



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Efecto *in vitro* de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus*
(Diptera: Hippoboscidae)

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO REQUISITO
PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO VETERINARIO

AUTOR:

Johanna Lisette Córdova Córdova

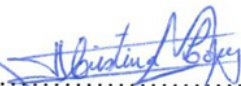
TUTOR:

BQF. Cristina López

CEVALLOS, 2024

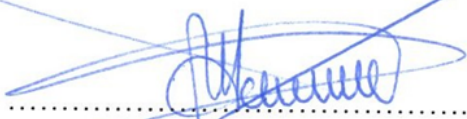
**Efecto *in vitro* de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus*
(Diptera: Hippoboscidae)**

REVISADO POR:


.....

TUTOR:

BQF. ISABEL CRISTINA LÓPEZ VILLACIS


.....

Ing. Oscar Patricio Núñez Torres PhD

08/08/24
.....

Miembro del Tribunal de Calificación


.....

Ing. Vásquez Freitez Carlos Luis PhD

Miembro del Tribunal de Calificación


.....

Dr. Almeida Secaira Roberto Ismael

Miembro del Tribunal de Calificación

08/08/24
.....

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, **JOHANNA LISSETTE CÓRDOVA CÓRDOVA**, portador de cédula de ciudadanía número: 1804871901, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “**Efecto in vitro de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus* (Diptera: Hippoboscidae)**” es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



JOHANNA LISSETTE CÓRDOVA CÓRDOVA

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**Efecto in vitro de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus* (Diptera: Hippoboscidae)**” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



JOHANNA LISSETTE CÓRDOVA CÓRDOVA

DEDICATORIA

A Dios y a mi invaluable familia, Esposo, Amigos de todo corazón muchas gracias por todo su Apoyo.

Con Mucho Cariño

Johanna Córdova

AGRADECIMIENTO

A Dios por nunca abandonarme por siempre ser mi soporte y el sostén durante los momentos más difíciles que he pasado para nunca rendirme.

A mis queridos padres Juan y Beatriz gracias por todo el apoyo incondicional que me supieron brindar en todo lo que estuvo a su alcance a mis hermanos Diego y Maricela en especial a ti Diego que eres como mi segundo padre ya que con tu ejemplo, enseñanzas, apoyo y consejos me has sabido guiar por el camino correcto a mis sobrinos Tadeo, Matías, Juandi y a ti mi princesa Danita mi primera sobrina que desde muy pequeña me enseñaste a nunca rendirme a mis cuñados Javier, Diana, David, Daniel gracias por todo el apoyo que me supieron brindar.

Y como no agradecer a mi Esposo Christian que há sido mi pilar fundamental desde que inicié mi carrera este título también te pertenece Amor, gracias por nunca soltar mi mano gracias por ser mi inspiración para culminar mi carrera y superar todos los inconvenientes que se me presentaron.

Al Doctor PhD.Carlos Vásquez y a mi Tutora BQF.Cristina Lopez por la guía, la paciencia y la ayuda brindada que me permitió culminar con éxito mi Trabajo de Titulación Dios le pague por todo su Apoyo.

ÍNDICE GENERAL

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN	i
DERECHO DE AUTOR.....	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO.....	3
1.2. Categorías fundamentales	5
1.2.1. La familia Hippoboscidae y Melophagus ovinus	5
1.2.2. El hongo <i>Beauveria bassiana</i> como alternativa de control biológico	6
1.2.3. El uso de hongos entomopatógenos en el control de plagas y parásitos.....	7
1.2.4. El proceso de patogénesis y toxicidad de <i>Beauveria bassiana</i>	8
1.3. Objetivos	10
Objetivo general:	10
Objetivos específicos:	10
CAPÍTULO II.....	11
METODOLOGÍA.....	11
2.1. Ubicación del estudio.....	11
2.2. Tipo de investigación.....	11
2.3. Equipos y materiales	11
2.4. Factores de Estudio:.....	11
2.5. Tratamientos.....	12
2.6. Manejo del experimento.....	12
5.1.1. Recolección	12
5.1.2. Identificación de <i>M. ovinus</i>	12
5.1.3. Prueba de efectividad in vitro de <i>B. bassiana</i> sobre <i>M. ovinus</i>	12
2.7. Hipótesis.....	14

2.8. Variables respuesta	14
2.9. Análisis de los datos.....	14
CAPÍTULO III	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
3.1. Mortalidad causada por diferentes concentraciones de suspensiones de <i>B. bassiana</i> en hembras adultas de <i>M. ovinus</i>	15
3.2. Dosis letal media (DL ₅₀) de las aplicaciones de <i>B. bassiana</i> para el control de <i>M. ovinus</i>	19
CAPÍTULO IV	24
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	24
4.1. CONCLUSIONES	24
4.2. RECOMENDACIONES	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ANEXOS.....	32
Análisis estadístico de mortalidad	32
a. ANOVA.....	32
b. Prueba de Medias	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Estimaciones de los parámetros de la ecuación por análisis Probit para las diferentes concentraciones de B. bassiana usadas en el control de M. ovinus.....</i>	19
Tabla 2. <i>Pruebas de bondad de ajuste de Chi-cuadrado</i>	20
Tabla 3. <i>Valores observados y esperados de mortalidad por efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de B. bassiana usadas en el control de M. ovinus.....</i>	20
Tabla 4. <i>Cálculo de los límites de confianza en la estimación de la DL_{50}.....</i>	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de la invasión del hongo *Beauveria bassiana* en el insecto hospedero. AMP, péptidos antimicrobianos; PPO, polifenol oxidasa; MCL1, secuencia de leucemia de células mieloides, una proteína antiapoptótica; SOD, superóxido dismutasa; ROS, especies reactivas de oxígeno; Hsp25, factor de choque térmico 25. Las sustancias mencionadas en la parte inferior derecha de la figura inhiben el sistema inmunológico. Las flechas roja y azul representan las respuestas de inhibición directa e indirecta, respectivamente.....9

RESUMEN

Melophagus ovinus es un ectoparásito de ovejas que produce pérdida de peso, anemia y reducción del crecimiento de la lana, provocando un impacto económico por reducción en la producción de carne, leche y lana de las ovejas, además de daños causados por la transmisión de patógenos zoonóticos, por lo que se requieren medidas de control permanentes. En la presente investigación se evaluó el efecto *in vitro* de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus*. Para ello, se probó el efecto de cuatro dosis del bioplaguicida (T1= $1,0 \times 10^5$ esporas/ml; T2= $1,0 \times 10^6$ esporas/ml; T3= $1,0 \times 10^7$ esporas/ml; T4= $1,0 \times 10^8$ esporas/ml, y se usó agua destilada como testigo) sobre el porcentaje de mortalidad de hembras adultas de *M. ovinus*. Por otra parte, se calculó la DL_{50} mediante análisis Probit. Se observó efecto de las concentraciones de *B. bassiana* sobre la mortalidad de *M. ovinus*. En general, la tasa de mortalidad fue dependiente de la concentración de *B. bassiana*, alcanzándose un 55.56% a las 120 h después de la aplicación de la dosis más alta, lo cual fue 50% superior a la mortalidad observada con la dosis menor y 90% superior al tratamiento testigo. Una tendencia similar fue observada en la segunda y tercera evaluación. El análisis Probit, mostró un valor de DL_{50} de 1.47×10^5 conidios/ml, además los valores de DL_{90} y DL_{95} fueron 6.7×10^6 y 3.8×10^7 conidios/ml, respectivamente, con lo que se esperaría la muerte del 90 y 95% de la población en estudio bajo condiciones *in vitro*. De acuerdo con los resultados, la aplicación tópica de suspensiones de *B. bassiana* podría constituir una alternativa de control de *M. ovinus*, sin embargo, se requiere hacer evaluaciones de aplicaciones *in vivo* de modo de determinar su efecto sobre las ovejas.

Palabras clave: Biocontrol, alternativas sustentables, control de ectoparásitos

ABSTRACT

Melophagus ovinus is an ectoparasite of sheep able to cause weight loss, anemia, and reduced wool growth, leading to an economic impact due to reduced production of meat, milk, and wool from sheep, as well as damage caused by the transmission of zoonotic pathogens, thus requiring permanent control measures. In this research, *in vitro* effect of *Beauveria bassiana* on the control of *Melophagus ovinus* was evaluated. For this purpose, the effect of four doses of the biopesticide (T1 = 1.0×10^5 spores/ml; T2 = 1.0×10^6 spores/ml; T3 = 1.0×10^7 spores/ml; T4 = 1.0×10^8 spores/ml, and distilled water was used as control) was tested on the mortality rate of adult female *M. ovinus*. Additionally, LD₅₀ was calculated using Probit analysis. Concentrations of *B. bassiana* affected the mortality rate in *M. ovinus*. In general, the mortality rate was dependent on the concentration of *B. bassiana*, reaching 55.56% at 120 hours after applying the highest dose, which was 50% higher than the mortality observed with the lowest dose and 90% higher than the control treatment. A similar trend was observed in the second and third evaluations. Probit analysis showed an LD₅₀ value of 1.47×10^5 conidia/ml, while the LD₉₀ and LD₉₅ values were 6.7×10^6 and 3.8×10^7 conidia/ml, respectively, which it would be expected to result in 90% and 95% mortality of the study population under *in vitro* conditions. According to the results, topic application of *B. bassiana* suspensions could be a potential alternative for controlling *M. ovinus*; however, *in vivo* evaluations are required to determine its effect on sheep.

Keywords: Biocontrol, sustainable alternatives, ectoparasite control

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La familia Hippoboscidae son dípteros ectoparásitos permanentes, obligados, que se alimentan de sangre de aves o mamíferos y cuyas hembras retienen los huevos y una vez formadas las larvas estas salen al exterior del cuerpo de la hembra y forma la pupa inmediatamente (Hutson, 1984).

Estas moscas presentan un aparato bucal similar al de las moscas de la familia Glossinidae, con los que están muy relacionados, los cuales tienen una proboscis perforante provista de un área sensorial en el extremo que les permite detectar el lugar más apropiado de alimentación, rodeada de dos palpos maxilares esclerotizados y está dotada de elementos cortantes que le permiten desgarrar la piel del hospedero (Andreani et al., 2019). Aunque generalmente se ha señalado que las especies de moscas dentro de las familias Glossinidae e Hippoboscidae se alimentan de la sangre que fluye después de introducir los dientes preestomales en la piel del hospedero, sin embargo, recientemente se presume que los hipoboscidos podrían alimentarse de los vasos sanguíneos, similar a los mosquitos (Andreani et al., 2020; Reeves y Lloyd, 2019).

Varias especies de Hippoboscidae pueden actuar como ectoparásitos de algunos animales domésticos y ocasionalmente también a los humanos causando daño por la succión directa de sangre y por la inyección de toxinas y microorganismos patógenos que puede conducir a la pérdida permanente de sangre y a la emaciación animal (especialmente la emaciación ovina), reducción de la producción de leche y lana, daño a la lana causado por las heces del parásito, entre otros (Oboña et al., 2019).

La familia Hippoboscidae incluye unas 213 especies dentro de 21 géneros incluyendo el género *Melophagus*, el cual posiblemente es el grupo más especializado dentro de la familia y cuyos adultos emergen del pupario con músculos de vuelo rudimentarios que no funcionan, que luego se atrofian debido a que tanto las alas anteriores como los haltéres son vestigiales y no son funcionales (Dick, 2018; Reeves y Lloyd, 2019).

La alimentación de *Melophagus ovinus* produce pérdida de peso, anemia, ansiedad y reducción del crecimiento de la lana lo que provoca un impacto económico por reducción en la producción de carne, leche y lana de las ovejas, además de daños secundarios por

infecciones microbiológicas secundarias por abrasión de la piel de la oveja (Small, 2005). Adicionalmente, se ha reportado que *M. ovinus* es responsable de la transmisión de patógenos zoonóticos, como: *Bartonella* spp., *Anaplasma* spp., virus de la lengua azul, virus de la enfermedad de la frontera (BDV), *Rickettsia* spp., *Trypanosoma* spp. (Werszko et al., 2021; Zhang et al., 2023).

Dado el impacto de este ectoparásito en la producción de ovinos, se han probado diferentes tácticas de control. Por una parte, Álvarez (2007) evaluaron la eficiencia de los baños de inmersión y dos endectocidas en un grupo de 200 ovinos esquilados en los que se realizaron mediciones seriadas de morbilidad y cuantificación de ectoparásitos, observando diferencias en el número de parásitos al día 56 en animales sometidos a baños por inmersión, en los cuales se alcanzó disminución del 100% desde el día 7 y hasta el día 56 postratamiento, lo que provocó disminución de la morbilidad de los grupos bañados disminuyó a 0% desde el día 7 y hasta el término del ensayo.

Aunque el uso de otras alternativas más sustentables, tales como el uso de agentes entomopatógenos, han mostrado ser efectivas en diferentes especies de ectoparásitos, hasta la fecha la información de su potencialidad de control en *M. ovinus* es escasa. En este sentido, Valbuena et al. (2021) evaluó el efecto del hongo *Beauveria bassiana* en el control de *M. ovinus* en ovejas adultas Hampshire cruzadas naturalmente infestadas tratadas por aspersión con 3.2×10^8 conidios/ml y encontraron que el control fue efectivo a partir del día 14, alcanzando hasta un 90% de efectividad.

En consideración con lo antes expuesto, en la presente investigación se pretende evaluar el efecto *in vitro* de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus* para ofrecer alternativas que sean eficaces para el control de este ectoparásito de forma segura y respetuosa con el medio ambiente.

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

Los estudios sobre el control de *Melophagus ovinus* deben tomar como base el establecimiento de las tasas de prevalencia del parásito. Por ello, se presentan las investigaciones que se han realizado en diferentes partes a nivel mundial.

En Etiopía se estimó la prevalencia de la infestación de piojos y falsas garrapata (*M. ovinus*) y se evaluaron los posibles factores de riesgo de su incidencia en ovinos, obteniendo un 71.6% de ovejas infestadas por *M. ovinus*, *Bovicola ovis* o ambos, la cual varió significativamente por efecto de la edad, el sexo y la condición corporal de las ovejas. Así, la prevalencia de *M. ovinus* fue significativamente superior en ovejas de condición corporal pobre (70,1%) y media (64,5%) en comparación con aquellas de buena condición corporal (40,5%). Estos autores resalaron la necesidad de realizar más estudios sobre la prevalencia y los impactos económicos de la infestación de ovejas por *M. ovinus* y *B. ovis*.

Girma & Nigate (2018) realizaron un estudio transversal sobre la prevalencia y factores de riesgo de falsas garrapata (*M. ovinus*) en Berehet Woreda (Etiopía) observándose que el 7,55% estaban infestadas con el parásito y su prevalencia estuvo relacionada con la asociación campesina, tipo de lana y las regiones agroclimáticas, mientras que no se observó relación entre la prevalencia de ovinos y el sexo y grupo de edad de las ovejas. La tasa de infestación de la sexta asociación campesina (Fura, Gorgo, Danceye, Geberoch, Wura y Wane) fue mayor en Fura (13,85%) seguida de Gorgo (11,86%) y menor en Wane (5,41%) y Wura (4,92%). Los autores señalan la importancia de realizar evaluaciones continuas de los ectoparásitos en crías de pequeños rumiantes (ovejas) ya que resultan en grandes pérdidas económicas debido al impacto de la serie de patógenos transmitidos y por la acción directa de los ectoparásitos que limita el desempeño de las industrias curtidoras.

En Ecuador, Borja et al. (2022) estudiaron la prevalencia de *M. ovinus* en ovejas mantenidos en sistemas de crianza semi-intensivos y de traspatio en la provincia de Tungurahua y encontraron diferencias entre diferentes localidades, siendo mayor en Ambato (39,3%), seguida de Quero (33,5%), Mocha (32,3%), Pelileo (30,7%) y Tisaleo (28%), con mayor incidencia en machos que en hembras y en animales de 1 a 3 años y mayores de 5 años.

La mayor parte de los estudios que evalúan la efectividad de *Beauveria bassiana* como agente de biocontrol en ganadería han sido enfocados en el control de garrapatas y otras especies de artrópodos plaga.

Valbuena et al. (2021) realizaron un estudio para determinar el efecto del hongo *Beauveria bassiana* sobre el parásito en ovinos naturalmente infestados, para lo cual utilizaron 15 ovejas adultas Hampshire cruzadas, distribuidas al azar en tres tratamientos de aspersión con diluciones de 3.2×10^8 conidios/ml, 3.2×10^8 conidios/ml + 5% de azúcar y un tratamiento control al cual se aplicó solo agua destilada. Después de realizar el monitoreo del número diario de ectoparásitos se observó que el control de la infestación se alcanzó después del día 14, logrando hasta un 90% de control con la aplicación de 3.2×10^8 conidios/ml solo o del producto con azúcar.

Con relación a su uso en el control de garrapatas se han encontrado varios estudios en diferentes países. En Sudáfrica se probaron formulaciones del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en condiciones de campo contra adultos de garrapata del bovino, *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) a concentración de 10^8 conidios/mL mezclado con aceite de aguacate al 10% y adyuvante sobre el peso inicial de las garrapatas, masa de huevos, porcentaje de eclosión, índice de producción de huevos y mortalidad después de los cuatro días de aplicación. La mortalidad de las garrapatas varió de 13 al 38% y también se observó reducción de la masa de huevos, el porcentaje de eclosión de los huevos, el índice de producción de huevos, el índice nutricional y la eficiencia reproductiva, demostrándose que esta formulación tiene potencial para el control biológico de *R. microplus* en condiciones de campo (Zeina et al., 2022).

De la misma forma en Perú, Yari Briones et al. (2021) investigaron el control de garrapatas en ganado bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) con diferentes concentraciones del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (T1= grupo control, T2= excipientes (agua + 0.6 ml de surfactante), T3= 1.2×10^7 conidias, T4= 2.4×10^7 conidias, T5 = 3.6×10^7 conidias) en vacas de la raza Fleckvieh. Los autores hicieron muestreos del número de garrapatas en el cuello, entrepierna, axila hasta los 14 días después del tratamiento y observaron una disminución significativa en el número de garrapatas a partir del día 7 cuando se aplicó el hongo en concentraciones de 1.2×10^7 , 2.4×10^7 y 3.6×10^7 conidias, alcanzado hasta un 99% de control a los 14 días a la dosis mayor.

En Colombia, Tofiño Rivera et al. (2018) evaluaron la efectividad en campo de un producto comercial a base de *Beauveria bassiana* (Baubassil®) en el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* usando vacas cebuinas tratadas con el producto a concentración de 1×10^6 conidios/ml una vez por semana y observaron porcentajes de germinación del entomopatógeno que variaron desde 97.5, 94.7 hasta 6.3% a 25, 30 y 35 °C con tasas de efectividad de hasta 96.8%, por lo cual, de acuerdo con los autores, el producto podría ser una alternativa viable para el control de esta especie de garrapata.

Adicionalmente este hongo ha sido usado para el control de insectos y ácaros fitófagos. En este sentido, en vista de la importancia de la polilla de la castaña (*Cydia splendana*) y el gorgojo de la castaña (*Curculio elephas*) en la producción de la castaña, Couta e Souza et al. (2023) evaluaron el uso de *B. bassiana* para el control de las larvas de ambas plagas en aplicaciones dirigidas al suelo de dos concentraciones (5×10^7 (T1) y 1×10^8 (T2) conidios/mL), más un control (T0) donde se aplicó con agua destilada. De acuerdo con los autores, los resultados obtenidos son prometedores para el uso de *B. bassiana* debido a que se observó una alta tasa de mortalidad con los tratamientos que incluían al hongo, lo que permitió señalar al hongo como agente de control biológico de estas dos plagas del cultivo del castaño.

Considerando que *Tetranychus macfarlanei* es una amenaza potencial para varios cultivos de importancia económica, Sabri et al. (2022) evaluaron el efecto de la humedad relativa sobre la eficacia de una cepa comercial de *B. bassiana* (cepa GHA) sobre hembras y huevos del ácaro en condiciones de laboratorio, los cuales fueron tratados con tres concentraciones del producto (1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 conidios/ml) mantenidos a tres niveles de humedad relativa (55, 75, y 95% HR) a 25 °C. Los resultados demostraron que la tasa de mortalidad varió con la dosis del producto y de la humedad relativa con la mayor mortalidad de los huevos (86,4 y 91%) fue alcanzada cuando se usó 1×10^8 conidios/mL a 75 y 95% de HR, respectivamente después de seis días de tratamiento.

1.2. Categorías fundamentales

1.2.1. La familia Hippoboscidae y Melophagus ovinus

Melophagus ovinus, conocido como el piojo o falsa garrapata de la oveja, es un insecto hematófago perteneciente al Orden Diptera, dentro de la familia Hippoboscidae y que morfológicamente se caracteriza por presentar cuerpo aplanado de color pardo oscuro,

con garras en las patas para aferrarse a su hospedador y que generalmente ataca a ovinos (Casco et al., 2021).

Esta especie de ectoparásito se encuentra presente en varios países de Europa, África, Asia, Oceanía y de América del Norte y del Sur y aunque ha sido principalmente asociado a explotaciones de ovinos, también puede parasitar en un mayor rango de especies de hospederos, incluyendo cabras, conejos, perros, animales salvajes, antílope tibetano, bisonte europeo y zorros rojos (Aranda Aguirre et al., 2020). Su forma de transmisión es por contacto directo entre ovejas cuando estas están bajo condición de hacinamiento, durante el pastoreo, por contacto directo entre las ovejas y corderos y también son transmitidos de forma indirecta a través de la cama (Aranda Aguirre et al., 2020).

De acuerdo con Olaechea et al. (2006), *M. ovinus* es uno de los ectoparásitos que se presentan en especies ovinas a nivel mundial, principalmente en zonas de climas templados y fríos, lo cual es potenciado por la falta de control oficial y las malas prácticas de manejo de los rebaños.

El papel como transmisor de patógenos de las moscas Hippoboscidae continua en debate debido a que estos ectoparásitos deben vivir exclusivamente sobre su hospedero, esto genera dudas sobre su capacidad para transmitir patógenos a otros animales o humanos, sin embargo, estudios recientes usando técnica moleculares han demostrado la transmisión de patógenos por moscas Hippoboscidae en 53 especies de rumiantes, caballos, perros y rapaces (Boucheikhchoukh et al., 2019).

1.2.2. El hongo *Beauveria bassiana* como alternativa de control biológico

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* es considerado como una alternativa al uso de plaguicidas químicos para el control de insectos plaga debido a su efectividad, está comercialmente disponible en varios países del mundo y además puede actuar sobre un amplio número de especies de plagas tanto residentes como invasoras, así como contra artrópodos vectores de enfermedades humanas y animales, como mosquitos y garrapatas (Kirkland et al., 2004).

La infección de insectos por parte de este hongo no requiere ningún modo especializado de entrada y comienza con la unión de esporas fúngicas a los hospederos que se desean controlar, de ese modo, las esporas del hongo germinan en respuesta a las señales

de la cutícula y posteriormente los tubos germinales emergentes producen una variedad de enzimas que, combinadas con la presión mecánica, inician el proceso de penetración de la cutícula (Saranraj y Jayaprakash, 2017).

Además, las especies de hongos del género *Beauveria* tienen la capacidad de producir metabolitos bioactivos tales como bassianólidos, beauvericina, ácido oxálico, oosporeína, bassianina y tenelina que han sido reportados como principios con actividad biológica que permite inhibir el crecimiento de varios hongos patógenos (Mascarin et al., 2013; Narayanasamy, 2013). Aparte de su mayor eficiencia como alternativa en el control de plagas, el uso de hongos entomopatógenos ha demostrado ser una alternativa viable debido a la facilidad y economía de producción a gran escala al ser comparado con otros patógenos como bacterias o virus (Ramanujam et al., 2014).

Aunque se ha demostrado que *Beauveria bassiana* tiene una alta virulencia y un amplio rango de acción contra diferentes especies de artrópodos, las investigaciones han demostrado que la virulencia depende de las características superficiales de las esporas del hongo y de varios factores determinantes genéticos de virulencia (Fang et al., 2009; Holder y Keyhani, 2005; Kos y Celar, 2013).

Además de su interés como agente de control biológico de plagas, *B. bassiana* también es un organismo modelo emergente que se puede utilizar para examinar aspectos únicos del crecimiento y desarrollo de hongos, incluidas las interacciones del patógeno hospedero (Fan et al., 2011; Ortiz-Urquiza y Keyhani, 2016).

1.2.3. El uso de hongos entomopatógenos en el control de plagas y parásitos

Un hongo entomopatógeno es un microorganismo que tiene la capacidad de infectar, parasitar y matar no solo a los insectos sino a otros artrópodos plaga, por lo que generalmente son utilizados en la agricultura orgánica como una alternativa a los plaguicidas químicos convencionales (Bihal et al., 2023).

Los hongos entomopatógenos pertenecen a diferentes grupos taxonómicos y hasta la fecha se han descrito 12 especies de Oomycetes, 399 especies de Microsporidia, 65 especies de Chytridiomycota, 474 especies de Entomophthoromycota, 283 especies de Basidiomycota y un total de 476 especies de Ascomycota, sin embargo, los Ascomycota y Entomophthoromycota son los que ocurren con mayor frecuencia (Litwin et al., 2020). La

mayor eficacia entomopatógena ha sido observada en hongos del Phylum Entomophthorales (tales como *Conidiobolus*, *Furia*, *Erynia* y *Entomophaga*), pero son poco usados debido a que no existen metodologías para su reproducción, por lo que, otras especies de hongos entomopatógenos dentro de los géneros *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Metarhizium*, *Lecanicillium* e *Isaria* son más frecuentemente usadas como biopesticidas (Bihal et al., 2023; Litwin et al., 2020).

Con relación al hongo entomopatógeno, *Beauveria bassiana*, este fue aislado por primera vez a partir de especímenes muertos del gusano de seda (*Bombyx mori*) por el entomólogo italiano, Agostino Bassi en el siglo XIX y actualmente ha sido encontrado parasitando más de 200 especies de insectos en seis órdenes y 15 familias en los cuales se multiplica rápidamente y produce una variedad de toxinas que causan infecciones externas (Liu et al., 2023).

1.2.4. El proceso de patogénesis y toxicidad de *Beauveria bassiana*

El primer paso de la infección por hongos entomopatógenos es la penetración de la cutícula de los insectos, la cual implica la intervención de fuerzas mecánicas, de enzimas que degradan la cutícula (quitinasa, lipasa, proteasa) y la presencia de estructuras de infección específicas producidas por hifas (apresorios) que penetran y proliferan dentro de la célula del insecto (Chelico y Khachatourians, 2008).

Las enzimas proteinasas segregadas por el hongo degradan la cutícula del insecto, la cual está compuesta de quitina y proteínas, facilitando la penetración de las hifas en la hemolinfa del insecto hospedero y posteriormente actúan las enzimas hidroxilantes que asimilan los hidrocarburos y capas cuticulares lipídicas (Huarte-Bonnet, Kumar, et al., 2018; Huarte-Bonnet, Paixão, et al., 2018).

En condiciones apropiadas, los conidios del hongo *B. bassiana* germinan y forman hifas que luego secretan diversas toxinas que son principalmente metabolitos secundarios y compuestos de pequeño peso molecular, como beauvericina, bassianina, bassianolida, beauverolidas, tenellin, oosporeína, ácido oxálico, cristales de oxalato de calcio y muchos análogos de beauvericina, siendo la beauvericina una de las toxinas más importantes por su acción insecticida y citotóxica (Al Khoury et al., 2021).

El proceso de infección empieza con la penetración de los conidios en la epicutícula para llegar a la endocutícula del insecto donde libera enzimas hidrolasas, incluidas quitinasa, proteasa y lipasa, para desintegrar rápidamente la cutícula y lograr un mayor ingreso de los conidios. Luego se forman los cuerpos hifales que atraviesan la epidermis e invaden la hemolinfa donde segregan varias sustancias insecticidas, como oosporeína, beauvericina, beauverolidas y tenelina, la mayoría de las cuales suprimen el inmunocito o destruyen directamente la hemolinfa (Fig. 1) (H. Wang et al., 2021).

Sin embargo, de acuerdo con Wang et al. (2012), el mecanismo de patogenicidad puede variar según el tipo de toxina y la especie de hospedero, pues la misma toxina puede tener un mecanismo diferente de patogenicidad y escala de toxicidad en diferentes hospederos, por lo tanto, es imposible generalizar el mecanismo de acción. Sin embargo, el consenso común es que el efecto insecticida de los hongos es un resultado acumulativo de varias toxinas de *B. bassiana*.

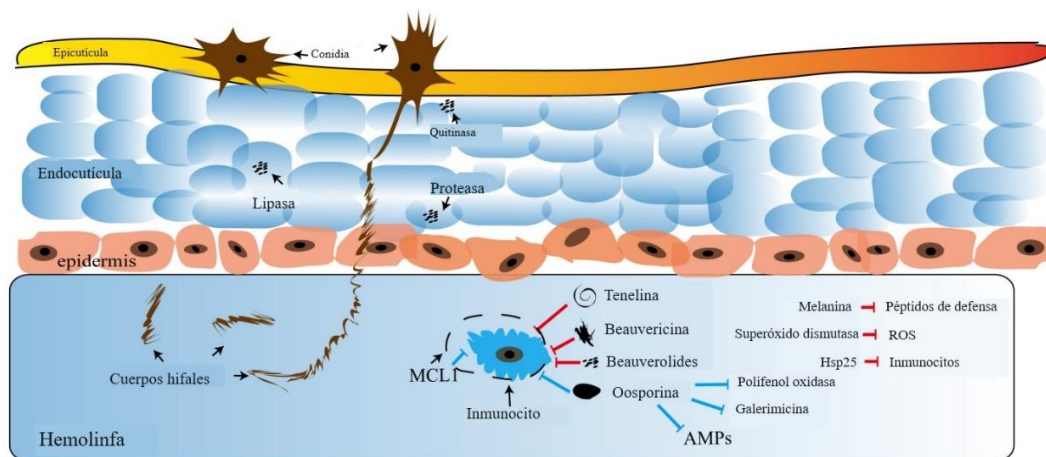


Figura 1

Representación esquemática de la invasión del hongo *Beauveria bassiana* en el insecto hospedero. AMP, péptidos antimicrobianos; PPO, polifenol oxidasa; MCL1, secuencia de leucemia de células mieloides, una proteína antiapoptótica; SOD, superóxido dismutasa; ROS, especies reactivas de oxígeno; Hsp25, factor de choque térmico 25. Las sustancias mencionadas en la parte inferior derecha de la figura inhiben el sistema inmunológico. Las flechas roja y azul representan las respuestas de inhibición directa e indirecta, respectivamente.

Fuente: (H. Wang et al., 2021)

Las toxinas también inducen una variedad de síntomas en el insecto hospedero, que incluyen deshidratación severa, comportamiento anormal, falta de coordinación, convulsiones, dificultad para alimentarse y trastornos metabólicos que eventualmente causan la muerte del insecto (Chu et al., 2017). En condiciones adecuadas, los micelios presentes en el hospedero muerto producen numerosos conidios que son llevados por el aire para infectar a otros hospederos, sin embargo, la propagación de la infección también puede ser ayudada por otros agentes de dispersión como hojas, raíces, suelo y agua en estrecho contacto con los insectos, los cuales, además pueden provocar infecciones no dirigidas, incluido daño a insectos beneficiosos (Feng et al., 2015; Pedrini, 2018).

1.3. Objetivos

Objetivo general:

Evaluar el efecto *in vitro* de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus* (Diptera: Hippoboscidae)

Objetivos específicos:

- ✓ Determinar la mortalidad causada por diferentes concentraciones de suspensiones de *B. bassiana* en hembras adultas de *M. ovinus*.
- ✓ Calcular la DL_{50} de *B. bassiana* en hembras adultas de *M. ovinus* mediante método Probit.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del estudio

La investigación fue conducida en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato (cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua)

2.2. Tipo de investigación

La presente investigación fue conducida con un enfoque de tipo experimental, debido a que se planteó la aplicación de un tratamiento (concentraciones de un hongo entomopatógeno) y así evaluar su efecto sobre las variables respuesta en el ectoparásito (*M. ovinus*) (Hernández-Sampieri et al., 2014).

2.3. Equipos y materiales

- ✓ Cajas Petri
- ✓ Láminas porta y cubreobjeto
- ✓ Pinceles ultrafinos (000)
- ✓ Algodón
- ✓ Liquido de Hoyer
- ✓ Microscopio
- ✓ Estereoscopio
- ✓ Producto comercial a base de *Beauveria bassiana* (Beauvetic)

2.4. Factores de Estudio:

- ✓ Dosis del producto (Beauvetic):

D1= $1,0 \times 10^5$ esporas/ml (T1)

D2= $1,0 \times 10^6$ esporas/ml (T2)

D3= $1,0 \times 10^7$ esporas/ml (T3)

D4= $1,0 \times 10^8$ esporas/ml (T4)

D0= sin tratamiento (T0)

2.5. Tratamientos

Tratamiento	N° de repeticiones	Simbología	Descripción
1	10	T1	Beauvetic a dosis de $1,0 \times 10^5$ esporas/ml
2	10	T2	Beauvetic a dosis de $1,0 \times 10^6$ esporas/ml
3	10	T3	Beauvetic a dosis de $1,0 \times 10^7$ esporas/ml
4	10	T4	Beauvetic a dosis de $1,0 \times 10^8$ esporas/ml
5	10	T0	Sin aplicación (Testigo)

2.6. Manejo del experimento

5.1.1. Recolección

Las muestras de la falsa garrapata, *M. ovinus*, fueron recolectadas en ovejas mantenidas en sistemas de cría traspatio en el cantón Cevallos y Ambato. Las muestras colectadas fueron llevadas inmediatamente al laboratorio para iniciar con los bioensayos de efectividad de las suspensiones de *B. bassiana*.

5.1.2. Identificación de *M. ovinus*

Una vez en el laboratorio, las muestras fueron revisadas bajo aumento de la lupa estereoscópica para revisar los especímenes y asegurarse la identificación de la especie, usando los caracteres morfológicos resaltados por Borja et al. (2022) quienes señalaron que *M. ovinus* son insectos con ojos compuestos pequeños, pocos omatidios y antenas inmóviles pequeñas ubicadas en fosas antenales profundas; sin alas; con cuerpo aplanado dorsoventralmente, con cabeza hundida y segmentos gnatales de tipo prognato; tegumento abdominal suave y flexible permite la distensión durante la alimentación y el desarrollo larvario en las hembras.

5.1.3. Prueba de efectividad in vitro de *B. bassiana* sobre *M. ovinus*

Se usó una cepa comercial del hongo *Beuveria bassiana* (Beauvetic^{MR}) que fue disuelta en agua destilada más Tween 80 al 0.1% (Fig. 2). Para determinar el número total de conidios por mililitro se tomó 1 ml de la suspensión en una cámara de Neubauer usando la siguiente fórmula:

$N^{\circ} \text{ de conidios} = N^{\circ} \text{ de conidios contabilizados} \times 25.000 \times \text{Factor de dilución}$
(Cañedo y Ames, 2004).



Figura 2

Preparación de las diferentes concentraciones de Beauveria bassiana para las pruebas de efectividad de control sobre Melophagus ovinus in vitro

Adicionalmente, para la identificación del hongo, se prepararon cultivos en cajas de Petri con agar Sabouraud usando la técnica de estría por agotamiento en incubación a 30 °C y 80% HR durante 72 h. Posteriormente, el hongo fue identificado mediante tinción de lactofenol a interpretación microscópica de las características morfológicas según el Manual de Hongos Entomopatógenos (Cañedo y Ames, 2004).

Se evaluaron cuatro concentraciones: $1,0 \times 10^5$; $1,0 \times 10^6$; $1,0 \times 10^7$ y $1,0 \times 10^8$ esporas/ml más un tratamiento control que consistió en la aplicación de agua destilada (Fig. 3).

2.7. Hipótesis

El aumento de la concentración del bioplaguicida a base de *Beauveria bassiana* produce un mayor efecto de mortalidad en hembras de *Melophagus ovinus*.



Figura 3

Prueba de efectividad in vitro de B. bassiana sobre M. ovinus

2.8. Variables respuesta

- a) **Tasa de mortalidad:** En un total de 10 hembras de *M. ovinus* se midió el número de individuos muertos después de las aplicaciones de suspensiones a base de *Beauveria bassiana*. Las evaluaciones de la tasa de mortalidad fueron hechas a las 120, 144 y 168 horas después de la aplicación.
- b) **Dosis letal media:** se estimó la dosis capaz de producir el 50% de mortalidad de la población bajo estudio.

2.9. Análisis de los datos

Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza y aquellas variables que muestren diferencias significativas ($p < 0.05$) fueron comparadas mediante prueba de medias según Tukey usando el paquete estadístico Statistix versión 10.0 para Windows).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Mortalidad causada por diferentes concentraciones de suspensiones de *B. bassiana* en hembras adultas de *M. ovinus*

Se demostró el efecto de las diferentes concentraciones del bioplaguicida a base de *Beauveria bassiana* sobre el porcentaje de mortalidad de *Melophagus ovinus* después de las 120, 144 y 168 horas de la aplicación (Fig. 4). En general, la tasa de mortalidad fue dependiente de la concentración de *B. bassiana*, observándose un incremento significativo de la mortalidad con el aumento de la concentración usada del bioplaguicida. En este sentido, después de las primeras 120 h, la tendencia fue a incrementar la tasa de mortalidad a medida que aumentó la concentración de *B. bassiana*, alcanzándose un 55.56% en la dosis más alta (1×10^8 conidias/ml), lo cual fue 50% superior a la mortalidad observada con la dosis menor (1×10^5 conidias/ml) y 90% superior al tratamiento testigo.

De la misma forma a las 144 h después de la aplicación, se observó un aumento de la mortalidad en función a la concentración, demostrándose que solo el 44.4% de las hembras de *M. ovinus* murieron por la aplicación de *B. bassiana* a la menor concentración y este valor fue aumentando a 50.0, 61.1% a las dosis intermedias (1×10^6 y 1×10^7 conidias/ml) y alcanzó el máximo valor (77.78%) a la máxima concentración, lo cual representó ser 92.9% mayor que la mortalidad observada en el tratamiento testigo.

Finalmente, a las 168 h después de la aplicación se obtuvieron las máximas tasas de mortalidad por la aplicación de *B. bassiana*, variando desde 66.67% hasta 94.44%, demostrándose que el incremento de la efectividad de la dosis más alta fue de 88.2% mayor que en el testigo, mientras que fue 29.4% más eficiente que la menor dosis aplicada.

La micosis fue evidenciada con la aparición de un polvillo blanco sobre la cutícula de los insectos, tal como se muestra en la figura 5.

Basado en los resultados, se encontró que la tasa de mortalidad acumulada después de 168 h de aplicación mostró una respuesta de tipo cuadrática que se ajustó a la ecuación $y = -1.5873x^2 + 20.635x - 11.111$ con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.94, lo cual indica un alto nivel de ajuste de la ecuación (Fig. 6).

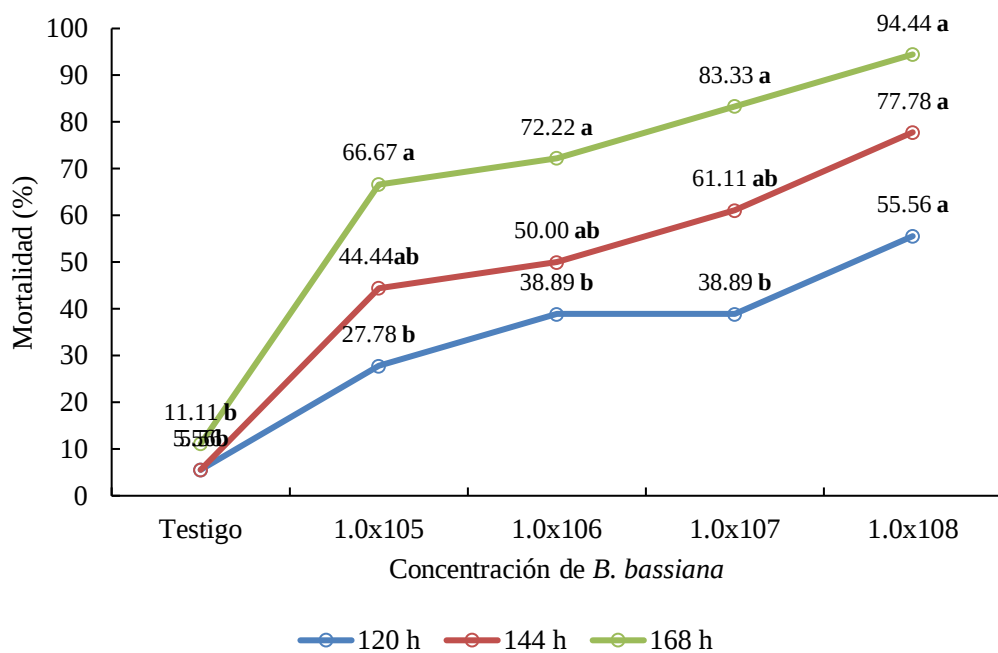


Figura 4

Porcentaje de mortalidad de hembras de Melophagus ovinus a las 24, 48 y 72 h después de la aplicación de Beauveria bassiana



Figura 5

Hembras adultas de M. ovinus mostrando síntomas del ataque de B. bassiana

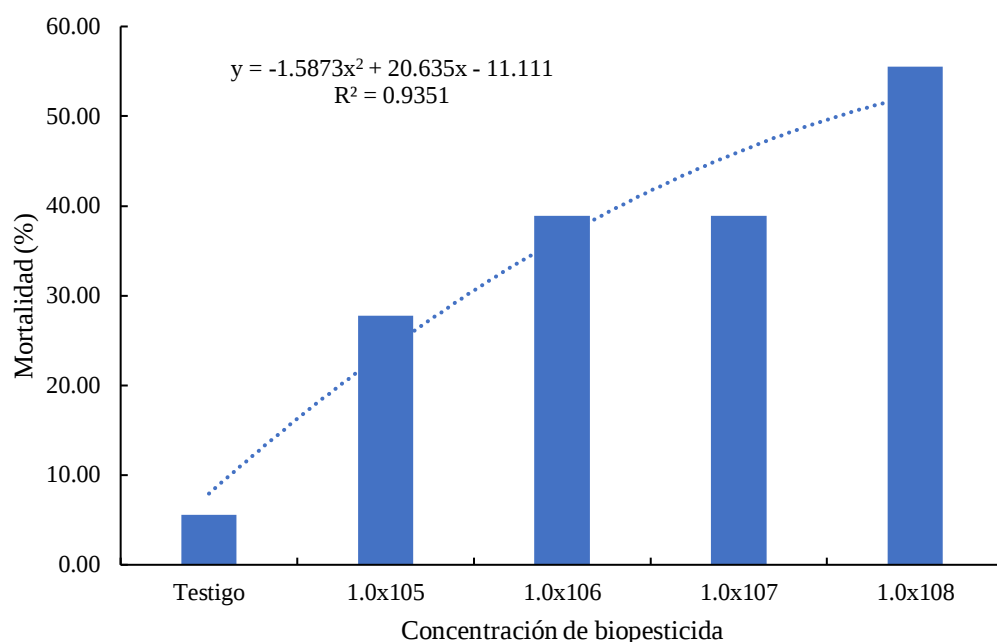


Figura 6

Porcentaje de mortalidad in vitro de hembras de M. ovinus por efecto de diferentes concentraciones de B. bassiana

La información sobre el uso de *B. bassiana* en el control de *M. ovinus* es escasa. De acuerdo con la revisión solo un estudio está disponible en Perú donde Valbuena et al. (2021) demostraron que el uso del hongo mostró hasta un 90% de efectividad en el control de *M. ovinus* en ovejas adultas Hampshire cruzadas que fueron tratadas con una aspersión de 3.2×10^8 conidios/ml de *B. bassiana* a partir del día 14 de la aplicación.

Estudios previos han demostrado el efecto de diferentes cepas de *B. bassiana* sobre la mortalidad de diferentes especies de artrópodos. Li et al. (2024) evaluaron seis cepas de *B. bassiana* (B1–B6) y observaron que la cepa B4 fue la más virulenta contra las larvas de tercer estadio, las pupas y los adultos de *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae), causando tasas de mortalidad de 52,67, 61,33 y 90,67 %, respectivamente, pero también afectó a sus enemigos naturales (*Amblyseius cucumeris* y *Anastatus japonicus*). Por otra parte, se observó que el uso de abamectina al 1,8% provocó inhibición de la germinación de la cepa B4.

Johnson et al. (2019) compararon la eficacia de la aplicación tópica e inyectada de *B. bassiana* (cepa 90) en el control de la mosca doméstica (*Musca domestica*), resultando en

una tasa de mortalidad de 82.5% 3 días después de inyectarse a una concentración de 1×10^4 conidios/ μ l, mientras que a menor concentración la mortalidad observada apenas alcanzó 2.5 y 22.5% a dosis de 1×10^2 y 1×10^3 conidios/ μ l, respectivamente. Por otra parte, aunque la mortalidad causada por *B. bassiana* aplicada de forma tópica fue baja los primeros cuatro días, esta tendió a aumentar después del quinto día de aplicación.

De manera similar a lo observado en el presente estudio, Kirkland et al. (2004) encontraron que la aplicación de soluciones a base de *B. bassiana* o *Metarhizium anisopliae* a 10^8 conidios/ml provocaron una mortalidad del 50-70% en las garrapatas adultas de *Ixodes scapularis* y *R. sanguineus*, siendo las ninfas de *R. sanguineus* más susceptibles a ambos hongos entomopatógenos, pues provocaron más de 90% de mortalidad, mientras que en *Dermacentor variabilis* solo causó una mortalidad menor al 20% de mortalidad. Aunque, de acuerdo con estos autores, *B. bassiana* y *M. anisopliae* mostraron potencial de controlar las poblaciones de garrapatas, se concluyó que su virulencia y la mortalidad depende de las condiciones del inóculo.

Aparte de la mortalidad causada por el uso hongos entomopatógenos, algunas investigaciones han demostrado un efecto subletal sobre especies de garrapatas. En ese sentido, en un estudio donde se evaluó el efecto combinado de la aplicación de *B. bassiana* CG 479 y eugenol sobre el perfil lipídico y la morfología ovárica de *Rhipicephalus microplus*, Ferreira et al. (2024) encontraron que el uso del hongo acaropatógeno en combinación con eugenol redujo los parámetros reproductivos de la garrapata en un 50%, lo cual fue evidenciado con modificaciones que incluyeron la vacuolización del pedicelo, desorganización del citoplasma y afectó los niveles de ácidos grasos y colesterol en ovarios demostrándose el potencial de ambos agentes como estrategia complementaria para el manejo de las garrapatas del ganado.

De la misma forma, Zeina et al. (2022) estudiaron el efecto del uso de *B. bassiana* a una dosis de 1×10^8 conidios/ml combinado con 10% de aceite de aguacate y un coadyuvante sobre la garrapata del bovino (*Rhipicephalus microplus*) en condiciones de campo y demostraron que el tratamiento fue capaz de producir hasta 38% de mortalidad y además redujeron el número de huevos por hembra de garrapata, así como la viabilidad de los huevos, el índice de producción de huevos, el índice nutricional y la eficiencia reproductiva.

3.2. Dosis letal media (DL₅₀) de las aplicaciones de *B. bassiana* para el control de *M. ovinus*

De acuerdo con el análisis Probit de mortalidad producida por las diferentes dosis de *B. bassiana* en hembras adultas de *M. ovinus* se encontró que el modelo se ajustó a la ecuación (Tabla 1, Fig. 7).

Tabla 1

Estimaciones de los parámetros de la ecuación por análisis Probit para las diferentes concentraciones de B. bassiana usadas en el control de M. ovinus

Parámetro	Estimación	Error estándar	Z	Sig.	Intervalo de confianza de 95 %	
					Límite inferior	Límite superior
Concentración	0,481	0,198	2,428	0,015	0,093	0,870
Interceptación	-2,005	1,052	-1,907	0,057	-3,057	-0,954

a. Modelo PROBIT: PROBIT(p) = Interceptación + BX (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo base 10)

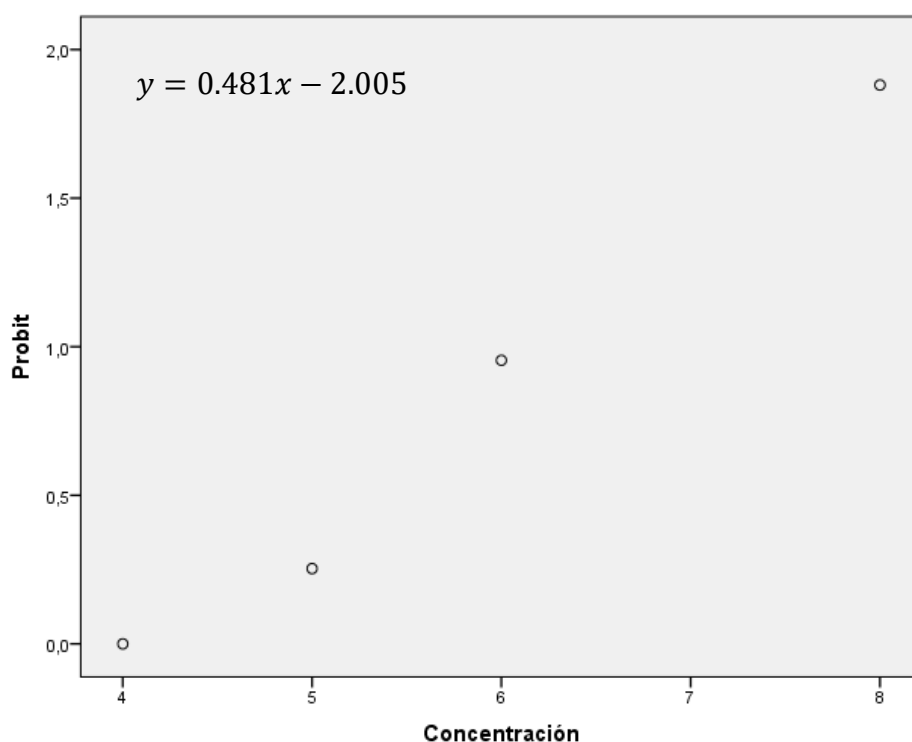


Figura 7

Regresión Probit para la curva de mortalidad de hembras adultas de Melophagus ovinus inoculadas con 4 concentraciones de Beauveria bassiana.

Dado que, el nivel de significación para la prueba de bondad de ajuste mostrado en la tabla 2 es mayor que 0,050, no fue necesario utilizar el factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza mostrados para las diferentes concentraciones calculadas, lo que indica un alto nivel de ajuste de los resultados de las tablas 3 y 4.

Tabla 2

Pruebas de bondad de ajuste de Chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^b	Sig.
Prueba de bondad de ajuste de Pearson	0,204	2	0,903 ^a

Tabla 3

Valores observados y esperados de mortalidad por efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de B. bassiana usadas en el control de M. ovinus

Concentración Probit	Concentración real	Número de sujetos	Valores observados	Valores esperados	Residuo	Probabilidad
4,000	1x10 ⁴	10	5	4,679	0,321	0,046
5,000	1x10 ⁵	10	6	6,556	-0,556	0,006
6,000	1x10 ⁶	10	8	8,110	0,190	0,008
8,000	1x10 ⁸	10	10	9,674	0,026	0,009

Con base en los resultados del análisis Probit, se encontró que el DL₅₀ obtenido en la presente investigación fue de 1.47x10⁵ conidios/ml, lo que indica que con una concentración de 1.5x10⁵ conidios/ml se podría eliminar la mitad de una población de *M. ovinus* bajo condiciones de laboratorio (Tabla 4). Otros valores toxicológicos importantes derivados en la tabla 4 son los DL₉₀ y DL₉₅ que resultaron ser 6.7 x10⁶ conidios/ml y 3.8x10⁷ conidios/ml, respectivamente, lo que indica que con la aplicación de estas concentraciones se podría esperar la muerte del 90 y 95% de la población en estudio bajo condiciones *in vitro*.

Los resultados obtenidos por Bermeo (2022) mostraron un DL_{50} 2.67×10^4 conidias/ml de *B. bassiana* en el control del gusano de la papa (*Premnotrypes vorax*), mientras que el DL_{95} fue de 1.49×10^6 conidias/ml en un tiempo medio de 4.02 días.

Así mismo, trabajos previos han reportado diferentes valores de CL_{50} y CL_{95} para diferentes especies de artrópodos. Malpartida-Zevallos et al. (2013) reportaron valores de CL_{50} y la CL_{95} fueron de 9.39×10^6 conidias/ml y 1.42×10^8 conidias/ml, respectivamente, de la cepa CCB-LE 262 de *Beauveria bassiana* (Bb SENASA) en el control biológico de *Dione juno*.

Suarez Gómez (2009) observó que la concentración 1×10^6 conidias/ml de una cepa de *B. bassiana* aislada del chinche encaje *Leptopharsa gibbicarina* logró eliminar el 50% de la población del *Sitophilus zeamais* en un tiempo promedio de seis días, y al final del ensayo se observó una mortalidad promedia del gorgojo del 98,37 %.

El cálculo de la dosis letal media (DL_{50}) es un procedimiento fundamental en estudios toxicológicos. La DL_{50} se define como la dosis de una sustancia que provoca la muerte del 50% de una población experimental bajo condiciones controladas. Este análisis tiene aplicaciones críticas en farmacología, toxicología ambiental, y la industria química, entre otras.

La importancia del cálculo de la DL_{50} radica en este procedimiento permite evaluar la toxicidad aguda de un plaguicida pues permite hacer comparaciones directas de la toxicidad entre diferentes sustancias, lo que resulta esencial para la evaluación de riesgos y la toma de decisiones informadas sobre el uso seguro de químicos y fármacos. Además, la información sobre la toxicidad, basada en la DL_{50} , es utilizada para etiquetar productos químicos proporcionando advertencias y precauciones necesarias en estudios ecotoxicológicos para evaluar el impacto de sustancias químicas en la fauna y flora, previniendo la contaminación y proteger la biodiversidad y ayudando a establecer protocolos de seguridad y procedimientos para proteger a los trabajadores.

Tabla 4. Cálculo de los límites de confianza en la estimación de la DL_{50}

Probabilidad	95% de límites de confianza para Concentración			95% de límites de confianza para registro (Concentración) ^a		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
0,010	0,21	0,000	108,789	-0,667	-25,241	2,037
0,020	0,79	0,000	229,057	-0,100	-22,311	2,360
0,030	1,81	0,000	368,359	0,259	-20,454	2,566
0,040	3,38	0,000	527,512	0,529	-19,057	2,722
0,050	5,61	0,000	707,389	0,749	-17,921	2,850
0,060	8,64	,000	909,028	0,937	-16,955	2,959
0,070	12,61	0,000	1133,635	1,101	-16,109	3,054
0,080	17,68	0,000	1382,577	1,248	-15,351	3,141
0,090	24,06	0,000	1657,377	1,381	-14,662	3,219
0,100	31,94	0,000	1959,719	1,504	-14,028	3,292
0,150	103,22	0,000	3956,050	2,014	-11,408	3,597
0,200	262,18	0,000	7008,094	2,419	-9,332	3,846
0,250	583,34	0,000	11610,154	2,766	-7,556	4,065
0,300	1196,26	0,000	18571,971	3,078	-5,969	4,269
0,350	2327,29	0,000	29293,350	3,367	-4,508	4,467

0,400	4376,28	0,001	46378,191	3,641	-3,132	4,666
0,450	8062,14	0,015	75170,619	3,906	-1,818	4,876
0,500	14709,19	0,28	128207,751	4,168	-0,550	5,108
0,550	26836,57	4,73	240913,568	4,429	0,675	5,382
0,600	49439,27	70,06	543731,689	4,694	1,845	5,735
0,650	92966,67	823,07	1739276,015	4,968	2,915	6,240
0,700	180863,51	6402,22	10214456,561	5,257	3,806	7,009
0,750	370896,66	29593,13	136606729,736	5,569	4,471	8,135
0,800	825221,54	91620,00	4356786401,963	5,917	4,962	9,639
0,850	2096098,44	234371,63	359813363892,801	6,321	5,370	11,556
0,900	6773205,41	595905,15	119115111469483,230	6,831	5,775	14,076
0,910	8991363,90	730587,56	494295799205198,560	6,954	5,864	14,694
0,920	12231575,55	905951,18	2333926608273002,000	7,087	5,957	15,368
0,930	17157153,88	1140654,60	12941400277473320,000	7,234	6,057	16,112
,940	25036851,87	1466123,91	88209905101329424,000	7,399	6,166	16,946
0,950	38527954,28	1939376,30	792523506951458560,000	7,586	6,288	17,899
0,960	63930400,79	2674911,38	10527742921711045000,000	7,806	6,427	19,022
0,970	119147578,61	3939290,97	255204429354791140000,00	8,076	6,595	20,407
0,980	272587157,70	6520849,30	17864677893275839000000,0	8,436	6,814	22,252
0,990	1004606688,52	14186231,51	14707568303144755000000000,0	9,002	7,152	25,168

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Se demostró el efecto de las diferentes concentraciones del bioplaguicida a base de *Beauveria bassiana* sobre el porcentaje de mortalidad de *Melophagus ovinus*, observándose que el incremento de la tasa de mortalidad estuvo relacionado con el aumento de la concentración de *B. bassiana*. En general, la mortalidad tendió a incrementar a medida que aumentó la concentración del hongo, lo cual demostró que la formulación comercial de *Beauveria bassiana* mostró alta eficiencia de control bajo condiciones *in vitro*.

Con base en los resultados del análisis Probit, se encontró que el DL_{50} obtenido en la presente investigación fue de 1.47×10^5 conidios/ml. De igual manera, otros valores toxicológicos importantes obtenidos fueron el DL_{90} y DL_{95} que resultaron ser 6.7×10^6 conidios/ml y 3.8×10^7 conidios/ml, respectivamente, lo que indica que con la aplicación de estas concentraciones se podría esperar la muerte del 90 y 95%, respectivamente de la población en estudio bajo condiciones *in vitro*.

4.2. RECOMENDACIONES

En consideración con los resultados positivos obtenidos sobre el control *in vitro* de *Melophagus ovinus*, se recomienda realizar prueba *in vivo* sobre ovejas para convalidar los resultados observados bajo condiciones controladas.

Se sugiere evaluar diferentes formas de aplicación sobre ovejas para determinar la mayor eficiencia y mejor uso del bioplaguicida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al Khoury, C., Nemer, N., & Nemer, G. (2021). Beauvericin potentiates the activity of pesticides by neutralizing the ATP-binding cassette transporters in arthropods. *Scientific Reports*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89622-5>
- Álvarez, F. (2007). Eficacia de cuatro antiparasitarios para el control de *Melophagus ovinus* en la Región de Magallanes, Patagonia Chilena. *Parasitologia Latinoamericana*, 62(3–4), 176–179. <https://doi.org/10.4067/s0717-77122007000200012>
- Andreani, A., Sacchetti, P., & Belcari, A. (2019). Comparative morphology of the deer ked *Lipoptena fortisetosa* first recorded from Italy. *Medical and Veterinary Entomology*, 33(1), 140–153. <https://doi.org/10.1111/mve.12342>
- Andreani, A., Sacchetti, P., & Belcari, A. (2020). Evolutionary adaptations in four hippoboscids fly species belonging to three different subfamilies. *Medical and Veterinary Entomology*, 34(3), 344–363. <https://doi.org/10.1111/mve.12448>
- Aranda Aguirre, E., Villegas Estrada, D., Castro Salgado, A., Martínez Albiter, E., Cardoso Gutiérrez, E., Velázquez Ordoñez, V., Zamora Espinoza, J. ., Pérez Sotelo, L. ., & Valladares Carranza, B. (2020). *Melophagus ovinus*: un vector relevante en la transmisión de enfermedades. *Revista Electrónica Nueva Época Veterinaria*, 26–35. <http://veterinaria.uaemex.mx/contenido.php?id=498&tema=CULTURA>,
- Bermeo, D. (2022). *Determinación de la actividad entomopatógena del hongo Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. Sobre el gusano blanco de la papa (Premnotrypes vorax H. [Universiad Politécnica Salesiana]*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/22954/1/UPS-CT009997.pdf>
- Bihal, R., Al-Khayri, J. M., Banu, A. N., Kudesia, N., Ahmed, F. K., Sarkar, R., Arora, A., & Abd-Elsalam, K. A. (2023). Entomopathogenic Fungi: An Eco-Friendly Synthesis of Sustainable Nanoparticles and Their Nanopesticide Properties. *Microorganisms*, 11, 1617. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061617>
- Borja, A. T., Quintana, S. C., Vásquez, C., & Velastegui, G. (2022). Prevalence of *Melophagus ovinus* (Diptera, Hippoboscidae) in sheep in the province of Tungurahua, Ecuador. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 14(3), 29–37.

<https://doi.org/10.22067/IJVST.2022.76650.1147>

- Boucheikhchoukh, M., Mechouk, N., Benakhla, A., Raoult, D., & Parola, P. (2019). Molecular evidence of bacteria in *Melophagus ovinus* sheep keds and *Hippobosca equina* forest flies collected from sheep and horses in northeastern Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 65, 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.05.010>
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Centro Internacional de la Papa (CIP). <https://doi.org/cip@cgiar.org>, www.cipotato.org
- Casco, X., Roldán, J., Serrano, D., Simbaña, M., & Soria, C. (2021). Importancia de *Melophagus ovinus* como vector de enfermedades en varias partes del mundo. *Revista Veterinaria*, 32(1), 110. <https://doi.org/10.30972/vet.3215646>
- Chelico, L., & Khachatourians, G. G. (2008). Isolation and characterization of nucleotide excision repair deficient mutants of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98(1), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.10.006>
- Couta e Souza, M. E., Nóbrega, F., & Bento, A. A. (2023). Can *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. Control the Key Fruit Pests of the European Chestnut Tree, under Field Conditions? *Insects*, 14, 1–11.
- Dick, C. W. (2018). *Checklis of World Hippoboscidae (Diptera: Hippoboscoidea)*.
- Fan, Y., Zhang, S., Kruer, N., & Keyhani, N. O. (2011). High-throughput insertion mutagenesis and functional screening in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 106(2), 274–279. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.11.003>
- Fang, W., Feng, J., Fan, Y., Zhang, Y., Bidochka, M. J., Leger, R. J. S., & Pei, Y. (2009). Expressing a fusion protein with protease and chitinase activities increases the virulence of the insect pathogen *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102(2), 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.013>
- Feng, P., Shang, Y., Cen, K., & Wang, C. (2015). Fungal biosynthesis of the

- bibenzoquinone oosporein to evade insect immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(36), 11365–11370.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1503200112>
- Ferreira, J. R. T., Bitencourt, R. de O. B., Angelo, I. da C., Tondo, L. A. S., Lima, P. P. de A. B. M., Golo, P. S., Matos, R. da S., Ubiali, D. G., & Pinheiro, V. R. E. B. (2024). Combination of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the plant compound eugenol against the *Rhipicephalus microplus* tick: mortality, morphological alterations and ovarian lipid profile. *BioControl*, 69, 169–183.
- Girma, Y., & Nigate, G. (2018). Study on the Prevalence of *Melophagus ovinus* (Sheep Ked) In Berehet Woreda, Ethiopia. *SOJ Veterinary Sciences*, 4(3), 1–5.
<https://doi.org/10.15226/2381-2907/4/3/00160>
- Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C., & Baptista-Lucio, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (Sexta). McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A.
- Holder, D. J., & Keyhani, N. O. (2005). Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to Substrata. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5260–5266. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5260-5266.2005>
- Huarte-Bonnet, C., Kumar, S., Saparrat, M. C. N., Girotti, J. R., Santana, M., Hallsworth, J. E., & Pedrini, N. (2018). Insights into Hydrocarbon Assimilation by Eurotiales and Hypocreales Fungi: Roles for CYP52 and CYP53 Clans of Cytochrome P450 Genes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 184(3), 1047–1060.
<https://doi.org/10.1007/s12010-017-2608-z>
- Huarte-Bonnet, C., Paixão, F. R. S., Ponce, J. C., Santana, M., Prieto, E. D., & Pedrini, N. (2018). Alkane-grown *Beauveria bassiana* produce mycelial pellets displaying peroxisome proliferation, oxidative stress, and cell surface alterations. *Fungal Biology*, 122(6), 457–464. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.09.003>
- Hutson, A. M. (1984). Keds, Flat-flies and Bat-Flies: Diptera, Hippoboscidae and Nycteribiidae. In *Handbooks for the Identification of British Insects* (Vol. 10, Issue 7). Royal Entomological Society of London.
https://www.royensoc.co.uk/sites/default/files/Vol10_Part07_Hutson.pdf
- Johnson, D. M., Weeks, E. N. I., LoVullo, E. D., Shirk, P. D., & Geden, C. J. (2019).

- Mortality effects of three bacterial pathogens and *Beauveria bassiana* when topically applied or injected into house flies (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 56(3), 774–783. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy218>
- Kirkland, B. H., Westwood, G. S., & Keyhani, N. O. (2004). Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to ixodidae tick species *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Ixodes scapularis*. *Journal of Medical Entomology*, 41(4), 705–711. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.705>
- Kos, K., & Celar, F. A. (2013). Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. to selected herbicides. *Pest Management Science*, 69(6), 717–721. <https://doi.org/10.1002/ps.3427>
- Li, X. L., Zhang, J. J., Li, D. D., Cai, X. Y., Qi, Y. X., & Lu, Y. Y. (2024). Toxicity of *Beauveria bassiana* to *Bactrocera dorsalis* and effects on its natural predators. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1362089. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1362089>
- Litwin, A., Nowak, M., & Różalska, S. (2020). Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 19(1), 23–42. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09525-1>
- Liu, D., Smagghe, G., & Liu, T. X. (2023). Interactions between Entomopathogenic Fungi and Insects and Prospects with Glycans. *Journal of Fungi*, 9, 575. <https://doi.org/10.3390/jof9050575>
- Malpartida-Zevallos, J., Narrea-Cango, M., & Dale-Larraburre, W. (2013). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12(1–2), 75. <https://doi.org/10.21704/rea.v12i1-2.440>
- Mascarin, G. M., Kobori, N. N., Quintela, E. D., & Delalibera Jr., I. (2013). The virulence of entomopathogenic fungi against *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) and their conidial production using solid substrate fermentation. *Biological Control*, 66(3), 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.05.001>
- Narayanasamy, P. (2013). Biological Management of Diseases of Crops. In *Biological Management of Diseases of Crops: Vol. 1: Charact.* Springer.

https://doi.org/10.1007/978-94-007-6380-7_8

- Oboňa, J., Sychra, O., Greš, S., Heřman, P., Manko, P., Roháček, J., Šestáková, A., Šlapák, J., & Hromada, M. (2019). A revised annotated checklist of louse flies (Diptera, Hippoboscidae) from Slovakia. *ZooKeys*, 862, 129–152.
<https://doi.org/10.3897/zookeys.862.25992>
- Olaechea, F., Corley, J., Larroza, M., Raffo, F., & Cabrera, R. (2006). Ingreso y evolución del parasitismo por *Melophagus ovinus* en una majada Corriedale en el noroeste de la Patagonia Argentina. *Parasitologia Latinoamericana*, 61(1–2), 86–89.
<https://doi.org/10.4067/s0717-77122006000100013>
- Ortiz-Urquiza, A., & Keyhani, N. O. (2016). Molecular Genetics of *Beauveria bassiana* Infection of Insects. In B. Lovett & R. J. St. Leger (Eds.), *Advances in Genetics* (Vol. 94, pp. 165–249). Springer. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.11.003>
- Pedrini, N. (2018). Molecular interactions between entomopathogenic fungi (Hypocreales) and their insect host: Perspectives from stressful cuticle and hemolymph battlefields and the potential of dual RNA sequencing for future studies. *Fungal Biology*, 122(6), 538–545. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.10.003>
- Ramanujam, B., Rangeshwaran, R., Sivakmar, G., Mohan, M., & Yandigeri, M. S. (2014). Management of insect pests by microorganisms. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 80(2), 455–471. <https://doi.org/10.16943/ptinsa/2014/v80i2/3>
- Reeves, W. K., & Lloyd, J. E. (2019). Louse flies, keds, and bat flies (hippoboscoidea). In G. Mullen & L. Durden (Eds.), *Medical and Veterinary Entomology* (pp. 421–438). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00020-0>
- Sabri, M. N. Al, Jahan, M., Gotoh, T., Döker, İ., & Ullah, M. S. (2022). Effect of relative humidity on the efficacy of entomopathogen *Beauveria bassiana*-based mycopesticide against red spider mite *Tetranychus macfarlanei*. *Systematic and Applied Acarology*, 27(12), 2414–2425. <https://doi.org/10.11158/saa.27.12.4>
- Saranraj, P., & Jayaprakash, A. (2017). Agrobeneficial entomopathogenic fungi-*Beauveria bassiana*: a review. *Indo-Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 3(2), 1051–1087.

- Small, R. W. (2005). A review of *Melophagus ovinus* (L.), the sheep ked. *Veterinary Parasitology*, 130(1–2), 141–155. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.03.005>
- Suarez Gómez, H. (2009). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sobre *Sitophilus zeamais* motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) plaga de maíz almacenado. *Intrópica*, 4, 47–53.
- Tofiño Rivera, A. P., Ortega Cuadros, M., Pedraza Claros, B., Perdomo Ayola, S. C., & Moya Romero, D. C. (2018). Effectiveness of *Beauveria bassiana* (Baubassil®) on the common cattle tick *Rhipicephalus microplus* in the Department of Guajira, Colombia. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(4), 426–430. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.005>
- Valbuena, A., Galindo, A., & Boyacá, Y. (2021). Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (balsamo) Vuillemin en el control de la oveja ked (*Melophagus ovinus*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 32(2), e18362. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i2.18362>
- Wang, B., Kang, Q., Lu, Y., Bai, L., & Wang, C. (2012). Unveiling the biosynthetic puzzle of destruxins in *Metarhizium* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(4), 1287–1292. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115983109>
- Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P., & Gong, M. (2021). The Toxins of *Beauveria bassiana* and the Strategies to Improve Their Virulence to Insects. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343>
- Werszko, J., Asman, M., Witecka, J., Steiner-Bogdaszewska, Ż., Szewczyk, T., Kuryło, G., Wilamowski, K., & Karbowski, G. (2021). The role of sheep ked (*Melophagus ovinus*) as potential vector of protozoa and bacterial pathogens. *Scientific Reports*, 11(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94895-x>
- Yari Briones, D. I., Paredes-Valderrama, J. R., Milla Pino, M. E., & Murga Valderrama, N. L. (2021). Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatos en ganado bovino. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 32(5), 1–7. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i5.19586>
- Zeina, G. W., Ahmed, M., Saeed, M., Ziena, L., & Laing, M. (2022). Field evaluation of

Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin isolates for the biocontrol of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini) ticks on cattle. *Experimental Parasitology*, 235, 108215.
<https://doi.org/10.2139/ssrn.4025119>

Zhang, Q., Zhou, Q., Han, S., Li, Y., Wang, Y., & He, H. (2023). The genome of sheep ked (*Melophagus ovinus*) reveals potential mechanisms underlying reproduction and narrower ecological niches. *BMC Genomics*, 24(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s12864-023-09155-1>

ANEXOS

Análisis estadístico de mortalidad

a. ANOVA

Statistix 10,0
17:10:01

19/6/2024;

Completely Randomized AOV for Primera

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	4	14,6667	3,66667	3,24	0,0601
Error	10	11,3333	1,13333		
Total	14	26,0000			

Grand Mean 2,0000 CV 53,23

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,52	0,2694
O'Brien's Test		0,67	0,6246
Brown and Forsythe Test		0,27	0,8912

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Tratam	4,0	4,82	0,0603
Error	4,8		

Component of variance for between groups 0,84444
Effective cell size 3,0

Tratam	Mean	
1	0,3333	
2	1,6667	
3	2,3333	
4	2,3333	
5	3,3333	
Observations per Mean		3
Standard Error of a Mean		0,6146
Std Error (Diff of 2 Means)		0,8692

Completely Randomized AOV for Segunda

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	4	31,0667	7,76667	7,28	0,0052
Error	10	10,6667	1,06667		
Total	14	41,7333			

Grand Mean 2,8667 CV 36,03

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		2,44	0,1152
O'Brien's Test		1,08	0,4147
Brown and Forsythe Test		1,13	0,3981

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Tratam	4,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups 2,23333
Effective cell size 3,0

Tratam Mean

1 0,3333
2 2,6667
3 3,0000
4 3,6667
5 4,6667

Observations per Mean 3
Standard Error of a Mean 0,5963
Std Error (Diff of 2 Means) 0,8433

Completely Randomized AOV for Tercera

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	4	44,9333	11,2333	9,36	0,0021
Error	10	12,0000	1,2000		
Total	14	56,9333			

Grand Mean 3,9333 CV 27,85

Homogeneity of Variances F P

Levene's Test 2,00 0,1705
O'Brien's Test 0,89 0,5050
Brown and Forsythe Test 0,22 0,9219

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Tratam	4,0	21,06	0,0028
Error	4,8		

Component of variance for between groups 3,34444
Effective cell size 3,0

Tratam Mean

1 0,6667
2 4,0000
3 4,3333
4 5,0000
5 5,6667

Observations per Mean 3
Standard Error of a Mean 0,6325
Std Error (Diff of 2 Means) 0,8944

Completely Randomized AOV for Primsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	4	1,20067	0,30017	3,34	0,0555
Error	10	0,89907	0,08991		
Total	14	2,09974			

Grand Mean 1,8330 CV 16,36

Homogeneity of Variances F P

Levene's Test 1,80 0,2058
O'Brien's Test 0,80 0,5524
Brown and Forsythe Test 0,30 0,8743

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
--------	----	---	---

Tratam	4,0	4,34	0,0727
Error	4,8		

Component of variance for between groups	0,07009
Effective cell size	3,0

Tratam	Mean
1	1,3435
2	1,7390
3	1,9543
4	1,9413
5	2,1871
Observations per Mean	3
Standard Error of a Mean	0,1731
Std Error (Diff of 2 Means)	0,2448

Completely Randomized AOV for Segsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	4	2,20000	0,55000	8,29	0,0032
Error	10	0,66354	0,06635		
Total	14	2,86354			

Grand Mean	2,0435	CV	12,61
------------	--------	----	-------

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		2,28	0,1323
O'Brien's Test		1,01	0,4453
Brown and Forsythe Test		0,92	0,4911

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Tratam	4,0	M	M
Error	M		

Component of variance for between groups	0,16122
Effective cell size	3,0

Tratam	Mean
1	1,3435
2	2,0159
3	2,1213
4	2,2552
5	2,4814
Observations per Mean	3
Standard Error of a Mean	0,1487
Std Error (Diff of 2 Means)	0,2103

Completely Randomized AOV for Tercsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratam	4	2,72533	0,68133	11,82	0,0008
Error	10	0,57652	0,05765		
Total	14	3,30185			

Grand Mean	2,2832	CV	10,52
------------	--------	----	-------

Homogeneity of Variances		F	P
Levene's Test		1,52	0,2678
O'Brien's Test		0,68	0,6229
Brown and Forsythe Test		0,15	0,9569

Welch's Test for Mean Differences

Source	DF	F	P
Tratam	4,0	14,45	0,0069
Error	4,8		

Component of variance for between groups 0,20789

Effective cell size 3,0

Tratam Mean

1	1,4623
2	2,3387
3	2,4068
4	2,5328
5	2,6756

Observations per Mean 3

Standard Error of a Mean 0,1386

Std Error (Diff of 2 Means) 0,1960

b. Prueba de Medias

Statistix 10,0

19/6/2024;

17:12:18

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Primera by Tratam**Tratam Mean Homogeneous Groups**

5	3,3333	A
3	2,3333	A
4	2,3333	A
2	1,6667	A
1	0,3333	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,8692

Critical Q Value 6,141 Critical Value for Comparison 3,7746

There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Segunda by Tratam**Tratam Mean Homogeneous Groups**

5	4,6667	A
4	3,6667	AB
3	3,0000	AB
2	2,6667	AB
1	0,3333	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,8433

Critical Q Value 6,141 Critical Value for Comparison 3,6619

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Tercera by Tratam**Tratam Mean Homogeneous Groups**

5	5,6667	A
4	5,0000	A
3	4,3333	AB
2	4,0000	AB
1	0,6667	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,8944
Critical Q Value 6,141 Critical Value for Comparison 3,8840
There are 2 groups (A and B) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Primsq by Tratam

Tratam	Mean	Homogeneous Groups
5	2,1871	A
3	1,9543	A
4	1,9413	A
2	1,7390	A
1	1,3435	A

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,2448
Critical Q Value 6,141 Critical Value for Comparison 1,0631
There are no significant pairwise differences among the means.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Segsq by Tratam

Tratam	Mean	Homogeneous Groups
5	2,4814	A
4	2,2552	AB
3	2,1213	AB
2	2,0159	AB
1	1,3435	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,2103
Critical Q Value 6,141 Critical Value for Comparison 0,9133
There are 2 groups (A and B) in which the means
are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Tercsq by Tratam

Tratam	Mean	Homogeneous Groups
5	2,6756	A
4	2,5328	A
3	2,4068	A
2	2,3387	A
1	1,4623	B

Alpha 0,01 Standard Error for Comparison 0,1960
Critical Q Value 6,141 Critical Value for Comparison 0,8513
There are 2 groups (A and B) in which the means
are not significantly different from one another.



Figura 8. Ovejas donde se colectaron los ectoparásitos



Figura 9. Producto comercial a base de *Beauveria bassiana*



Figura 10. *Pesaje del producto a base de B. bassiana para la preparación de las diluciones*



Figura 11. *Proceso de preparación de las diluciones del biopesticida*



Figura 12. Rotulación de las unidades de cría y aplicación del biopesticida