

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DESPORTOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E
SAÚDE PÚBLICA

Luiz Fernando Nunes Rocha

**Caracterização morfológica, molecular e biológica de fungos
patogênicos a invertebrados dos Cerrados de Goiás**

Orientador: Dr. W. Christian Luz

Co-Orientador: Dr. André Kipnis

Tese de Doutorado

Goiânia-GO, 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E
SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

Luiz Fernando Nunes Rocha

**Caracterização morfológica, molecular e biológica de fungos
patogênicos a invertebrados dos Cerrados de Goiás**

Orientador: Dr. W. Christian Luz

Co-Orientador: Dr. André Kipnis

Tese apresentada ao programa de Pós Graduação em Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Medicina Tropical – Área de Concentração: Parasitologia.

GOIÂNIA-GO, 2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

R672c Rocha, Luiz Fernando Nunes.
Caracterização morfológica, molecular e biológica de fungos patogênicos a invertebrados dos Cerrados de Goiás [manuscrito] / Luiz Fernando Nunes Rocha. - 2010.
82 f. : figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. W. Christian Luz; Co-Orientador: Prof. Dr. André Kipnis.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás,
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 2010.

Bibliografia: f. 70-81.

1. Controle biológico 2. Hypocreales 3. Triatomíneos 4. Biologia molecular – Morfologia – I.Título

CDU: 582.28:592

Agradecimentos

Agradeço a todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, em especial:

Ao Dr. Christian Luz, Professor do Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia (DMIPP), Setor de Parasitologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG), pela orientação.

Ao Dr. André Kipnis, Professor do DMIPP, Setor de Microbiologia do IPTSP da UFG, pela co-orientação.

Ao Dr. Richard A. Humber, pesquisador do Robert W. Holley Center for Agriculture and Health, Ithaca, NY, USA, pelo caloroso recebimento em seu laboratório, envio e apoio na identificação morfológica de fungos.

A Karen S. Hansen e Micheal M. Wheeler, do mesmo instituto, pelo apoio.

Ao Dr. Peter W. Inglis, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, pela importante ajuda na caracterização molecular de fungos.

Ao Dr. Marcos R. Faria, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, pelo envio de isolados de fungos.

Ao Dr. Ionizete G. Silva, Professor do DMIPP, Setor de Parasitologia do IPTSP da UFG, pela disponibilização de insetos vetores.

A Regiane O. Silva, Genésio P. S. Neto e Martin Unterseher pelo auxílio nas coletas de substratos e isolamento de fungos.

Ao IBAMA e ao Jeremias Lunardelli, proprietário da Fazenda Santa Branca, pela permissão para coleta de substratos.

Ao IPTSP e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da UFG, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

Ao Setor de Parasitologia e aos colegas do Laboratório de Patologia de Invertebrados em especial à Professora Dra. Adelair Helena dos Santos, pela ajuda.

À equipe do Laboratório de Bacteriologia Molecular pela receptividade e auxílio.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio e incentivo.

À minha esposa Wanessa, pela força, compreensão e apoio.

Sumário

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	v
Justificativa.....	1
Introdução/Revisão bibliográfica	3
1- Importância de invertebrados na saúde humana	3
1.1- Artrópodes vetores	3
1.1.1- Triatomíneos e a doença de Chagas	3
1.1.2- Culicídeos transmissores de doenças	4
1.1.3- Carrapatos de importância na saúde humana	5
1.2- Moluscos hospedeiros intermediários de helmintos	6
2- Controle de invertebrados	7
2.1- Controle clássico	7
2.2- Controle microbiano	8
2.2.1- Fungos	9
3- Cerrado	11
4- Isolamento de fungos	11
5- Identificação e caracterização de fungos	12
Objetivos	14
Artigo: Occurrence of invertebrate-pathogenic fungi in a Cerrado ecosystem in Central Brazil	15
Manuscrito 1: Morphology and Molecular Phylogeny of some <i>Evlachovaea</i> -like Fungi from the Central Brazilian Cerrado and their activity against <i>Triatoma infestans</i>	22
Manuscrito 2: Occurrence of <i>Metarhizium</i> spp. from Central Brazil and their activity against <i>Triatoma infestans</i>	51
Conclusões	64
Bibliografia	65
Anexo do artigo I	77

Resumo

A grande biodiversidade de fungos patogênicos para invertebrados e o potencial desses patógenos para controle de pragas até hoje pouco conhecido ressaltam a importância de se procurar por novas espécies e linhagens eficazes. O Cerrado é considerado um dos “hotspots” de biodiversidade e pouco se sabe sobre a ocorrência e a atividade de fungos patogênicos para invertebrados encontrados neste bioma. No presente trabalho foi realizado levantamento de fungos em diferentes áreas do Cerrado de Goiás. Foram coletadas amostras de substrato, sedimento, água e insetos moribundos ou mortos para o isolamento de fungo. Vetores de importância médica como triatomíneos (*Triatoma infestans* e *Rhodnius neglectus*), mosquitos (*Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*), carrapato (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) e caramujo (*Biomphalaria glabrata*), foram usados como isca para isolamento de fungos. Após o isolamento de fungos eles foram identificados morfológicamente e incluídos na coleção do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás. Para alguns isolados de *Evlachovaea* e *Metarhizium* foram realizadas uma caracterização molecular e teste de atividade contra *T. infestans*. Um total de 561 amostras de solo (440), sedimento (106) e água (15) foi coletado em diferentes áreas do Estado de Goiás. Das amostras coletadas na Fazenda Santa Branca, foram obtidos 68 isolados de fungos patogênicos que foram identificados como pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Evlachovaea*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Isaria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Pochonia* e *Trichoderma*. Das outras áreas de coletas foram detectados 106 isolados de *Metarhizium* spp. e 6 de *Evlachovaea* spp., sendo 65 isolados de *Metarhizium* e 1 de *Evlachovaea* do Parque Nacional das Emas, 33 e 1 da região Nordeste do Estado de Goiás, e 8 e 4 da Floresta Nacional de Silvânia, respectivamente. A maioria dos fungos foi isolada de solos utilizando triatomíneos como isca. Em insetos coletados mortos e com desenvolvimento fúngico foram identificados fungos dos gêneros *Aschersonia*, *Batkoa*, *Beauveria*, *Cordyceps*, *Evlachovaea*, *Fusarium*, *Lecanicillium*, *Pandora* e *Torrubiella*. Todos os isolados de *Metarhizium* spp. e *Evlachovaea* spp. testados induziram alta mortalidade em *T. infestans* em umidade relativa (UR) perto da saturação. O valor mais baixo de tempo letal de 90% foi de 6,6 d (6,3 – 7,1 (*M. robertsii* IP 34)) e 7,1 d (6,7 – 7,8 (*Evlachovaea* IP 141)), após tratamento de *T. infestans* e exposição à UR > 98%. A concentração letal de 50% (CL₅₀) do IP 34 foi de 2,8x10³ (I.C. 4,4 x10²-4,6x10³) e o CL₉₀ foi de 7,2x10³ (I.C. 4,4x10³-6,4x10⁵) CFU/cm² aos 10 d após inoculação. Em UR de 75% a mortalidade dos triatomíneos não ultrapassou 20%. Estudos morfológicos e o seqüenciamento da região ITS e TEF dos isolados de *Evlachovaea* mostraram que o gênero *Evlachovaea* deve ser sinonimizado com *Isaria*, sendo que o maior grupo de isolados previamente identificados como *Evlachovaea* são *I. cateniannulata* e o

menor grupo é provavelmente uma nova espécie de *Isaria*. O seqüenciamento das regiões TEF e ITS mostrou que os isolados de *Metarhizium* são pertencentes às espécies de *M. anisopliae*, *M. robertsii*, *M. flavoviride* var. *pemphigi* e o maior grupo de isolados podem ser uma nova espécie *Metarhizium* ou uma variedade de *M. anisopliae*. Os resultados confirmaram que nos Cerrados estão presentes uma alta diversidade de fungos e alguns deles, em especial *M. robertsii* (IP 34) e *Evlachovaea* (IP 141), têm potencial para o controle biológico de *T. infestans*.

Abstract

The high biodiversity of fungi pathogenic to invertebrates and their potential to control pests until today not well known emphasize the importance to look for new effective species and strains. The Cerrado is considered one of the “hotspots” of biodiversity and little is known about the occurrence and the potential of fungi pathogenic to invertebrates found in this biome. In the present study a survey of fungi was carried out in different areas of the Cerrado of Goiás. Samples of soil, slurry, water and moribund or dead insects were collected for isolation of fungi. Vectors of medical importance such as triatomines (*Triatoma infestans* and *Rhodnius neglectus*), mosquitoes (*Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*), ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) and snails (*Biomphalaria glabrata*) were used as baits for isolation of fungi. After isolation fungi were morphologically identified and included in the collection of Institute of Tropical Pathology and Public Health, Federal University of Goiás. Some isolates of *Evlachovaea* and *Metarhizium* were molecularly characterized and activity tested against *T. infestans*. A total of 561 samples of soil (440), slurry (106) and water (15) was collected in different areas of Goiás State. Concerning samples collected at Fazenda Santa Branca, 68 isolates of pathogenic fungi were obtained and identified as belonging to the genera *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Evlachovaea*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Isaria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Pochonia* and *Trichoderma*. An total of 106 isolates of *Metarhizium* spp. and 6 of *Evlachovaea* spp. were sampled in other areas, being 65 isolates of *Metarhizium* and 1 of *Evlachovaea* from the Ema National Park, 33 and 1 from the Northern portion of Goiás state, and 8 and 4 from the Silvânia National Forest, respectively. Most fungi were isolated from soils using triatomines as baits. Fungi from genera *Aschersonia*, *Batkoa*, *Beauveria*, *Cordyceps*, *Evlachovaea*, *Fusarium*, *Lecanicillium*, *Pandora* and *Torrubiella* were isolated from mycosed cadavers. All tested isolates of *Metarhizium* spp. and *Evlachovaea* spp. induced high mortality of *T. infestans* in relative humidity (RH) close to saturation. The lowest values for lethal time of 90% were 6.6 d (6.3 – 7.1 d; *M. robertsii* IP 34) and 7.1 d (6.7 – 7.8 d; *Evlachovaea* IP 141), after treatment of *T. infestans* and exposure to RH > 98%. The lethal concentration to obtain 50% mortality (LC₅₀) of IP 34 was 2.8x10³ (C.I. 4.4 x10²-4.6x10³) and the LC₉₀ was 7.2x10³ (C.I. 4.4x10³-6.4x10⁵) CFU/cm² at 10 d p.i. In RH 75% mortality of triatomines did not exceed 20%. Morphological studies and sequencing of the ITS and TEF region of *Evlachovaea* isolates showed that genus *Evlachovaea* must be synonymized with *Isaria*, and that the largest group of isolates previously identified as *Evlachovaea* are *I. cateniannulata*, whereas the smaller group is probably a new species of *Isaria*. The sequencing of the TEF and ITS regions showed that *Metarhizium* isolates belong to species *M. anisopliae*, *M. robertsii*, *M. flavoviride* var. *pemphigi*, and the largest group of

Metarhizium isolates can be a new species of *Metarhizium* or a *M. anisopliae* variety. The results confirmed that in the Cerrado a high diversity of fungi is present and some of them, in special *M. robertsii* (IP 34) and *Evlachovaea* (IP 141) have potential for biological control of *T. infestans*.

Justificativa

As diferentes áreas tropicais dispõem de um grande número de microrganismos patogênicos para invertebrados, cuja uma grande parte ainda é desconhecida do homem. Estes organismos e seus metabólitos secundários, com atividade tóxica, têm grande utilidade para o controle biológico de pragas encontradas no Brasil. A utilização de microrganismos patogênicos, como fungos, bactérias e vírus, abriu novos caminhos para o controle de invertebrados nocivos nas áreas agrária, médica e veterinária (Alves & Lopes 2008).

Uma das vantagens de fungos em relação aos outros microrganismos, é a invasão do hospedeiro através da cutícula e não por *via* oral (Lacey & Goettel, 1995). Além disso, existem fungos de largo espectro e capazes de colonizar diferentes estágios de desenvolvimento de invertebrados (Alves & Lopes 2008). Mesmo diante do grande potencial de fungos para o controle biológico, esses microrganismos ainda são pouco empregados quando comparados com pesticidas químicos. Contudo, o interesse em estudar e utilizar fungos no controle biológico no Brasil e em outros países aumentou consideravelmente nas últimas décadas (Alves & Lopes 2008). Aproximadamente 130 micopesticidas comerciais estão sendo produzidos e comercializados em mais de 25 países (Faria & Wraight 2007). Para o combate de artrópodes, as principais espécies utilizadas são fungos cosmopolitas como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Na América Latina, o Brasil destaca-se na produção e utilização de micoinseticidas para o combate de pragas agrícolas (Faria & Wraight 2007, Alves & Lopes 2008). Em 2006, o faturamento no Brasil com produtos à base de fungos atingiu aproximadamente US\$ 10 milhões (Alves & Lopes 2008). Porém, ainda pouco se sabe sobre a utilidade desses ou de outros fungos para o combate de invertebrados vetores.

Algumas espécies de fungos dos gêneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* e *Hirsutella*, dentre outros, já foram testadas em condições de laboratório contra importantes vetores como triatomíneos, mosquitos e carrapatos (Luz et al. 1998 a, b, 2003 b, Scholte et al. 2004, Fernandes & Bittencourt 2008). Porém, em condições de campo, poucos testes foram realizados e os resultados obtidos não foram tão satisfatórios como em laboratório (Fernandes & Bittencourt 2008).

O desenvolvimento de produtos à base de novos fungos com maior atividade e melhor adaptação às condições ambientais onde esses produtos serão aplicados é de extrema importância na consolidação de um controle de vetores à base de fungos. Para isso se fazem necessários novos levantamentos de fungos em regiões onde se pretenda utilizá-los.

Fungos patogênicos são isolados diretamente de indivíduos infectados, vivos ou mortos, ou indiretamente, de substratos contaminados utilizando invertebrados como isca ou meios

seletivos (Almeida & Filho 2001, Luz et al. 2007 a, Rocha & Luz 2009). A utilização de invertebrados vetores como isca permite um isolamento mais específico enquanto meios seletivos ou semi-seletivos são empregados para isolamento mais generalizado de fungos. Poucos trabalhos sobre isolamento de novas espécies e linhagens de microrganismos foram realizados nos diferentes biomas do Brasil (Shimazu et al. 1994, Luz et al. 2004 a, Monnerat et al. 2005, Silva et al. 2004). O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro com aproximadamente 2 milhões de km² (Klink & Machado 2005) e considerado um dos “hotspots” de biodiversidade em todo mundo (Myers et al. 2000). Novas prospecções de fungos em áreas não antropizadas do Cerrado e testes sobre a atividade de novos isolados contra vetores irão contribuir para um maior conhecimento sobre a ocorrência e o potencial de fungos patogênicos para invertebrados encontrados no Cerrado.

A identificação rotineira e classificação de fungos são baseadas em características morfológicas, nem sempre objetivas. Técnicas moleculares, em especial o seqüenciamento de genes, têm proporcionado resultados mais seguros na identificação, taxonomia e filogenia de fungos (Driver et al. 2000, Luangsa-ard et al. 2005, Rehner & Buckley 2005, Bischoff et al. 2006, 2009). Várias novas sub-espécies, espécies e gêneros de fungos patogênicos para invertebrados foram propostos desde então (Driver et al. 2000, Luangsa-ard et al. 2005, Bischoff et al. 2006, 2009). Desta forma, para uma identificação mais precisa de fungos encontrados no Cerrado faz-se necessário combinar estudos morfológicos com o seqüenciamento de genes.

O vetor clássico da doença de Chagas no Cone Sul, *T. infestans*, após campanhas intensas de combate é considerado erradicado em muitas regiões, inclusive no Centro-Oeste brasileiro (Dias et al. 2002). Porém, já foram encontradas áreas re-infestadas por *T. infestans* e casos de resistência deste vetor a inseticidas em regiões da Argentina e Bolívia (Audino et al. 2004, Picollo et al. 2005, Cécere et al. 2006, Orihuela et al. 2008). Para combates a esse vetor faz-se necessário a utilização de novos produtos mais eficientes e, de preferência, menos agressivos ao meio ambiente e ao homem. Nessa perspectiva, micoInseticidas destacam-se como alternativa ao combate de triatomíneos. Isolados fúngicos altamente virulentos para triatomíneos poderiam ser empregados no controle integrado deste vetor.

Introdução/Revisão Bibliográfica

1- Importância de invertebrados na saúde humana

Os invertebrados são um grupo do reino Animalia formado por espécies que não possuem coluna vertebral. São seres pluricelulares, possuem tecidos especializados, vivem como organismos heterotróficos e constituem mais de 90% das espécies de animais descritas. Esses animais estabelecem uma grande diversidade de relações com outros animais, incluindo o homem. Na área de saúde, alguns invertebrados como moluscos, carrapatos e especialmente insetos têm grande importância por serem transmissores de patógenos ou parasitos para o homem e outros vertebrados.

A classe Insecta constitui um dos grupos mais bem-sucedidos do reino Animalia e indivíduos pertencente a essa classe podem ser encontrados em quase todos os ecossistemas do planeta. Os insetos são caracterizados por possuírem cabeça, tórax e abdome distintos, três pares de patas articuladas, peças bucais externas, por terem onze ou menos segmentos abdominais e 2, 1 ou nenhum pares de asas. Esta classe contém vetores importantes, sobretudo culicídeos, outros dípteros, triatomíneos, pulgas e piolhos.

1.1- Artrópodes vetores

1.1.1- Triatomíneos e a doença de Chagas

Triatomíneos são insetos hemimetabólicos que possuem três estágios de desenvolvimento: ovo, ninfa e adulto. As ninfas se diferenciam dos adultos por não possuírem asas e por não serem capazes de se reproduzir. A maioria destes insetos tem hábito noturno exercendo a hematofagia desde eclosão das ninfas até adulto, tanto os machos como as fêmeas. Já foram descritas mais de 130 espécies que são classificadas em 6 tribos e 19 gêneros. Com exceção do gênero *Linshcosteus* e algumas espécies do gênero *Triatoma*, todos os outros triatomíneos ocorrem exclusivamente no continente americano, desde a Argentina até os Estados Unidos da América. Nas Américas são transmissores de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. Mais de 12 milhões de pessoas estão infectadas com o protozoário e outras 28 milhões vivem em áreas de risco (Dias et al. 2008). Atualmente, a doença de Chagas é endêmica em 28 países. A maioria dos triatomíneos é silvestre e associada com uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados, que servem como reservatório do parasito. Algumas espécies adaptaram-se a ambientes peridomiciliares ou domiciliares e têm papel importante como transmissores de *T. cruzi* para o homem e animais domésticos. No sul da América Latina o vetor clássico intradomiciliar, *Triatoma infestans*, com vasta distribuição e densidades elevadas, após campanhas intensas de combate é considerado erradicado em

muitas regiões do Cone Sul, inclusive no Centro-Oeste brasileiro (Dias et al. 2002). Porém, já foram encontradas áreas re-infestadas por *T. infestans* e casos de resistência deste vetor a inseticidas químicos em regiões da Argentina e Bolívia (Audino et al. 2004, Picollo et al. 2005, Cécere et al. 2006, Orihuela et al. 2008). Além disso, espécies peridomiciliares e silvestres estão invadindo e ocupando ambientes domiciliares e a transmissão vetorial dessa doença, mesmo sendo baixa atualmente, não está banida. Espécies como *Triatoma sordida*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus rufotuberculatus*, *Rhodnius nasutus*, *Rhodnius negletus*, *Rhodnius stali*, *Eratyrus mucronatus* e outras já foram encontradas no interior de casas (Noireau et al. 1995; Dujardin et al. 1998, 2000; Schofield et al. 1999; Matias et al. 2003). No estado de Goiás, *R. neglectus*, *T. sordida*, *Triatoma williami* e *Triatoma costalimai* são espécies com alta adaptação domiciliar comprovada (Silveira et al. 1984; Silva et al. 1992).

1.1.2- Culicídeos transmissores de doenças

Os culicídeos são insetos holometabólicos que possuem quatro estágios distintos: ovo, larva, pupa e adulto. Dependendo da espécie, ocorrem em ambientes silvestres, rurais ou urbanos. Somente as fêmeas são hematófagas e responsáveis pela transmissão de diversos agentes como vírus, protozoários e helmintos. Os três gêneros de maior importância são *Anopheles*, *Aedes* e *Culex*.

Aedes aegypti é uma espécie de origem africana que atualmente está presente em quase todos países das regiões tropicais e subtropicais. As fêmeas são sinantrópicas, adaptadas a ambientes urbanos, e apresentam hábitos alimentares diurnos. Os criadouros localizam-se em ambientes intra e peridomiciliares em pequenas coleções de água pobres em matéria orgânica e sais. *A. aegypti* é o principal vetor dos vírus da dengue e da febre amarela urbana (FAU) no mundo. Nas últimas décadas os casos de dengue aumentaram devido à alta dispersão geográfica tanto do vírus como do mosquito (Gubler 2005). Atualmente a dengue é endêmica em pelo menos 100 países e cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em áreas de risco (WHO 2007). Estima-se que a cada ano 50 milhões de pessoas contraiam a dengue em todo mundo. Dessas, cerca de 400 mil desenvolvem para dengue hemorrágica e o número de mortos é de aproximadamente 24 mil pessoas (WHO 2002, 2007). A dengue é uma das arboviroses mais importantes por estar associada a aglomerações urbanas e apresentar peculiaridades que dificultam o desenvolvimento de vacinas e medicamentos (Yasui 1993, Khin et al. 1994). No Brasil, *Ae. aegypti* tem grande importância devido a sua vasta distribuição, elevada densidade, pela alta transmissão da dengue e pelo risco da transmissão e reurbanização da febre amarela. Apesar da existência de vacina contra o vírus amarílico, a cada ano são relatados casos de febre

amarela na América do Sul e África. A febre amarela é endêmica em 33 países da África e 11 da América do Sul (WHO 2005, Barrett & Higgs 2007).

Culex quinquefasciatus é encontrado em regiões tropicais e sub-tropicais. Essa espécie é o maior perturbador do repouso noturno humano. Além disso, transmite a *Wuchereria bancrofti*, agente etiológico da filariose linfática humana. A espécie é altamente sintrópica e associada a aglomerados urbanos e rurais. Procria principalmente em água com matéria orgânica em decomposição. Nas Américas, as fêmeas alimentam-se nas horas mais avançadas da noite, coincidindo com a presença de microfírias de *W. bancrofti* no sangue periférico. No Brasil, focos endêmicos existem até hoje principalmente no litoral norte e nordeste. A prevalência da filariose linfática aumentou em países de clima tropical e subtropical úmido, principalmente pela expansão não planejada da urbanização em áreas endêmicas. Estima-se em cerca de 120 milhões o número de pessoas parasitadas em todo mundo. No Brasil, esse número é de aproximadamente, 49 mil pessoas e mais de 3 milhões moram em áreas de risco com focos endêmicos nas regiões norte e nordeste (Medeiros et al. 2004).

Os mosquitos do gênero *Anopheles* são encontrados em todo mundo exceto em regiões polares. Têm hábitos essencialmente silvestres, porém existem espécies adaptadas a ambientes peridomiciliares e domiciliares. Seus criadouros são pequenos e médios cursos de água e em imbricamento de folhas. A maioria das fêmeas realiza a hematofagia durante o dia apresentando diferenças nos picos de atividade em função da espécie. Os anofelinos são os vetores de maior importância na área de saúde por transmitirem *Plasmodium* spp., agentes etiológicos da malária. A malária é a doença parasitária que acomete o maior número de pessoas em todo o mundo. Só em 2006 foi estimado que 247 milhões de pessoas contraíram essa parasitose. Destes, 212 milhões foram provenientes da África. A mortalidade foi de aproximadamente um milhão de pessoas, sendo a maioria crianças com menos de 5 anos (WHO 2008). Segundo relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), 109 países foram considerados endêmicos para malária com 45 pertencendo ao continente africano. Atualmente, cerca de 3,3 bilhões de pessoas moram em áreas de risco (WHO 2008). Das 40 espécies de anofelineos, a principal espécie vetora é *A. Gambiae*, responsável pela maioria dos casos de transmissão na África. No Brasil, a principal espécie é o *A. darlingi*, mosquito altamente suscetível aos *Plasmodium* spp. Esta espécie apresenta acentuada sinantropia, sendo que as fêmeas podem atacar o homem em áreas peridomiciliares, mas preferem fazê-lo dentro das casas, principalmente ao crepúsculo vespertino e matutino.

1.1.3- Carrapatos de importância na saúde humana

Conclusões

A grande quantidade de isolados e espécies de fungos patogênicos encontrados nas diferentes áreas do Cerrado no estado de Goiás estudadas sugere que neste bioma existe uma alta diversidade de fungos com potencial para ser usado no controle biológico de invertebrados-praga. Fungos, especialmente do gênero *Metarhizium*, são freqüentes em solos do Cerrado enquanto *Evlachovaea*-like ocorrem com menor incidência.

O isolamento de fungos foi diretamente ligado aos invertebrados iscas utilizados neste estudo. Os triatomíneos estudados mostraram ter alta suscetibilidade à infecção com fungos e assim têm grande utilidade como isca para o isolamento destes microrganismos.

Os resultados dos estudos morfológicos e moleculares com os isolados de *Evlachovaea* deixaram claro que o gênero *Evlachovaea* deve ser sinonimizado com o gênero *Isaria*. O maior grupo de isolados de *Evlachovaea*, grupo II, são *I. cateniannulata* enquanto os *Evlachovaea* do grupo I são provavelmente uma nova espécie de *Isaria* ainda não descrita.

Os isolados formando o maior grupo de *Metarhizium* obtidos de amostras coletadas no Cerrado pertencem provavelmente a uma nova espécie ou variedade de *M. anisopliae*.

Dentre os isolados testados, *M. robertsii* IP 34 e *I. cateniannulata* IP 141 coletados no Parque Nacional das Emas e na Floresta Nacional de Silvânia, respectivamente, têm maior potencial para combate de *T. infestans*.

Bibliografia

- Aché A, Matos AJ 2001. Interrupting Chagas disease transmission in Venezuela. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 43: 37-43.
- Ahantariq A, Trinachartvanit W & Milne JR (2008) Tick-borne pathogens and diseases of animals and humans in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 39: 1015-1032.
- Albernaz DAS, Tai MHH, Luz C 2009. Enhanced ovicidal activity of an oil formulation of the fungus *Metarhizium anisopliae* on the mosquito *Aedes aegypti*. *Med Vet Entomol* on line.
- Alexander B & Maroli M 2003: Control of phlebotomine sandflies. *Med Vet Entomol* 17: 1-18.
- Alexopoulos CJ, Mims CW & Blackwell M 1996. *Introductory Mycology*. New York, John Wiley & Sons, Inc. x+869p. 4th Edition.
- Almeida JEM, Batista-Filho A 2001. Banco de microrganismos entomopatogênicos. *Rev Biotec Cienc Des* 20: 77-86.
- Alves SB, Lopes RB 2008. *Controle Microbiano de Pragas na América Latina*. 1º ed. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz-FEALQ: pp 414.
- Amorim LB, Oliveira CMF, Rios EM, Regis L & Silva-Filha MHNL 2007. Development of *Culex quinquefasciatus* resistance to *Bacillus sphaericus* strain IAB59 needs long term selection pressure. *Biolog Contr* 42: 155-160.
- Andrews P, Thyssen J, Lorke D 1983. The biology and toxicology of the molluscicide, Bayluscide. *Pharmacol Ther* 19: 245-295.
- Audino PG, Vassena C, Barrios S, Zerba E, Picollo MI 2004. Role of enhanced detoxication in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) from Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 335-339.
- Barreau C, Jousset FX, Bergoin M 1996. Pathogenicity of the *Aedes albopictus* Parvovirus (AaPV), a denso-like virus, for *Aedes aegypti* mosquitoes. *J Invertebr Pathol* 68: 299-309.
- Barrett ADT & Higgs S 2007. Yellow Fever: A Disease that Has Yet to be Conquered. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 209-229.
- Bischoff JF, Rehner SA, Humber RA 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*. 101: 508–528.
- Bischoff JF, Rehner SA, Humber RA 2006. *Metarhizium frigidum* sp. nov.: a cryptic species of *M. anisopliae* and a member of the *M. flavoviride* complex. *Mycologia*. 98: 737–745.
- Bregues C, Hawkes NJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, Manguin S, Morgan JC, Hemingway J 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is

- correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol* 17: 87-94.
- Brogdon WH, McAllister JC 1998. Insecticide resistance and vector control. *Emerg Inf Dis* 4: 605-613.
- Butt TM & Goettel MS 2000. Bioassays of entomogenous fungi. *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. Ed. CAB International. 141-195.
- Cecere MC, Vazquez-Prokopec GM, Gürtler RE & Kitron U 2006. Reinfestation Sources for Chagas Disease Vector, *Triatoma infestans*, Argentina. *Emerg Infect Dis* 12: 1096-1102.
- Charles JF, Nielsen-Leroux C & Delécluse A 1996. *Bacillus sphaericus* toxins: molecular biology and mode of action. *Annu Rev Entomol* 4: 451-472.
- Chalegre KDM, Romão TP, Amorim LB, Anastacio DB, Barros RA, Oliveira CMF, Regis L, Melo-Neto OP, and Silva-Filha MHNL 2009. Detection of an allele conferring resistance to *Bacillus sphaericus* binary toxin in *Culex quinquefasciatus* populations by molecular screening. *Appl Environ Microbiol* 75: 1044-1049.
- Charrel RN, Attoui H, Butenko AM, Clegg JC, Deubel V, Frolova TV, Gould EA, Gritsun T S, Heinz FX, Labuda M, Lashkevich VA, Loktev V, Lundkvist A, Lvov DV, Mandl CW, Niedrig M, Papa A, Petrov VS, Plyusnin A, Randolph S, Süß J, Zlobin VI & Lamballerie X (2004). Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect* 10, 1040-1055.
- Chase AR, Osborne LS, Ferguson VM 1986. Selective isolation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from an artificial potting medium. *Florida Entomol* 69: 285-291.
- Costa GL, Sarquis MI, Moraes AML 2002. Isolation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* from *Boophilus microplus* tick (Canestrini, 1887), in Rio de Janeiro State, Brazil. *Mycopathologia* 154:207-209.
- D'Amato C, Torres JPM, Malm O 2002. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental - uma revisão. *Quim Nova* 25: 1002-2002.
- Dalzoto PR, Glienke-Blanco C, Kava-Cordeiro V, Araújo WL & Azevedo JL 2003. RAPD analyses of recombination processes in the entomopathogenic fungus *Beauveria*. *Mycol Res* 107: 1069-1074.
- Dennis DT, Piesman JF 2005. Overview of tick-borne infections of humans. In: Goodman JL, Dennis DT, Sonenshine DE, eds. Tick-borne diseases of humans. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 3-11.

- Destéfano RHR, Destéfano SAL, Messias CL 2004. Detection of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* within infected sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera, Pyralidae) using specific primers. *Gen Mol Biol* 27: 245-252.
- Dias JCP, Leão AEA 1967. Parasitismo de fungos (*Beauveria bassiana*) sobre triatomíneos brasileiros criados em laboratório. *Atas SocBiol* 2: 85-87.
- Dias JCP, Silveira AC, Schofield CJ 2002. The impact of Chagas disease control in Latin America. A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 603-612.
- Dias JCP, Prata A & Correia D 2008. Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. *Rev Soc Bras Med Trop* 41:193-196
- Driver F, Milner RJ, Trueman JWH. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. *Mycol Res*. 2000;104:143–150.
- Dujardin JP, Schofield CJ, Panzera F 2000. *Les vecteurs de la maladie de Chagas. recherches taxonomiques, biologiques et génétiques*, Ac Roy Sci Outre-Mer, Classe Sci Nat Méd, Paris, 162 pp.
- Dujardin JP, Schofield CJ, Tibayrenc M 1998. Population structure of Andean *Triatoma infestans*: allozyme frequencies and their epidemiological relevance. *Med Vet Entomol* 12: 20-29.
- Fargues J, Bon MC, Manguin S & Couteaudier Y 2002. Genetic variability among *Paecilomyces fumosoroseus* isolates from various geographical and host insect origins based on the rDNA-ITS regions. *Mycol Res* 106: 1066-1074.
- Faria MR, Wraight SP 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol Control* 43: 237-256.
- Federici BA 1995. The future of microbial insecticides as vector control agents. *J Am Mosq Control Assoc* 11: 260-268.
- Federici BA, Park HW, Bideshi DK, Wirth MC, Johnson JJ 2003. Recombinant bacteria for mosquito control. *J Exp Biol* 206: 3877-3885.
- Fernandes EKK, Bittencourt VREP 2008. Entomopathogenic fungi against South American tick species. *Exp Appl Acarol* 46: 71-93.
- Freire LLC, Costa ABL, Góes LB, Oliveira NT 2001. DNA polymorphism and total protein in mutants of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metsch) Sorokin strain E9. *Brazilian J Microbiol* 32: 93-97.
- George JE, Pound JM & Davey RB 2004. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology* 129, S353–S366.

- Glare TR, Milner RJ 1991. Ecology of entomopathogenic fungi. *Handbook of Applied Mycology (humans, animals e insects)*. Vol. 2, Ed. Arora, L. Ajello, and K. G. Mukerji. 547–612.
- Graf JF, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EL & Arantes GJ 2004. Tick control: an industry point of view. *Parasitology* 129, S427–S442.
- Gubler DJ 2005. The emergence of epidemic dengue fever and dengue hemorrhagic fever in the Americas: a case of failed public health policy. *Pan Am J Pub Health (PAHO)* 17: 22-24.
- Guimarães, MP 2005. Fasciola hepatica. In: Neves DP, Melo AL, Linardi PM, Vitor RWA, *Parasitologia Humana*. 11° ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p. 223–226.
- Halstead SB 1993. Global epidemiology of dengue: health systems in disarray. *Trop Med* 35: 37-146.
- Han Y, Liang Z, Chu H & Kang J 2005. *Paecilomyces parvosporus*, a new species with its relatives from Yunnan Province, China. *Mycotaxon* 94: 357-363.
- Hawksworth DL 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycol Res* 95: 641-655.
- Hemingway J, Hawkes NJ, McCarroll L, Ranson H 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochem Mol Biol* 34: 653-665.
- Hemingway J, Ranson H 2000. Insecticide resistance in vectors of human disease. *Annu Rev Entomol* 45: 371-391.
- Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lücking R, Lumbsch HT, Lutzoni F, Matheny PB, McLaughlin DJ, Powell MJ, Redhead S, Schoch CL, Spatafora JW, Stalpers JA, Vilgalys R, Aime MC, Aptroot A, Bauer R, Begerow D, Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Dai Y-C, Gams W, Geiser DM, Griffith GW, Gueidan C, Hawksworth DL, Hestmark G, Hosaka K, Humber RA, Hyde KD, Ironside JE, Kõljalg U, Kurtzman CP, Larsson K-H, Lichtwardt R, Longcore J, Miadlikowska J, Miller A, Moncalvo J-M, Mozley-Standridge S, Oberwinkler F, Parmasto E, Reeb V, Rogers JD, Roux C, Ryvarden L, Sampaio JP, Schüßler A, Sugiyama J, Thorn RG, Tibell L, Untereiner WA, Walker C, Wang Z, Weir A, Weiss M, White MM, Winka K, Yao Y-J & Zhang N 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol Res* 111: 509-547.
- Inglis GD, Goettel MS, Butt TM, Strasser H 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. *Fungi as Biocontrol Agents*. Ed. CAB International. 23-67.

- Inglis PW, Tigano MS 2006. Identification and taxonomy of some entomopathogenic *Paecilomyces* spp. (Ascomycota) isolates using rDNA-ITS sequences. *Genet Mol Biol* 29: 132-136.
- James TY, Kauff F, Schoch CL, Matheny PB, Hofstetter V, Cox C, Celio G, Gueidan C, Fraker E, Mia dlikowska J, Lumbsch HT, Rauhut A, Reeb V, Arnold EA, Amtoft A, Stajich JE, Hosaka K, Sung G-H, Johnson D, O'Rourke B, Crockett M, Binder M, Curtis JM, Slot JC, Wang Z, Wilson AW, Schüßler A, Longcore JE, O'Donnell K, Mozley-Standridge S, Porter D, Letcher PM, Powell MJ, Taylor JW, White MM, Griffith GW, Davies DR, Humber RA, Morton J, Sugiyama J, Rossman AY, Rogers JD, Pfister DH, Hewitt D, Hansen K, Hambleton S, Shoemaker RA, Kohlmeyer J, Volkmann-Kohlmeyer B, Spotts RA, Serdani M, Crous PW, Hughes KW, Matsuura K, Langer E, Langer G, Untereiner WA, Lücking R, Büdel B, Geiser DM, Aptroot A, Diederich P, Schmitt I, Schultz M, Yahr R, Hibbett DS, Lutzoni F, McLaughlin D, Spatafora J, Vilgalys R, 2006. Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. *Nature* 443: 818–822.
- Karunaratne SHPP, Hemingway J 2001. Malathion resistance and prevalence of the malathion carboxylesterase mechanism in populations of mosquito vectors of disease in Sri Lanka. *Bull World Health Organization* 79: 1060-1064.
- Khin MN, Jirakanjanakit N, Yoksan S, Bhamarapravati N 1994. Infection, dissemination, transmission and biological attributes of dengue-2 PDK53 candidate vaccine virus oral infection in *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 51: 864-869.
- Klink CA & Machado RB 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conserv Biol* 19: 707–713.
- Lacerda DR, Acedo MDP, Lemos Filho JP & Lovato MB 2002. A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. *Lundiana* 3: 87-92.
- Lacey L, Goettel MS 1995. Current developments in microbial control of insects. *Entomophaga* 40: 202-211.
- Lecuona RE, Edelstein MFB, Rossa FR & Arcas JA 2001. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) strains as potential agents for control of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol* 38: 172-179.
- Lemos ERS, Rozental T, Villela LC 2002. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 523-525.
- Lima JBP, Mello NV, Valle D 2005. Residual effect of two *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* products assayed against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in laboratory and outdoors at Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 47: 125-130.

- Liu ZY, Milner RJ, McRae CF, Lutton GG 1993. The use of dodine in selective media for the isolation of *Metarhizium* spp. from soil. *J Invertebr Pathol* 62: 248-251.
- Liu ZY, Liang ZQ, Liu AY, Yao YJ, Hyde KD & Yu ZN 2002. Molecular evidence for teleomorph-anamorph connections in *Cordyceps* based on ITS-5.8S r DNA sequences. *Mycol Res* 106: 1100-1108.
- Lowe D, Xi J, Meng X, Wu Z, Qiu D, Spear R 2005. Transport of *Schistosoma japonicum* cercariae and the feasibility of niclosamine for cercariae control. *Parasitol Int* 54: 83-89.
- Luangsa-ard JJ, Hywel-Jones NL, Manoch L & Samson RA 2005. On the relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species. *Mycological Research* 109: 581-589.
- Luz C, Fargues J, Romaña CA, Moreno J, Goujet R, Rougier M & Grunewald J 1994. Potential of entomopathogenic Hyphomycetes for the control of the triatomine vectors of Chagas' disease. *Proc. 6. Int. Coll. Invertebr. Path Microbiol Control* 1: 272-276.
- Luz C, Fargues J, Grunewald J 1998 a. The effect of fluctuating temperature and humidity on the longevity of starved *Rhodnius prolixus*. *J Appl Entomol* 122: 219-222.
- Luz C, Tigano M, Silva IG, Cordeiro CMT, Aljanabi SM 1998 b. Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to control *Triatoma infestans*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 839-846.
- Luz C, Silva IG, Cordeiro CMT, Tigano M 1998 c. *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) as a possible agent for biological control of Chagas disease vectors. *J Med Entomol* 35: 977-979.
- Luz C, Silva IG, Magalhães BP, Cordeiro CMT, Tigano M 1999. Control of *Triatoma infestans* (Klug) (Reduviidae: Triatominae) with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. preliminary assays on formulation and application in the field. *An Soc Entomol Brasil* 28: 101-110.
- Luz C, Fargues J, Romaña CA 2003 a. Influence of starvation and blood meal-induced moult on the susceptibility of nymphs of *Rhodnius prolixus* Stål (Hem., Triatominae) to *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. infection. *J Appl Entomol* 127: 153-156.
- Luz C, Rocha LFN, Humber RA 2003 b. Record of *Evlachovaea* sp. (Hyphomycetes) on *Triatoma sordida* in the State of Goiás, Brazil, and its activity against *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae). *J Med Entomol* 40: 451-454.
- Luz C, Rocha LFN, Nery G. 2004 a. Detection of entomopathogenic fungi in peridomestic triatomine-infested areas in Central Brazil and fungal activity against *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae). *Neotropical Entomol* 33: 783-791.
- Luz C, Rocha LFN, Nery GV, Magalhães BP, Tigano MS 2004 b. Activity of oil-formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 211-218.

- Luz C, Rocha LFN, Silva IG 2004 c. Pathogenicity of *Evlachovaea* sp. (Hyphomycetes), a new species isolated from *Triatoma sordida*, in Chagas disease vectors under laboratory conditions. *Rev Soc Bras Med Trop* 37: 189-191.
- Luz C, Tai MHH, Santos AH, Rocha LFN, Albernaz DAS, Silva HHG 2007a. Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *J Med Entomol* 44, 799-804.
- Luz C, Netto MCB, Rocha LFN 2007b. *In vitro* susceptibility to fungicides by invertebrate-pathogenic and saprobic fungi. *Mycopathol* 164: 39-47.
- Luz C, Tai MHH, Santos AH, Silva HHG 2008. Impact of moisture on survival of *Aedes aegypti* eggs and ovicidal activity of *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 214-215.
- Marti GA, Scorsetti AC, Siri A, López Lastra CC 2005. Isolation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) from the Chagas disease vector, *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in Argentina. *Mycopathol* 159: 389–391.
- Martins JR, Furlong J 2001. Avermectina resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *Vet Record* 149: 64.
- Martins JR, Medri IM, Oliveira CM, Guglielmone A 2004. Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, *Brasil Cienc Rural* 34: 293 295.
- Mas-Coma MS, Esteban JG & Bargues MD 1999. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. *Bulletin of the World Health Organization* 77, p 340-346.
- Matias A, Riva J, Martinez E, Torrez M, Dujardin JP 2003. Domiciliation process of *Rhodnius stali* (Hemiptera: Reduviidae) in Alto Beni, La Paz, Bolivia. *Trop Med Int Health* 8: 264-268.
- Medeiros Z, Oliveira C, Quaresma J, Barbosa E, Aguiar-Santos A M, Bonfim C, Almeida J, Lessa F 2004. A filaríose bancroftiana no município de Moreno – Pernambuco, Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 7: 73-79.
- Mello-Silva CC, Vasconcellos MC, Pinheiro J, Rodrigues MLA 2006. Physiological changes in *Biomphalaria glabrata* Say, 1818 (Pulmonata: Planorbidae) caused by sub-lethal concentrations of the latex of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B (Euphorbiaceae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 3-8.
- Mendes MC, Pereira JR, Prado AP 2007. Sensitivity of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to pyrethroids and organophosphate in farms in the Vale do Paraíba region, São Paulo, Brazil. *Arq Inst Biol* 74: 81-85.

- Metchnikoff E 1879. Diseases of the larvae of the grain weevil. Insects harmful to agriculture [series]. Issue III.
- Mitchell DJ, Kannwischer-Mitchell ME. & Dickson DW 1987. A semi-selective medium for the isolation of *Paecilomyces lilacinus*. *J Nematol* 19: 255-256.
- Mittermeier RA, Gil PR, Hoffman M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J & Fonseca GAB 2005. *Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions*. Conservation International, Washington, D.C. 392 pp.
- Monnerat RG, Dias DGS, Silva SF, Martins ES, Berry C, Falcão R, Gomes ACMM, Praça LB, Soares CMS 2005. Screening of *Bacillus thuringiensis* strains effective against mosquitoes. *Pesq Agropec Bras* 40: 103-106.
- Moscardi F, Souza ML 2002. Baculovirus para o controle de pragas: panacéia ou realidade? *Biotechno Ciênc Desenvolv* 24: 22-29.
- Muscio OA, Bonder MA, La Torre JL, Scodeller EA 2000. Horizontal transmission of triatoma virus through the fecal-oral route in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Triatominae). *J Med Entomol* 37: 271-275.
- Muscio OA, Torre JL, Bonder MA & Scodeller EA 1997. Triatoma vírus pathogenicity in laboratory colonies of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol* 34: 253-256.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB & Kent J 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Neves DP 2005. Classe Arachnida. In: Costa JO, Botelho JR. *Parasitologia Humana*, 11. ed. São Paulo: Editora Atheneu. p. 413-421
- Noireau F, Bosseno MF, Carrasco R, Telleria J, Vargas F, Camacho C, Yaksic N, Brenière F 1995. Sylvatic triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in Bolivia: trends toward domesticity and possible infection with *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *J Med Entomol* 32: 594-598.
- Oliveira VC & Costa JLS 2002. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* de *F. solani* f. sp. *glycines*. *Fitopatol Brasil* 27: 632-634.
- Orihuela PLS, Vassena CV, Zerba EM & Picollo MI 2008. Relative contribution of monooxygenase and esterase to pyrethroid resistance in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. *J Med Entomol* 45: 298-306.
- Panter C, Frances SP 2003. A more selective medium for *Culicinimyces clavispurus*. *J Invertebr Pathol* 82: 198-200.

- Parameswaran G, Sankaran T 1977. Record of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on *Linshcosteus* sp. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in India. *J Entomol Res* 1: 113-114.
- Picollo MI, Vassena C, Orihuela PS, Barrios S, Zaidemberg M & Zerba E 2005. High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. *J Med Entomol* 42: 637-642.
- Pieri OS 1995. Perspectivas no controle ambiental dos moluscos vetores da esquistossomose. In FS Barbosa, *Tópicos em Malacologia Médica*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 239-252.
- Polanczyk RA, Garcia MO, Alves SB 2003. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. *Rev Saúde Pú* 37: 813-816.
- Regis L, Silva SB, Melo-Santos MA 2000. The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmes in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 207-210.
- Regis L, Silva-Filha MH, Nielsen-LeRoux C, Charles JF 2001. Bacteriological larvicides of dipteran disease vectors. *Trends Parasitol* 17: 377-380.
- Rehner SA, Buckley E. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*. 2005;97:84–98.
- Roberts DR, Andre RG 1994. Insecticide resistance issues in vector-borne disease control. *Am J Trop Med Hyg* 50: 21-34.
- Rocha LFN, Luz C 2009. Utility of six fungicides for selective isolation of *Evlachovaea* sp and *Tolyopcladium cylindrosporium*. *Mycopathol*. 167: 341-350
- Rodgers SE & Mather TN (2007). Human *Babesia microti* incidence and *Ixodes scapularis* distribution, Rhode Island, 1998–2004. *Emerg Infect Dis* 13: 633-635.
- Romaña CA, Fargues J 1992. Relative susceptibility of different stages of *Rhodnius prolixus* to the entomopathogenic hyphomycete *Beauveria bassiana*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 363-368.
- Rossmann AY, Tulloss RE, Dell TEO, Thorn RG 1998. Introduction and overview. *All taxa biodiversity inventory of fungi in a Costa Rican conservation area*. Ed. Parkway Publishers, Inc. 1-12.
- Rozas-Dennis GS, Cazzaniga NJ, Gúerin DMA 2002. *Triatoma patagonica* (Hemiptera, Reduviidae), a new host for *Triatoma virus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 427-429.
- Saueressig TM 2006. Produção de proteína animal de qualidade com sustentabilidade: controle racional das parasitoses dos bovinos. Embrapa Documentos 157, p 46.

- Samish M, Rehacek J (1999) Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. *Annu Rev Entomol* 44: 159–182.
- Santos AH, Tai MHH, Rocha LFN, Silva HHG, Luz C 2009. Dependence of *Metarhizium anisopliae* on high humidity for ovicidal activity on *Aedes aegypti*. *Biol Cont*, on line.
- Sarquis O, Pieri OS, Santos SAA 1997. Effects of Bayluscide WP70® on the survival and water-leaving behaviour of *Biomphalaria straminea*, snail host of schistosomiasis in northeast Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 619-623.
- Sarquis O, Pieri OS, Cunha RA, Jurberg P 1998. Effects of Bayluscide WP70® on the kinetic behaviour of *Biomphalaria straminea* in laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 239-241.
- Schofield CJ, Diotaiuti L & Dujardin J 1999. The process of domestication in Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 375-378.
- Scholte E, Knols BGJ, Samson RA, Takken W 2004. Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review. *J Insect Science* 4: (19) 1-24.
- Shimazu M, Teixeira AR, Kishino KI 1994. Investigations on entomogenous fungi in the Cerrado region and their utilization for microbial control of pests. *Relatório técnico do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, Planaltina, DF, Brasil*: 202-214.
- Silva RO, Silva HHG, Luz C 2004. Effect of *Metarhizium anisopliae* isolated from soil samples of the central Brazilian cerrado against *Aedes aegypti* larvae under laboratory conditions. *Rev Pat Trop* 33: 207-216.
- Silva RO, Silva HHG, Ulhoa CJ, Luz C 2005. Is there a relationship between N-acetyl-β-D-glucosaminidase activity of *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin (Hyphomycetes) isolates from peridomestic areas in Central Brazil and larvicidal effect on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae)? *J Appl Entomol* 129: 158-164.
- Silva IG, Silva JL, Silva HHG, Camargo M, Moura AF, Elias M, Santos AH 1992. Distribuição dos vetores da triossomíase americana capturados no ambiente domiciliar no estado de Goiás no período de 1984/88. *An Soc Entomol* 21: 139-154.
- Silveira AC, Feitosa VR, Borges R 1984. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período de 1975/1983, Brazil. *Rev Bras Malariol Doenças Trop* 36: 15-312.
- Silveira EB, Al-Janabi SM, Magalhães BP, Carvalho LJCB & Tigano MS 1998. Polymorphism of the Grasshopper *Schistocerca pallens* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae) and its Natural Pathogen *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal (Hyphomycetes), Revealed by RAPD Analysis. *An Soc Entomol Brasil* 27: 91-99.

- Singh DK & Agarwal RA 1991. Action sites of cypermethrin, a synthetic pyrethroid in the snail *Lymnaea acuminata*. *Acta Hydrochemt Hydrobiol* 19: 425-430.
- Sneh B 1991. Isolation of *Metarhizium anisopliae* from insects on an improved selective medium based on wheat germ. *J Invertebr Pathol* 58: 269-273.
- Somboon P, Prapanthadara L, Suwonkerd W 2003. Insecticide susceptibility tests of *Anopheles minimus* s.l., *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* in northern Thailand. *Southeast Asian J Trop Medicine Public Health* 34: 87-90.
- Sung GH & Spatafora JW 2004. *Cordyceps cardinalis* sp. nov., a new species of *Cordyceps* with an east Asian-eastern North American can distribution. *Mycologia* 96:658-666.
- Tantawy AA 2006. Molluscicidal effect of fenitrothion and anilofos on *Lymnaea natalensis* and *Biomphalaria alexandrina* snails and on the free larval stages of *Schistosoma mansoni*. *J Egypt Soc Parasitol.* 2006 Aug;36(2):629-42.
- Thrane U 1990. Grouping *Fusarium* section discolor isolates by statistical analysis of quantitative high performance liquid chromatographic data on secondary metabolite production. *J Microbiol Methods* 12: 23-39.
- Torres M, White JF, Bischoff 2006. *Cordyceps spegazzinii* sp. nov., a new species of the *C. militaris* group. *Mycotaxon* 94: 253-264.
- Vänninen I 1995. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: effect of geographical location, habitat type and soil type. *Mycol Res* 100: 9-101.
- Vassena CV, Picollo MI, Zerba EN 2000. Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. *Med Vet Entomol* 14: 51-55.
- Veen KH & Ferron P 1966. A selective medium for isolation of *Beauveria tenella* and *Metarhizium anisopliae*. *J Invertebr Pathol* 8: 268-26.
- Vega SG, Guzman P, Garcia L, Espinosa J, Cortina-de-Nava C 1988. Sperm shape abnormality and urine mutagenicity in mice treated with niclosamide. *Mut Res* 204: 269-276.
- Vranjac A 2002. Informe Técnico Febre Maculosa Brasileira. Centro de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/ZOO/INF_MACULOSA.pdf
- Whiteley HR, Schnepf HE 1986. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. *Ann Rev Microbiol* 40: 549-576.
- WHO 2002. Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. Fact sheet N° 117. World Health Organization, Geneva.
- WHO 2005. Weekly epidemiological record, N° 6, 49-60.
- WHO 2006. Preventive chemotherapy in human helminthiasis. 63.

- WHO 2007. WHO alarmed about the spread of dengue.
http://www.wpro.who.int/media_centre/press_releases/pr_23072007.htm. Acessado 11 de março de 2009.
- WHO 2008. World Malaria Report 2008, pp 190.
<http://www.who.int/malaria/wmr2008/malaria2008.pdf>
- Xiaonong Z, Minggang C, McManus D & Bergquist R 2002. Schistosomiasis control in the 21st century: Proceedings of the International Symposium on Schistosomiasis, Shanghai, July 4–6, 2001. *Acta Trop* 82, 95-114.
- Yaginuma K & Takagi K 1986. Improvement of a selective medium for isolation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin. *Japan J Appl Entomol Zool* 30: 300-301.
- Yasui K 1993. Strategies of dengue vaccine development by WHO. Using new biotechnology. *Trop Med* 35: 233-241.
- Zerba EN 1999. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. *Med Buenos Aires* 59: 41-46.
http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=27670.