

Efeito de Formulados de *Metarhizium anisopliae* Sobre *Triatoma infestans*

Juscelino Rodrigues Filho, Christian Luz

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

Universidade Federal de Goiás, CEP 74560-050, Brasil

juscelinorf@hotmail.com; wchrisluz@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: fungos, *Triatoma infestans*, bioinseticida.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) é uma doença parasitária importante na América Latina. Estima-se que esta enfermidade acomete até 18 milhões de indivíduos e expõe outros 90 milhões ao risco de infecção (DIAS, 2009). Causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, a DC é transmitida por triatomíneos. Os triatomíneos (família Reduviidae) são hemípteros vulgarmente chamados de “barbeiros”. São insetos hemimetábolos, com um ciclo constituído por ovo, cinco estádios ninfais e adulto. Ninfas e adultos de ambos os sexos são obrigatoriamente hematófagos.

Triatoma infestans, vetor principal de *T. cruzi* em muitas regiões no sul da América Latina há alguns anos, está hoje bem controlado. Mesmo assim, há relatos preocupantes sobre populações dessa espécie resistentes a piretróides na Argentina (PICOLLO et al. 2005, ORIHUELA et al. 2008, TOLOZA et al. 2008, CARDOSO et al. 2010, JUÁREZ et al. 2010). Ainda existem populações silvestres na Bolívia e a invasão de ambientes silvestres pelo homem pode levar à infestação de casas por essa ou outras espécies silvestres, o que ressalta a necessidade de vigilância permanente e controle anti-vetorial (GUHL et al. 2009).

A principal forma de controle de triatomíneos é feita com produtos químicos, como piretróides e carbamatos. Apesar de um controle com sintéticos ser muito eficiente eles podem causar danos ao meio ambiente e ao homem, além de levar ao desenvolvimento de tolerância e resistência, e assim comprometer o sucesso de campanhas (DIAS, 2009).

Uma das alternativas ao controle químico de triatomíneos são bioinseticidas à base de microrganismos patogênicos aos insetos como vírus, bactérias e fungos. Bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos já são utilizados na agricultura para o controle de pragas, especialmente produtos que contêm fungos dos gêneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* e *Isaria*. Esses fungos têm alta efetividade em todas as fases de desenvolvimento do inseto e são fáceis de serem produzidos em larga escala. A maioria das

espécies de fungos entomopatogênicos relatada no mundo ocorre também nas Américas, e o Brasil é um dos líderes no controle biológico de pragas agrícolas (FARIA & WRAIGHT, 2007).

T. infestans e outras espécies de triatomíneos são altamente suscetíveis ao ataque de fungos entomopatogênicos em condições de laboratório (LUZ et al. 1998, 2004, LECUONA et al. 2001, PEDRINI et al. 2009, ROCHA et al. 2011, ROCHA & LUZ, 2011). No entanto, baixa umidade do ambiente é um fator limitante para a atividade fungica (FARGUES & LUZ 1998, 2000, LUZ & FARGUES 1998, 1999, LAZZARINI et al. 2006).

A formulação de micro-organismos tem como objetivo aumentar a eficiência do patógeno, facilitar a aplicação do formulado e aumentar a persistência no meio ambiente. Formulados podem ser aquosos, oleosos (óleo-água ou óleo puro) e secos (pós ou grânulos). Óleos puros ou emulsionados permitem melhor adesão e distribuição de conídios na superfície do inseto-alvo, e aumentam o efeito residual após a aplicação. Formulados secos combinam propriedades absorventes e abrasivas de pós, como a terra diatomácea, com a atividade entomopatogênica de fungos (BURGES, 1998). Em estudos anteriores terra diatomácea sem outros aditivos não apresentou efeito tóxico sobre ninfas de *T. infestans* (RODRIGUES et al., 2010), e não inviabilizou a germinação de conídios de *Metarhizium anisopliae* IP 46.

Uma linhagem de *M. anisopliae* que elimina ninfas, adultos e ovos tem grande interesse para um controle sustentável e biorracional destes vetores. Até hoje não existe formulado de um fungo que mantenha sua efetividade em condições subotimais de umidade para as fases de desenvolvimento extra-cuticular.

2 OBJETIVOS

Avaliar, em condições de laboratório, o efeito da combinação de terra diatomácea, óleo vegetal e *M. anisopliae* em ninfas de *T. infestans*.

3 METODOLOGIA

3.1 Origem e cultura do *M. anisopliae*

M. anisopliae IP 46 proveniente da coleção de Fungos Entomopatogênicos do IPTSP foi cultivado rotineiramente em meio BDA (batata, dextrose, agar) a 25°C, 75 ± 5% de umidade relativa (UR) e fotoperíodo de 12:12 horas durante 15 dias e depois armazenado a 4°C até utilização. Para preparação de formulado, conídios foram raspados com espátula da

superfície da cultura e postos para secar em dissecador contendo sílica-gel, por pelo menos 48 horas a 4°C.

3.2 Origem da terra diatomácea e do óleo vegetal

Óleo vegetal emulsionável foi adquirido em casa de produtos agrícolas, comercializado com o nome Graxol[®] (G; Agrária Indústria e Comércio Ltda, Jardinópolis, São Paulo, Brasil). Terra diatomácea também foi adquirida em casa de produtos agrícolas, comercializada com o nome KeepDry[®] (KD; Irrigação Dias Cruz Ltda., Santo André, São Paulo, Brasil).

3.3 Origem e preparação de ninfas

T. infestans foi criado em laboratório e alimentado em galinhas conforme o método descrito por SILVA et al., (1988). Nos testes foram utilizadas ninfas de terceiro estágio (N3) recém mudadas. Durante os testes as ninfas não foram alimentadas.

3.4 Avaliação dos formulados de *M. anisopliae* em *T. infestans*

Dez N3 foram expostas, em placas de Petri, a papel filtro tratado com conídios (10^7 conídios/cm²), G (3 µL/cm²), KD (1 mg/cm²) separadamente ou em combinação ou sem tratamento (controle). Posteriormente foram incubadas a 25°C, com umidades relativas (UR) de $75 \pm 5\%$ ou perto de saturação ($> 98\%$). A sobrevivência quantitativa das ninfas foi avaliada diariamente até 25 dias. Ninfas mortas foram transferidas para câmara úmida e o desenvolvimento de IP 46 sobre os cadáveres examinado durante 15 dias.

3.5 Análises dos resultados

Os testes foram realizados em 4 repetições independentes. Resultados percentuais foram transformados em arcsin e examinados com análise de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla Student-Newman-Keuls. Médias foram consideradas significativamente diferentes com $P < 0,05$. Os tempos letais necessários para matar 50 e 90% das ninfas (TL₅₀ e TL₉₀) foram calculados com análise de Probit para valores dependentes (THRONE et al. 1995).

4 RESULTADOS

Formulados de ambas as UR testadas ($> 98\%$ e 75%) tiveram efeito altamente significativo sobre a mortalidade ($F_{7,24} \geq 16,7$; $P < 0,0001$; Tabs. 1 e 2). Comparando as

mortalidades acumuladas entre o mesmo tratamento, independentemente das umidades testadas, os valores diferiram significativamente nos testes contendo somente G, IP 46 sem aditivos e IP 46 formulado em G ou KD ($F_{7,48} = 3,1$; $P = 0,008$).

Em UR próximas à saturação todas as ninfas foram mortas em menos de 10 dias de exposição em papel filtro tratado com IP 46, independentemente dos aditivos testados (Tab. 1 e Fig. 1). Os valores de TL_{50} e TL_{90} das N3 foram $\leq 5,8$ e $\leq 6,7$ dias, respectivamente. Ambos os TL_{50} e TL_{90} foram significativamente menores quando IP 46 (10^7 conídios/cm²) foi formulado em G ($3 \mu\text{l/cm}^2$) com KD (1 mg/cm^2), em comparação com as outras formulações (Tab. 1). A mortalidade de N3 expostas a papel filtro sem tratamento ou papel filtro tratado somente com KD variou apenas de 5 a 10%, após 25 dias de exposição. A sobrevivência de N3 foi significativamente reduzida nos testes contendo somente G ou combinado com KD (Tab. 1).

Tabela 1: Mortalidade acumulada (%; \pm erro padrão) e tempos letais com intervalos de confiança (I.C; dias) para matar 50 ou 90% ($TL_{50/90}$) de *Triatoma infestans*, expostos a conídios de *Metarhizium anisopliae* IP 46 formulados com terra diatomácea (KD) e / ou óleo (G), e incubados por até 25 dias em $> 98\%$ de umidade relativa e 25°C .

| Formulado | Mortalidade acumulada | | Tempo letal | |
|----------------|-----------------------|------------------|----------------------|--------------------|
| | 10 dias | 25 dias | TL_{50} | TL_{90} |
| Controle | 2,5 \pm 2,5 a | 5 \pm 2,8 ab | * | * |
| KD | 7,5 \pm 7,5a | 10 \pm 10 a | * | * |
| G | 0 a | 45 \pm 18,5 bc | * | * |
| KD + G | 5 \pm 5 a | 55 \pm 23,3 c | 23,9 (20,3 - 28,7) d | 37 (31,5 – 48,1) d |
| IP 46 | 100 b | 100 d | 5,8 (5,5 - 6) c | 6,7 (6,5 – 7,3) c |
| IP 46 + KD | 100 b | 100 d | 5,7 (4,7 – 6,7) bc | 6,7 (5,9 - 10) bc |
| IP 46 + G | 100 b | 100 d | 4,9 (4,7 – 5,1) b | 5,6 (5,4 – 5,9) b |
| IP 46 + KD + G | 100 b | 100 d | 4,5 (4,3 – 4,6) a | 5 (4,8 – 5,3) a |
| $F_{7,24}$ | 123,6 | 16,7 | - | - |
| P | $< 0,001$ | $< 0,001$ | - | - |

Dez ninfas de terceiro estágio (4 repetições) foram expostas a papel filtro sem tratamento (controle) ou tratado com KeepDry (KD; 1 mg/cm^2) e / ou Graxol (G; $3 \mu\text{l/cm}^2$), formulados ou não com conídios de IP 46 (10^7 conídios/cm²). Valores na mesma coluna seguidos por letras diferentes (a - d) foram significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$).

* mortalidade não suficiente para calcular TL_{50} e TL_{90} .

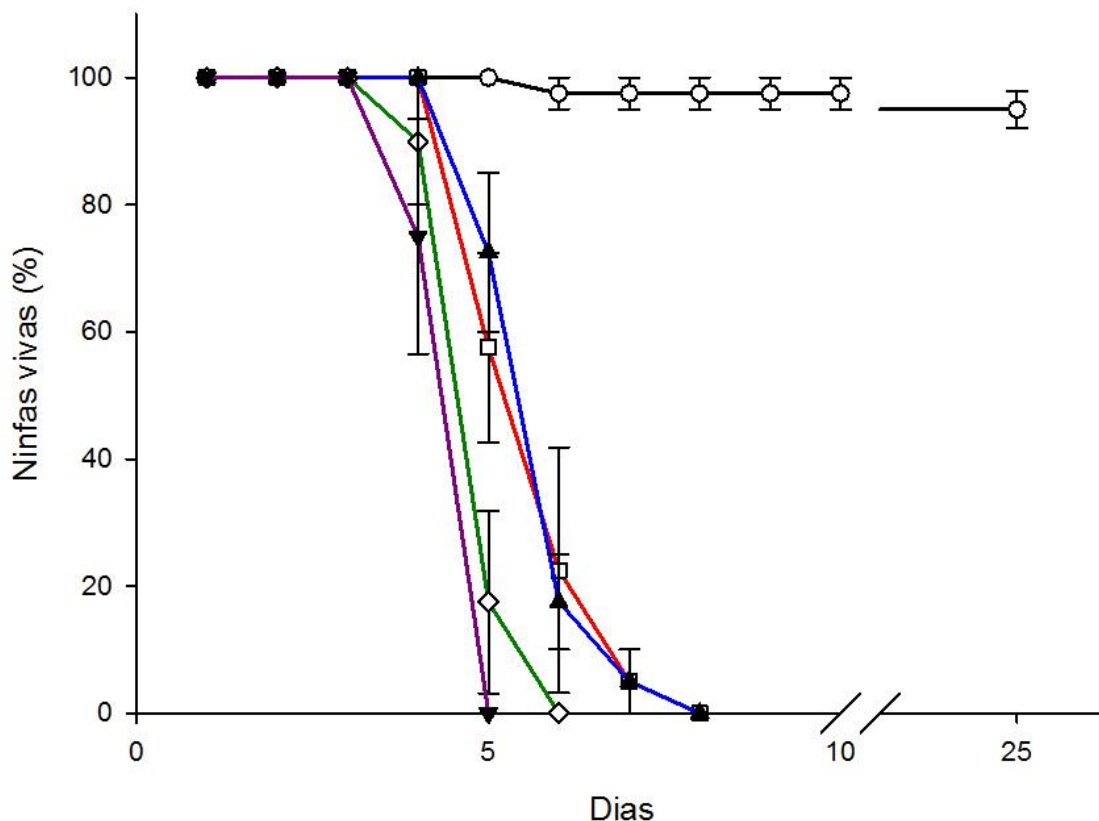


Figura 1: Sobrevivência relativa de ninfas de *Triatoma infestans* expostas a papel filtro tratado com *Metarhizium anisopliae* IP 46 (—□—) ou formulado com KeepDry (KD; 1 mg/cm²; —▲—) ou Graxol (G; 3 µl/cm²; —◇—) e com a combinação dos dois aditivos (—▼—) e incubados por até 25 dias em > 98% de umidade relativa e 25°C. Papel filtro sem tratamento foi usado como controle (—○—).

Em 75% de UR a mortalidade acumulada de N3 expostas a papel filtro tratados com IP 46 ou IP 46 formulado com KD ou G e incubadas por 25 dias variou entre 25% (IP 46) e 77,5% (IP 46 e G; Tab. 2 e Fig. 2). No entanto, a formulação contendo IP 46, G e KD induziu à mortalidade total. Os TL₅₀ e TL₉₀ foram 6,2 e 8,3 dias, respectivamente, significativamente menores se comparados com os outros valores encontrados nesta umidade. Enquanto a maioria das N3 (> 95%) sobreviveram até fim do experimento (25 dias) após a exposição ao papel filtro sem tratamento ou tratado com KD ou G em 75% de UR, houve 70% de mortalidade para ninfas expostas a KD combinado com G (Tab. 2).

Após incubação em câmara úmida, *M. anisopliae* desenvolveu-se abundantemente sobre os cadáveres de todas as ninfas mortas que haviam sido avaliadas com conídios, independentemente das formulações e umidades testadas.

Tabela 2: Mortalidade acumulada (%; \pm erro padrão) e tempos letais com intervalos de confiança (I.C; dias) para matar 50 ou 90% (LT_{50/90}) de *Triatoma infestans*, expostos a conídios de *Metarhizium anisopliae* IP 46 formulados com terra diatomácea (KD) e/ou óleo (G), e incubados por até 25 dias em 75% de umidade relativa e 25°C

| Formulado | Mortalidade acumulada | | Tempo letal | |
|-------------------|-----------------------|------------------|----------------------|--------------------|
| | 10 dias | 25 dias | TL ₅₀ | TL ₉₀ |
| Controle | 2,5 \pm 2,5 a | 2,5 \pm 2,5 a | * | * |
| KD | 0 a | 5 \pm 5 a | * | * |
| G | 0 a | 0 a | * | * |
| KD + G | 15 \pm 6,5 b | 70 \pm 5,8 c | 18,2 (15,6 -21,6) b | 28,2 (24,2-35,4) b |
| IP 46 | 15 \pm 6,5 b | 25 \pm 6,5 b | * | * |
| IP 46 + KD | 25 \pm 5 b | 65 \pm 5 c | 15,7 (12,6 – 19,8)b | 27,2 (22,3-37,5) b |
| IP 46 + G | 35 \pm 6,5 b | 77,5 \pm 6,3 c | 13,7 (10,9 - 16,9) b | 24,1 (20,2-31,6) b |
| IP 46 + KD + G | 95 \pm 5 c | 100 d | 6,2 (4,4 – 7,7) a | 8,3 (7 - 13) a |
| F _{7,24} | 31 | 54,1 | - | - |
| P | < 0,001 | < 0,001 | - | - |

Dez ninfas de terceiro estágio (4 repetições) foram expostas ao papel filtro sem tratamento (controle) ou tratado com KeepDry (KD; 1 mg/cm²) e / ou Graxol (G; 3 μ l/cm²), formulados ou não com conídios de IP 46 (10⁷ conídios/cm²). Valores na mesma coluna seguidos por letras diferentes (a - d) foram significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$).

* mortalidade não suficiente para calcular TL₅₀ e TL₉₀.

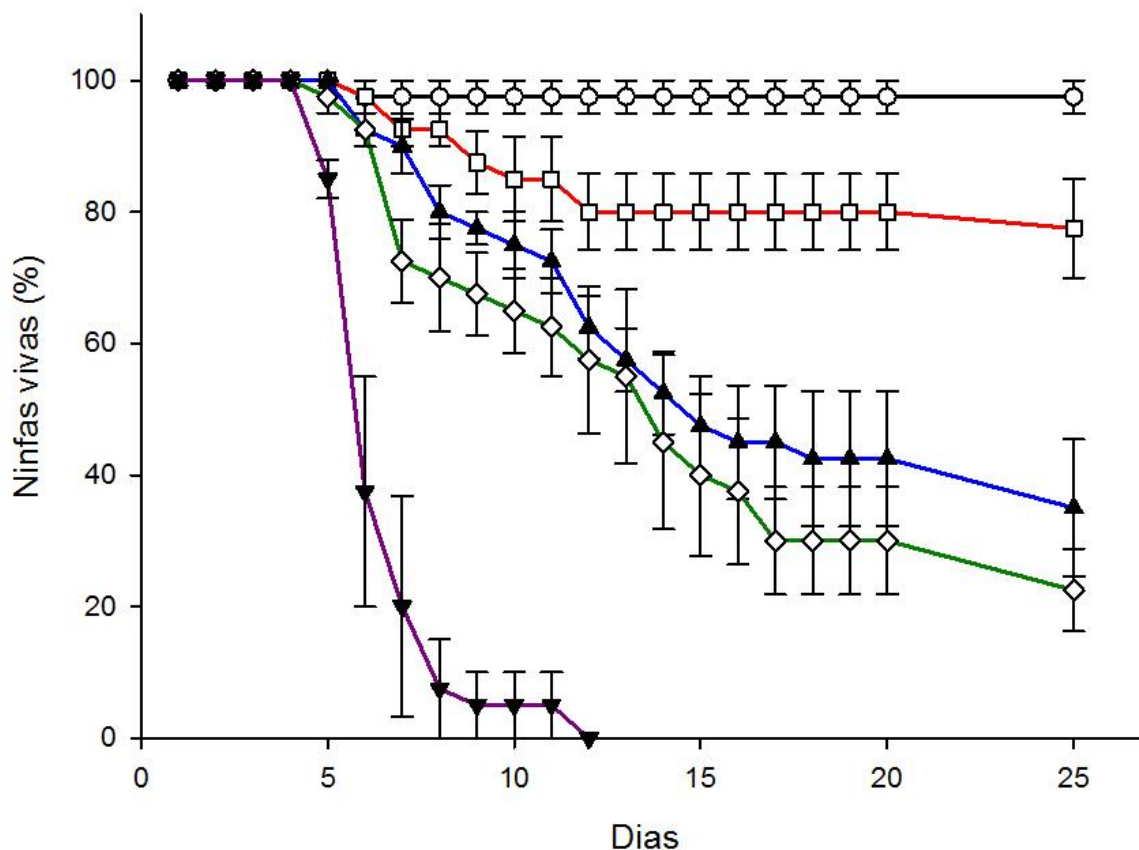


Figura 2: Sobrevivência relativa de ninfas de *Triatoma infestans* expostas a papel filtro tratado com *Metarhizium anisopliae* IP 46 (—□—) ou formulado com KeepDry (KD; 1 mg/cm²; —▲—) ou Graxol (G; 3 µl/cm²; —◇—) e com a combinação dos dois aditivos (—▼—) e incubados por até 25 dias em 75% de umidade relativa e 25°C. Papel filtro sem tratamento foi usado como controle (—○—).

5 DISCUSSÃO

O óleo vegetal Graxol® sem outros aditivos teve efeito inseticida retardado sobre ninfas de *T. infestans* após duas semanas de exposição em altas umidades. O estresse devido à incubação prolongada em alta umidade (mesmo assim a mortalidade do controle em UR > 98% chegou a apenas 5%, após 25 dias) ou substâncias tóxicas geradas pela oxidação ou elevada degradação metabólica do óleo pela microbiota presente na cutícula pode ter aumentado a vulnerabilidade das ninfas. LUZ & BATAGIN (2005) avaliaram o efeito de 11 óleos vegetais, incluindo óleo de soja sobre o *T. infestans* e mostraram que as ninfas sobreviveram à exposição prolongada, mesmo a altas concentrações (até 16 µl óleo/cm²),

independentemente do óleo testado. Nestes testes ninfas evitaram áreas com alta concentração de óleo (LUZ & BATAGIN 2005).

M. anisopliae IP 46 matou todas as ninfas, independentemente dos aditivos testados, quando incubadas em umidade próxima à saturação. Triatomíneos como *T. infestans* e *Rhodnius* spp são altamente suscetíveis à infecção fungica em umidade elevada (LUZ et al. 1998, 2004; ROCHA et al. 2011; ROCHA & LUZ, 2011). Considerando que a eficácia do fungo só foi reduzida em umidade subótima para o seu desenvolvimento sobre a cutícula, como mostrado por este e outros trabalhos com fungos e triatomíneos (LUZ & FARGUES 1999; FARGUES & LUZ 2000; LUZ et al. 1998, 2003; LUZ & BATAGIN 2005 e LAZZARINI et al. 2006), a virulência do fungo sobre os insetos aumentou nitidamente com conídios formulados em G ou KD e ninfas foram altamente suscetíveis aos conídios preparados com G e KD à 75% UR. O contato das ninfas com o formulado contendo G e KD provavelmente aumentou a adesão e a disseminação de partículas (KD e conídios) na cutícula lipofílica do inseto, e sua infiltração em microambientes protegidos por membranas intersegmentares e articulações. O desenvolvimento extra-cuticular dos conídios provavelmente foi favorecido pela maior umidade nestes micro-ambientes devido à transpiração causada pela abrasão do KD e pelo G que cobriu líquidos extravasados, impedindo a sua evaporação. Além disso, a susceptibilidade de ninfas à infecção fúngica provavelmente foi intensificada pelo estresse causado pela ação abrasiva de KD combinada com óleo, que é sustentado pelo aumento da mortalidade após exposição de ninfas a papéis filtro tratados com KD e G sem conídios, tanto a UR de 75% e UR > 98%.

A ação combinada de poeiras dessecante e fungos entomopatogênicos está bem estabelecida, especialmente no controle de pragas que atacam grãos secos armazenados (LORD 2007; AKBAR et al. 2004; OLIVEIRA & ALVES 2007; DAL BELLO et al. 2006; BATA 2008; VASSILAKOS et al. 2006 e PEDRINI et al. 2009). No entanto, este é o primeiro estudo a mostrar o efeito sinérgico de óleo com terra diatomácea sobre a virulência de um fungo entomopatogênico em um inseto.

6 - CONCLUSÃO

O bom desempenho de *M. anisopliae* IP 46 formulado com óleo e pó dessecante, que matou rapidamente todas as ninfas de *T. infestans*, mesmo em condições mais secas de umidade, reforça o interesse em micoinseticidas para controle integrado de triatomíneos.

Referências

AKBAR, W.; LORD, J.; NECHOLS, J. R.; HOWARD, R. W. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, p.273-280, 2004.

BATTA, Y. A. Control of main stored-grain insects with new formulations of entomopathogenic fungi in diatomaceous earth dusts. **International Journal of Food Engineering**, v. 4, p. 1-18, 2008.

BURGES, H. D. Formulation of microbial biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Netherlands, p. 131, 1998

CARDOZO, R. M.; PANZERA, F.; GENTILE, A. G.; SEGURA, M. A.; PÉREZ, R.; DÍAZ, R. A.; BASOMBRÍO, M. A. Inheritance of resistance to pyrethroids in *Triatoma infestans*, the main Chagas disease vector in South America. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, p. 1174–1178, 2010.

DAL BELLO, G. M.; PADÍN, S.; JUÁREZ, M. P.; PEDRINI, N.; GIUSTO, M. D. E. Biocontrol of *Acanthoscelides obtectus* and *Sitophilus orizae* with diatomaceous earth and *Beauveria bassiana* on stored grains. **Biocontrol Science and Technology**, v. 16 p. 215-220, 2006.

DIAS, J. C. P. Elimination of Chagas disease transmission: perspectives. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 104 p. 41-5, 2009.

FARGUES, J.; LUZ, C. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on sporulation of *Beauveria bassiana* on cadavers of *Rhodnius prolixus*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 8, p.323-334, 1998.

FARGUES, J.; LUZ, C. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on the infection potential of *Beauveria bassiana* for *Rhodnius prolixus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 75, p. 202-211, 2000.

FARIA, M. R.; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43 p. 237-256, 2007.

GUHL, F.; PINTO, N.; AGUILERA, G. Sylvatic Triatominae: a new challenge in vector control transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p.71-75, 2009.

JUÁREZ, M. P.; PEDRINI, N.; GIROTTI, J. R.; MIJAILOVSKY, S. J.; Pyrethroid resistance in Chagas disease vectors: The case of *Triatoma infestans* cuticle. **Resistance Pest Management Newsletter**, v. 19, p. 59-61, 2010.

- LAZZARINI, G. M. J.; ROCHA, L. F. N.; LUZ, C. Impact of moisture on *in vitro* germination of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* and their activity in *Triatoma infestans*. **Mycological Research**, v.110, p. 458-492, 2006.
- LECUONA, R. E.; EDELSTEIN, J. D.; BERRETTA, M. F. L. A.; ROSSA, F. R.; ARCAS, J. A. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) strains as potential agents for control of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38 p. 172–179, 2001.
- LORD, J. C. Desiccation increases the efficacy of *Beauveria bassiana* for stored-grain pest insect control. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p.535-539, 2007.
- LUZ, C.; FARGUES, J. Factors affecting conidial production of *Beauveria bassiana* from fungus-killed cadavers of *Rhodnius prolixus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 72, p. 97-103, 1998.
- LUZ, C.; TIGANO, M.; SILVA, I. G.; CORDEIRO, C. M. T.; ALJANABI, S. M. Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to control *Triatoma infestans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93 p. 839-846, 1998.
- LUZ, C.; FARGUES, J. Dependence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on high humidity for infection of *Rhodnius prolixus*. **Mycopathologia**, v. 146 p. 33–41, 1999.
- LUZ, C.; ROCHA, L. F. N.; HUMBER, R. Record of *Evlachovaea* sp. (Hyphomycetes) on *Triatoma sordida* in the State of Goiás, Brazil, and its activity against *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae). **Journal of Medical Entomology**, v. 40, p.451-454, 2003.
- LUZ, C.; ROCHA, L. F. N. NERY, G. V.; MAGALHÃES, B. P.; TIGANO, M. S. Activity of oil-formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p.211-218, 2004.
- LUZ, C.; BATAGIN, I. Potential of oil-based formulations of *Beauveria bassiana* to control *Triatoma infestans*. **Mycopathologia** v.160, p.51-62, 2005.
- OLIVEIRA, D. G. P.; ALVES, L. F. A. Interação do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com terra diatomácea para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), o cascudinho dos aviários. **BioAssay**, p. 2:6, 2007.
- ORIHUELA, P. L. S.; VASSENA, C. V.; ZERBA, E. M.; PICOLLO, M. I. Relative contribution of monooxygenase and esterase to pyrethroid resistance in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. **Journal of Medical Entomology**, v. 45 p.298–306, 2008.
- PEDRINI, N. MIJAILOVSKY, S. J.; GIROTTI, J. R.; STARIOLO, R.; CARDOZO, R. M.; GENTILE, A.; JUÁREZ, M. P. Control of pyrethroid-resistant Chagas disease vectors with entomopathogenic fungi. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 3: e434, 2009.

PICOLLO, M.; VASSENA, C.; ORIHUELA, P. S.; BARRIOS, S. ZAIDEMBERG, M.; ZERBA, E. Resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. **Journal of Medical Entomology**, v. 42, p. 637-642, 2005.

ROCHA, L. F. N.; SILVA, I. G.; LUZ, C. Activity of some hypocrealean fungi collected in a Cerrado ecosystem against *Rhodnius* spp. (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. **Acta Tropica**, v. 118, p. 63-66, 2011.

ROCHA, L. F. N.; LUZ, C. Activity of *Metarhizium* spp and *Isaria* spp from the Central Brazilian Cerrado against *Triatoma infestans* nymphs. **Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, p. 417-419, 2011.

RODRIGUES, J.; ELIAS, C. N.; ROCHA, L. F. N.; LUZ, C. Efeito de terra diatomácea em ninfas de *Triatoma infestans*. In: 46 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Foz do Iguacu. Anais de resumos. Brasília : Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 1. p. 1-1, 2010.

SILVA, I. G.; SILVA, H. H. G. Influência da temperatura na biologia de triatomíneos. II. *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Goiana de Medicina, Goiânia**, v. 34, p. 29-37, 1988.

THRONE, J. E.; WEAKER, D. K.; CHEW, V.; BAKER, J. E. Probit analysis of correlated data: Multiple observations over time at one concentration. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, p. 1510–1512, 1995.

TOLOZA, A. C.; GERMANO, M.; CUETO, G. M.; VASSENA, C.; ZERBA, E.; PICOLLO, M. I. Differential patterns Of insecticide resistance in eggs and first instars of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. **Journal of Medical Entomology** V. 45, p. 421-426, 2008.

VASSILAKOS, T. N.; ATHANASSIOU, C. G.; KAVALLIERATOS, N. G.; VAYIAS, B. J. Influence of temperature on the insecticidal effect of *Beauveria bassiana* in combination with diatomaceous earth against *Rhyzopertha dominica* and *Sitophilus oryzae* on stored wheat. **Biological Control**, v. 38, p. 270–281, 2006.