

**DETERMINACION DE LA DOSIS OPTIMA DE (*Beauveria bassiana* y
Lecanicillium lecanii) PARA EL CONTROL BIOLOGICO DE
GARRAPATA, EN GANADO VACUNO**

**Piero Cristóbal Fajardo Navarrete¹, Fabricio Enrique Alcívar Intriago¹,
Jhonny Manuel Navarrete Álava¹**

**Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Manuel Félix
López, Campus el Limón, Calceta Manabí ¹.**

picrifana4@gmail.com

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Área Agropecuaria de la ESPAM-MFL, tuvo como objetivo general, determinar la dosis optima de *Beauveria bassiana* (*Bb*) y *Lecanicillium lecanii* (*LI*) para el control de las garrapatas *Boophilus microplus*, del ganado vacuno a nivel *in vitro*: Se utilizó un DCA factorial A x B y se evaluaron cepas comerciales de *B. bassiana* y *L. lecanii* con concentraciones de $3 \cdot 10^9$ UFC/g. Se realizaron 8 tratamientos: T1= 0,0 mg *Bb*/L; T2= 0,5 g *Bb*/L; T3= 1 g *Bb*/L; T4= 1,5 g *Bb*/L; T5= 0,0 g *LI*/L; T6= 0,5 g *LI*/L; T7= 1 g *LI*/L; T8= 1,5 g *LI*/L; con 9 réplicas. Obteniendo los mejores resultados con el T3 y T7, con un promedio de 81,0 de eficiencia para *B. bassiana* y de 74,2 para *L. lecanii*, con un 90% de eficiencia. Con estos resultados se procedió a realizar el trabajo *in vivo*. Se seleccionaron 20 vacas de ordeño en el hato bovino de la ESPAM MFL con alto índice de infestación en el mes de Diciembre porque en este tiempo el ectoparásito está en su pico poblacional, se utilizó una bomba de mochila de 20 litros con la dosis optima del (T3) *Bb* y (T7) *LI* y se asperjo por todo el animal, las aplicaciones se realizaron desde el día 0 hasta el día 21 con 4 aspersiones. En la evaluación se determino que a partir del día 17 el animal estaba completamente limpio de garrapatas, permaneciendo así por un periodo de 90 días.

Palabras clave: *Beauveria*, *Lecanicillium*, *in vitro*, vacas y garrapatas.

INTRODUCCION

En las regiones tropicales y subtropicales del mundo las garrapatas son uno de los principales ectoparásitos que causan pérdidas económicas en la ganadería bovina. Específicamente *Boophilus microplus* causa daños directos debido a la acción de las picaduras (Buczek y Bartozic, 2006) y daños indirectos ocasionados por la transmisión de tres agentes etiológicos: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* (Jonsson *et al.*, 2008).

Los problema detectados en el monitoreo previo a la realización de este trabajo de investigación, fue que los controles fitosanitarios de garrapatas por lo general, ha sido orientado a la utilización de compuestos químicos (garrapaticidas) aplicados mediante aspersion y aplicación tópica sobre el dorso del animal, usando los mismos compuestos químicos, sin rotación de productos y en dosis excesivas provocando el aumento progresivo de casos de resistencia múltiples en las garrapatas y la posibilidad de crear un desequilibrio ecológico, contaminación de suelos, aguas y una mayor presencia de residuos químicos en la carne y la leche que causan problemas futuros en la salud de los trabajadores y el consumidor final (Fajardo Navarrete, 2012).

Los métodos de control de las garrapatas se clasifican en químicos y no químicos. El método de control de *R. microplus* más utilizado es el uso de ixodicidas, entre los que se encuentran las familias de los organofosforados (OF), piretroides sintéticos (PS), amidinas (Am), fenilpirazolonas (FP) y lactonas macrocíclicas (LM) (Alonso Díaz, 2006). Sin embargo, con el tiempo, el uso irracional de estos compuestos han generado resistencia; además existe la creciente demanda del consumidor por preferir alimentos libres de químicos.

Diferentes organismos vivos como las hormigas, bacterias, nematodos y hongos entomopatógenos, han demostrado ser eficaces en el control de ectoparásitos de importancia veterinaria. (Samish *et al.*, 2004). Por su distribución cosmopolita y alta patogenicidad, el hongo *Metarhizium anisopliae* Metch.) Sor. (Hypocreales: Clavicipitaceae) ha demostrado ser uno de los

hongos entomopatógenos más eficientes para la bio-regulación de *B. microplus* en condiciones *in vitro* e *in vivo*. (Ojeda Chi, 2010).

OBJETIVOS PLANTEADOS

- Determinar la dosis optima de *B. bassiana* y *L. lecanii* para el control de las garrapatas *B. microplus*, del ganado vacuno a nivel *in vitro*.
- Evaluar la dosis optima determinada *in vitro* de *B. bassiana* y *L. lecanii* *in vivo* en el Hato Bovino de la ESPAM-MFL.

SITUACION ACTUAL DEL PROBLEMA

La utilización de garrapaticidas químicos en el bañado del ganado vacuno, a base de piretroides, carbamatos y organofosforados, en el cantón Bolívar causan un alto grado de contaminación en la fauna, suelo y recursos hídricos así como un riesgo para la salud de las personas que aplican estos productos.

Al parecer pocas o nulas son las investigaciones que se han establecido en Ecuador en cuanto al manejo biológico de las garrapatas en el ganado vacuno, lo cual mejoraría las condiciones ecológicas del ambiente. El uso de garrapaticidas químicos particularmente en el área productora del cantón Bolívar es frecuente y los ectoparásitos cada vez se hacen más resistentes a los plaguicidas que a su vez bloquean el desarrollo de muchos entomopatógenos naturales como *B. bassiana* y *L. lecanii* que en determinadas condiciones disminuyen las poblaciones de garrapatas.

MATERIALES Y METODOS

UBICACIÓN

La presente investigación consto de dos fases: la primera (*in vitro*) se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Área Agropecuaria y la segunda (*in vivo*) en

el Hato Bovino de la ESPAM-MFL.

MÉTODOS

El presente trabajo de investigación consta de dos fases: Fase in vitro y Fase in vivo:

PRIMERA FASE *IN VITRO*

El método exploratorio descriptivo, se fundamentó en la recolección de datos (toma de muestras de garrapatas *B. microplus* en los potreros) esto se logró mediante recorridos en las poblaciones: Calceta, Quiroga, La Pita y el Guabal, luego preparación de muestras para el proceso de incubación con los hongos entomopatógenos, como se manifiesta en la preparación de tratamientos y conteo de garrapatas muertas a los 6 días, luego de la incubación en el Laboratorio de Microbiología Área Agropecuaria de la ESPAM MFL – Calceta.

FACTORES EN ESTUDIO

$$\text{Factor A (Cepas del hongo)} \begin{cases} a_0 = B. bassiana \\ a_1 = L. lecanii \end{cases}$$

$$\text{Factor B (Dosis)} \begin{cases} b_0 = 0,0 \text{ g/L agua} \\ b_1 = 0,5 \text{ g/L agua} \\ b_2 = 1,0 \text{ g/L agua} \\ b_3 = 1,5 \text{ g/L agua} \end{cases}$$

PREPARACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

La conformación de los tratamientos está dada por la interacción entre el factor A por el factor B, quedando expresados de la siguiente manera:

T1	Bb – 0,0 g/L
T2	Bb – 0,5 g/L
T3	Bb – 1,0 g/L
T4	Bb – 1,5 g/L
T5	LI– 0,0 g/L
T6	LI – 0,5 g/L
T7	LI – 1,0 g/L
T8	LI – 1,5 g/L

VARIABLE INDEPENDIENTE

Cepas de los hongos evaluados

VARIABLE DEPENDIENTE

Garrapatas muertas por efecto de la dosis de los microorganismos.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y un testigo para cada hongo en estudio, quedarían un total de 8 y nueve repeticiones. La variable a estudiar en la primera fase fue la dosis óptima de los microorganismos en estudio a nivel *in vitro* en el Laboratorio de Microbiología del Área Agropecuaria y en la segunda fase se evaluó la dosis que obtuvo el mejor promedio a nivel *in vitro* a nivel *in vivo*, en el Hato Bovino de la ESPAM MFL.

Las observaciones fueron analizadas a través de un análisis de varianza (ANOVA), se aplicó la prueba de Tukey para comparaciones múltiples al 5%, utilizando el paquete estadístico InfoStat versión 2014.

SEGUNDA FASE *IN VIVO*

Con los resultados obtenidos de la primera fase se procedió a realizar la segunda fase:

- Una vez obtenida la mejor dosis se realizó la prueba de campo en el hato bovino perteneciente a la ESPAM-MFL, bajo condiciones agroclimáticas favorables (27 a 32 °C) y HR 80 – 95 %
- Este ensayo se lo realizo en el mes de diciembre, cuando la población de la garrapata está en su pico más alto.
- Se seleccionaron 20 vacas de ordeño con alto índice de infestación.
- Se utilizó una bomba de mochila/20L.
- Se llenó la bomba con agua y se diluyeron 20 g de producto con esporas *B. bassiana* y 20 g de producto con esporas de *L. lecanii*. Equivalente a 1 gramo de producto por litro de agua para cada microorganismo.

Con esta solución de esporas se procedió a asperjar el ganado seleccionado con un alto índice de ectoparásitos, partiendo del día 0 hasta el día 21 con aspersiones cada 7 días y un total de 4 aspersiones

VARIABLE EN ESTUDIO

A los cuantos días el ganado quedo libre de garrapatas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS DE LA PRIMERA FASE.

Cuadro 1. Separación de medias Factor A mediante test de Tukey al 5%.

FUENTE DE VARIACIÓN		PROMEDIO	SEPARACIÓN MEDIAS
Factor A (Cepas hongos)	<i>B. bassiana</i>	81,00	a
	<i>L. lecanii</i>	74,20	b

^{ab} Letras distintas en la columna difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

En el **cuadro 1** se presentan los resultados del análisis del comportamiento de las cepas de hongos en estudio y la eficiencia de cada una de ellas parasitando a la garrapata *B. microplus*, mostrándose la cepa con mayor promedio la de *B. bassiana*, con 81,00 y categorizada con la letra **a** y con el menor promedio la cepa de *L. lecanii* con 74,20 categorizada con la letra **b**.

Cuadro 2. Separación de medias Factor B mediante test de Tukey al 5%.

FUENTE DE VARIACIÓN		PROMEDIO	SEPARACIÓN MEDIAS
Factor B (Dosis empleada g/L agua)	0,0	40,49	c
	0,5	68,78	b
	1,0	77,59	a
	1,5	76,10	a

^{ab} Letras distintas en la columna difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

En el **cuadro 2** que corresponde al factor B (Dosis empleada), el mejor promedio se obtuvo con las dosis de 1,0 g/L equivalente al 77,59 categorizado con la letra **a** seguido por la dosis de 1,5 g/L con un promedio de 76,10 categorizado con la letra **a**, no hubo diferencia estadística, mientras que a la dosis 0,5 g/L, categorizado con la letra **b**, siendo el menor promedio la dosis de 0,0 categorizado con la letra **c**.

Cuadro 3. Separación de medias Factor A x B mediante test de Tukey al 5%.

FUENTE DE VARIACIÓN		PROMEDIO	SEPARACIÓN MEDIAS	
Interacción A x B (Cepas Hongos vs. Dosis)	T1	Bb – 0,0 g/L	39,2	e
	T2	Bb – 0,5 g/L	73,6	bc
	T3	Bb – 1 g/L	81,0	a
	T4	Bb – 1,5 g/L	80,1	ab
	T5	LI– 0,0 g/L	41,8	e

	T6	LI – 0,5 g/L	63,9	d
	T7	LI – 1 g/L	74,2	abc
	T8	LI – 1,5 g/L	72,1	a

^{ab} Letras distintas en la columna difieren estadísticamente al 5% (Tukey)

En el **cuadro 3** muestra que las mejores interacciones Cepas vs. Dosis corresponden a: Bb – 1,0 (*B. baussiana* – 1g/L agua) con un promedio de 81,0 y LI – 1,5 (*L. lecanii* – 1 g/L agua) con promedio de 74,2 ambos signados con la letra **a**. Determinando que la mejor dosis fue 1g/L para los dos microorganismos en estudio.

En un estudio similar realizado en México donde evaluaron cuatro cepas de *M. anisopliae* Ma-M14J9, Ma-M26J1, Ma-M12J15, Ma-M1J15 y una de *B. bassiana* Bb-M5J5 resultaron altamente infectivas para *R. (B.) microplus* triple resistente alcanzando un control sobre el potencial reproductivo de 90 % en concentraciones menores a 37×10^6 de conidios/ml (Fernández, 2010)

(Correia *et. al*, 1994), encontraron que el hongo *M. anisopliae* presentó mayor patogenicidad a las partenoginas de *B. microplus* a medida que aumentaba la concentración del biopreparado.

RESULTADOS DE LA SEGUNDA FASE.

Con una evaluación macroscópica realizada por los vaqueros del Hato bovino de la ESPAM MFL, se determinó que a partir del día 17 el animal estaba completamente limpio de garrapatas, permaneciendo así por un periodo de 90 días con una eficacia del 90%, con estos resultados obtenidos en campo se corroboran los resultados obtenidos *in vitro*, demostrando que la combinación de hongos entomopatógenos (*B. bassiana* y *L. lecanii*) tienen un alto grado de eficiencia en el control de ectoparásitos en bovinos, rompiendo el ciclo de vida de la garrapata y por esta razón su efecto en el tiempo.

En otros ensayos de campo realizados, se logró reducir la infestación de garrapatas en un 75% en vacas Holstein x Cebú, cuando se aplicó M.

anisopliae 137bm a una concentración de 1×10^8 conidios/ml. Además, se observó que la fecundidad de las garrapatas provenientes de vacas tratadas con *M. anisopliae* fue tres veces inferior que las del grupo control. En estudios realizados en Colombia con la cepa de *M. anisopliae* 137bm aplicada en la pradera a una concentración de 5×10^{12} conidios/ha, causó una disminución en la población de larvas en cerca del 86% una semana después de una aspersión con conidios de *M. anisopliae*. (Elkin López et al, 2009)

CONCLUSIONES

Los hongos entomopatógenos son una excelente alternativa para el control de ectoparásitos en ganado vacuno, eficiente, sostenible y amigable con el ambiente, evitando los problemas de resistencia, provocado por el uso irracional de productos químicos con alta persistencia que contaminan el ambiente y nos están enfermando.

BIBLIOGRAFÍA

Alonso, D., Rodríguez, V., Fragoso, S. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch Med Vet; 38:105-113.

Buczek, A., Bartosik, K. (2006). [Tick-host interactions]. Przegląd Epidemiologiczny. 1:28-33.

Correia, A., Do B., Monteiro, A., y Fiorion, A., (1994). Efeito de quatro concentrações do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre o garrapata de bovinos *Boophilus microplus*, em condições de laboratório. In SICONBIOL, 4, Gramado, RS. Anais. Gramado p. 98.

Elkin, L., Gustavo L., Sergio O. (2009). Control de la garrapata *Boophilus microplus* con *Metarhizium anisopliae*, estudios de laboratorio y campo. Revista Colombiana de Entomología 35 (1): 42-46

Ojeda-Chi M.M., Rodriguez R., Galindo E., Lezama R. (2010). Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for

the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. Vet Parasitol. 170: 348-354

Jonsson, N., Bock, R., Jorgensen, W. (2008). Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. Veterinary Parasitology. 155:1-9.

Fernández, M., Berlanga, A., Vázquez, C., Hernández, V. (2010). Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la inhibición de oviposición, eclosión y potencial reproductivo en una cepa triple resistente de garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). Entomotropical. Vol. 25(3): 109-115.

Samish, M., Ginsberg, H., Glazer, I. (2004). Biological control of ticks. Parasitol; 129: S389-S403