

Efecto de Formulaciones Acuosas y Aceitosas de 13 Aislamientos Nativos de *Beauveria bassiana* (Ascomycota) sobre *Rhodnius prolixus* (Triatominae) bajo Condiciones Experimentales

EFFECT OF AQUEOUS AND OIL-BASED FORMULATIONS OF 13 NATIVE ISOLATES OF *BEAUVERIA BASSIANA* (ASCOMYCOTA) ON *RHODNIUS PROLIXUS* (TRIATOMINAE) UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

Dalmiro Cazorla Perfetti^{1,2}, Pedro Morales Moreno¹

RESUMEN

El triatomino *Rhodnius prolixus* es el principal vector de la enfermedad de Chagas en Venezuela. En el presente estudio se evaluó el efecto de formulaciones de conidias con base acuosa y aceitosa (soya 50%) de 13 aislamientos nativos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Fungi: Ascomycota) en ninfas estadio IV del triatomino *Rhodnius prolixus*. Se utilizó una concentración de 1×10^7 conidias/ml bajo condiciones de laboratorio (26 °C, HR >90%). Las suspensiones se aplicaron por inmersión. La mortalidad y la conidiación se evaluaron diariamente durante 24 días. Los resultados mostraron que las suspensiones de conidias aceitosas fueron significativamente más eficientes que las acuosas al incrementar la mortalidad y eficacia y disminuir el TL_{50} de los aislamientos ($p < 0.05$). En todos los bioensayos, los porcentajes de esporulación en los cadáveres de las ninfas fueron elevados (>88%). Los aislamientos LF14 y LF13 mostraron los mayores porcentajes de mortalidad acumulada, eficacia y menores TL_{50} , tanto en formulaciones acuosas como en las aceitosas. Estos aislamientos de *B. bassiana* aparecen como buenos candidatos para ser probados a nivel de campo en futuros programas de manejo biorracional de los vectores de la enfermedad de Chagas.

Palabras clave: control biorracional, *Beauveria bassiana*, enfermedad de Chagas, *Rhodnius prolixus*, formulaciones aceitosas

¹ Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (L.E.P.A.M.E.T.), Centro de Investigaciones Biomédicas (C.I.B.), Universidad Nacional Experimental «Francisco de Miranda» (UNEFM), Estado Falcón, Venezuela

² E-mail: lutzomyia@hotmail.com, cdalmiro@gmail.com

Recibido: 29 de febrero de 2016

Aceptado para publicación: 18 de julio de 2016

ABSTRACT

Rhodnius prolixus is the main vector of Chagas disease in Venezuela. The present study aimed to evaluate the effect of aqueous and 50% soy bean oil-based formulations (1×10^7 conidia/ml) of 13 native *Beauveria bassiana* (Fungi: Ascomycota) isolates on fourth instar nymphs of *Rhodnius prolixus*. The conidial suspension were used under laboratory conditions (26 °C; RH >90%). The treatment was by immersion and mortality and conidiation were evaluated daily for 24 days. The results showed that the fungal soy-bean oil formulations tested were more effective than the aqueous suspension, as attained significantly higher mortality and efficacy percentages and decreased LT_{50} in the 13 isolates ($p < 0.05$). In all bioassays, the percentages of sporulation on fungus-killed cadavers of nymphs were elevated (>88%). LF14 and LF13 isolates showed a higher percentage of accumulated mortality, efficacy and a lowest LT_{50} in aqueous formulations as well as in oil-based ones. These *B. bassiana* isolates appears to be considered as good candidates to be tested under field conditions in biorational control programmes for Chagas disease vectors.

Key words: biorational control, *Beauveria bassiana*, Chagas disease, *Rhodnius prolixus*, oil-based formulations

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana se encuentra entre una de las más temibles enfermedades metaxénicas, calculándose entre 7 y 8 millones de personas infectadas, así como más de 25 millones de personas en riesgo de infección por el hemoprotozoario flagelado *Trypanosoma cruzi*, su agente causal. En el control de esta enfermedad, además de los problemas de salud que ocasiona en la población, se debe tener en cuenta la enorme carga social que representa, especialmente para los países de América Latina (OMS, 2014).

Se reconocen varias vías para su adquisición, incluyendo la transfusional; sin embargo, la transmisión natural más frecuente es a través de las heces de los vectores triatomínicos, de los cuales existen alrededor de 145 especies. Estos insectos son de hábitos hematófagos y mayormente se encuentran distribuidos en el continente americano (Gonçalves *et al.*, 2013; OMS, 2014).

En virtud de que hasta el presente no existe una vacuna contra la enfermedad de Chagas y las drogas en uso poseen una limitada efectividad y efectos colaterales, el método más eficaz, rápido y práctico para su prevención en América Latina es el control de los vectores mediante la aplicación en las viviendas de insecticidas residuales de origen químico (Pedrini *et al.*, 2009; OMS, 2014). Actualmente se viene utilizando formulaciones de insecticidas basados en piretroides sintéticos de tercera generación (Pedrini *et al.*, 2009). Sin embargo, la aplicación de estos agentes químicos también posee inconvenientes por los efectos tóxicos potenciales sobre la salud humana y animal, así como la contaminación de los ecosistemas en general (ecotoxicidad) (Cook *et al.*, 1996; He *et al.*, 2008). Asimismo, insecticidas como los piretroides afectan al sistema nervioso central y periférico (neurotoxicidad) y han sido asociados con enfermedades degenerativas como el mal de Parkinson y varios tipos de cáncer como las leucemias en niños (Roberts y Karr, 2012).

Otro de los inconvenientes del uso de pesticidas de origen químico está referido a la aparición de poblaciones triatominas resistentes a los insecticidas, producto de su aplicación inadecuada o indiscriminada, y por la biología intrínseca del vector (fenómeno preadaptativo de pocos individuos) (Zerba, 2004; Pedrini *et al.*, 2009). En el caso de *Rhodnius prolixus*, principal vector de la enfermedad de Chagas en Venezuela, se ha detectado resistencia hacia carbamatos, piretroides, organofosforados y organoclorados (Zerba, 1999; Vassena *et al.*, 2000; Molina de Fernández *et al.*, 2004). Este fenómeno trae como consecuencia que se tengan poblaciones de triatominas fuera de control y que exista un aumento en el uso y frecuencia del químico, con el subsecuente impacto sobre el ambiente, la salud pública y la biósfera (Zerba, 2004; Pedrini *et al.*, 2009).

Ante esta problemática, surge la necesidad de buscar nuevas estrategias de control enmarcadas dentro de un esquema de Manejo Integrado de Plagas (MIP), más aún cuando se sabe que los principales vectores de Chagas, como *R. prolixus*, no son estrictamente domiciliarios. En este sentido, se ha usado con éxito, tanto a nivel experimental como de campo, hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hipocreales) (Luz *et al.*, 2004; Pedrini *et al.*, 2009).

Los hongos son organismos que dependen de numerosos factores, tanto bióticos como abióticos, que pueden determinar o influenciar su acción patógena sobre los insectos. Estos incluyen la cepa (aislamiento) o especie de hongo, estado fisiológico del hospedador, microorganismos cuticulares y epicuticulares, y otros factores diversos como los de tipo ambiental (temperatura, humedad relativa [HR], luz, radiación UV) (Goettel y Inglis, 1997; Pedrini *et al.*, 2009). Es por ello que se recomienda ensayar con aislamientos o cepas nativas adaptadas a las condiciones locales, las cuales pudieran exhibir una mejor capacidad patogénica y de virulencia (Goettel y Inglis, 1997; Vázquez-Martínez *et*

al., 2014), así como ensayar formulaciones fúngicas con sustancias como aceites minerales o vegetales, que protegen a las conidias de altas temperaturas, resequedad y radiaciones UV (Luz *et al.*, 2004).

En el presente trabajo se evalúa, bajo condiciones de laboratorio, el efecto entomocida de 13 aislamientos nativos de *B. bassiana* en bases acuosa y aceitosa sobre ninfas IV de *R. prolixus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos Fúngicos

Los ensayos se hicieron con 13 aislamientos de *B. bassiana* (LF01, LF02, LF03, LF04, LF06, LF07, LF08, LF09, LF10, LF11, LF12, LF13 y LF14), de la micoteca del Laboratorio de Fitopatología (LF), Núcleo Universitario «Rafael Rangel» (NURR), Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela. La procedencia de estos aislamientos fue indicado en un trabajo previo (Cazorla y Morales, 2010).

Insectos

Los triatominos se criaron en masa en el insectario del Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (LEPAMET), Centro de Investigaciones Biomédicas (C.I.B.), Universidad Nacional Experimental «Francisco de Miranda» (UNEFM), Coro, Venezuela, alimentándose sobre gallina cada 1-2 semanas. Se mantuvieron a una temperatura promedio de 26.1 °C (24-30 °C) y a una HR promedio de 62.4% (58-67%), con una fotofase de 12 horas. Los ensayos se hicieron con colonias de la especie *R. prolixus*, empleándose ninfas estadio IV recién emergidas o alimentadas.

Reactivación de los Aislamientos Fúngicos

Los 13 aislamientos fúngicos permanecieron entre 12 y 18 meses en medios de cul-

tivo Sabouraud-agar (25 g de glucosa, 10 g de peptona, 20 g de agar y 1000 cc de agua destilada), de allí que fueron reactivados en ninfas IV y V de *R. prolixus* antes de iniciar los bioensayos. Una vez que la micosis se desarrolló sobre los cadáveres de los insectos, el micelio fue sembrado en medio Sabouraud, a partir de los cuales se desarrollaron los bioensayos del estudio.

Formulaciones Acuosas

Las conidias se obtuvieron removiendo, mediante asa de platino, la superficie de cultivos esporulados de 15 días desarrollados sobre medio sólido (Sabouraud-agar), y mantenidos a 26 °C y HR >90% en cámara de ambientación o climatizada (Biotronette Mark II 84, Lab Line Instruments, EEUU). El material fúngico cosechado fue suspendido en agua destilada estéril con 0.1% Tween® 20 (monolaurato de sorbitán de polietileno) (Fisher Scientific, EEUU) y filtrado a través de gasa para separar el micelio de las conidias. La suspensión acuosa de conidias fue ajustada mediante hemocitómetro (Nebauer improved, Marienfeld, Alemania) a 1×10^7 conidias/ml (Goettel y Inglis, 1997) y utilizada de inmediato.

Formulaciones Aceitosas

El inóculo fúngico de 1×10^7 conidias/ml fue preparado en solución con 49% de suspensión acuosa, 50% aceite comestible estéril de soya (Diana®, Industrias Diana, Venezuela) y 1% Tween® 20.

Bioensayos

Las ninfas se sumergieron por 5-6 s en las suspensiones descritas. En cada caso se utilizaron cuatro réplicas de 20 insectos. El grupo control se trató con agua destilada con 0.1% Tween 20 en las formulaciones acuosas y con agua destilada, 1% Tween 20 y 50% aceite comestible estéril de soya en las formulaciones aceitosas.

Una vez aplicada la suspensión de conidias, los insectos fueron secados durante 10-15 min, transferidos a envases de vidrio transparentes (60 mm de diámetro x 140 mm) que contenían papel filtro en forma de abanico, y se taparon con gasa. Los envases se mantuvieron en oscuridad en cámara de ambientación o climatizada ajustada a 26 °C y HR >90%, *i.e.*, cercana a la saturación.

La mortalidad fue chequeada diariamente durante 24 días. Los insectos muertos se removieron diariamente y se transfirieron a cámaras húmedas para observar la esporulación del hongo en las mismas condiciones del experimento. Se asumió que la causa de muerte era debida a la acción patógena de *B. bassiana* (Figura 1A), cuya morfo-taxonomía se verificaba coloreándose en placas con azul de lactofenol (Figura 1B) (Romaña y Fargues, 1992; Vásquez *et al.*, 2005).

Análisis Estadístico

Se hizo un análisis de supervivencia teniendo en cuenta los métodos no paramétricos de producto-límite de Kaplan-Meier y la prueba generalizada de Gehan-Wilcoxon (Kaplan y Meier, 1958; Gramatges, 2002). Asimismo, se calculó el TL_{50} (tiempo letal 50) que corresponde a la mediana o percentil 50 (Beltrán *et al.*, 2008).

Se determinó el porcentaje de eficacia de cada aislamiento mediante la fórmula de Schneider-Orelli, citada por Carrillo (1973), la cual corrige los efectos de la mortalidad natural, permitiendo determinar la verdadera eficacia de los tratamientos. Porcentaje de eficacia = $[(b-k)/(100-K) \times 100]$, donde «*b*» equivale al porcentaje de individuos muertos en el tratamiento y «*k*» equivale al porcentaje de individuos muertos en el testigo.

Adicionalmente, se utilizó el análisis de varianza y el de comparación múltiple de Student-Newman-Keusl (SNK) para evidenciar diferencias entre tratamientos. Se consi-

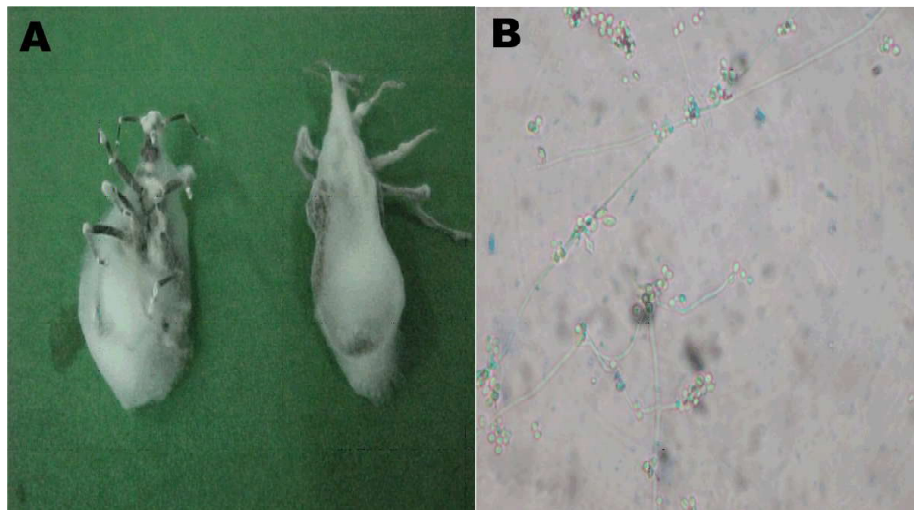


Figura 1. A: Cadáveres esporulados de *Rhodnius prolixus*. B: Morfología microscópica de *Beauveria bassiana* (Azul de lactofenol, 400x)

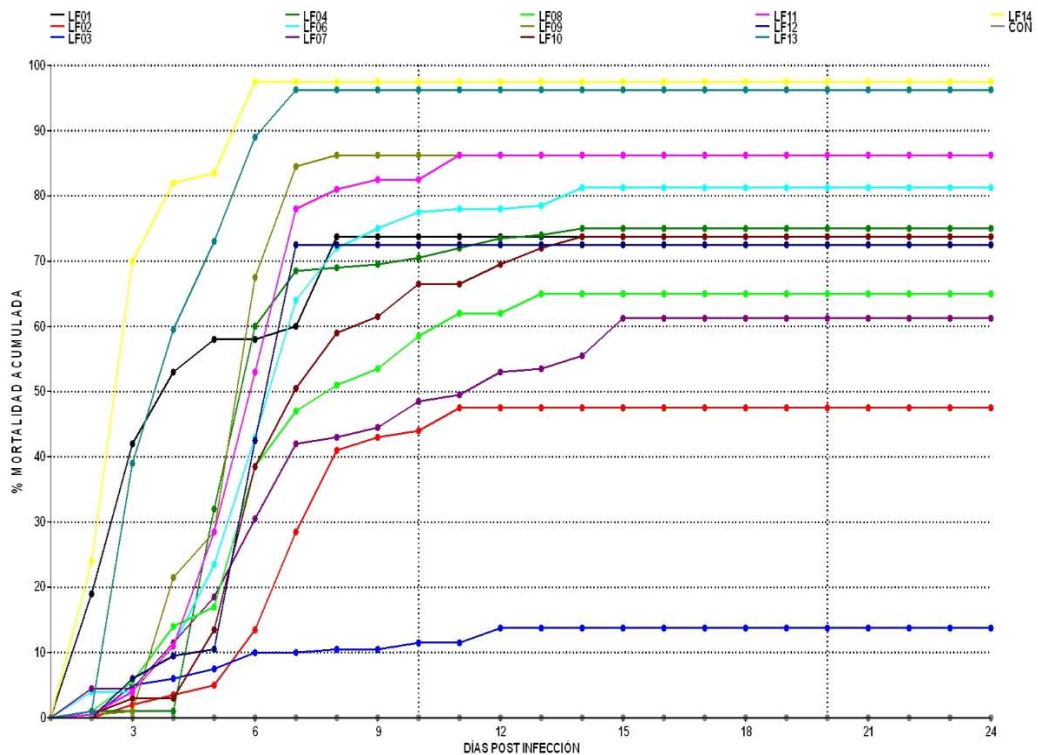


Figura 2. Mortalidad acumulada (%) de ninfas de estadio IV de *Rhodnius prolixus* expuestas a inóculo con base acuosa de 1×10^7 conidias/ml de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana*

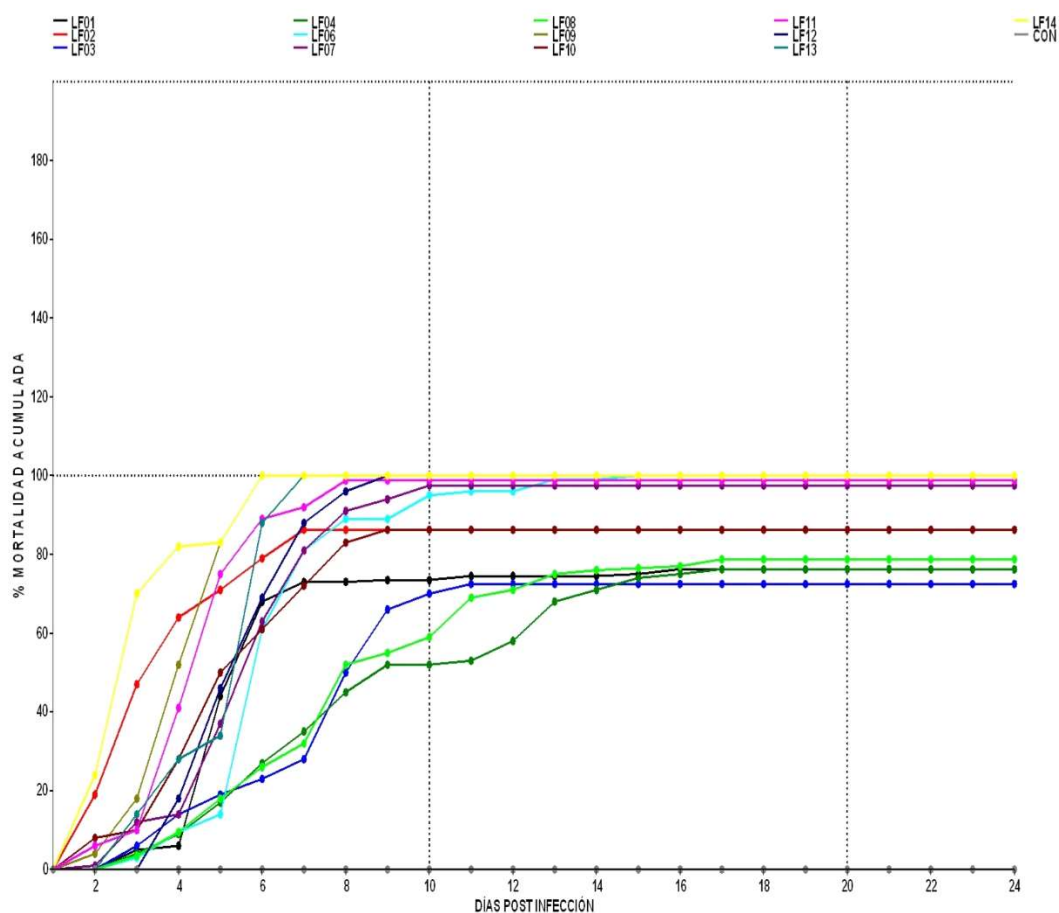


Figura 3. Mortalidad acumulada (%) de ninfas de estadio IV de *Rhodnius prolixus* expuestas a inóculo con base aceitosa de 1×10^7 conidias/ml de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana*

deró como significativo una probabilidad de $p < 0.05$. Los datos se analizaron con los paquetes estadísticos Minitab v. 13.20 y STATISTICA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al determinarse la acción biocontroladora de los 13 aislamientos de *B. bassiana* con base acuosa sobre las ninfas IV de *R. prolixus*, se encontró que los mayores porcentajes de mortalidad acumulada, eficacia y menores TL_{50} fueron causados por los aislamientos LF14 y LF13 (97.5, 97.5 y 5; 96.3, 96.3 y 6, respectivamente). Por contraste, los

aislamientos LF03 y LF02 obtuvieron los menores porcentajes de mortalidad acumulada y eficacia (13.8, 13.8 y 47.5, 47.5, respectivamente), sin llegar a alcanzar el 50% de mortalidad en los insectos (Cuadro 1, Figura 2). Los porcentajes de esporulación en los cadáveres de las ninfas fueron superiores a 88% cuando los insectos se expusieron a todos los aislamientos.

En la comparación entre las formulaciones acuosas y las de base aceitosa se aprecia que, en general, hubo una mejoría significativa con la adición del aceite, en términos de mayores porcentajes de mortalidad y eficacia, y en la reducción del TL_{50} .

Cuadro 1. Resumen del análisis de supervivencia de Kaplan-Meier y eficacia para ninfas estadio IV de *Rhodnius prolixus* sometidas a inóculo con base acuosa de 1×10^7 conidias/ml de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana* (n=80 insectos por grupo)

Grupo	Supervivencia %	Eficacia ¹ %	Media (días)	Desviación estándar	TL ₅₀ (días)
LF01	26.3	73.8 ^{a,e,g}	10.2	8.1	6
LF02	52.5	47.5 ^b	16.0	8.5	+
LF03	86.3	13.8 ^c	21.5	6.5	+
LF04	25.0	75.0 ^{a,f,g}	12.4	7.5	10
LF06	18.8	81.3 ^{a,f,g}	9.8	7.2	7
LF07	38.8	61.3 ^{b,e}	14.6	8.2	12
LF08	35.0	65.0 ^{a,b}	13.2	8.5	9
LF09	13.8	86.3 ^{f,g}	7.9	5.9	6
LF10	26.2	73.8 ^{a,e,g}	11.6	7.7	7
LF11	13.8	86.3 ^g	8.5	6.4	6
LF12	27.5	72.5 ^{a,g}	11.0	8.1	7
LF13	3.75	96.3 ^d	5.4	4.0	6
LF14	2.5	97.5 ^d	6.3	4.3	5
Control	100.0	-	24.0	0	-

¹ Obtenida con la fórmula de Schneider-Orelli

Superíndices diferentes dentro de la columna indican diferencia estadística (p<0.05)

+ No alcanzó 50% de mortalidad

Así por ejemplo, LF03 en la formulación acuosa se obtuvo 13.8 y 13.8% de mortalidad y eficacia, respectivamente (Cuadro 1), mientras que con la adición del aceite de soya estos valores fueron de 72.5 y 72.5%, respectivamente (p<0.000) y el TL₅₀ disminuyó a 8 días (Cuadro 2).

El análisis de la acción entomocida de los 13 aislamientos de *B. bassiana* aplicados con mezcla de aceite de soya al 50% sobre las ninfas IV de *R. prolixus*, indica que los aislamientos LF03 y LF01 presentaron los menores porcentajes de mortalidad acumulada y eficacia (72.5, 72.5% y 76.3 y 76.3%, respectivamente) (Cuadro 2, Figura 3); sin embargo, al analizar el TL₅₀ se tiene que los

aislamientos LF03 y LF08, así como LF04 y LF06 exhibieron los mayores valores, con 8 y 7 días, respectivamente (Cuadro 2). Los análisis estadísticos mostraron que los aislamientos LF06 (Z=-1.11, p=0.130) y LF08 (Z=-0.29, p=0.400) no presentaron diferencias significativas en mortalidad cuando se compararon los tratamientos con base acuosa y aceitosa (Cuadro 3). Por otro lado, los porcentajes de conidiación fueron mayores de 94% en los cadáveres de las ninfas en todos los aislamientos.

Aunque las ninfas IV de *R. prolixus* resultaron susceptibles para los 13 aislamientos fúngicos, no obstante, aquellos tipificados como *B. bassiana* LF14 y LF13 exhibieron

Cuadro 2. Resumen del análisis de supervivencia de Kaplan-Meier y eficacia para ninfas estadio IV de *Rhodnius prolixus* sometidas a inóculo con base aceitosa de 1×10^7 conidias/ml de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana* (n=80 insectos por grupo)

Grupo	Supervivencia %	Eficacia ¹ %	Media (días)	Desviación estándar	TL ₅₀ (días)
LF01	23.8	76.3 ^{c,e}	9.4	9.0	4
LF02	13.8	86.3 ^b	6.6	7.3	4
LF03	27.5	72.5 ^a	11.9	7.8	8
LF04	23.8	76.3 ^{c,e}	11.0	7.3	7
LF06	0	100.0 ^d	6.9	2.3	7
LF07	2.5	97.5 ^d	6.4	3.5	6
LF08	21.3	78.8 ^e	11.7	7.1	8
LF09	0	100.0 ^d	5.1	1.8	5
LF10	13.8	86.3 ^b	7.9	6.7	6
LF11	1.3	98.8 ^d	5.0	2.6	5
LF12	0	100.0 ^d	5.8	1.3	6
LF13	0	100.0 ^d	5.0	1.2	4
LF14	0	100.0 ^d	3.5	1.4	3
Control	100.0	-	24.0	0	-

¹ Obtenida con la fórmula de Schneider-Orelli

Superíndices diferentes dentro de la columna indican diferencia estadística (p<0.05)

las mayores tasas de mortalidad y eficacia, así como los menores TL₅₀. Además, los cadáveres de los insectos presentaron altas tasas de conidiación, constituyéndose en una fuente potencial para la transmisión horizontal (*i.e.*, autodiseminación), lo cual se acentúa si se considera la conducta gregaria característica de los triatomíneos en los sitios de reposo (Pedrini *et al.*, 2009). Es importante señalar que los altos porcentajes de esporulación obtenidos en las ninfas IV de *R. prolixus* con la concentración en estudio, sugieren que la dosis de 1×10^7 permite una mayor producción de oosporeína y de otros antibióticos, ya que no se desarrollaron hongos saprófitos o bacterias oportunistas sobre los cadáveres de los insectos que pudieran inhibir el crecimiento de *B. bassiana* (Noma y Stickler, 2000). Esto indica que ambos ais-

lamientos fúngicos aparecen como patotipos promisorios para ser ensayados en futuros programas de MIP de la enfermedad de Chagas en el país.

Los aislamientos originales de *B. bassiana* LF14 y LF13 fueron obtenidos a partir de cadáveres de insectos del orden Coleóptera (Cazorla y Morales, 2010), por lo que su patogenicidad sobre las ninfas IV de *R. prolixus* puede considerarse como inespecífica. Más aún, ambos aislamientos fueron más virulentos hacia las ninfas de *R. prolixus* que los aislamientos LF01 y LF07, aislados originalmente de cadáveres esporulados de triatomíneos, y particularmente de *R. prolixus* en el caso de LF01. Esto sugiere que la especificidad «hospedador-patógeno» no fue tan estricta como fue ob-

Cuadro 3. Comparación de los estadios ninfales IV de *Rhodnius prolixus* sometidos a inóculos con base acuosa y aceitosa de 1×10^7 conidias/ml de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana*

Grupo	Z*	P*
LF01	Z = 2.93	0.002
LF02	Z = 9.96	0.000
LF03	Z = -6.62	0.000
LF04	Z = -1.81	0.040
LF06	Z = -1.11	0.130
LF07	Z = 6.96	0.000
LF08	Z = -0.29	0.400
LF09	Z = 4.00	0.000
LF10	Z = 4.23	0.000
LF11	Z = 6.03	0.000
LF12	Z = 4.58	0.000
LF13	Z = -4.19	0.000
LF14	Z = -5.87	0.000

Test de supervivencia de Kaplan-Meier y prueba de Gehan-Wilkinson
* 1 grado de libertad

servada en otro estudio donde solo las cepas aisladas de Hemípteros resultaron altamente patogénicas para *R. prolixus* (Romaña y Fargues, 1987).

Pineda *et al.* (2003) expusieron ninfas V de *R. palllescens*, vector de *T. cruzi* en Colombia (Guhl *et al.*, 2007), a la acción de cuatro aislamientos de *Beauveria* spp. Estos autores detectaron que los triatominos fueron más susceptibles a la cepa *B. brongniartii* Bt UdeA, la cual se aisló a partir de coleóptero, en tanto que las otras cepas fueron obtenidas de *R. palllescens* o de insectos-coleópteros. Asimismo, Lecuona *et al.* (2001) hallaron en Argentina cepas de *B. bassiana* más virulentas para *Triatoma infestans*, principal vector de la enfermedad de Chagas en el Cono Sur (OMS, 2014), que

para sus hospedadores-artrópodos de origen: *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) y *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera). Por otro lado, Luz *et al.* (1998) trabajaron con *T. infestans* ensayando 23 aislamientos de *B. bassiana* obtenidos inicialmente de varios órdenes de insectos, y encontraron que a 50% de HR, los cuatro aislamientos de mayor eficacia entomocida provenían de especies de insectos del orden Hemiptera.

La literatura científica muestra una tendencia a desarrollar formulados con hongos entomopatógenos de bases aceitosas (Bateman *et al.*, 1993; Bateman, 1997). Las conidias contenidas en formulaciones aceitosas poseen ventajas comparativas con respecto a las formuladas en base acuosa. El aceite brinda a los propágulos fúngicos protección potencial contra las altas temperaturas, la resequedad y los efectos deletéreos de la radiación ultravioleta (UV). Asimismo, además de incrementar la adhesión a la cutícula y las membranas intersegmentales lipofílicas, interfiere con la defensa natural de la cutícula y ayuda a dispersar el inóculo sobre el cuerpo de los artrópodos-hospedadores (Bateman *et al.*, 1993; Bateman, 1997; Moslim *et al.*, 2004; Luz y Batagin, 2005). En el caso de los triatominos, cuyos hábitos hematofágicos hace que la manera más práctica para la invasión de las conidias sea mediante la penetración cuticular (Luz *et al.*, 1998; Cazorla 2011), obliga que ensayen formulaciones fúngicas que ayuden a la penetración y degradación de la cutícula de estos artrópodos-hospedadores.

En forma general, los resultados del presente estudio demuestran que la adición de aceite de soya (50%) a las formulaciones fúngicas mejoraron significativamente la actividad entomocida sobre ninfas IV de *R. prolixus*, cuando se compara con la acción obtenida con las formulaciones acuosas; resultados que concuerdan con otros estudios (Luz *et al.*, 2004; Luz y Batagin, 2005). Esto es alentador y promisorio, toda vez que en Argentina se ha detectado que un incremento en el grosor de la cutícula de *T. infestans*

está asociado con la resistencia de sus poblaciones a los piretroides (Pedrini *et al.*, 2009); pues al contar con aislamientos nativos de *B. bassiana* que sean capaces de degradar eficientemente la cutícula de poblaciones de *R. prolixus* resistentes a los piretroides, es una ventaja que debe explotarse. Asimismo, es importante acotar que el aceite de soya no interfiere con la capacidad germinativa *in vitro* de las conidias de estos 13 aislamientos (Cazorla, 2010).

Como bien lo señalan Luz y Batagin (2005), faltan realizar estudios para mejorar las formulaciones fúngicas y las técnicas de aplicación, lo que abriría nuevas posibilidades de controlar de una manera permanente a las poblaciones triatominas, especialmente en los ambientes peridomiciliares.

CONCLUSIONES

- Las formulaciones aceitosas de los 13 aislamientos del hongo entomopatógeno *B. bassiana* mejoraron de una manera global la eficiencia sobre ninfas IV de *R. prolixus*.
- Los patotipos LF13 y LF14 presentaron los mayores porcentajes de mortalidad acumulada, eficacia y menores TL₅₀.

LITERATURA CITADA

1. **Bateman R. 1997.** Methods of application of microbial pesticide formulations for the control of grasshoppers and locusts. Mem Ent Soc Can 171: 67-79. doi: 10.4039/entml29171069-1
2. **Bateman R, Carey M, Moore D, Prior C. 1993.** The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulation to desert locust at low humidities. Ann Appl Biol 122: 145-152. doi: 10.1111/j.1744-7348.1993.tb04022.x
3. **Beltrán C, Gutiérrez A, Saldarriaga Y. 2008.** Patogenicidad de *Lecanicillium lecanii* (Fungi) sobre la garrapata *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en laboratorio. Rev Colomb Entomol 34: 90-97.
4. **Carrillo R. 1973.** Eficacia de diversos insecticidas en el combate de cuncunillas negras en empastadas. Agrosur 1: 45-50.
5. **Cazorla D. 2010.** Caracterización morfo-fisiológica de 13 aislamientos autóctonos de *Beauveria bassiana* (Ascomycota) y patogenicidad en *Rhodnius prolixus* (Triatominae). Trabajo de Ascenso. Coro, Venezuela: Univ Nacional Experimental Francisco de Miranda. 266 p.
6. **Cazorla D. 2011.** El uso de hongos entomopatógenos para el control biorracional de Triatominae, vectores de la enfermedad de Chagas. Avances Cardiol 31: 333-352.
7. **Cazorla D, Morales P. 2010.** Compatibilidad de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana* patógenos para *Rhodnius prolixus* (Triatominae) con insecticidas químicos. Bol Mal Salud Amb 50: 261-270.
8. **Cook R, Bruckart W, Coulson J, Goettel M, Humber R, Lumsden R., Maddox J, et al. 1996.** Safety of microorganism intended for pest and plant disease control: a framework for scientific evaluation. Biol Control 7: 333-351.
9. **Goettel M, Inglis G. 1997.** Fungi: Hyphomycetes. In: Lacey L (ed). Manual of techniques in insect pathology. USA: Academic Press. p 213-249.
10. **Gonçalves T, Teves-Neves S, Santos-Mallet J, Carbajal de la Fuente A, Lopes C. 2013.** *Triatoma jatai* sp. nov. in the state of Tocantins, Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 108: 429-437. doi: 10.1590/S0074-0276108042013006
11. **Gramatges A. 2002.** Aplicación y técnicas del análisis de supervivencia en las investigaciones clínicas. Rev Cubana

- Hematol Inmunol Hemoter 18(2). [Internet]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892002000200004
12. **Guhl F, Aguilera G, Pinto N, Vergara D. 2007.** Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica* 27: 143-162.
 13. **He L, Troiano J, Wang A, Goh K. 2008.** Environmental chemistry, ecotoxicity, and fate of lambda-cyhalothrin. *Rev Environ Contam Toxicol* 195: 71-91.
 14. **Kaplan E, Meier P. 1958.** Nonparametric estimation from incomplete observations. *Am Stat Assoc J* 53: 457-481.
 15. **Lecuona R, Edelstein J, Berretta M, La Rossa F, Arcas J. 2001.** Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) strains as a potential agent for control of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol* 38: 172-179. doi: 10.1603/0022-2585-38.2.172
 16. **Luz C, Batagin I. 2005.** Potential of oil-based formulations of *Beauveria bassiana* to control *Triatoma infestans*. *Mycopathologia* 160: 51-62.
 17. **Luz C, Rocha L, Nery G, Magalhaes B, Tigano M. 2004.** Activity of oil-formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 211-218. doi: 10.1590/S0074-02762004000200017
 18. **Luz C, Tigano M, Silva I, Cordeiro C, Aljanabi S. 1998.** Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to control *Triatoma infestans*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 93: 839-846. doi: 10.1590/S0074-02761998000600026
 19. **Molina de Fernández D, Soto Vivas A, Barazarte H. 2004.** Susceptibilidad a insecticidas piretroides en cepas de campo de *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera: Reduviidae) de Venezuela. *Entomotrópica* 19: 1-5.
 20. **Moslim R, Wahid M, Ahmad S, Kamarudin N. 2004.** The effects of oils on germination of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and its infection against the oil palm bagworm, *Metisa plana* (Walker). *J Oil Palm Res* 16: 78-87.
 21. **Noma T, Stickler K. 2000.** Effects of *Beauveria bassiana* on *Lygus herperus* (Hemiptera: Miridae) feeding and oviposition. *Envir Entomol* 29: 394-402. doi: 10.1603/0046-225X(2000)029[0394:EOBBOL]2.0.CO;2
 22. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2014.** La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Nota descriptiva N.º 340. [Internet]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>
 23. **Pedrini N, Mijailovsky S, Girotti J, Stariolo R, Cardozo R, Gentile A, Juárez P. 2009.** Control of pyrethroid-resistant Chagas disease vectors with entomopathogenic fungi. *PLoS Negl Trop Dis* 3: e434. doi: 10.1371/journal.pntd.0000434
 24. **Pineda F, Saldarriaga Y, Calle J, Uribe S. 2003.** Susceptibility of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) of fifth instar nymph to the action of *Beauveria* spp. *Entomotrópica* 18: 163-168.
 25. **Roberts J, Karr C. 2012.** Pesticide exposure in children. *Pediatrics* 130: e1765-e1788. doi: 10.1542/peds.2012-2758
 26. **Romaña C, Fargues J. 1987.** Sensibilité des larves de l'hémiptère hématophage, *Rhodnius prolixus* (Triatominae) aux hyphomycète entomopathogènes. *Entomophaga* 32: 167-179. doi: 10.1007/BF02373128
 27. **Romaña C, Fargues J. 1992.** Relative susceptibility of different stages of *Rhodnius prolixus* to the entomopathogenic hyphomycetes *Beauveria bassiana*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 363-368. doi: 10.1590/S0074-02761992000-300005

28. **Vásquez C, Saldarriaga Y, Chaverra D. 2005.** Susceptibilidad de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) de V estadio de desarrollo a la acción del hongo *Beauveria bassiana*. Rev Colomb Entomol 31: 15-19.
29. **Vázquez-Martínez M, Círerol-Cruz B, Torres-Estrada J, Rodríguez-López M. 2014.** Potential for entomopathogenic fungi to control *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae), a vector of Chagas disease in Mexico. Rev Soc Bras Med Trop 47: 716-722. doi: 10.1590/0037-8682-0193-2014
30. **Vassena C, Picollo M, Zerba E. 2000.** Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. Med Vet Entomol 14: 51-55. doi: 10.1046/j.1365-2915.2000.00203.x
31. **Zerba E. 1999.** Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. Medicina (B. Aires) 59 (Supl II): 41-46.
32. **Zerba E. 2004.** Factores que influyen en la resistencia de triatomíneos a los insecticidas. [Internet]. Disponible en: www.conhu.org.pe/chagas/E.Zerba.pdf