

**Sección Médica****Virulencia de *Beauveria bassiana* y Triflumuron sobre *Rhodnius prolixus* y *R. pallescens* (Hemiptera: Reduviidae)**Virulence of *Beauveria bassiana* and Triflumuron on *Rhodnius prolixus* and *R. pallescens* (Hemiptera: Reduviidae)YAMILLÉ SALDARRIAGA O.<sup>1</sup>, CARMEN A. VÁSQUEZ P.<sup>2</sup>, JAIME DE JESÚS CALLE O.<sup>3</sup>

**Resumen.** Se evaluó la virulencia de la mezcla de *Beauveria bassiana* y Triflumuron sobre *R. prolixus* y *R. pallescens*. Los bioensayos consistieron en la aspersión de suspensiones de conidios de *B. bassiana* a concentraciones de  $3 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$ , y  $3 \times 10^8$  conidios/ml, aspersiones con el insecticida Triflumuron a 0,05; 0,025 y 0,0125 mg/ml y una mezcla de Triflumuron y *B. bassiana* sobre los insectos. Se comparó la respuesta de mortalidad y conidiación del hongo sobre los triatominos en función del tiempo y la concentración. Los resultados fueron variables: tanto *R. prolixus* como *R. pallescens* presentaron diferencias significativas entre todos los tratamientos con *B. bassiana* a las concentraciones de  $3 \times 10^8$  ( $X^2=148.4$ ),  $1 \times 10^7$  ( $X^2=111.6$ ) y  $3 \times 10^5$  conidios/ml ( $X^2=195.5$ );  $3 \times 10^8$  ( $X^2=174.0$ ),  $1 \times 10^7$  ( $X^2=14.35$ ) y  $3 \times 10^5$  conidios/ml ( $X^2=18.85$ ), respectivamente. *R. prolixus* mostró tiempos más cortos de supervivencia en las concentraciones de  $3 \times 10^8$  y  $1 \times 10^7$  conidios/ml de *B. bassiana*. La conidiación de *B. bassiana* sobre los insectos presentó diferencias significativas en cada tratamiento y especie de insecto, con *R. prolixus* mostró un menor tiempo a conidiación. A  $3 \times 10^8$  conidios/ml de *B. bassiana* utilizando tanto el hongo sólo como con el insecticida produjo un menor tiempo de conidiación en las dos especies. Se resalta la importancia de estos resultados al enmarcarlos dentro de uno de los lineamientos que lidera el programa de manejo integrado de plagas establecido inicialmente por Hurpin en 1966 quien afirma que al tratar los insectos con concentraciones altas de conidias y bajas concentraciones del insecticida los hacen más susceptibles a la conidiación.

**Palabras clave:** Insecticida. Triatomino. Control Integrado. Entomopatógeno. Combinación.

**Summary.** The virulence of a combination of *Beauveria bassiana* and Triflumuron on *R. prolixus* and *R. pallescens* was evaluated. The bioassays consisted of spraying the insects with conidial suspensions of *B. bassiana* in concentrations of  $3 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^7$ , and  $3 \times 10^8$  conidia/ml, with Triflumuron insecticide at 0,05; 0,025; and 0,0125  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  and with a mixture of Triflumuron and *B. bassiana*. The mortality response and conidiation of the fungi on the triatomine were compared as a function of time and the concentration applied. The results were variable: both *R. prolixus* and *R. pallescens* differed significantly between all *B. bassiana* treatments at concentrations of  $3 \times 10^8$  ( $X^2=148.4$ ),  $1 \times 10^7$  ( $X^2=111.6$ ) and  $3 \times 10^5$  conidia/ml ( $X^2=195.5$ );  $3 \times 10^8$  ( $X^2=174.0$ ),  $1 \times 10^7$  ( $X^2=14.35$ ) and  $3 \times 10^5$  conidia/ml ( $X^2=18.85$ ), respectively. *R. prolixus* exhibited shorter survival times than *R. pallescens* at concentrations of  $3 \times 10^8$  and  $1 \times 10^7$  conidia/ml of *B. bassiana*. The conidiation of *B. bassiana* on the insect differed significantly among treatments and species of insect, with *R. prolixus* showing shorter times to conidiation. At  $3 \times 10^8$  conidia/ml concentration of *B. bassiana*, either alone or with the insecticide, there was a lower time to conidiation in both species. The importance of these results is highlighted within one of the tenants put forward in integrated pest management programs initially established by Hurpin in 1966, which affirms that treating insects with high concentrations of conidia and low insecticide concentrations makes them more susceptible to conidiation.

**Key words:** Insecticide. Triatomine. Integrated control. Entomopathogen. Combination.**Introducción**

Los insectos hemípteros hematófagos de la familia Reduviidae, *R. pallescens* Barber y *R. prolixus* (Stahl) son dos de los vectores de mayor importancia para Colombia como transmisores de la

enfermedad de Chagas a nivel silvestre y domiciliario (Lent y Wygodzinsky 1979; Angulo y Sandoval 2001). Se encuentran distribuidos principalmente en el norte, centro y oriente del país (Guhl y Nicholls 2001).

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es un problema de salud pública en la zona oriental del territorio colombiano situado por debajo de los 2.000 msnm. Afecta el 7% de la población y ocasiona, en el país, costos

1 Autora para correspondencia: Licenciada en Biología y Química. M.Sc. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. A:A. 1226. Medellín, Colombia. FAX: 2330120. E-mail: ysaldar@matematicas.udea.edu.co

2 Bióloga, aspirante a título de Master en ciencias. Investigador Asociado al Grupo de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. E-mail: avasquez@matematicas.udea.edu.co

3 Biólogo, M.Sc, PhD. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. AA 1226. Medellín, Colombia. Fax 2330120. E-mail: jcalles@matematicas.udea.edu.co

económicos altos en el tratamiento de la cardiopatía chagásica crónica, una de las anomalías de esta enfermedad (Guhl y Nicholls 2001). En América latina se estima que 100 millones de personas se encuentran en zonas de alto riesgo, 18 millones de personas están infectadas con el parásito *Tripanosoma cruzi*, y anualmente aparecen 500.000 casos (Schofield 1997). En Colombia aproximadamente 1,3 millones de personas están infectadas, 3,6 millones viven en zonas de alto riesgo y anualmente aparecen 40.000 casos (Moncayo 1997). A nivel social y económico, esta enfermedad parasitaria se considera como la más importante del continente americano (World Bank 1993).

En ausencia de vacuna o de tratamiento eficaz contra la enfermedad el control antivectorial se ha basado en interrumpir la transmisión del parásito en el domicilio y el peridomicilio, utilizando insecticidas químicos como piretroides, organoclorados, organofosforados y carbamatos (Díaz y Schofield 1999). Este control ha sido empleado en Colombia en el área domiciliar avalado por el Ministerio de Salud (Schmunis *et al.* 1996; Guhl y Nicholls 2001), a pesar de la resistencia adquirida por parte del vector y de la contaminación ambiental ocasionada (OMS 1991). Entre las alternativas de lucha antivectorial se encuentra el uso de los hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae* (Anderson *et al.* 1989; Romaña y Fargues 1992; Fargues y Luz 2000; Lecuona *et al.* 2001; Pineda *et al.* 2002).

Una de las orientaciones de la lucha integrada contra insectos de importancia para el hombre consiste en aplicar simultáneamente gérmenes entomopatógenos con un agente plaguicida. Este método de lucha biológica fue explorado en Rusia (Ferron 1970) sobre la hipótesis de que dosis variables de insecticidas alteran el estado fisiológico del insecto y establecen consecutivamente una intoxicación que sensibiliza al establecimiento de la enfermedad por el agente biológico (Telenga *et al.* 1968).

Uno de los agentes microbianos más utilizados en el control de plagas ha sido el hongo entomopatógeno *B. bassiana*. En Colombia su efecto ha sido evaluado especialmente sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), y así mismo su compatibilidad con insecticidas, herbicidas y funguicidas, encontrándose un efecto

fungistático con la mayoría de los insecticidas evaluados y sólo en unos pocos un efecto deletéreo (Rivera *et al.* 1994; Ibarra y Varela 2002; Vásquez *et al.* 2004).

En estudios realizados por Pristavko (1966) se demostró la alta eficiencia del hongo *B. bassiana* en concentraciones de  $5 \times 10^4$  conidios/ml en asociación con pequeñas dosis de DDT (0,00016 mg i.a.) en el control de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). El resultado de esta acción conjunta del insecticida (DDT), el hongo, la microbiota intestinal en el insecto y la variación del pH de la hemolinfa contribuyen en el proceso patológico del desarrollo de la enfermedad (Rivera *et al.* 1994). *B. bassiana* también ha sido evaluado sobre vectores de importancia en salud humana como vectores del parásito que produce la enfermedad de Chagas (Romaña 1992; Vásquez *et al.* 2004).

El Triflumuron 2 cloro-N-[[4-(Trifluorometoxy) fenil]amino]Carbonil]benzamida es un insecticida del grupo de las benzoilfenilurea (BFU) que se comporta como un inhibidor de la síntesis de quitina de los insectos. Ha sido evaluado en combinación con hongos entomopatógenos como *B. bassiana*, demostrando compatibilidad siendo ésta dependiente del tipo de químico y concentración utilizada (Fargues 1973; Anderson *et al.* 1989; Rivera *et al.* 1994; Soltani *et al.* 1996; Vásquez *et al.* 2004).

El insecticida Triflumuron ha sido evaluado sobre diferentes especies de insectos (ninfas o larvas) de importancia económica, encontrándose que la supervivencia de los insectos varía dependiendo de la concentración del insecticida. Triflumuron dificulta la formación de quitina en los insectos holometábolos y hemimetábolos. Utilizado a concentraciones altas tiene propiedades ovicidas y es más efectivo a medida que aumenta la edad de los huevos (Chang 1979; Hammann y Sirrenberg 1980; Mohsen y Medhi 1989; Smith y Grigarick 1989).

Partiendo de la compatibilidad existente entre el Triflumuron y el hongo entomopatógeno *B. bassiana* se planteó como objetivo evaluar el efecto de esta mezcla sobre la supervivencia de ninfas de *R. prolixus* y *R. pallenscens* de V estado de desarrollo, en comparación con el hongo sólo y el Triflumuron sólo, sobre los mismos vectores. Como hipótesis se planteó que la supervivencia y conidiación de *R. prolixus* y *R. pallenscens* se realiza en un tiempo menor a lo esperado que cuando se aplica el entomopatógeno sólo.

## Materiales y Métodos

El estudio se realizó en el laboratorio de Micología y Control Biológico del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia durante el 2003.

### Insectos

Las colonias de triatominos (*R. prolixus* y *R. pallenscens*) procedieron del laboratorio de Control Biológico del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia, criados y mantenidos en condiciones de humedad relativa y temperatura óptimas para su crecimiento y desarrollo (80% HR y 27°C) en cámara climatizada (WTBbinder 78532 Tuttlingen/Germany). Para el estudio se seleccionaron 4 lotes de insectos, cada uno con 15 ninfas de V estado de desarrollo. Los insectos se alimentaron dos veces por semana sobre gallina (*Gallus gallus*) durante una hora y veinticuatro horas antes de cada ensayo para estimular la producción de la hormona de muda.

### Hongo entomopatógeno

El aislamiento del hongo entomopatógeno *B. bassiana* UdeA<sub>13</sub> se obtuvo a partir del cadáver de un triatomo *R. pallenscens* colectado en la región de San Onofre (Departamento de Sucre, Colombia). El aislamiento se mantuvo en Agar Saboraud Dextrosa (Oxoid Ltda., Basinstoke, Hampshire) a 25°C durante 10 días para obtener los conidios. Los conidios se cosecharon utilizando una barra de vidrio y una solución acuosa estéril de 0,5% de Tween 80 (Sigma, St. Louis, MO, USA) como diluyente para dispersar y mantener su uniformidad. Las suspensiones fueron diluidas en agua destilada estéril y homogenizadas en un vortex Heidolph Reax Control a 2500 rpm (Germany 09441/707-124) y se contaron en la cámara de Neubauer (Boeco-Germany). Con base en los resultados obtenidos por Romaña y Fargues (1992) y Pineda *et al.* (2002) se prepararon tres concentraciones del hongo  $3 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$  y  $3 \times 10^5$  conidios/ml.

### Insecticida

El Triflumuron (Starycide<sup>®</sup> S.C. 480, Bayer), conocido también como SIR 8514, sintetizado en Alemania por el laboratorio de investigaciones químicas de Bayer en 1975, fue obtenido en la casa comercial (IVANAGRO) en la ciudad de Medellín (Colombia). El producto se presenta como una suspensión concentrada (480g/l), a partir de la cual se prepararon las concentraciones de 0,05; 0,025 y 0,0125 µg/µl, que se definieron con base

en los resultados de trabajos anteriores (Vásquez *et al.* 2002). La empresa Bayer recomienda para el control de insectos, especialmente larvas, utilizar Starycide<sup>R</sup> 100 ml en 100 l de agua, con la que se pueden fumigar alrededor de 20 casas (Hammann y Sirrenberg 1980).

### Aplicación de la combinación de *B. bassiana* y Triflumuron sobre insectos

#### Bioensayos

Para el ensayo se tomaron lotes de 15 ninfas con cuatro repeticiones de cada concentración evaluada. El hongo *B. bassiana* y el insecticida se utilizaron como testigos positivos y el agua destilada estéril como testigo negativo. Los insectos tratados fueron mantenidos dentro de cristalizadores plásticos de 288 cm<sup>3</sup> cubiertos con muselina, a cada uno de los cuales se les introdujo una lámina de cartón paja para facilitar el desplazamiento y la alimentación de los insectos (Pineda *et al.* 2002).

La aplicación de los tratamientos se realizó mediante el método de aspersión utilizando un sistema emulador de la Torre de Pulverización de Burgerjon (1956), con un ajuste de presión de 6 psi, un volumen de 30 ml y un tiempo de 1 a 2 minutos por aspersión para todos los ensayos. Los lotes de Insectos Tratamiento se colocaron sobre un pequeño platón incorporado herméticamente a la base de la torre de pulverización, girando mientras se hizo la aspersión para garantizar homogeneidad en la aplicación de la solución. Después de ser asperjada la solución se continuó el platón siguió girando por uno o dos minutos más para permitir la caída de la nube sobre los insectos tratados. Diariamente, durante un mes, se controló la supervivencia de los insectos y/o la aparición de la muda y posible pre-

sencia de malformaciones de los insectos supervivientes al tratamiento.

#### Análisis estadístico

Para tener una buena comprensión de las respuestas obtenidas en la investigación tanto de supervivencia como de conidiación se codificó como grupo cada tratamiento a saber: como grupo 1 la solución fúngica sola ( $3 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$  y  $3 \times 10^5$  conidios/ml), como grupos 2, 3, 4 la combinación de cada concentración del hongo y el Triflumuron y como grupos 5, 6 y 7 el Triflumuron sólo (0,0125; 0,0250 y 0,050 µg/µl).

El análisis de supervivencia para *R. prolixus* y *R. pallelescens* se realizó utilizando la curva del análisis de supervivencia de Kaplan y Meier y la prueba de Gehan generalizada para todos los tratamientos, con el paquete estadístico Statistica 98 (Statsoft Inc., Tulsa, USA). Para la comparación estadística de las diferentes curvas de supervivencia se aplicó la corrección de Bonferroni suponiendo un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ . Para cada especie primero se analizaron todos los tratamientos entre sí, luego cada grupo y finalmente se compararon los grupos más relevantes según los resultados encontrados. La base de comparación se hizo partiendo de la concentración de la solución conidial de *B. bassiana* ( $3 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$  y  $3 \times 10^5$  conidios/ml).

#### Resultados y Discusión

La respuesta de supervivencia de ninfas de V estado de desarrollo de *R. prolixus* y *R. pallelescens* al ser sometidas a los tratamientos presentaron diferencias significativas en cada especie así:

Para *R. prolixus*, en la concentración  $3 \times 10^8$  se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos 1, 2-4 y 5-

7 ( $X^2=148.4$  y  $P<0.05$ ). El menor tiempo de supervivencia lo presentó el tratamiento 1 (*B. bassiana*), mientras que los tratamientos del 2-4 y 5-7 presentaron TL<sub>50</sub> mayores: entre 6,0-7,5 y 29 días, respectivamente (Tabla 1).

Para la concentración de  $1 \times 10^7$  conidios/ml igualmente se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos 1-7 ( $X^2=111.6$  y  $P<0.05$ ). En la concentración  $1 \times 10^7$  conidios/ml hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos 1-4 y 5-7, con un TL<sub>50</sub> que varió entre 6,5-8,0 y 29 días respectivamente (Tabla 1).

Para la concentración de  $3 \times 10^5$  conidios/ml la comparación entre todos los tratamientos mostró diferencias significativas ( $X^2=195.5$  y  $P<0.05$ ). Los tratamientos 1 y 3 mostraron diferencias con respecto a los tratamientos 5 y 6 ( $X^2=26.3$  y  $P<0.05$ ) (Tabla 1). Los tratamientos 2, 4 y 7 tuvieron diferencias estadísticas con el tratamiento 1 ( $X^2=195.5$  y  $P<0.05$ ). Así mismo estos tratamientos presentaron diferencias significativas con el 5 y 6 ( $X^2=56.3$  y  $P<0.05$ ) (Tabla 1). El TL<sub>50</sub> mayor lo presentó el tratamiento 5 y 6 (29 días) mientras el menor lo presentaron los tratamientos 4 y 7.

En *R. pallelescens* para la concentración de  $3 \times 10^8$  conidios/ml se encontraron igualmente diferencias significativas entre todos los tratamientos ( $X^2=14.35$  y  $P<0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas al comparar los tratamientos 5-7, con una TL<sub>50</sub> entre 10-11 días, ni entre los tratamientos 2-4 con TL<sub>50</sub> entre 6-7 días (Tabla 1).

Para la concentración de  $1 \times 10^7$  conidios/ml se encontraron diferencias estadísticas entre los siete tratamientos ( $X^2=14.35$  y  $P<0.05$ ). Entre los tratamientos 2-7 no

**Tabla 1.** Respuesta de supervivencia de ninfas de *R. prolixus* y *R. pallelescens* (de V estado de desarrollo) inducida por los diferentes tratamientos. N = 60

Concentraciones <i>B. bassiana</i>	<i>Rhodnius prolixus</i> Medianas en días			<i>Rhodnius pallelescens</i> Medianas en días		
	3x10 <sup>8</sup> conidios/ml	1x10 <sup>7</sup> conidios/ml	3x10 <sup>5</sup> conidios/ml	3x10 <sup>8</sup> conidios/ml	1x10 <sup>7</sup> conidios/ml	3x10 <sup>5</sup> conidios/ml
Grupos tratamiento						
1	5,0 (a*)	6,5 (a)	13,0 (a)	8,0 (a)	9,0 (a)	9,0 (a)
2	7,0 (b)	7,0 (a)	10,0 (b)	6,5 (b)	8,0 (b)	8,0 (b)
3	6,0 (b)	8,0 (a)	11,0 (ba)	7,0 (b)	7,0 (b)	8,0 (b)
4	7,5 (b)	7,0 (a)	9,0 (b)	6,0 (b)	8,0 (b)	9,0 (b)
5	29,0 (c)	29,0 (b)	29,0 (c)	10,0 (c)	7,0 (b)	9,0 (a)
6	29,0 (c)	29,0 (b)	29,0 (c)	11,0 (c)	7,0 (b)	7,0 (a)
7	29,0 (c)	29,0 (b)	9,0 (b)	10,0 (c)	6,5 (b)	8,0 (a)

Grupos tratamientos: 1. *B. bassiana*; 2. *B. bassiana* con la concentración 0,0125 µg/µl de Triflumuron 3. *B. bassiana* con la concentración 0,0250 µg/µl e Triflumuron 4. *B. bassiana* con la concentración 0,050 µg/µl de Triflumuron; 5. Concentración 0,0125 µg/µl de Triflumuron; 6. Concentración 0,0250 µg/µl de Triflumuron y 7. Concentración 0,050 µg/µl de Triflumuron. \*Letras diferentes indican que las medianas son estadísticamente diferentes.

se encontraron diferencias significativas, en donde los  $TL_{50}$  oscilaron entre 6,5 y 8 días. *B. bassiana* presentó un  $TL_{50}$  de 9 días (Tabla 1).

La concentración de  $3 \times 10^5$  conidios/ml presentó diferencias significativas entre los siete tratamientos ( $X^2=18.85$  y  $P<0.05$ ). *B. bassiana* sólo tuvo un  $TL_{50}$  de 9 días. Al comparar este resultado con los demás tratamientos se encontró que no hubo diferencia estadística entre los tratamientos 1, 5, 6 y 7 con  $TL_{50}$  que oscilaron entre 7 y 9 días. No se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos 2, 3 y 4 mostrando  $TL_{50}$  entre 8-9 días (Tabla 1).

Respecto a la conidiación en *R. prolixus* se encontraron diferencias significativas en las concentraciones  $3 \times 10^8$  y  $3 \times 10^5$  conidios/ml ( $X^2=15.94$  y  $P<0.05$  y  $X^2=22.67$  y  $P<0.05$ ) respectivamente. En la concentración de  $1 \times 10^7$  conidios/ml no se hallaron diferencias entre el tratamiento 1 y los tratamientos 2-4, arrojando un  $TC_{50}$  (tiempo de conidiación) entre 7,5 y 9 días (Tabla 2).

Para *R. pallescens* se encontraron diferencias significativas en las tres concentraciones ( $X^2=174.0$  y  $P<0.05$ ). Para la concentración de  $3 \times 10^8$  y  $1 \times 10^7$  conidios/ml se encontraron diferencias entre el tratamiento 1 y los tratamientos 2-4 con  $TC_{50}$  entre 7,5 y 10 días. En la concentración  $3 \times 10^5$  conidios/ml se observó diferencia estadística entre los cuatro tratamientos, así: hubo diferencia entre el tratamiento 1 y 2, entre el tratamiento 2 y 4, y se encontró similitud entre los tratamientos 2-4 y 3-4. Los tratamientos 2 y 3 presentaron el mismo  $TC_{50}$  de 9 días, y los tratamientos 1 y 4  $TC_{50}$  de 10 días (Tabla 2).

Al comparar la respuesta entre ambas especies frente a la aplicación de la mezcla se encontró que para *R. prolixus*, la conidiación del hongo sobre el insecto se demoró más para expresarse a una menor concentración de *B. bassiana*.

Los investigadores Pineda *et al.* (2002) evaluaron a *R. ecuadoriensis* con *B. bassiana* encontrando un  $TL_{50}$  de 6 días para la concentración de  $3 \times 10^8$  conidios/ml frente a *R. prolixus*, el cual presentó en este estudio un  $TL_{50}$  de 5 días bajo la misma concentración y para el mismo aislamiento. Esta similitud en los resultados podría explicarse por la pertenencia de las dos especies a un mismo género y con características de hábitat parecidas ya que *R. prolixus* está adaptado a ambientes domiciliarios y *R. ecuadoriensis* tanto al silvestre como al domiciliario (Pineda *et al.* 2002).

La respuesta de los insectos (supervivencia) a la aplicación de la mezcla comparándola con la aplicación del hongo sólo fue muy variable teniendo en cuenta que se presentan diferencias entre uno y cuatro días para todas las concentraciones evaluadas y en las dos especies de triatominos. Esta respuesta de similitud en el comportamiento de la mezcla frente al hongo sólo, podría deberse al daño que ocasiona Triflumuron sobre la cutícula del insecto facilitando de esta forma la entrada del tubo germinal de la espora en el cuerpo del triatominio (Castellanos 1997).

Este resultado es relevante cuando se piensa en los principios del manejo integrado de plagas (MIP) que parten de la utilización de dos componentes como es un insecticida a dosis subletales y un microorganismo, en este caso un hongo entomopatógeno a dosis altas que igualmente no son dañinas al medio ambiente. Se espera que con la utilización de los dos componentes que se complementen en el MIP, asociado al trabajo con la comunidad implicada en el problema, se reduzcan los daños ocasionados por los insectos de importancia y no se afecte en gran medida a los ecosistemas.

El hecho de que la germinación del hongo sobre el cadáver del triatominio fue en algunas concentraciones inhibida lige-

ramente (datos no mostrados) cuando se realizó el tratamiento con el insecticida, podría deberse a una acción fungistática de Triflumuron sobre *B. bassiana*. Esto teniendo en cuenta que los hongos entomopatógenos tienen en su pared quitina, de forma que pasado algún tiempo de adaptación y resistencia del hongo a la acción del químico, continúa con su proceso de germinación y crecimiento micelial (Castellanos 1997). De esta manera finalmente lograría sobrepasar el porcentaje de germinación y conidiación del tratamiento con el hongo sólo sobre los triatominos, como se observó en el presente estudio.

Anderson *et al.* (1989) en el estudio realizado sobre el escarabajo de la papa encontraron que *B. bassiana* asociado a Triflumuron, Abamectin, y Turgingensis no fue inhibido y su acción conjunta sobre el insecto blanco no mostró gran diferencia en la mortalidad entre *B. bassiana* sólo y la combinación con los agentes químicos. Adicionalmente la incidencia de la conidiación tampoco difirió entre los dos tratamientos; sin embargo, la acción conjunta del hongo y el agente químico introducen múltiples factores de mortalidad, lo que puede representar una ventaja en el manejo de plagas y retrasar alguna expresión de resistencia a nuevos insecticidas. Estos resultados fueron similares con los hallados en este estudio cuando se encontró que la expresión de la conidiación en *R. prolixus* y *R. pallescens* no difirió entre los dos tratamientos; sin embargo nuestros resultados de mortalidad en los insectos tratados presentaron diferencias con respecto a los encontrados por Anderson *et al.* (1989) sobre el coleóptero.

La supervivencia de los insectos tratados con Triflumuron sólo, varió para cada especie evaluada. A mayor concentración del insecticida aplicado la supervivencia se redujo. Fue cuestionable la respuesta que presentó Triflumuron sólo sobre *R. prolixus* frente a la supervivencia. Este

**Tabla 2.** Tiempos de conidiación de *B. bassiana* con respecto a cada tratamiento y a cada especie de Triatominio

Concentraciones <i>B. bassiana</i>	<i>Rhodnius prolixus</i> Medianas en días			<i>Rhodnius pallescens</i> Medianas en días		
	$3 \times 10^8$ conidios/ml	$1 \times 10^7$ conidios/ml	$3 \times 10^5$ conidios/ml	$3 \times 10^8$ conidios/ml	$1 \times 10^7$ conidios/ml	$3 \times 10^5$ conidios/ml
Grupos tratamiento						
1	6,0 (a*)	7,5 (a)	14,0 (a)	9,0 (a)	10,0 (a)	10,0 (a)
2	8,0 (b)	8,0 (a)	11,0 (bc)	7,5 (b)	9,0 (b)	9,0 (b)
3	7,0 (b)	9,0 (a)	13,0 (a)	8,0 (b)	8,0 (b)	9,0 (ab)
4	8,5 (b)	8,0 (a)	10,0 (c)	7,0 (b)	9,0 (b)	10,0 (a)

Grupos Tratamiento: 1. *B. bassiana*; 2. *B. bassiana* con la concentración 0,0125  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de Triflumuron 3. *B. bassiana* con la concentración 0,0250  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de Triflumuron 4. *B. bassiana* con la concentración 0,050  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de Triflumuron. \*Letras diferentes indican que las medianas son estadísticamente diferentes.

resultado no se podría explicar de forma certera y se puede suponer una falla humana en la preparación de las diferentes diluciones del insecticida antes de su aplicación. Sin embargo, la respuesta de *R. pallescens* fue más homogénea y podría dar bases para comprender el efecto de este insecticida sobre los triatomínos.

Las concentraciones de Triflumuron evaluadas en el presente estudio son muy bajas; diez veces por debajo de la dosificación recomendada por la casa fabricante (Bayer) para el control de insectos (0,48 µg/µl en 100 l para rociar 20 casas), lo que podría explicar la reducción del efecto letal de Triflumuron sobre los triatomínos (Hamman y Sirrenberg 1980), tanto en su aplicación sólo como en combinación con el hongo. Este efecto deletéreo y letal se evidenció en la morfología de los insectos que pasaron al estado adulto o murieron en su intento o aquellos que sobrevivieron no más de 30 días postratamiento. Chang (1979), Hamman y Sirrenberg (1980), Picollo de Villar *et al.* (1987), Soltani *et al.* (1996) y Vásquez *et al.* (2002) evaluaron Triflumuron sobre diferentes especies de insectos reportando un alto porcentaje de adultos o ninfas con daños morfológicos antes y después de mudar totalmente. Los daños morfológicos encontrados en los insectos en el presente trabajo se vieron especialmente en escutelo, proboscide, genitalia, tejido conectivo, y en mayor proporción en las alas, concordando estos resultados con los obtenidos por los investigadores anteriores, teniendo en cuenta que Triflumuron es larvicida por excelencia.

Para *R. prolixus* la solución fúngica sola ejerció un efecto mayor de mortalidad en las dos primeras concentraciones  $3 \times 10^8$  y  $1 \times 10^7$  conidios/ml, seguido por el efecto letal de la mezcla en estas dos mismas concentraciones y por último el insecticida que produjo una mayor supervivencia de las ninfas tratadas. La gran diferencia en los  $TL_{50}$  entre los tratamientos 1-4 con respecto a los tratamientos 5-7 (Triflumuron) se podría explicar primero porque como se dijo antes, las concentraciones de Triflumuron utilizadas en este estudio son bajas con respecto a las concentraciones recomendadas para que actúe como un insecticida. Adicionalmente el efecto de un regulador de crecimiento depende del momento (en su metamorfosis) y la concentración aplicada, puesto que son insecticidas más específicos que los hasta ahora utilizados para control de insectos de importancia para el hombre (Hamman y Sirrenberg 1980).

Los investigadores Romaña y Fargues (1992), Arroyave (1995) y Pineda *et al.* (2002) realizaron estudios en ninfas de I y V estado de desarrollo de *Rhodnius* utilizando las tres concentraciones de *B. bassiana* evaluadas en este trabajo, encontrando  $TL_{50}$  desde 4,63 a 7 días y una conidiación del 100%. Los resultados de tiempos de conidiación de este estudio no coinciden totalmente con los anteriores trabajos, ya que la aplicación de la mezcla y el hongo sólo presentaron tiempos medios de conidiación después de los siete días. Las especies de triatomínos evaluadas en todos los anteriores estudios fueron diferentes, pero del mismo género. Adicionalmente la forma de aplicación del inóculo fúngico varió en este estudio, en donde se realizó por aspersión y en los anteriores trabajos fueron realizadas de forma indirecta a través de lonas de algodón inoculadas con el hongo para depositar allí los insectos tratamiento.

Lecuona *et al.* (2001) evaluó *B. bassiana* a concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ml sobre *T. infestans* principal vector de la enfermedad de Chagas para Argentina encontrando tiempos de mortalidad entre 6,5 y 7,3 días con un 100% de mortalidad. Estos resultados fueron similares a los del presente estudio en los tiempos de mortalidad, pero difiriendo con *R. pallescens* donde los tiempos de mortalidad fueron superiores a 8 días.

En cuanto a las respuestas de conidiación sobre los cadáveres de los insectos de ambas especies la muscardina de *B. bassiana* apareció al segundo día de estar los insectos en cámara húmeda. Sin embargo, en esta conidiación podría decirse que aumentó gradualmente el desarrollo del micelio sobre el insecto. Se observaron además diferencias desde el punto de vista cualitativo (datos no presentados); así la muscardina blanca apareció más rápido sobre el cadáver del insecto con la aplicación de la mezcla que con el hongo sólo; su textura fue más tupida con un área de invasión más extensa, empezando por las áreas intersegmentales principalmente patas, proboscide, escutelo y finalmente abdomen y tejido conectivo, según lo descrito por Tanada y Kaya (1993); en contraste con el comportamiento del tratamiento con el hongo sólo, donde su invasión apareció en igual orden pero en las áreas intersegmentales, la muscardina apareció con menos densidad y más polvoso. Estos resultados fueron similares con los de Vásquez *et al.* (2005), cuando se evaluó el comportamiento de *B. bassiana* UdeA<sub>13</sub> sobre *R. prolixus* de V estado de desarro-

llo a las mismas concentraciones evaluadas en este trabajo.

La mortalidad de *R. prolixus* y *R. pallescens* asociada a la aplicación de *B. bassiana* en combinación con Triflumuron dependió en gran medida de la alta concentración del hongo y baja del insecticida aplicado. *R. pallescens* tuvo mayor susceptibilidad al efecto de la mezcla del insecticida y el hongo, especialmente en las concentraciones  $3 \times 10^8$  y  $1 \times 10^7$  conidios/ml. La concentración  $3 \times 10^8$  conidios/ml de *B. bassiana* utilizado sólo o en combinación produjo en menor tiempo la conidiación en ambas especies de triatomínos.

Aunque dentro de la hipótesis planteada al inicio de este trabajo se esperaba que el efecto de la mezcla del insecticida a concentraciones subletales y el hongo entomopatógeno a concentraciones altas fuera mayor al efecto causado por la aplicación del hongo o el insecticida solos, se encontró que el efecto de la aplicación de la mezcla sobre la supervivencia de los insectos fue levemente mayor sobre los otros dos parámetros evaluados; lo que sugiere realizar otras pruebas en laboratorio y en campo para evaluar que otros factores pueden aumentar o disminuir la respuesta de los agentes involucrados en este estudio.

En la literatura revisada se encontraron estudios relacionados con el efecto de insecticidas sobre insectos plaga de importancia económica y la patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre estos. Hay pocos estudios relacionados con el efecto causado por la utilización conjunta de insecticidas y hongos entomopatógenos sobre insectos. Dentro del manejo integrado de plagas, la utilización de ambos (el insecticida y el microorganismo), como el modelo evaluado en este estudio, podrían servir como una base para futuras investigaciones constituyéndose en una alternativa menos costosa.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a los profesores Fabio Pineda G., Ana Isabel Gutiérrez y Nadya Cardona por el aporte en la redacción del artículo y Abel Díaz Cadavid por el análisis estadístico de la investigación. A la Corporación Académica para el Estudio de Patologías Tropicales, al CODI y a los investigadores del Grupo de Micología y de Control Biológico del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia por el apoyo logístico y la financiación de esta investigación.

## Literatura citada

- ANDERSON, T. E.; HAJEK, A. E.; ROBERTS, D. W.; PREISLER, H. K.; ROBERTSON, J. L. 1989. Colorado Potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Effects of Combinations of *Beauveria bassiana* with insecticides. Journal of Economical Entomology 82 (1): 83-89.
- ANGULO, V.; SANDOVAL C. 2001. Enfermedad de Chagas en Colombia. Memorias ECLAT IV. Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales. CINTROP Universidad Industrial de Santander. 6 p.
- ARROYAVE, E. 1995. Susceptibilidad de algunas especies de Triatomíneos al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. Trabajo de grado. Instituto de Biología. Universidad de Antioquia. 40 p.
- BURGERJON, A. 1956. Pulvérisation et poudrage en laboratoire par des préparations pathogènes insecticides Annales INRA Epiphyties 7: 675-684.
- CASTELLANOS, D. O. 1997. Importancia en la patogenicidad de la acción enzimática del hongo *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. Revista Colombiana de Entomología. 23: (1-2): 65 -71.
- CHANG, S. C. 1979. Laboratory evaluation of Diflubenzuron, Penfluron and Bay SIR 8514 as female sterilants against the house fly. Journal Economical Entomology 72: 479-488.
- DIAZ, J. C. P.; SCHOFIELD, C. J. 1999. The evolution of Chagas Disease (American Trypanosomiasis) control after 90 years of Carlos Chagas Discovery. Memories Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 94, supp 1.
- FARGUES, J. 1972. Traitement mixte des larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* Say par des spores du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Et des doses reduites d'insecticide. Phytatrie Phytopharmacie 21: 170-183.
- FARGUES, J. 1973. Sensibilité des larves de *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col., Chrysomelidae) a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Fungi Imperfecti, Moniliales) en presence de doses reduites d'insecticide. Annales de Zoologie. Ecologie Animal 5: 231-246.
- FARGUES, J.; LUZ, C. 2000. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on the infection potential of *Beauveria bassiana* for *Rhodnius prolixus*. Journal of Invertebrate Pathology 75 (3): 202-211.
- FERRON, P. 1970. Augmentation de la sensibilité des larves de *Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabacidae) a *Beauveria tenella* (Delaer). Siemaszko au moyen de quatités reduites de HCH. Proc. IV th Coll. Insect Pathology, College Park. p. 66-79.
- GUHL, F.; NICHOLLS, S. 2001. Manual de procedimientos para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas. Universidad de los Andes, Instituto Nacional de Salud, OMS. Santa Fe de Bogotá, Colombia. 98 p.
- HAMMANN, Y.; SIRRENBERG, W. 1980. Laboratory evaluation of SIR 8514, a new chitin synthesis inhibitor of the benzoylated urea class. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 32: 35-46.
- IBARRA, A. M.; VARELA, A. 2002. Aislamiento, identificación y caracterización de hongos como agentes potenciales de control biológico en algunas regiones Colombianas. Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 129-137.
- LECUONA, R. E.; EDELSTEIN, J. D.; BERRETTA, M. F.; LA ROSSA, F. R.; ARCAS J. A. 2001. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) Strains as Potential Agents for Control of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Journal of Medical Entomology. 38 (2): 172-179.
- LENT, H.; WYGODZINSKY, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as Vectors of Chagas Disease. Bulletin of the American Museum of Natural History 163 (3): 410-411.
- MOHSEN, Z. H.; MEHDI, N. S. 1989. Effects of insect growth inhibitor Alstylin on *Culex quinquefasciatus* Say (Culicidae: Diptera). Insects Science Applications. 10(1):29-33.
- MONCAYO, A. 1997. Progress towards elimination of transmission of Chagas disease in Latin America. WHO. Statistics Quarterly 50: 195-198.
- OMS 1991. Control de la Enfermedad de Chagas. Informe de un Comité de Expertos de la OMS. Serie de Informes Técnicos. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 320 p.
- PICOLLO de VILLAR M. I., H. J.; SECCACINI, E.; FONTAN, A.; ZERBA, E. N. 1987. Activity of the insect growth regulator fenoxycarb (RO-13-5223) on *Triatoma infestans* (Hemiptera). Biochemical Physiology 87 (2): 367-373.
- PINEDA, F.; SALDARRIAGA, Y.; GOMEZ, C. 2002. Susceptibilidad de *Rhodnius ecuadoriensis* de quinto estado de desarrollo a la acción de *Beauveria bassiana*. Revista Colombiana de Entomología 28 (1):9-12.
- PRISTAVKO, V.P. 1966. Processus pathologiques consecutifs a l'action de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, associe a de faibles doses de DDT chez *Leptinotarsa decemlineata* Say. Entomophaga 11: 311-324.
- RIVERA, M. A.; BUSTILLO, P. A.; MARIN, M. P. 1994. Compatibilidad de dos aislamientos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en mezcla con insecticidas usados en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Revista Colombiana de Entomología 20 (4): 209-214.
- ROMAÑA, C. A.; FARGUES, J. F. 1992. Relative susceptibility of different stages of *Rhodnius prolixus* to the entomopathogenic hyphomycete *Beauveria bassiana*. Memorias. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 87 (3): 363-368.
- SCHOFIELD, C. J. 1997. Bases técnicas y económicas para el control a gran escala de la enfermedad de Chagas. Memorias curso de posgrado: genética poblacional de triatomíneos aplicada al control vectorial de la enfermedad de Chagas. Editores Corcas, Santa Fé de Bogotá. Colombia. 180 p.
- SCHMUNIS, G. A.; ZICKER F; MONCAYO A. 1996. Interruption of Chagas' disease transmission through vector elimination. The Lancet. 348 p.
- SMITH, K. A.; GRIGARICK, A. A. 1989. Triflumuron residual activity and oviductal longevity in the Rice Water Weevil (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Economical Entomology 82 (2): 645-648.
- SOLTANI, N.; SOLTANI-MAZOUNI, N.; DELACHAMBRE, J. 1996. Evaluation of Triflumuron, a Benzoilphenylurea Derivate, on *Tenebrio molitor* pupae (Coleoptera: Tenebrionidae), Effect on cuticle. Journal of Applied Entomology 120 (10): 627-629.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. 1993. Insect pathology Academic Press, Inc. Harcourt Brace Avonovich. p. 359-361.
- TELENGA, N. A.; SIKOURA, A. I.; SMETNIK, A. I. 1968. Emploi du produit biologique Beauverine combiné a des insecticides dans la lutte contre le doryphore (en russe). Zashch. Rast 4: 3-23.
- VÁSQUEZ, C.; SALDARRIAGA, Y.; GÓMEZ, W. A.; PINEDA, F. 2002. Susceptibilidad de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) a la acción de Triflumuron. Revista Colombiana de Entomología 28 (1): 13-16.
- VÁSQUEZ, C.; SALDARRIAGA, Y.; PINEDA, F. 2004. Compatibilidad del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con Triflumuron. Revista Colombiana de Entomología 30(1): 23-27.
- VÁSQUEZ, C.; SALDARRIAGA, Y.; CHAVERRA, D.; 2005. Susceptibilidad de *Rhodnius prolixus* de V estado de desarrollo a la acción del hongo *Beauveria bassiana*. Revista Colombiana de Entomología. 31(1):15-20.
- WORLD BANK, 1993. World Development Report 1993. Investing in Health. Oxford University Press, New York 329 p.