



DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i6.3642

**Efecto de beauveria bassiana balsamo, 1835
(hipocreales: clavicipitaceae) en la reproducción de meccus
pallidipennis stal, 1872 (heteroptera: reduviidae)**

Laura Yelena Delgado-Gonzalez

yelena.del@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-0831-5704>

Laboratorio de Artropodología y Salud,
Facultad de Ciencias Biológicas Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla. Calle 4 Sur, No. 104,
Col. Centro, C. P. 5013, Puebla

José Lino Zumaquero-Ríos

linozuma@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-5259-4902>

Laboratorio de Artropodología y Salud,
Facultad de Ciencias Biológicas Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla. Calle 4 Sur, No. 104,
Col. Centro, C. P. 5013, Puebla

César Antonio Sandoval-Ruíz

cesar.sandoval@correo.buap.mx

<https://orcid.org/0000-0002-8322-5525>

Laboratorio de Artropodología y Salud,
Facultad de Ciencias Biológicas Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla. Calle 4 Sur, No. 104,
Col. Centro, C. P. 5013, Puebla

Axel Sampayo Andrade

saman.axl13@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-7066-0715>

Laboratorio de Artropodología y Salud,
Facultad de Ciencias Biológicas Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla. Calle 4 Sur,
No. 104, Col. Centro, C. P. 5013, Puebla

RESUMEN

El riesgo sanitario de los triatominos como vectores de *Trypanosoma cruzi* está relacionado con la domiciliación de especies originalmente selváticas que logran adaptarse a hábitats humanos, encontrando variadas fuentes de alimento y refugio. Para el control de estos insectos se utiliza la fumigación residual con insecticidas piretroides, pero debido a la resistencia de los triatominos a insecticidas químicos y altos costos de fumigaciones permanentes, alternativamente se ha probado con éxito el potencial de algunos hongos entomopatógenos como controladores biológicos. Sin embargo, se desconoce el efecto de dosis sub letales sobre parámetros reproductivos, siendo estos factores muy importantes en el crecimiento poblacional y colonización de nuevos hábitats. En este trabajo probamos el efecto de una concentración de conidios baja de *Beauveria bassiana* (1×10^8 conidios/ml) en los parámetros reproductivos de hembras de *Meccus pallipennis* inoculadas en el estadio adulto, contabilizando diariamente el número de huevos puestos y eclosionados en un periodo de 44 días. No se registró inhibición de la oviposición, todas las hembras pusieron huevos, pero la infección fúngica redujo un 63% la fertilidad de las hembras tratadas. El rendimiento reproductivo de las hembras control fue de 56.7 ± 3.8 huevos /hembra/vida mientras que el rendimiento de las hembras infectadas fue de 20.8 ± 2.9 huevos /hembra/vida encontrando diferencias significativas entre las medias de los grupos. ($p < 0.0008$). No se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de eclosión entre ambos grupos ($p = 0.3737$). El sistema reproductor de las hembras infectadas no presentó variación en el tamaño de las estructuras, sin embargo, se observaron organismos sin filamento terminal, germario, y las ovariolas vacías, con algunos ovocitos desprendidos del vitelario. Confirmamos la presencia de *B. bassiana* en la genitalia y ovocitos. Durante el diseño experimental se observó que los machos tratados con *B. bassiana* no completaron el patrón de cópula.

Palabras clave: *biocontrol; oviposición; fecundidad; fertilidad; triatominos; hongos entomopatógenos; enfermedad de Chagas*

Correspondencia: yelena.del@gmail.com

Artículo recibido 15 setiembre 2022 Aceptado para publicación: 15 octubre 2022

Conflictos de Interés: Ninguna que declarar

Todo el contenido de **Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar**, publicados en este sitio están disponibles bajo

Licencia [Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) 

Cómo citar: Delgado-Gonzalez, L. Y., Lino Zumaquero-Ríos, J., Sandoval-Ruíz, C. A., & Sampayo Andrade, A. (2022). Efecto de *beauveria bassiana* balsamo, 1835 (hipocreales: clavicipitaceae) en la reproducción de *meccus pallidipennis* stal, 1872 (heteroptera: reduviidae). *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(6), 1840-1853. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i6.3642

Effect of *Beauveria bassiana* balsam, 1835 (hipocreales: clavicipitaceae) in the reproduction of *meccus* *pallidipennis* stal, 1872 (heteroptera: reduviidae)

ABSTRACT

The health risk of triatomines as vectors of *Trypanosoma cruzi* is related to the domiciliation of originally wild species that manage to adapt to human habitats, finding varied sources of food and shelter. Residual fumigation with pyrethroid insecticides is used to control these insects, but due to the resistance of triatomines to chemical insecticides and high costs of permanent fumigation, the potential of some entomopathogenic fungi as biological controllers has been successfully tested. However, the effect of sub-lethal doses on reproductive parameters is unknown, as these factors are very important in population growth and colonization of new habitats. In this work we tested the effect of a low concentration of *Beauveria conidia. bassiana* (1×10^8 conidia/ml) on the reproductive parameters of *Meccus pallipennis* females inoculated in the adult stage, counting daily the number of eggs laid and hatched in a period of 44 days. No inhibition of oviposition was recorded, all the females laid eggs, but the fungal infection reduced the fertility of the treated females by 63%. The reproductive yield of the control females was 56.7 ± 3.8 eggs/female/life while the yield of the infected females was 20.8 ± 2.9 eggs/female/life, finding significant differences between the means of the groups. ($p < 0.0008$). No significant differences were detected in the hatching percentage between both groups ($p = 0.3737$). The reproductive system of the infected females did not present variation in the size of the structures, however, organisms without terminal filament, germium, and empty ovarioles were observed, with some oocytes detached from the yolk. We confirmed the presence of *B. bassiana* in genitalia and oocytes. During the experimental design it was observed that the males treated with *B. bassiana* did not complete the mating pattern.

Keywords: *biocontrol; oviposition; fertility; fertility; triatomines; entomopathogenic fungi; chagas disease*

INTRODUCCIÓN

La Tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es una enfermedad parasitaria potencialmente mortal causada por el parásito protozooario *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, con gran relevancia en todas las regiones tropicales de América, donde registra 30.000 nuevos casos cada año, siendo transmitida a los seres humanos y otros mamíferos principalmente por las heces o la orina de insectos triatomínicos (OPS, 2017; Penados et al., 2020).

En México se estima cerca de un millón de personas infectadas y 30 millones en riesgo de contraerla (WHO, 2020), así como, alrededor de 31 especies de triatomínicos potenciales vectores de *T. cruzi* distribuidas a lo largo de todos los estados de la república (Tay et al., 1961; Tay et al., 1980; Velasco, 1986; Salazar–Shettino et al., 2010).

Aunque todas las especies de triatomínicos son vectores potenciales de *T. cruzi*, su riesgo sanitario está relacionado con el desplazamiento y domiciliación de especies originalmente selváticas (WHO, 2002; Salazar-Schettino et al., 2010) que logran adaptarse a los hábitats humanos donde encuentran variadas fuentes de alimentos y refugio. La aspersión residual con insecticidas químicos ha sido la principal estrategia de control de las poblaciones domésticas y peri domésticas mostrando un éxito significativo en la reducción de la transmisión. Sin embargo, debido al alto costo de recursos financieros y humanos para mantener las fumigaciones periódicas es poco viable mantenerlo a largo plazo, además de la creciente evidencia de poblaciones de triatomínicos con alta resistencia a piretroides (Yon et. al., 2004; Forlani et. al., 2015; Mannino et. al., 2018). Esto hace evidente la necesidad de una estrategia de control que sea integral y funcional a largo plazo para evitar la reinfestación de viviendas, con fumigaciones que tengan el objetivo controlar el tamaño de las poblaciones domiciliadas, no eliminar la mayor cantidad de individuos posibles en efecto inmediato.

Como enfoque integrativo, se ha demostrado la eficacia del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Balsamo, 1935 para controlar las poblaciones de triatomínicos, con ensayos exitosos tanto en campo como en laboratorio. (Forlani et. al., 2015; Mannino et. al., 2018). La interacción que mantiene este hongo con los triatomas huéspedes ya ha sido descrita como una carrera armamentista evolutiva que en definitiva aventaja *B. bassiana*, esto nos aporta un panorama promisorio para el control biológico de los vectores de la enfermedad de Chagas (Martí et al., 2005; Mannino et. al., 2018)

El potencial biocida de *B. bassiana* como medio de control para poblaciones de triatomíneos fue estudiado por primera vez por Romaña et al. 1987, dando inicio a una serie de investigaciones posteriores que describen detalladamente diversos rasgos biológicos y bioquímicos sobre la interacción entre los insectos triatomíneos y patógenos fúngicos, incluido el mecanismo inicial de penetración de la cutícula, los efectos de la muda, alimentación, la importancia de la auto diseminación conidial en la mortalidad y susceptibilidad general de los insectos (Napolitano y Juárez, 1997; Pedrini et. al., 2007; Flores-Villegas et al., 2016; Forlani et. al., 2011; Zumaquero-Rios et al., 2014; Cazorla, 2016). Sin embargo, los trabajos que abordan el efecto de distintas dosis de *B. bassiana* en la infertilidad y disminución del potencial reproductivo están limitados a los realizados por Forlani et. al., 2015 en *T. infestans* Klug, 1834, cuando estos factores son determinantes en el crecimiento poblacional y colonización de nuevos hábitats.

El objetivo de este trabajo es analizar el efecto de *B. bassiana* sobre la reproducción *Meccus pallidipennis* Stal, 1872 al evaluar parámetros reproductivos (oviposición, fecundidad y fertilidad) de hembras infectadas en el estadio adulto bajo condiciones de laboratorio, así como describir el sistema reproductivo tras la exposición al patógeno fúngico.

MATERIALES Y MÉTODO

Insectos

Los organismos de *M. pallidipennis* provienen de una colonia mantenida en el Laboratorio de Parásitos y Vectores de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla a temperatura y humedad constantes de 27°C y 70% de humedad relativa con 9 horas de luz / 15 horas de oscuridad, 24 horas de asoleo semanal y alimentados con conejos cada 15 días. Se utilizaron un total de 16 hembras y 16 machos durante los ensayos.

Formulación fúngica

Una formulación comercial de *B. bassiana* proporcionada por Bauveshock (Bioproductora de Jardines Sostenibles Zap. Jal.) (2×10^8 conidios/g, 96 % viable), formulada con tierra de diatomeas

Efecto de la infección por hongos sobre parámetros reproductivos

Se sexaron y separaron ninfas del 5° estadio mediante la diferenciación del VIII urosternito (Rodríguez-Sánchez et. al., 2003).

Inicialmente se formaría un tratamiento con hembras y machos infectados pero debido a que ningún macho expuesto al hongo logró completar el patrón de cópula las hembras infectadas se emparejaron con machos vírgenes con las mismas condiciones elegidos al azar. Iris et. al., 2017 sugiere que las hembras no copulan con machos jóvenes sin embargo esta modificación del comportamiento sexual no fue evaluada debido a que no era parte de los objetivos de este estudio.

Tres semanas después de la última ecdisis se seleccionaron 8 hembras y 8 machos al azar exponiendo a las hembras al hongo mediante inmersión durante 60s en una suspensión del polvo de *B. bassiana* en agua destilada una con tween 20 al 0.01% (1×10^8 conidios/ml). 24h después de la exposición se formaron parejas al azar que fueron colocadas en recipientes individuales para inducir la cópula. Se observó y verificó la cópula exitosa tomando como parámetro 5 minutos de duración, descartando a las hembras no copuladas. Después de la copula todas las hembras se mantuvieron separadas en contenedores individuales bajo las mismas condiciones que el resto de la colonia en el laboratorio Otro grupo de 8 hembras y 8 machos vírgenes seleccionados al azar fueron utilizados como control con el mismo procedimiento, pero realizando la inmersión en agua destilada y tween 20 al 0.01%.

Se registró diariamente la oviposición (número de hembras que ponen huevos por el total de hembras), fertilidad (número total de huevos puestos por hembra) y fecundidad (porcentaje de huevos que lograron eclosionar) hasta la muerte de las hembras infectadas y 44 días en las hembras control. Los huevos colectados se mantuvieron durante 30 días para verificar inviabilidad y eclosión y fueron observados bajo microscopio estereoscópico comprobando la no presencia y el corrimiento de la mancha ocular del embrión, índice descrito por Barata et. al., 1998

Sistema reproductor de hembras expuestas a *B. bassiana*

Con la finalidad de comparar la acción posible del hongo sobre las zonas del aparato reproductor se disectó el cadáver de las hembras expuestas a *B. bassiana* en solución ringer para evitar la retracción de los tejidos, extrayendo el sistema reproductor para fijarlo en canroy. Las estructuras reproductoras fueron observadas en microscopio estereoscópico a 2x y 8x para observar y describir su estado después de la exposición al hongo para comparar con lo reportado por Toxqui-Steffanoni et. al., 2019. Posteriormente para confirmar la infección por hongos se realizó la tinción de la genitalia

con azul de lactofenol y el resto del cuerpo del insecto se colocó en cámara húmeda durante 20 días.

Análisis estadístico

Para determinar el efecto de *B. bassiana* en la fertilidad y fecundidad se aplicaron pruebas de t de Student. La normalidad de los datos fue probada con una prueba de Shapiro-Wilks y comprobada con la prueba de Anderson-Darling. La homogeneidad de las varianzas fue probada con test de Barlett. Los datos y gráficos fueron trabajados en R Software y RStudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración fúngica utilizada (1×10^8 conidias/ml) en las hembras no redujo la oviposición. Todas las hembras del grupo control y del grupo infectado ovipositaron, pero, la fertilidad en este último grupo se redujo un 63%. Las hembras sanas del grupo control registraron una media de 56.7 ± 3.8 huevos/♀ durante un periodo de 44 días, mientras que las hembras infectadas registraron 20.8 ± 2.9 huevos /hembra/vida. La diferencia del número total de huevos puestos por hembra entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ($p < 0.0008$) (Cuadro 1).

Los resultados obtenidos en la oviposición de las hembras infectadas contrastan con los obtenidos por Forlani et., al 2015 donde registraron la disminución de la ovipostura aproximadamente 50% en las hembras tratadas con polvo de *B. bassiana* en una concentración de $2,6 \times 10^8$ conidios/cm²), es decir cerca de la mitad de las hembras no pusieron huevos presentando inhibición de la oviposición y registrando una vida promedio de 7.3 días. Esta diferencia puede deberse a que la concentración utilizada en este estudio es menor, causando la muerte de los organismos en hasta los 44 días después de la inoculación.

Cuadro 1. Efecto de *B. bassiana* en parámetros reproductivos de *M. pallidipennis*.

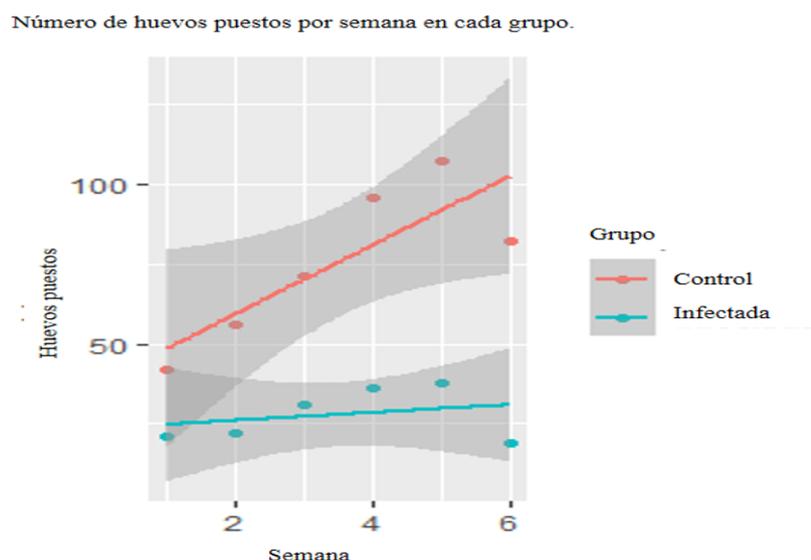
Efecto de <i>B. bassiana</i> en parámetros reproductivos de <i>M. pallidipennis</i> .		
Parametro	Control	Infectadas
Oviposición (%)	100%	100%
Número de huevos puestos/♀/tiempo de vida (6 SEM)*	56.7 ± 3.8	20.8 ± 2.9
Número de huevos eclosionados/♀/tiempo de vida (6 SEM)	38.8 ± 3.1	13.7 ± 2.5
Fecundidad (%/♀/tiempo de vida (6 SEM)	68.7 ± 5.8	67.4 ± 10.4
Número de hembras	8	8

*La diferencia entre el grupo de hembras infectadas y el grupo control fue estadísticamente significativa ($p < 0.0008$) prueba t de Student.

Algunas investigaciones realizadas en moscas de la fruta sugieren que el efecto de la infección fúngica en la oviposición de las hembras es mayor si las hembras se infectan antes de llegar a la madurez sexual (Quesada-Moraga et al, 2006; Daniel y Wyss, 2009) lo cual podría estar relacionado con alteraciones en el desarrollo ovárico y la vitelogénesis (Sánchez-Robledo et. al., 2012). Adicionalmente la inoculación con concentraciones bajas menos agresivas podría contribuir a una mayor diseminación del hongo, ya que los insectos vivirán mayor tiempo, logrando transmitir los conidios a un mayor número de organismos (Toledo et al. 2007).

Así mismo nuestros resultados mostraron que *B. bassiana* reduce significativamente la cantidad de huevos puestos de las hembras infectadas al comprarse con los controles durante un mismo periodo de tiempo, siendo la fecundidad uno de los principales parámetros que afecta el tamaño de la población y también incide en su estabilidad poblacional (Forlani et. al., 2015). La cantidad de huevos depositados por las hembras control llegó a un punto máximo de 107 huevos en la semana 5 y depositando un total de 454 durante el tiempo estudiado y aunque la cantidad de huevos que depositaron las hembras infectadas fue menor se notó un aumento a partir de esa misma semana llegando a depositar un total de 167 huevos durante los 44 días del estudio. La cantidad de huevos colectados del grupo de infectadas fue disminuyendo considerablemente a partir de la muerte de los organismos (Figura 1).

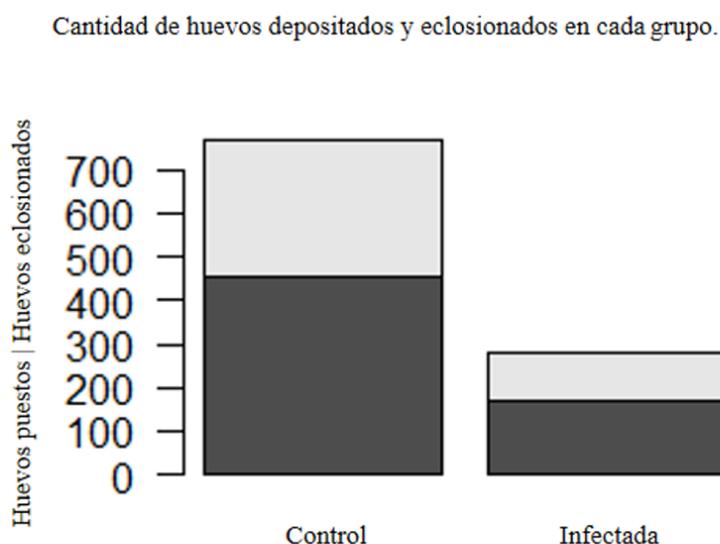
Figura 1. Número de huevos depositados por semana.



En cuanto al porcentaje de eclosión no se encontraron diferencias significativas $p = 0.3737$ entre la media de las hembras sanas (68.7 ± 5.8) e infectadas (67.4 ± 10.4), esto puede ser debido a que la cantidad de huevos eclosionados fue evaluada en porcentaje y no como total numérico (ver figura 2). El número total de huevos eclosionados del grupo control fue de 312 ± 3.11 y 112 ± 2.46 el total de huevos eclosionados de las infectadas durante los 44 días que duró el experimento.

Ruvalcaba et. al., 2010 sugiere que no hay una concentración definitiva que funcione para alcanzar a inhibir la oviposición y el potencial reproductivo en un 90% ya que en un estudio realizado en *Rhipicephalus microplus canestrini*, 1888 demostró que las cepas que mostraron el mejor desempeño en los bioensayos, no coinciden con las cepas que presentaron un mejor efecto sobre la inhibición de la postura de huevos, alcanzando la concentración letal CL90 al emplear concentraciones menores a 37×10^6 conidios/ml y concluyendo que si bien es cierto que para suprimir la oviposición se requieren concentraciones de los entomopatógenos sumamente elevadas, la eclosión si se ve afectada con las concentraciones bajas no permitiendo la emergencia de manera normal obteniendo un control aceptable sobre este parámetro.

Figura 2. Cantidad de huevos puestos y eclosionados de cada grupo.



La estructura del sistema reproductivo no presentó variación en cuanto a la longitud de las espermatecas $3.42 \pm .47$ mm, longitud del ovario de 21.8 ± 1.42 mm, siete ovariolas, dos oviductos laterales, cámara genital y oviducto común, coincidiendo con lo reportado por Toxqui-Steffanoni et. al., 2019 en el estudio morfológico del sistema reproductivo de

M. pallidipennis. El germario y filamento terminal no estuvieron presentes en las hembras disectadas y se encontraron ovocitos desprendidos del vitelario (Figura 3). Aunque se han documentado casos en los que *B. bassiana* es transmitida a los huevos durante la oviposición (Luz et. al., 2007; Leles, 2009) la falta de estas estructuras podría estar relacionada con la presencia comprobada de *B. bassiana* en los ovocitos dentro del vitelario y pedicelos al realizar la tinción con azul de lactofenol (Figura 4).

Figura 3. Sistema reproductivo de la hembra infectada. Cámara genital (Camg), oviducto común (Ovc), oviducto lateral (Ovl), espermateca (Spt), ovariolas (Ovv), vitelario(Vtl), dentro del área punteada se señala la ausencia de germario y filamento terminal.

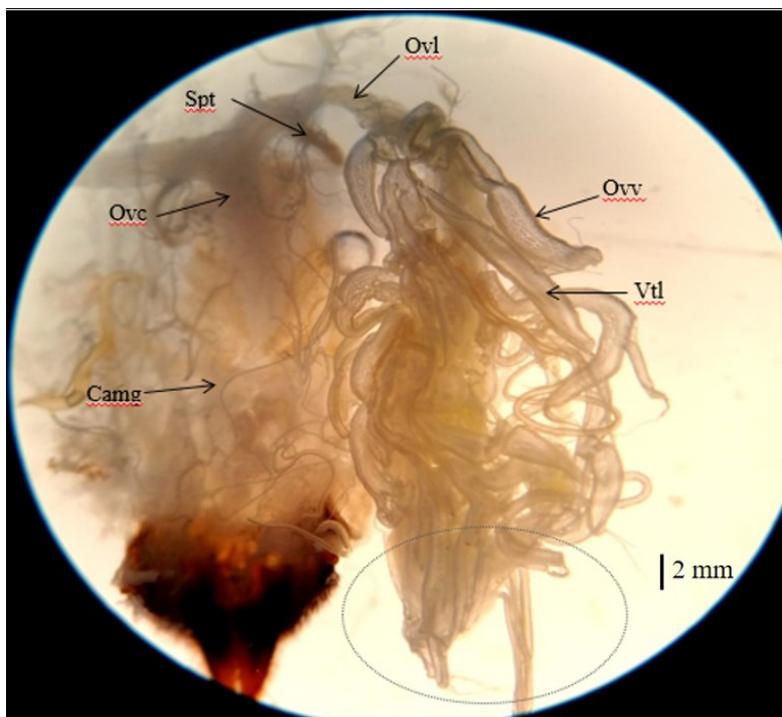
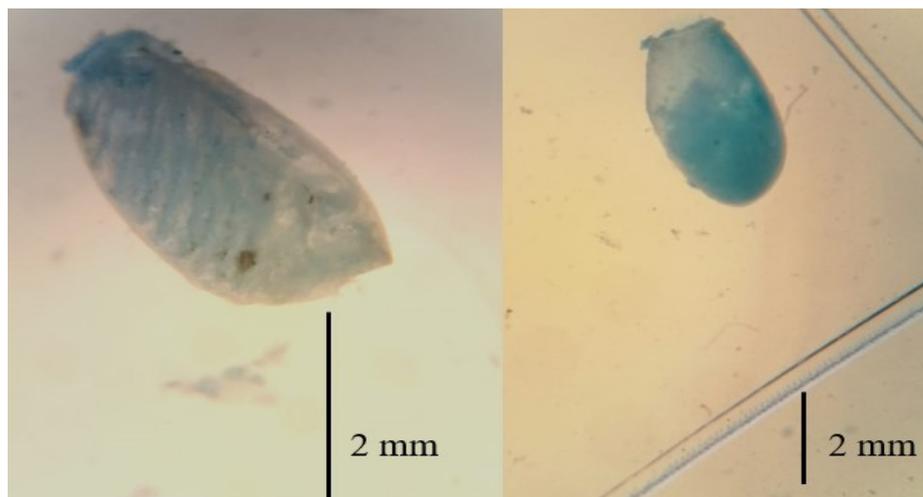


Figura 4. Ovocitos con *B. bassiana*. Tinción con azul de lactofenol.



CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo demuestran que la infección por *B. bassiana* en baja concentración de esporas reduce la cantidad de huevos puestos, pero no afecta el porcentaje de eclosión ni inhibe la oviposición de las hembras. Se observó la presencia del hongo en ovocitos dentro del vitelario y pedicelo. Reportamos la ausencia del germario y filamento terminal en las hembras que murieron por la infección. La concentración 1×10^8 tuvo acción biocida en las hembras en hasta los 44 días, lo cual podría permitir una mayor diseminación del patógeno en poblaciones domésticas y silvestres. Se requieren de estudios que aborden el efecto de *B. bassiana* en la vitelogénesis y desarrollo ovárico de ninfas y adultas de *M. pallidipennis* expuestas a bajas concentraciones.

LITERATURA CITADA

- BARATA, J. 1998. Macroscopic and exochorial structures of Triatominae eggs. Pp. 409-448. In: CARCAVALLO R, GALÍNDEZ I, JURBERG J, LENT H. (Ed.). Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas. Vol. II. Editora Fiocruz: Rio Janeiro, Brasil.
- Cazorla-Perfetti, D. and Morales-Moreno, P. (2016). Effect of aqueous and oil-based formulations of 13 native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota) on *Rhodnius prolixus* (Triatominae) under experimental conditions. *Revista de Investigaciones Veterinarias*, 27 (4): 771-782.
- Daniel, C. and E. Wyss. 2009. Susceptibility of different life stages of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*, to entomopathogenic fungi. *Journal of Applied Entomology*. 133: 473-483.

- Forlani, L., Pedrini, N. and Juárez, M. P. (2011). Contribution of the horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* to the overall performance of a fungal powder formulation against *Triatoma infestans*. *Research and reports in tropical medicine*, 2: 135–140.
- Forlani, L., Pedrini, N., Girotti, J. R., Mijailovsky, S. J., Cardozo, R. M., Gentile, A. G., Hernández-Suárez, C. M., Rabinovich, J. E. and Juárez, M. P. (2015). Biological Control of the Chagas Disease Vector *Triatoma infestans* with the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Combined with an Aggregation Cue: Field, Laboratory and Mathematical Modeling Assessment. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(5): e0003778.
- Morales-Ortiz, I., Zumaquero-Ríos, J. L., Hernández-López, E. J., Sandoval-Ruíz, C. y Manrique, G. (2017). Edad y conducta sexual en *Triatoma pallidipennis* stal (hemiptera: reduviidae) en condiciones de laboratorio. *Entomología mexicana*, 4: 166-171.
- Mannino, M. C., Juárez, M. P. and Pedrini, N. (2018). Tracing the coevolution between *Triatoma infestans* and its fungal pathogen *Beauveria bassiana*. *Infection, Genetics and Evolution*, 66: 319–324.
- Marti, G. A., Scorsetti, A.C., Siri, A. and Lopez-Lastra C. C. (2005). Isolation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) from the Chagas disease vector, *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) en Argentina. *Mycopathologia*, 159(3): 389-391.
- Napolitano, R. and Juárez, M. P. (1997). Entomopathogenous fungi degrade epicuticular hydrocarbons of *Triatoma infestans*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 344: 208-214.
- Organización Panamericana de la Salud. (2020). Enfermedad de Chagas. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>.
- Pedrini, N., Crespo R. and Juárez M. P. (2007). Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 146: 24–137.
- Penados, D., Pineda, J., Catalan, M., Avila, M., Stevens, L., Agreda, E. y Monroy, C. (2020). Infestation dynamics of *Triatoma dimidiata* in highly deforested tropical dry forest regions of Guatemala. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 115, e200203.

- Quesada-Moraga, E., Ruiz-Garcia, A. and Santiago-Alvarez, C. 2006. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against puparia and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). (2006). *Journal of Economic Entomology*, 99: 1955-1966.
- Rodríguez-Sánchez, M., Alejandre-Aguilar, R., Noguera-Torres, B., D-Camacho A. and Martín-Frías, E. (2003). Development of genital plates in nymphs of *Triatoma pallidipennis*, Stål 1872, (Hemiptera: Reduviidae) and its application as sexing method. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98 (6). Available in: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000600012>.
- Romaña, C. A., Fargues, J. and Pays, J. F. (1987). Method of biological control of Triatominae, vectors of Chagas disease, using entomopathogenic Hyphomycetes. Preliminary study. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 80(1): 105-111.
- Ruvalcaba, M., Berlanga-Padilla, A. y Velázquez, V. M. (2010). Evaluación de cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la inhibición de oviposición, eclosión y potencial reproductivo en una cepa triple resistente de garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). *Entomotropica*, 25: 135-140.
- Salazar-Schettino, P., Rojas-Wastavino, G., Bravo, M., Vences-Blanco, M., Bucio, M., Guevara-Gmez, Y., Ruiz-Hernández, A., Torres-Gutierrez, E., Martínez-Ibarra, J., Monroy, C. y Rodas, A. (2010). A revision of thirteen species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectors of Chagas disease in Mexico. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 1: 57-80.
- Sánchez-Roblero, D., Huerta-Palacios, G., Valle, J., Gómez, J. and Toledo, J. (2012). Effect of *Beauveria bassiana* on the ovarian development and reproductive potential of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*, 22(9): 1075-1091.
- Tay, J., Goycoolea O., y Biagi F. F. (1961). Observaciones sobre enfermedad de Chagas en la Mixteca Baja. Nuevo caso humano en la república mexicana. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 51: 322-327.
- Tay, J., Salazar, S. P. M., Bucio M. I., Zárate, R., y Zárate, L. (1980). La enfermedad de Chagas en la república mexicana. *Revista de Investigación en Ciencias de la Salud*, 22: 409-450.

- Toledo, J., Campos, S., Flores, S., Liedo, P., Barrera, J., Villaseñor, A., and Montoya, P. (2007). Horizontal Transmission of *Beauveria bassiana* in *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) Under Laboratory and Field Cage Conditions. *Journal of economic entomology*, 100(2): 291-7.
- Toxqui-Esteffanoni, N. G., Carrillo-Ruiz, H., Zumaquero-Rios, J. L. and Rojas-Garcia, R. (2019). Estudio del sistema reproductivo de *Triatoma pallidipennis* Stal, 1945 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Entomología Mexicana*, 6: 629-635.
- Velasco, C. O. y Guzmán, B. C. (1986). Importancia de la enfermedad de Chagas en México. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 28: 275-283.
- WHO Expert Committee on the Control of Chagas Disease. 2000: Brasilia, Brazil and World Health Organization. (2002). Control of Chagas disease : second report of the WHO expert committee. World Health Organization. Disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42443>.
- World Health Organization. (2020). Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). Disponible en: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
- Yon, F. C., Balta, L., García, A. N., Troyes, A. M., Cumpa, O. H. y Valdivia, A. (2004). Susceptibilidad y resistencia de *Triatoma infestans* y *Panstrongylus herreri* a los insecticidas piretroides. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 21(3): 179-182.
- Zumequero-Ríos, J. L., López-Tlajomulco, J. J., Rojas, R. and Sansinenea, E. (2014). Lethal effects of a Mexican *Beauveria bassiana* (Balsamo) strain against *Meccus pallidipennis* (Stal). *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(2): 551-7.