriquín-Santo Domingo De Los Tsáchilas", Tesis de grado, Universidad De La Fuerzas Armadas, Santo Domingo, Ecuador.

Nitelet, A. B., y Vallejos, D. J. (2011). Diversidad de los géneros y especies de garrapatas en animales domésticos (bovinos, equinos y caninos.) de las zonas rurales del municipio de Ciudad Darío, Matagalpa, Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua León, Nicaragua.

Noboa, P. G., y Quelal, D. A. (2015). Diseño E Implementación De Un Protocolo Para Mejorar La Producción Y Conservación De *Beauveria bassiana* y *Trichoderma Harzianum* COMO Aporte A Los Productores De Café Orgánico De La asociación "Río Intag", Cantón Cotacachi, Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.

Obando, A. J., Bustillo, E. A., Castro U, y Mesa, C. N. (2013). Selección de cepas de Metarhizium anisopliae para el control de Aeneolamia varia (Hemíptera: Cercopidae), Revista Entomología, 39 (1), 26-33.

Onco, M. (2012). Estudio De La Toxicidad De Proteínas Insecticidas De Bacillus Thuringiensis Como Herramienta Para Optimizar El Manejo De Lepidóptero Plaga De Importancia Agroeconómica. Tesis doctoral, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuario (INTA), Buenos Aires, Argentina.

Oliveira, M. C., Araujo, X. L., Matos, S. R., Golo, S. P., Souza, M. W., Coelho, A. C., Furlong J, y Azevedo, C. M. (2013). Association between entomopathogenic nematodes and fungi for control of Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae). Revista Springer, 11 (5), dol: 10.1007/s00436-013-3552-7.

Polanco, N. D., y Ríos, A. L. (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. Corpolca Cienc Tecnol Agropecuario,17(1), 81-95.

Portela, D. D., Chaparro A, y López, A. S. (2013). La biotecnología de Bacillus thuringiensis en la agricultura, Revista Ciencias Biomédicas, 11, 1794-2470.

Reis M, Prata C, Furlong J, y Silva E (2010). Compatibility between the entomopathogenic nematode Steinernema glaseri (Rhabditida: Steinernematidae) and an acaricide in the control of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae). Revista Parasitol Res, 10, dol: 0.1007/s00436-008-1147-5.

Rivera, P. A., Cuadros, O. M., Claros, P. B., Perdomo, C. S., y Moya, C. D. (2018). Efectividad de Beauveria bassiana (Baubassil) sobre la garrapata común del ganado bovino Rhipicephalus microplus en el Departamento de la Guajira, Colombia. Argent Microbial, 50(4), 426-430.

Rodríguez, G. M., Hernández D, y Gómez L (2012). Nematodos entomopatógenos: elementos del desarrollo histórico y retos para su consolidación como

biorreguladores en la agricultura en Cuba. Revista Protección Vegetal, 27 (3), 1010-2752.

Rodríguez, I. R., Rosado, A. J., Ojeda, M. M., Pérez, C. L., Martínez, T. I., y Bolio, E. M. (2014). Control Integrado De Garrapatas En La Ganadería Bovina. Red, 1(3), 295-308.

Rodríguez, R. R., y Ríos, M. N. (2012). Identificación Y Prevalencia De Garrapatas En El Ganado Bovino En Del Municipio El Rama, Tesis de grado, La rama, Nicaragua.

Sauka, D. H., y Benintende, G. B. (2012). *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un Acercamiento A Su Empleo En El Biocontrol De Insectos Lepidópteros Que Son Plagas Agrícolas. Revista Argentina de Microbiología, 40 (2), 124-140.

Salazar, D. (2019). “Evaluación in vitro de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) y *Beauveria bassiana* (Balls) sobre garrapatas (Acari: Ixodidae) que parasitan el ganado vacuno, en el Chaco, Ecuador”. Tesis de pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolquí, Ecuador.

Segura, J. A., Isaza, J. P., Botero, L. E., Álzate, J. F., Y Gutiérrez, L. A. (2020). Assessment of bacterial diversity of Rhipicephalus microplus ticks from two livestock agroecosystems in Antioquia, Colombia, Revista Plos one, 15 (7), 0234005.

Solís, B. (2010). Obtención de aislados de *Bacillus thuringiensis* berliner autóctonos de cuba, Revista Fitopatógenica, 13(2).

Tofiño, P. A., Cuadros. O. M., Pedraza, C. B., Perdomo, C. S., y Moya, C. D. (2017). Efectividad de Beauveria bassiana (Bassi) sobre la garrapata común del ganado bovino Rhipicephalus microplus en el departamento de la Guajira, Colombia. Revista Argentina de Microbiología, 3 (5), 0325-7541.

Torres C, y Hernández J (2015). Control Biológico De Ácaros Plaga A Través De Bacillus Thuringiensis, Revista Control biológico de ácaros plaga a través de Bacillus thuringiensis, 5, 58-73.

Vázquez, J. (2018). *Beauveria bassiana*: características, morfología, ciclo de vida. lifeder.com, Recuperado: https://www.lifeder.com/beauveria-bassiana/.

Valle S, Caicedo W y Masapanta L (2020). Eficacia de un aislamiento nativo de Metarhizium anisopliae (TI6301) para el control de garrapatas (Rhipicephalus microplus) adultas en condiciones in vitro. Livestock Research for Rural Development, 32 (114), obtenido de htt:/www.lrrd.org/lrrd32/7/orlan32114.html.

Valbuena, C. D., y Álzate, J. C. (2010). Evaluación de la patogenicidad de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bassi) y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) en el control de la garrapata del ganado *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) en su fase parasítica en los estados larval y ninfal. Tesis de pregrado, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Vázquez A. (2010). Detección, Identificación y Distribución Natural de Nemátodos Entomopatógenos (Heterorhabditidae y Steinernematidae) en Sistemas Agroecológicos de Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.