

Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatos en ganado bovino

Effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the control of ticks in cattle

Danitza I. Yari Briones¹, Juan R. Paredes-Valderrama^{1,2,5}, Manuel Emilio Milla Pino³, Nilton L. Murga Valderrama⁴

RESUMEN

La investigación fue realizada para determinar el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de garrapatos en ganado bovino. Se trabajó con 20 bovinos hembra de raza Fleckvieh distribuidos en cinco tratamientos: T1= grupo control, T2= excipientes (agua + 0.6 ml de surfactante), T3= 1.2×10^7 conidias (80 g de hongo + 0.2 ml surfactante), T4= 2.4×10^7 conidias (160 g de hongo + 0.4 ml de surfactante), T5 = 3.6×10^7 conidias (240 g de hongo + 0.6 ml de surfactante). El hongo fue lavado con agua y surfactante, con el fin de desprenderlas del sustrato para luego ser aplicado a los bovinos por medio de aspersión por gota gruesa. El conteo de garrapatos se realizó en seis zonas (tabla del cuello, entrepierna, axila) los días 0 (antes del tratamiento), 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11 y 14. La disminución significativa en el número de garrapatos se observó a partir del día 7 en T3, T4, T5. La disminución de garrapatos en el día 14 fue de 99% en T5, mientras que en T3 y T4 fue de 91 y 82%, respectivamente.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, biocontrolador, bovinos, garrapatos, hongo entomopatógeno

¹ Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú

² Unidad de Investigación, Producción Agropecuaria, Instituto de Educación Superior Tecnológico Público Mache, La Libertad, Perú

³ Facultad de Ingeniería Civil, Universidad Nacional de Jaén, Cajamarca, Perú

⁴ Instituto de Investigación en Ganadería y Biotecnología, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, Amazonas, Perú

⁵ E-mail: juanparedes1912@hotmail.com

Recibido: 2 de febrero de 2021

Aceptado para publicación: 1 de agosto de 2021

Publicado: 27 de octubre de 2021

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

This study was carried out to determine the effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the control of ticks in cattle. In total, 20 Fleckvieh female cattle were distributed in five treatments: T1 = control group, T2 = excipients (water + 0.6 ml of surfactant), T3 = 1.2×10^7 conidia (80 g of fungus + 0.2 ml surfactant), T4 = 2.4×10^7 conidia (160 g of fungus + 0.4 ml of surfactant), T5 = 3.6×10^7 conidia (240 g of fungus + 0.6 ml of surfactant). The fungus was washed with water and surfactant to detach them from the substrate and then applied to the cattle by thick-drop spraying. The tick count was performed in six areas (neck table, groin, armpit) on days 0 (before treatment), 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11 and 14. The significant decrease in the number of ticks were observed from day 7 on T3, T4, T5. The decrease in ticks on day 14 was 99% in T5, while in T3 and T4 it was 91 and 82%, respectively.

Key words: *Beauveria bassiana*, biocontroller, cattle, tick infestation, entomopathogenic fungus

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que afronta la ganadería actual es la resistencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a la mayoría de acaricidas químicos como deltametrina, fipronil y lactonas macrocíclicas; siendo inevitable que dicha resistencia aumente con el tiempo (Shyma *et al.*, 2015; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2018). Por otro lado, la contaminación al medio ambiente y productos pecuarios a causa de residuos farmacológicos de uso veterinario se convierte en un factor preocupante y punto de partida en la búsqueda de nuevas fuentes inocuas en el control y tratamiento de parásitos (FAO, 1991).

Diversos estudios salieron a la luz como alternativas para hacer frente a este parásito mediante el uso de aceites esenciales provenientes de plantas (Vinturelle *et al.*, 2017; Castro *et al.*, 2018). Entre estos, los biocontroladores a base de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* tomaron mucha relevancia en estudios *in vitro*, ya que puede provocar, con una concentración

de 5×10^9 conidias/ml, la muerte de todas las fases larvianas a los 18 días (Barci *et al.*, 2009); asimismo las garrapatas altamente resistentes a los principales productos químicos presentan alta mortalidad y reducción de la ovoposición a una concentración de 1×10^8 conidios/ml (Soracá *et al.*, 2019). Por otro lado, estudios de toxicidad de *B. bassiana* en ratones demostraron su inocuidad a nivel respiratorio, ocular, sistémica y dérmica; lo que podría indicar una acción similar en humanos y animales domésticos (Tapias y Dussán, 2000; Perfetti *et al.*, 2015).

Al existir escasas investigaciones de *B. bassiana* en animales domésticos parasitados con *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, sumado a la problemática de la resistencia farmacológica y uso indebido de esto, se requiere evaluar nuevas opciones de tratamiento y control efectivos que sean inocuas para animales, seres humanos y medio ambiente. Ante esto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del hongo *B. bassiana* en el control de garrapatoxis en ganado bovino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Estudio

El ensayo fue llevado a cabo en enero de 2018 en un hato ganadero ubicado en el distrito de Huambo, provincia Rodríguez de Mendoza, departamento Amazonas, situado al norte del Perú y a una altitud es de 1699 msnm. La zona presenta una precipitación pluvial anual 876 mm, con temperatura ambiental promedio de 19.2 °C y humedad del 80.6%. El hato se ubica en un área donde no se observaron enjambres de abejas o zonas de producción apícola a menos de 500 m a partir de los límites de la propiedad, con el fin de evitar efectos adversos a estos polinizadores benéficos (Delgado y Murcia-Ordoñez, 2011).

Animales

Se seleccionaron 20 bovinos hembra Fleckvieh de crianza extensiva, con edades entre los 3 y 8 años (según cronometría dentaria) y peso vivo mayor a 300 kg. Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en cinco tratamientos de cuatro animales cada uno: T1 (grupo control), T2 (excipientes), T3 (1.2×10^7 conidias), T4 (2.4×10^7 conidias) y T5 (3.6×10^7 conidias). El régimen alimentario estuvo constituido por grama azul (*Poa pratensis*), king grass (híbrido *Pennisetum purpureum*), pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) y pasto brachiaria (*Brachiaria humidicola*).

Los animales estaban aparentemente sanos, con condición corporal (CC) >3.5 y sin baños medicados los 30 días previos al inicio el estudio. Para el conteo de garrapatas se siguió el mismo procedimiento de Gálvez *et al.* (2017). Para ello cada animal debía presentar un mínimo de 20 garrapatas; con un tamaño >4 mm para ser considerado en el estudio. El número de garrapatas *Rhicephalus (Boophilus) microplus*, se visualizó en un área de 20 cm² (10 x 2 cm) en seis zonas específicas: tabla del cuello, ingles

(entrepiernas) y axilas por ambos lados del cuerpo. Las áreas corporales evaluadas fueron delimitadas con un crayón a fin de evitar sesgos en el conteo.

Conidias

Las suspensiones se prepararon a partir de sustrato de maíz impregnado con el hongo *Beauveria bassiana* (Beauvesol®, concentración: 3×10^9 conidias/g). El hongo fue preparado con un surfactante, el cual cumple un papel protector, ayudando al desprendimiento del hongo del sustrato y mejorando homogeneidad del preparado (Monzón, 2001). El T2 estuvo conformado solo por esta sustancia con el fin de corroborar que la acción antiparasitaria no estuvo mediada por este.

Las suspensiones se prepararon de la siguiente manera:

- T1: agua destilada,
- T2: 0.6 ml de surfactante + 19.4 L de agua destilada.
- T3: 100 ml de agua en una cubeta + 0.1 ml de surfactante + 80 g del producto (sustrato + hongo), luego del cual se homogenizó cuidadosamente para desprender las conidias del maíz. El resultado fue filtrado en una malla tupida para evitar el taponamiento de la bomba al momento de la aplicación a los animales. El residuo de la malla fue lavado con la misma cantidad de agua y filtrado las veces necesarias hasta que el maíz obtuviese su color y estado natural, para finalmente agregar otro 0.1 ml de surfactante. Luego, todo el filtrado fue vertido en una bomba de fumigar de uso agrícola y rellenado con agua hasta alcanzar los 20 L.
- T4: Similar a T3, pero se utilizó en cada lavado 200 ml de agua + 0.2 ml de surfactante en el primer lavado, añadiendo luego 160 g del producto. Una vez que el maíz adquirió su característica física normal se agregó 0.2 ml de surfactante. Luego el filtrado fue vertido en la bomba de fumigar como en T3.

- T5. Similar a T3, pero esta vez se añadió 240 g del producto con 0.3 ml al inicio y 0.3 ml al final de surfactante, utilizándose en cada lavado 300 ml de agua (Monzón, 2001).

En todo el proceso se mantuvo el pH del agua entre 4 y 6, utilizando para ello ácido láctico y tiras de pH.

Aplicación y Evaluación

Las aplicaciones se realizaron el mismo día de la preparación. Se utilizó 5 L de la suspensión por medio de fumigación para cada bovino. La bomba mochila de uso agrícola fue graduada para eliminar gota gruesa, agitando constantemente para evitar la sedimentación. El proceso fue llevado a cabo entre las 16:00 y 17:00 h para impedir el daño del hongo a causa de la sobreexposición a los rayos ultravioleta del sol (Meyling y Eilenberg, 2007). Se evaluó el efecto de los tratamientos mediante conteo de garrapatas en el día 0 (antes del tratamiento) y los días 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11 y 14 después del tratamiento.

Análisis Estadístico

Se utilizaron las pruebas de homogeneidad de varianza de Levene y Kruskal-Wallis. Para evaluar las diferencias entre los tratamientos de estudio y días de observación se empleó la prueba *post hoc* de Tukey, considerándose diferencia estadística cuando el valor es $p < 0.05$. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics v. 25.0.

Aspectos Éticos

El estudio fue aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Durante todo el trabajo de investigación se salvaguardó la salud e integridad de los animales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El uso de hongos entomopatógenos representa una buena alternativa en el manejo y control de organismos vectores de enfermedades a humanos y animales, reduciendo el uso de químicos perjudiciales para el medio ambiente (García *et al.*, 2011). *Beauveria bassiana* es uno de los micoparásitos con más uso a nivel mundial para su aplicación por medio inundativo o inoculativo encontrándose disponible en diversas presentaciones comerciales (Samish *et al.*, 2004; Faria y Wraight, 2007). Tiene la propiedad de perforar la capa de quitina y actuar dentro del artrópodo formando metabolitos como la bassianina (Téllez-Jurado *et al.*, 2009).

La disminución del número de garrapatas fue mínima en T1 y T2. Sin embargo, a partir del día 7 del tratamiento los grupos T3, T4 y T5 presentaron un valor *p* altamente significativo en la reducción del número de garrapatas. En el día 14, algunas vacas de T5 presentaron cero garrapatas (Cuadro 1). Este resultado es similar a lo encontrado por Fernández y Jaime (2006) quienes evaluaron la efectividad de *B. bassiana* en toretes y vaquillas con un número mayor de conidias (8.45×10^7 conidias/ml) estimándose la CL_{50} 434 ppm (mg/l). Las mayores mortalidades de garrapatas se pudieron observar en el estudio de Delgadillo Romero *et al.* (2003) a los 8 días de la aplicación donde se utilizó la Cepa 114 a una concentración de 4×10^{11} en bovinos con diferentes grados de infestación. Dicho ello, la mortalidad en el mismo periodo de tiempo también fue evidenciado en el presente estudio. Cabe mencionar que hubo casos donde el número de garrapatas aumentaba (T5 del día 1 al 2), lo cual también fue considerado dentro del análisis.

En T5 el porcentaje de disminución del número de garrapatas hasta el día 14 post-tratamiento, fue de 99%, seguido del T4 y T3 con 91 y 82%, respectivamente. De otra parte,

Cuadro 1. Número promedio de garrapatas *Rhipicephalus microplus* según los grupos de estudio y días post tratamiento (cuatro bovinos por tratamiento)

Grupo	Promedio de garrapatas post tratamiento (media \pm DE)								
	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 14
T1	32.00	32.00	30.25	28.00	27.25	24.75	23.75	23.75	25.75
	± 2.16	± 2.16	± 4.65	± 4.54	± 3.30	± 5.85	± 5.32	± 5.32	± 4.57
T2	26.75	26.75	26.00	25.00	25.00	24.25	24.00	23.75	22.25
	± 4.92	± 4.92	± 5.35	± 4.97	± 4.97	± 5.85	± 6.98	± 7.41	± 9.71
T3	33.25	28.50	24.50	23.00	22.50	16.00	10.25	8.00	5.75
	± 6.80	± 12.4	± 14.25	± 10.89	± 10.25	$\pm 7.35^a$	$\pm 8.66^a$	$\pm 5.72^a$	$\pm 4.99^a$
T4	24.00	17.00	13.50	13.50	13.50	8.75	7.50	5.25	3.00
	± 5.35	± 5.23	± 2.38	± 8.89	± 8.89	$\pm 3.30^a$	$\pm 5.07^a$	$\pm 3.86^a$	$\pm 2.94^a$
T5	28.50	19.75	20.25	12.75	12.75	7.25	2.75	2.50	0.25
	± 8.18	± 7.46	± 6.50	± 5.56	± 5.56	$\pm 6.13^a$	$\pm 2.07^a$	$\pm 1.92^a$	$\pm 0.50^a$
Valor p^*	0.238	0.071	0.092	0.036	0.038	0.01	0.007	0.007	0.004

T1= grupo control; T2= excipientes (agua + 0.6 ml de surfactante); T3= 1.2×10^7 conidias (80 g de hongo + 0.2 ml surfactante); T4= 2.4×10^7 conidias (160 g de hongo + 0.4 ml de surfactante); T5 = 3.6×10^7 conidias (240 g de hongo + 0.6 ml de surfactante)

*= prueba kruskal-Wallis, significancia de <0.05 ; ^a = Prueba *post hoc* de Tukey

en T1 y T2 no se sobrepasó el 30% de reducción (Figura 1). El efecto de *B. bassiana* puede ser comparable con otros hongos entomopatógenos, como *Verticillium lecanii* que en vacas de producción, a una concentración de 10^9 esporas/ml, logró más del 90% de mortalidad parasitaria a los 21 días del tratamiento (Pérez, 2007). De otra parte, *Metarhizium anisopliae* presentó menor efecto patogénico (Gálvez *et al.*, 2017).

El efecto de los hongos entomopatógenos depende de factores tales como la virulencia de la cepa, resistencia a factores ambientales como los rayos ultravioleta o temperatura, y la respuesta inmune de las garrapatas ante estos hongos (Fernández *et al.*, 2012). Se tiene evidencia que la luz ultravioleta disminuye el poder germinativo de *B. bassiana* a los 10-30 minutos de la exposición (Echeverría-Beirute, 2006). La

humedad relativa y los residuos de insecticidas en el ambiente también intervienen en la viabilidad del hongo para poder infectar al artrópodo (Meyling y Eilenberg, 2007); factores que deben tenerse en cuenta cuando se realiza el estudio.

CONCLUSIONES

- El hongo *Beauveria bassiana*, a partir del día 7 pos-aplicación tiene mayor efecto en el control de las garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.
- El número de garrapatas a una concentración de 3.6×10^7 conidias se reduce hasta en un 99% a los 14 días, mientras que en concentraciones de 1.2×10^7 y 2.4×10^7 conidias se logró reducir el 91 y 82%, respectivamente.

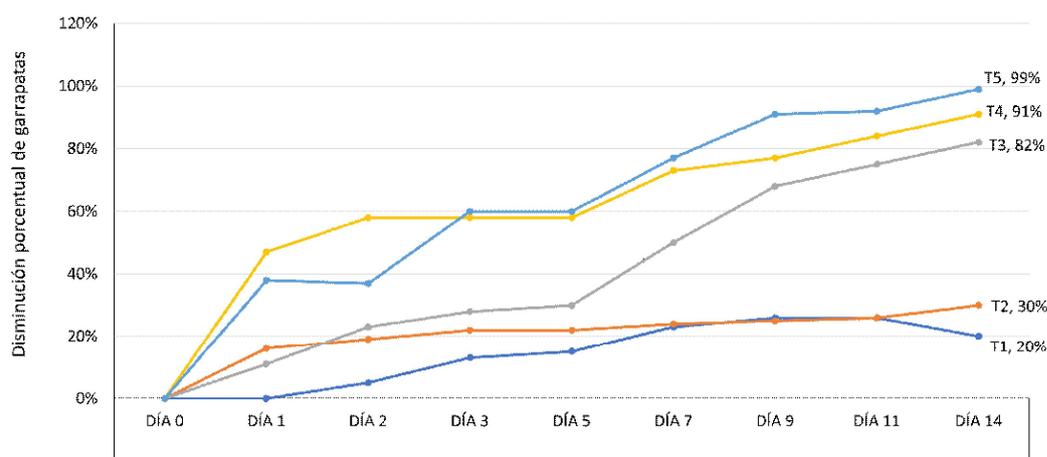


Figura 1. Porcentaje de disminución en el número de garrapatas en bovinos (n=4 por tratamiento) por efecto del hongo *Beauveria bassiana*. T1= grupo control; T2= excipientes (agua + 0.6 ml de surfactante); T3= 1.2×10^7 conidias (80 g de hongo + 0.2 ml surfactante); T4= 2.4×10^7 conidias (160 g de hongo + 0.4 ml de surfactante); T5 = 3.6×10^7 conidias (240 g de hongo + 0.6 ml de surfactante)

LITERATURA CITADA

1. **Barci LA, de Almeida JEM, de Campos Noriega AH, do Prado AP. 2009.** Determinação da CL90 e TL90 do isolado IBCB66 de *Beauveria bassiana* (Ascomycetes: Clavicipitaceae) para o controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). Rev Bras Parasitol Vet 18: 34-39. doi: 10.4322/rbpv.018e1006
2. **Castro KN, Canuto K, Brito E, Costa-Júnior L, Andrade I, Magalhães J, Barros DM, et al. 2018.** In vitro efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev Bras Parasitol V 27: 203-210. doi: 10.1590/s1984-296120180015
3. **Delgadillo Romero OM, Gómez Ramírez MA, Jiménez Lagos CA. 2003.** Evaluación del hongo entomopatógeno *Beauveria Bassiana* para la regulación de las poblaciones de garrapatas (*Boophilus microplus*) del ganado bovino en la Hacienda La Esperanza Municipio Mina El Limón del Departamento de León. Tesis de Ingeniero en Agroecología Tropical. León, Nicaragua: Univ. Nacional Autónoma de Nicaragua. 42 p.
4. **Delgado PA, Murcia-Ordoñez B. 2011.** Entomopatogenic fungi as an alternative for biological pest control. IJRSAS 6(6). doi: 10.20431/2454-6224-0606001
5. **Echeverría-Beirute F. 2006.** Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (bálsamo) Vullemin. Tesis de Ingeniería en Biotecnología. Cartago: Instituto Tecnológico de Costa Rica. 92 p.
6. **Faria MR, de Wraight SP. 2007.** Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biol Control 43: 237-256. doi: 10.1016/j.biocontrol.2007-08.001

7. [FAO] *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*. 1991. Directrices para reforzar los servicios de sanidad animal en los países en desarrollo. Roma: FAO. Serie de Informes Técnicos. [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/U2200S/U2200S00.htm>
8. **Fernandes ÉK, Bittencourt VR, Roberts DW**. 2012. Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Exp Parasitol* 130: 300-305. doi: 10.1016/j.exppara.2011.11.004
9. **Fernández T, Jaime A**. 2006. Evaluación de la eficiencia del control de garrapatas (*Boophilus microplus*) con tres frecuencias de aplicación de BAZAM® (*Beauveria bassiana*). Tesis de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana. 22 p.
10. **Gálvez AB, Segura RP, Gómez-Vázquez A**. 2017. Control biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* con hongos entomopatógenos. *CIBA* 6: 33-62. doi: 10.23913/ciba.v6i12.68
11. **García MA, García SC, Gordillo JM, Martínez RF**. 2011. Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico. *DACB* 6: 25-29.
12. **Meyling NV, Eilenberg J**. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Bio Control* 43: 145-155. doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.07.007
13. **Monzón A**. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas* 63: 95-103.
14. **Pérez León JM**. 2007. Efecto de diferentes medios biológicos en el control de las garrapatas de bovinos. Tesis de Maestría. La Habana, Cuba: Ministerio de Educación Superior Estación Experimental de Pastos y Forrajes. 60 p.
15. **Perfetti DC, Quintero MA, Moreno PM**. 2015. Evaluación de la patogenicidad inhalatoria del micoinsecticida *Beauveria bassiana* LF14 en ratones. *Rev Inv Vet Perú* 26: 565-576. doi: 10.15381/rivep.v26i4.11213
16. **Rodríguez-Vivas RI, Jonsson NN, Bhushan C**. 2018. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol Res* 117: 3-29. doi: 10.1007/s00436-017-5677-6
17. **Samish M, Ginsberg H, Glazer I**. 2005. Biological control of ticks. *Parasitology* 129: 389-403. doi: 10.1017/S0031182004005219
18. **Shyma KP, Gupta JP, Singh V, Patel KK**. 2015. *In vitro* detection of acaricidal resistance status of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* against commercial preparation of deltamethrin, flumethrin, and fipronil from North Gujarat, India. *J Parasitol Res*. 2015: 506586. doi: 10.1155/2015/506586
19. **Soracá AM, Medellín MO, Corredor DJ**. 2019. Efecto de *Beauveria bassiana* (ascomycota) en el control de *Rhipicephalus microplus* (arachnida: ixodida, ixodidae) resistente a ixodicidas. *REV Cient-Fac Cien V* 28: 331-336.
20. **Tapias SI, Dussán J**. 2000. Evaluación del grado de seguridad del hongo *Beauveria bassiana* utilizado para el control biológico de insectos plaga. *Rev Actualidades Biológicas* 22: 17-27.
21. **Téllez-Jurado A, Cruz Ramírez MG, Mercado Flores Y, Asaff Torres A, Arana-Cuenca A**. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Rev Mex Micol* 30: 73-80.
22. **Vinturelle R, Mattos C, Meloni J, Nogueira J, Nunes MJ, Vaz IS Jr, Rocha L, et al**. *In vitro* evaluation of essential oils derived from *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Citrus limonum* (Rutaceae) against the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Biochem Res Int* 2017: 5342947. doi: 10.1155/2017/5342947.