

<https://doi.org/10.69639/arandu.v12i3.1298>

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

Evaluation of the in vitro efecto of Beauveria bassiana in the control of Melophagus ovinus (Diptera: Hippoboscidae)

Isabel Cristina López Villacis

ic.lopez@uta.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0003-4325-568X>

Universidad Técnica de Ambato
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Ecuador – Ambato

Johanna Lisette Córdova Córdova

johannalissette99@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0001-6665-2429>

Universidad Técnica de Ambato
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Ecuador – Ambato

Sirli Lilig Leython Chacón

sll.leython@uta.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-9879-3306>

Universidad Técnica de Ambato
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Ecuador – Ambato

Rita Cumandá Santana Mayorga

rc.santana@uta.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0001-7026-2047>

Universidad Técnica de Ambato
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Ecuador – Ambato

Artículo recibido: 18 junio 2025 - Aceptado para publicación: 28 julio 2025
Conflictos de intereses: Ninguno que declarar.

RESUMEN

Melophagus ovinus es un ectoparásito de ovejas que produce pérdida de peso, anemia, con reducción del crecimiento de su lana, provocando un impacto económico y reducción en la producción de carne, leche y lana de las ovejas. De tal manera el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto *in vitro* de *Beauveria bassiana* en el control de *Melophagus ovinus*, para ello se probó el efecto de cuatro dosis del bioplaguicida ($T_1= 1,0 \times 10^5$ esporas/ml; $T_2= 1,0 \times 10^6$ esporas/ml; $T_3= 1,0 \times 10^7$ esporas/ml; $T_4= 1,0 \times 10^8$ esporas/ml, como testigo se usó agua destilada) sobre el porcentaje de mortalidad de hembras adultas de *M. ovinus*. También se calculó la DL_{50} mediante análisis Probit, donde mostró un valor de DL_{50} de 1.47×10^5 conidios/ml. La tasa de mortalidad fue dependiente de la concentración de *B. bassiana*, alcanzó 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. 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: ectoparásito, oveja, control biológico

ABSTRACT

Melophagus ovinus is a sheep's ectoparasite that causes weight loss, anemia, with reduced wool growth, causing an economic impact and a reduction in meat, milk, and wool production. For this reason, the objective of this research was to evaluate the in vitro effect of *Beauveria bassiana* in the control of *Melophagus ovinus*, for this purpose the effect of four doses of the biopesticide ($T_1=1.0 \times 10^5$ spores/ml; $T_2=1.0 \times 10^6$ spores/ml; $T_3=1.0 \times 10^7$ spores/ml; $T_4=1.0 \times 10^8$ spores/ml, distilled water was used as a control) on the mortality percentage of adult females of *M. ovinus* was tested. The LD_{50} was also calculated by Probit analysis, where it showed an LD_{50} value of 1.47×10^5 conidia/ml. The mortality rate was dependent on the concentration of *B. bassiana*, reaching 55.56% at 120 h after the application of the highest dose, which was 50% higher than the mortality observed with the lowest dose, and 90% higher than the control treatment. Topical application of *B. bassiana* suspensions could be an alternative control for *M. ovinus*; however, in vivo evaluations of applications are needed to determine their effect on sheep.

Keywords: ectoparasite, sheep, biological control

Todo el contenido de la Revista Científica Internacional Arandu UTIC publicado en este sitio está disponible bajo licencia Creative Commons Attribution 4.0 International. 

INTRODUCCIÓN

La Familia Hippoboscidae es considerada como dípteros ectoparásitos permanentes, obligados, por lo general se alimentan de sangre de aves o de mamíferos, las hembras pueden retener sus huevos y una vez formadas las larvas salen del cuerpo de la madre formándose inmediatamente la pupa (Casco et al., 2020).

Estas moscas presentan un aparato bucal muy similar al de las moscas que pertenecen a la familia Glossimidae, los cuales poseen una proboscis perforadora, provista de un área sensorial en el extremo que les permite detectar el lugar de alimentación más apropiado, rodeada de dos palpos maxilares esclerotizados y está dotada de elementos cortantes que le permiten romper la piel del hospedero (Andreani et al., 2019).

Las especies de la familia Hippoboscidae, son ectoparásitos de algunos animales domésticos y, ocasionalmente, pueden causar daño directo en los humanos por la succión de sangre y también daños indirectos por la inyección de toxinas y microorganismos patógenos que puede conducir a una pérdida permanente de sangre y a la emaciación animal, reducción de la producción de lana y leche, daño en la lana causado por la presencia de heces del parásito, entre otros (Oboña et al., 2019).

El género *Melophagus* es probablemente el grupo más especializado de la familia Hippoboscidae, cuyos adultos emergen del pupario con músculos de vuelo rudimentarios atrofiados debido a que las alas anteriores son vestigiales y no son funcionales (Dick, 2018). Su alimentación produce pérdida de peso, ansiedad, anemia y la reducción del crecimiento de la lana, provocando un impacto económico debido a la reducción en la producción de carne, leche y lana de las ovejas, además provoca daños secundarios por las infecciones microbiológica por abrasión de la piel de la oveja (Casco et al., 2020).

Según Werszko et al. (2021), *M. ovinus* es responsable de la transmisión de varias especies 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.

Debido al impacto provocado por el *M. ovinus* en la producción de ovinos, se han probado diferentes técnicas de control, es así que Alvarez et al. (2007) evaluaron la eficiencia de los baños de inmersión dos endectocidas en un grupo de 200 ovinos esquilados en los que se realizaron mediciones seriadas de morbilidad y, además, cuantificaron el número de ectoparásitos, observando diferencias en el número de parásitos al día 56 en animales sometidos a baños por inmersión, donde se alcanzó una disminución del 100% desde el día 7 hasta el día 56 postratamiento, provocando la disminución de morbilidad de los grupos bañados, disminuyó a 0% desde el día 7 hasta el término del ensayo.

En los últimos años, se han encontrado otras alternativas que son más sustentables, como por ejemplo el uso de agentes entomopatógenos que han mostrado ser efectivas en diferentes

especies de ectoparásitos, sin embargo, hasta la fecha, la información sobre su potencialidad para el control en *M. ovinus* ha sido escasa. Valbuena Puentes et al. (2021) evaluaron el efecto del hongo *Beauveria bassiana* en el control de *M. ovinus* en ovejas adultas Hampshire cruzadas, naturalmente infestadas, las cuales fueron tratadas por aspersión con 3.2×10^8 conidios/ml con un control de hasta un 90% de efectividad a partir del día 14.

Estrada & Ojeda (2017) evaluaron el efecto de tres diferentes concentraciones (10^6 , 10^7 y 10^8 conidiosporas/ml) del hongo entomopatógeno *B. bassiana* sobre el porcentaje de mortalidad por micosis y el TL₅₀ en huevos, larvas y pupas de *Diatraea saccharalis*, en larvas la tercera concentración de *B. bassiana* resultó el más agresivo en el segundo y tercer estadio larval de *D. saccharalis* porque manifestó un TL₅₀ igual a 2.9 días; en huevos se presentó una resistencia debido a la estructura del corión que varía entre los diferentes insectos, en las crisálidas provocó el 100% de mortalidad por micosis, el autor menciona que es importante realizar más investigaciones sobre *B. bassiana* para determinar la patogenicidad de este microorganismo en plagas de los cultivos.

Adicionalmente, varios estudios sobre el control de garrapatas se han realizado en diferentes países. En Sudáfrica se probaron formulaciones a base del hongo entomopatógeno *B. bassiana* bajo condiciones de campo contra adultos de garrapata de los bovinos, *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) a concentración del 108 conidios (ml mezclado con aceite de aguacate al 10% más 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, observándose que la mortalidad varió entre el 13 al 38%, además de una reducción de la masa de huevos, el índice nutricional y la eficiencia reproductiva (Martínez-García et al., 2023).

Con base en estos antecedentes, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto in vitro de diferentes concentraciones de *B. bassiana* en el control de *M. ovinus* para ofrecer alternativas que sean eficaces para el control de este ectoparásito de una forma segura y además respetuosa con el medio ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue realizada en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato (Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua), bajo condiciones de temperatura ambiental ($18.0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1.7$) y $64.0 \% \pm 5.7$ de humedad relativa.

Se evaluó el efecto in vitro de cuatro concentraciones de *B. bassiana* ($1,0 \times 10^5$; $1,0 \times 10^6$; $1,0 \times 10^7$ y $1,0 \times 10^8$ esporas/ml) sobre la tasa de mortalidad de hembras de *M. ovinus* a las 120, 144 y 168 horas posterior de la aplicación. Se utilizó agua destilada como tratamiento testigo. La mortalidad de las hembras de *M. ovinus* fue evaluada. Cada tratamiento fue replicado 10 veces y

cada repetición estuvo conformada por una hembra de *M. ovinus*. El ensayo fue repetido tres veces en diferentes ocasiones y los datos fueron agrupados para convalidar los resultados.

Además, se calculó la dosis letal media (DL₅₀), considerada como la dosis de una sustancia o radiación que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba, cuyos valores son usados como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia (Ruiz-González et al., 2018). La DL₅₀ se calculó mediante el análisis Probit, se observó el efecto de las concentraciones de *B. bassiana* sobre la mortalidad de *M. ovinus*.

Recolección e identificación del ectoparásito

Las hembras adultas de *M. ovinus* fueron obtenidas a partir de ovejas mantenidas en sistemas de cría traspatio en el Cantón Cevallos y Ambato. Las muestras fueron recolectadas en recipientes plásticos transparentes en cuya base se colocó algodón humedecido con agua y luego fueron transportadas al Laboratorio de Entomología.

Una vez en el laboratorio, las muestras de *M. ovinus* fueron revisadas bajo aumento de la lupa estereoscópica para asegurar la identificación de la especie basándose en los caracteres morfológicos señalados por Borja et al. (2022), mencionan que *M. ovinus* es un insecto con cuerpo aplanado dorsoventralmente de color marrón, cubierto por numerosas setas; ojos compuestos pequeños, con pocos omatidios y antenas inmóviles pequeñas ubicadas en fosas antenales profundas; son ápteros; cabeza hundida y con segmentos gnatales de tipo prognato; posee un tegmento abdominal suave y flexible que permite la distensión durante su alimentación y en el desarrollo larvario en las hembras. Posee seis patas, son muy fuertes y tienen garras en el pretarso.

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

Se usó una cepa comercial (BeauvericMR) para determinar la efectividad de *B. bassiana* sobre la tasa de mortalidad de hebras de *M. ovinus*. El producto comercial fue disuelto en agua destilada más Tween 80 al 0.1% para preparar una solución madre y se contabilizó el número total de conidios por mililitro colocando 1ml de la suspensión en la cámara de Neubauer, el cálculo se realizó con la siguiente fórmula:

$$N^{\circ} \text{ de conidios} = N^{\circ} \text{ de conidios contabilizados} \times 25000 \times \text{Factor de dilución}$$
 (Cañedo & Ames, 2004).

Adicionalmente, el hongo fue cultivado en agar Sabouraud en cajas Petri, usando la técnica de estría por agotamiento e incubado a 30°C y 80% HR durante 72h. Posteriormente, se identificó el hongo mediante la tinción de lactofenol para observación de sus características morfológicas al microscopio óptico (Leica) según el Manual de Hongos Entomopatógenos (Cañedo & Ames, 2004).

La tasa de mortalidad de *M. ovinus* fue evaluada a las 120, 144 y 168 horas después de la aplicación, se consideraron muertas las hembras que no mostraron ninguna reacción al tener contacto con un pincel superfino 000.

Análisis estadístico

El experimento fue conducido con un diseño completamente aleatorizado. Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza y aquellas variables que mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) fueron comparadas mediante la prueba de medias según Tukey usando el paquete Statistix versión 10.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de la especie

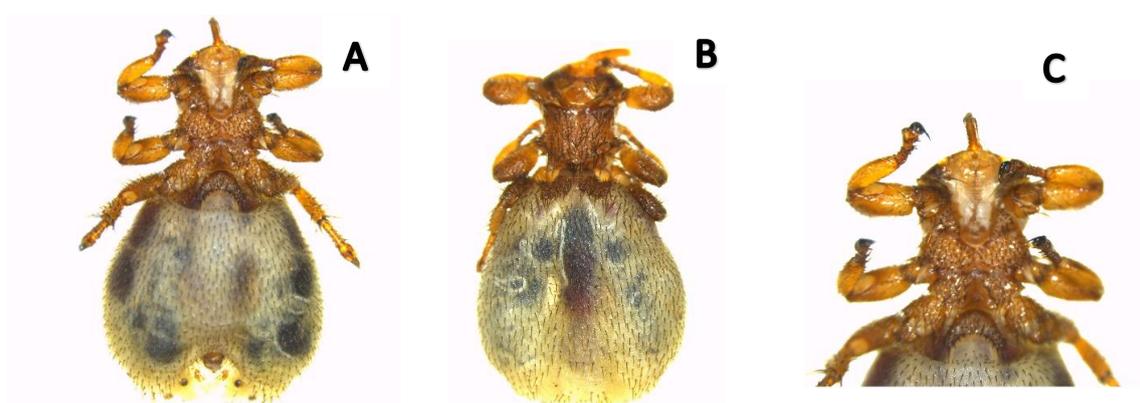
Las muestras de *M. ovinus* presentan un cuerpo aplanado dorsoventral, robusto, redondeado, de color marrón y cubierto de numerosas setas; cabeza moderadamente reducida, con antenas cortas dentro de fosetas antenales, posee ojos compuestos pequeños con pocos omatidios, tiene una mandíbula ancha, tres pares de patas fuertes, terminando en un par de uñas en forma de gancho; el tegumento abdominal es suave y flexible que permite la distensión durante su alimentación y el desarrollo larvario en las hembras (figura 1) (Sánchez et al., 2024).

Según Zhao et al. (2018), *M. ovinus* puede llegar a medir de 4 a 6mm de largo, posee cerdas densas en su superficie y tres pares de patas con garras en el pretarso; con un abdomen ovalado o redondo y el ano se ubica en la mitad posterior de su placa anal; el abdomen de *M. ovinus* difiere según el sexo, siendo amplio, redondo e invaginado en el dorso en la hembra, mientras que en el macho es más pequeño, redondo y con relieve en el dorso (Litov et al., 2021). Adicionalmente, (Yevstafyeva et al., 2017) señalan que el aparato bucal de *M. ovinus* es prognato, de tipo perforador-succionador compuesto por: el rostro formado por el clípeo, el gaustelo conformado por el prementum (labio), la hipofaringe, el labro, el labelo y los palpos maxilares.

Este apartado es optativo: cuando el autor o los autores lleguen a responder sus preguntas de investigación u objetivos y discutan lo sugerido en el apartado anterior referente a la Discusión, el apartado “Conclusiones” no será necesario.

Figura 1

Vista dorsal de una hembra de *Melophagus ovinus* (A). Vista ventral de *M. ovinus* (B). Cabeza y tórax de *M. ovinus*



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

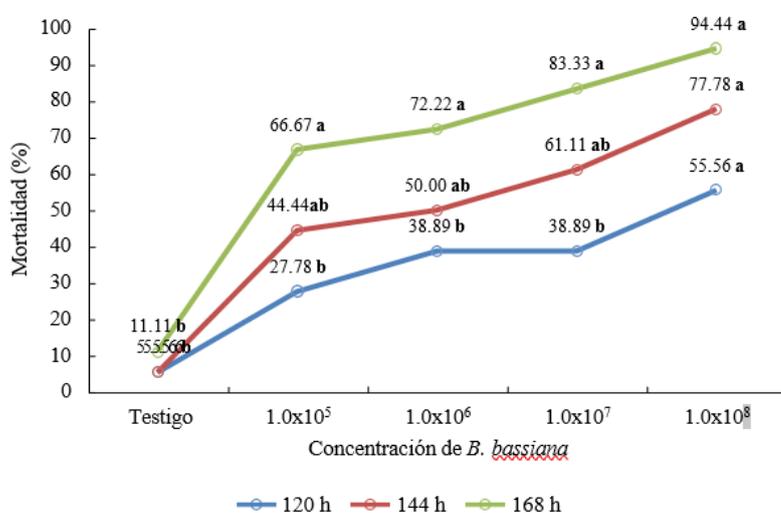
Los ensayos in vitro demostraron el efecto de las diferentes concentraciones del bioplaguicida a base de *Beauveria bassiana* sobre el porcentaje de mortalidad del ectoparásito *Melophagus ovinus* después de las 120, 144 y 168 horas de aplicación (Figura 2). Así, la tasa de mortalidad fue dependiente de la concentración de *B. bassiana*, observándose un incremento significativo de la mortalidad de *M. ovinus* con el aumento de la concentración usada del bioplaguicida. Después de 120 horas de la aplicación se observó un incremento en la tasa de mortalidad a medida que aumentó la concentración de *B. bassiana*, alcanzando un 55.56% en la dosis más alta (1×10^8 conidios/ml), siendo este resultado 50% superior a la mortalidad observada con la menor dosis (1×10^5 conidios/ml) y un 90% superior con relación al testigo.

De igual manera, transcurrida las 144 horas después de la aplicación, se pudo observar un incremento en la mortalidad en función a la concentración, logrando demostrar que solo el 44% de las hembras de *M. ovinus* murieron por la aplicación de las concentraciones intermedias (1×10^6 y 1×10^7 conidios/ml), respecto a la aplicación de la máxima concentración (1×10^8 conidios/ml), la cual alcanzó el 77.78% de mortalidad. Este valor fue 92.9% mayor que la mortalidad obtenida con el tratamiento testigo.

Finalmente, transcurridas las 168 horas después de la aplicación de *B. bassiana* se obtuvieron las tasas máximas de mortalidad, teniendo una variación desde el 66.67% hasta el 94.44%, a su vez se demostró que el incremento de la efectividad de la dosis más alta fue de 88.2% mayor el tratamiento testigo, y a su vez fue el 29.4% más eficiente que la menor dosis aplicada.

Figura 2

Porcentaje de mortalidad de hembras de *Melophagus ovinus* a las 120, 144 y 168 horas después de la aplicación de diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana*



Se logró observar el proceso micótico en el ectoparásito con la aparición de un polvillo blanco sobre su cutícula tal como se puede observar en la figura 3.

Figura 3

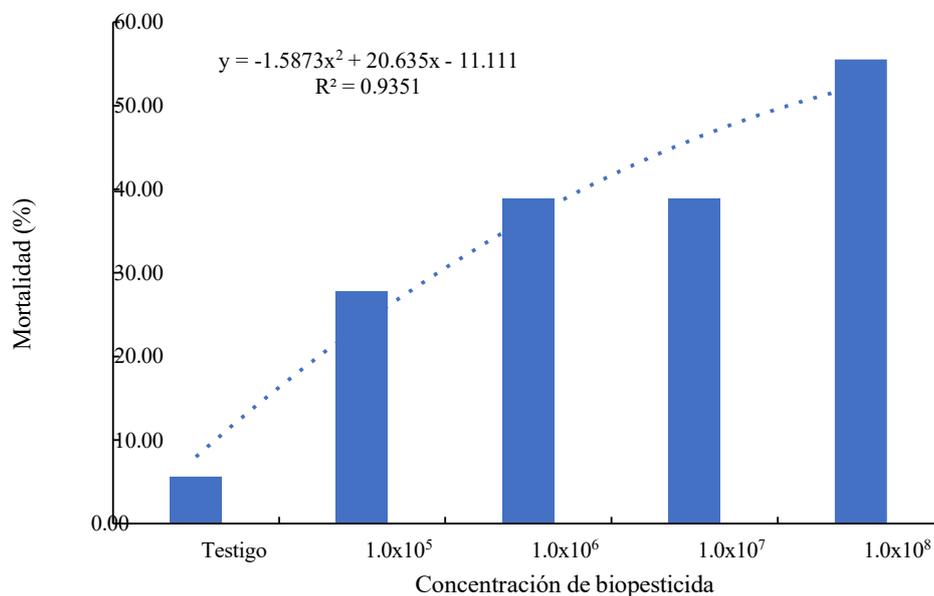
Hembras adultas de *M. ovinus* mostrando síntomas del ataque de *B. bassiana*



La mortalidad total, medida a las 168 horas después de la 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 (Figura 4).

Figura 4

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



Las investigaciones sobre el control de *M. ovinus* mediante el uso de *B. bassiana* son escasas. En un estudio realizado en Perú, Valbuena et al. (2021) obtuvieron hasta un 90% de efectividad en el control de *M. ovinus* en ovejas adultas Hampshire cruzadas tratadas por aspersión con concentraciones de 3.2×10^8 conidios/ml de *B. bassiana* después del día 14 de la aplicación.

En otros países se 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 *B. bassiana* (B₁-B₆) donde observaron que la cepa B₄ fue la más virulenta contra las larvas de tercer estadio, las pupas y adultos de *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae), provocando el 52.67%, 61,33% y 90,67% de tasas de mortalidad, sin embargo, también este hongo entomopatógeno afectó a sus enemigos naturales como *Amblyseius cucumeris* y *Anastatus japonicus*). Por otra parte, el uso de abamectina al 1,8% provocó inhibición de germinación de la cepa B₄.

Según estudios realizados por De Abajo et al. (2024) lograron comprobar la eficacia de la aplicación tópica e inyectada de *B. bassiana* (cepa 90) en el control de la mosca doméstica (*Musca domestica*), obteniendo el 82.5% de mortalidad a los 3 días después de haber inyectado una concentración de 1×10^4 conidios/ml, mientras que con concentraciones más bajas (1×10^2 y 1×10^3 conidios/ml), la mortalidad observada apenas alcanzó el 2.5 y 22.5%, respectivamente. A pesar de que la mortalidad causada por *B. bassiana* con las aplicaciones de forma atópica en los cuatro primeros días fue baja, esta tendió a aumentar después del quinto día de aplicación.

Se observaron resultados similares a los obtenidos en la presente investigación. Kirkland et al. (2004) encontraron que la aplicación de soluciones a base de *B. bassiana* o *Metarhizium anisopliae* a 1×10^8 conidios/ml provocaron una mortalidad entre el 50-70% en garrapatas adultas de *Ixodes scapularis* y *R. sanguineus*: Por otra parte, las ninfas de *R. sanguineus* resultaron ser más susceptibles a las dos especies de hongos entomopatógenos, las cuales provocaron más del 90% de mortalidad, mientras que en *Dermaacentor variabilis* sólo causó el 20% de mortalidad. De acuerdo con estos autores, *B. bassiana* y *M. anisopliae* mostraron un potencial en el control de poblaciones de garrapatas, concluyendo que su virulencia y mortalidad va a depender de las condiciones del inóculo.

Aparte del efecto de los hongos entomopatógenos sobre la mortalidad de especies de artrópodos, otras investigaciones han demostrado un efecto subletal sobre especies de garrapatas. En un estudio donde se evaluó el efecto combinado de la aplicación de *B. bassiana* CG 479 con eugenol sobre el perfil lipídico y la morfología ovárica de *Rhipicephalus microplus*, se observó un 50% de reducción de los parámetros reproductivos de la garrapata, debido a la vacuolización del pedicelo, la desorganización del citoplasma y las variaciones en los niveles de ácidos grasos y colesterol en los ovarios (Wakil et al., 2017). De esta manera se demostró el potencial de control por el efecto combinado de un agente acaropatógeno más un acaricida botánico, permitiendo sugerir su uso como una nueva estrategia complementaria para el manejo y control de garrapatas en ganado.

De manera similar, (Zeina & Laing, 2022) estudiaron el efecto de la aplicación de *B. bassiana* a dosis de 1×10^8 conidios/ml combinado con aceite de aguacate al 10% más un coadyuvante sobre el control de la garrapata del bovino (*Rhipicephalus microplus*) en condiciones de campo, observándose una tasa de mortalidad de hasta el 38%, además de la reducción del

número de huevos por hembra de garrapata, la viabilidad de los huevos, el índice de producción de huevos, el índice nutricional y la eficiencia reproductiva.

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

Mediante el análisis Probit de mortalidad producida por las diferentes dosis de *B. bassiana* (Tabla 1) en hembras adultas de *M. ovinus* se encontró que el modelo se ajustó a la ecuación (Figura 5).

Tabla 1

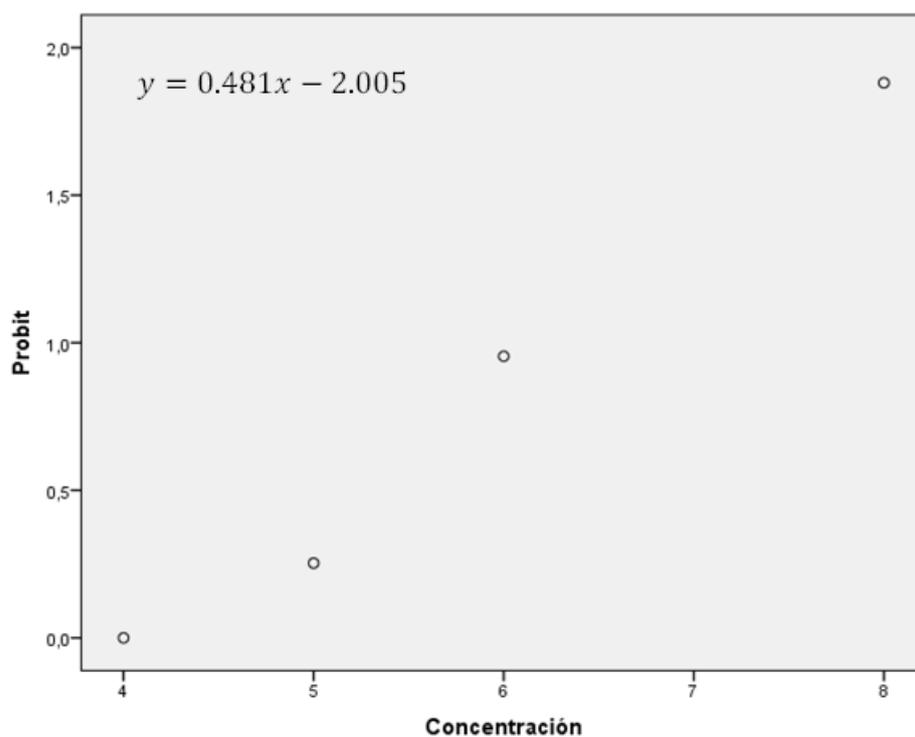
Estimaciones de los parámetros de la ecuación por análisis Probit para las diferentes concentraciones de B. bassiana usadas en el control de M. ovinus.

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
Intercepción	-2,005	1,052	-1,907	0,057	-3,057	-0,954

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

Figura 5

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



Es importante mencionar que debido a que el nivel de significancia para la prueba de bondad de ajuste mostrado en la Tabla 2 fue mayor que 0,050 no era necesario utilizar el factor

de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza para las diferentes concentraciones calculadas, esto indicó un alto nivel de los resultados de las tablas 3 y 4.

Tabla 2
Pruebas de bondad de ajuste de Chi-cuadrado

	Chi-cuadrado	gl ^b
Prueba de bondad de ajuste de Pearson	0,204	2

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

La DL₅₀ obtenida en la presente investigación en base a los resultados del análisis Probit, fue de 1.47x10⁵ conidios/ml, lo que indica que con una concentración de 1.5x10⁵ conidios/ml se podría lograr eliminar la mitad de una población de *M. ovinus* bajo condiciones de laboratorio (Tabla 4). Además, se puede observar otros valores toxicológicos muy importantes como la DL₉₀ y DL₉₅ que se obtuvieron siendo 6.7x10⁶ y 3.8x10⁷ conidios/ml, respectivamente, la aplicación de estas concentraciones logró la muerte del 90 y 95% de la población en condiciones bajo concentraciones in vitro (Corazón-Guivin et al., 2022).

Tabla 4*Cálculo de los límites de confianza en la estimación de la DL50*

Probabilidad	Estimación	95% de límites de confianza para Concentración		95% de límites de confianza para registro (Concentración) ^a		
		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	2333926608273002,00	7,087	5,957	15,368
0,930	17157153,88	1140654,60	12941400277473320,00	7,234	6,057	16,112
0,940	25036851,87	1466123,91	88209905101329424,00	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	1470756830314475500000000,0	9,002	7,152	25,168

Los estudios realizados por Bermeo (2022) mostraron una DL₅₀ mediante el uso de una concentración de 2.67×10^4 conidios/ml de *B. bassiana* en el control del gusano de la papa (*Premnotrypes vorax*), también logró obtener la DL₉₅ utilizando una concentración de 1.49×10^6 conidios/ml en un tiempo medio de 4.02 días.

Según los resultados de la investigación realizada por Suárez-Gómez (2009), la concentración 1×10^6 conidios/ml de una cepa de *B. bassiana* aislada del chinche encaje *Leptopharsa gibbicarina* logró eliminar el 50% de la población de *Sitophilus zeamais* en un tiempo promedio de seis días, finalmente se observó el 98.37% de mortalidad promedio del gorgojo.

En los estudios toxicológicos el cálculo de la dosis letal media (DL₅₀) es considerado como un procedimiento fundamental. La DL₅₀ es la dosis de una sustancia que provoca la muerte del 50% de una población experimental bajo condiciones controladas, tomando en cuenta que este análisis presenta aplicaciones críticas en farmacología, toxicología ambiental, industria química entre otras (Pillai et al., 2021).

Es importante mencionar que el cálculo de la DL₅₀ permite evaluar la toxicidad aguda de un plaguicida debido a que permite hacer comparaciones directas de la toxicidad entre diferentes sustancias, esto es esencial para evaluar los riesgos y la toma de decisiones informadas sobre el uso seguro de químicos y fármacos. La información obtenida sobre la toxicidad basada en la DL₅₀ es utilizada para etiquetar los productos químicos, logrando proporcionar advertencias y precauciones que son necesarias en este tipo de estudios eco toxicológicos que permiten evaluar el impacto de sustancias químicas en la fauna y flora, además promueve la prevención de

contaminación y protege la biodiversidad, ayuda a establecer los diferentes protocolos de seguridad y procedimientos que fortalezcan la seguridad de los trabajadores.

CONCLUSIONES

Mediante los ensayos realizados en la presente investigación se demostró el efecto de diferentes concentraciones del bioplaguicida elaborado a base de *Beauveria bassiana* sobre el porcentaje de mortalidad de *Melophagus ovinus*, se observó que el incremento de la tasa de mortalidad estaba relacionado con el aumento de la concentración de *B. bassiana*. Por lo tanto, la mortalidad tendió a incrementar a medida que va aumentando la concentración del hongo, en este caso se logró demostrar que la formulación comercial de *Beauveria bassiana* mostró una alta eficiencia de control bajo condiciones in vitro.

Los resultados obtenidos en base al análisis Probit, se encontró que la DL_{50} obtenida en la presente investigación fue de 1.47×10^5 conidios/ml. Además, se logró obtener otros valores toxicológicos muy importantes como la DL_{90} y DL_{95} que resultaron ser 6.7×10^6 conidios/ml y 3.8×10^7 conidios/ml, respectivamente, 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.

Agradecimientos

A la Universidad Técnica de Ambato, a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y al Centro de Investigación DIDE de la Universidad Técnica de Ambato por el apoyo brindado en la presente investigación.

REFERENCIAS

- Alvarez, F., Agrícola, S., Ganadero, S., & Última, E. (2007). Efficiency of four antiparasitic for *Melophagus ovinus* control in Magallanes region, Chilean Patagonia. *Parasitología Latinoamericana*, 62, 176-179. <https://www.scielo.cl/pdf/parasitol/v62n3-4/art12.pdf>
- 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>
- Bermeo, D. (2022). Determinación de la actividad entomopatógena del hongo *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill sobre el gusano blanco de la papa (*Pemmotrypes vorax* H.). <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/22954/1/UPS-CT009997.pdf>
- 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>
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). Manual de Laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la papa. www.cipotato.org
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). Manual de Laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Centro Internacional de la papa. www.cipotato.org
- Casco, X., Roldán, J., Serrano, D., Simbaña, M., & Soria, C. (2020). Importancia de *Melophagus ovinus* como vector de enfermedades en varias partes del mundo. *Revista Veterinaria*, 32, 110–113. <https://www.scielo.org.ar/pdf/revet/v32n1/1669-6840-revet-32-01-110.pdf>
- Corazón-Guivin, M., Arévalo-Rojas, M., Acosta-Córdoba, R., Valverde-Iparraguirre, J., Ruiz-Sánchez, M., Cerna-Mendoza, A., Guerrero-Abad, J. C., & Chirinos-Hinojosa, D. (2022). Determinación de la DL50 de Metanosulfonato de Etilo (EMS) para la inducción de cambios morfológicos y fisiológicos en plántulas de *Plukenetia volubilis*. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 2(1), e209. <https://doi.org/10.51252/raa.v2i1.209>
- De Abajo, J. M., Scorsetti, A. C., Vianna, M. F., Russo, M. L., Troncozo, I., Stenglein, S. A., Ferreri, N., & Pelizza, S. A. (2024). Characterization and evaluation of three new strains of *Beauveria bassiana* isolated from *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 96, e20240879. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202420240879>
- Dick, C. W. (2018). Checklist of world Hippoboscidae (Diptera: Hippoboscoidea). <https://www.researchgate.net/publication/322578992>
- Estrada, M., & Ojeda, R. (2017). Dialnet- CaracterizacionPatogenicaDelHifomicetoEntomopatoge-6550743. *Cumbres*, 3, 6975. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6550743>

- 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*. *J. Med. Entomol*, 41(4), 705-711. <https://academic.oup.com/jme/article/41/4/705/884443>
- 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>
- Litov, A. G., Belova, O. A., Kholodilov, I. S., Gadzhikurbanov, M. N., Gmyl, L. V., Oorzhak, N. D., Saryglar, A. A., Ishmukhametov, A. A., & Karganova, G. G. (2021). Possible arbovirus found in virome of *Melophagus ovinus*. *Viruses*, 13(12), 2375. <https://doi.org/10.3390/v13122375>
- Martínez-García, J., Abad-Zavaleta, J., de Jesús García-Gómez, M., & Núñez-Gaona, O. (2023). In vitro evaluation of the acaricidal potential of *Beauveria bassiana* DS3.17 on the common tick (*Rhipicephalus microplus*) in Oaxaca, Mexico. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 14(3), 644–657. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i3.6265>
- 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*, 2019(862), 129–152. <https://doi.org/10.3897/zookeys.862.25992>
- Pillai, S., Kobayashi, K., Michael, M., Mathai, T., Sivakumar, B., & Sadasivan, P. (2021). John William Trevan's concept of Median Lethal Dose (LD50/LC50) – more misused than used. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 15(3). <https://doi.org/10.26444/jpcpr/139588>
- Ruiz-González, L. E., Guerrero-Galván, S. R., Nieves-Rodríguez, K. N., Mejía-Acosta, A. B., & Vega-Villasante, F. (2018). Assessment of median lethal concentration (CL50) of pollutants on *Macrobrachium tenellum* juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 46(3), 589–592. <https://doi.org/10.3856/vol46-issue3-fulltext-12>
- Sánchez, K., Arguello Andrés, Arévalo Bryan, Cárdenas Mileska, Navarrete Ana Lucía, Vaca Solange, & Vinueza Pamela. (2024). Identificación morfológica de parásitos de interés veterinario morphological identification of pararsites of veterinary interest. *Recienca Revista Científica Agropecuaria*, 4, 59–67. <https://doi.org/10.47187/4hd6p732>
- Suárez-Gómez, H. (2009). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sobre *Sitophilus zeamais motschulsky* (Coleptera: Curculionidae) plaga de maíz almacenado Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to *Sitophilus zeamais motschulsky* (Coleoptera: Curculionidae) insect pest of store maize. *Revista Intropica*, 4, 47-53.
- Valbuena Puentes, A. H., Galindo Soracá, A. M., & Boyacá Quintana, Y. M. (2021). Effect of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (balsamo) Vuillemin on the control of sheep

- ked (*Melophagus ovinus*). Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru, 32(2). <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i2.18362>
- Wakil, W., Yasin, M., & Shapiro-Ilan, D. (2017). Effects of single and combined applications of entomopathogenic fungi and nematodes against *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier). Scientific Reports, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05615-3>
- 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). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94895-x>
- Yevstafyeva, V. A., Sharavara, T. A., Melnychuk, V. V., Sirenko, O. V., Prijma, O., Nagorna, L. V., Kanivets, N. S., & Borodai, Y. O. (2017). The dynamics of the population and peculiarities of the morphometric structure of *Melophagus ovinus* (Diptera, Hippoboscidae) in Ukraine. Biosystems Diversity, 25(3), 243–248. <https://doi.org/10.15421/011737>
- Zeina, G., & Laing, M. (2022). Field evaluation of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) for the Control of Unfed Larvae *Rhipicephalus Microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) in the South African Sub-Tropics. <https://ssrn.com/abstract=4025119>
- Zhao, L., He, B., Li, K. R., Li, F., Zhang, L. Y., Li, X. Q., & Liu, Y. H. (2018). First report of *Anaplasma ovis* in pupal and adult *Melophagus ovinus* (sheep ked) collected in South Xinjiang, China. Parasites and Vectors, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2788-6>