

# LARVAS DE SIMULÍDEOS (DIPTERA, SIMULIIDAE) DO CENTRO OESTE, SUDESTE E SUL DO BRASIL, PARASITADAS POR MICROSPORÍDEOS (PROTOZOA) E MERMITÍDEOS (NEMATODA)

Carmen Ambrós Ginarte<sup>1</sup>  
Carlos F. S. Andrade<sup>2</sup>  
Jairo Campos Gaona<sup>3</sup>

## ABSTRACT

SIMULIDS LARVAE (DIPTERA, SIMULIIDAE) FROM MIDDLE WESTERN, SOUTHEASTERN AND SOUTHERN BRAZIL, WITH MICROSPORIDS (PROTOZOA) AND MERMITHIDS (NEMATODA) PARASITES. A survey of simuliid larval parasites was carried out in different localities of the states of Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul, Brazil, from February 1996 to May 1998. Prevalences for the microsporidian *Polydispyrenia simulii* Lutz & Splendore, 1908 were found in Morungaba and Leme, São Paulo, ranging from around 0.7 to 66.7%, depending mainly on the host simuliid species. Microsporidiosis was registered in localities of São Paulo, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. Parasitism by *Isomermis* sp. (Nematoda, Mermithidae) was found in *Simulium* larvae from Serra do Japi, ranging from 0.8 to 45.8%, depending on the simuliid species and the larval microhabitat in the stream, whether a cemented ramp in a lake outlet or the natural stream bed. Parasitism by mermithids was also found in ten localities. Mycoses caused by *Coelomycidium* sp. were for the first time recorded for larvae of *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax* Kollar, 1832.

KEYWORDS. *Simulium*, Mermithidae, Duboscquiidae, *Polydispyrenia*, *Isomermis*.

## INTRODUÇÃO

Dípteros simulídeos ocorrem em água corrente para suas fases imaturas. A capacidade vetorial ou a acentuada zoofilia e antropofilia que algumas espécies apresentam, as colocam na categoria de insetos daninhos em várias regiões do planeta e inclusive no Brasil (CROSSKEY, 1990). Devido à desvantagem do caráter disperso dos adultos no ambiente e pela concentração das larvas nos cursos d'água, o controle com larvicidas tem sido a principal escolha. O desenvolvimento de resistência a produtos químicos e o risco de contaminação devido às frequentes aplicações durante

1. Pós-Graduação em Parasitologia, Departamento de Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil. (carmenma@obelix.unicamp.br)

2. Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, (UNICAMP), Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

3. Pós-Graduação em Biologia Celular, Instituto de Biologia (UNICAMP), Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

todo o ano, tem levado à avaliação de métodos alternativos ou complementares de controle, entre eles o controle biológico (RUAS NETO, 1984; RUAS NETO *et al.*, 1985).

No controle natural de simuliídeos, a importância dos nematódeos tem sido demonstrada experimentalmente por GAUGLER & MOLLOY (1981), que obtiveram no laboratório uma mortalidade de 50% em *Simulium vittatum* Zetterstedt, 1838, utilizando nematódeos do gênero *Mesomermis* Daday, 1911 na concentração de 34,5 mermitídeos/ml de água. Quando nematódeos *Gastromermis* Micoletzky, 1963 foram introduzidos em cursos d'água onde não ocorriam, uma importante redução do número de larvas de simuliídeos foi registrada após dois anos (Likhovoz, 1978 *apud* MOLLOY, 1987). Na América do Sul têm sido registradas *Mesomermis nortensis* Camino, 1991, *Mesomermis* sp. e *Gastromermis* sp. parasitando naturalmente larvas de *Simulium lachillei* Paterson & Shannon, 1927 em cursos d'água da Argentina (CAMINO, 1991). Estudos de laboratório e de campo demonstraram que larvas de primeiro estágio de *Culicoides variipennis sonorensis* Wirth & Jones, 1957 (Diptera, Ceratopogonidae) foram mais parasitadas pelo mermitídeo *Heleidomermis magnapapula* Poinar & Mullens, 1987 que larvas de quarto estágio (MULLENS & LUBRING, 1998). KAISER & DEIXELBERGER (2001) estabeleceram o mermitídeo *Utriculimermis microcaudata* de riachos do sudeste da Áustria. JOHNSON & KLEVE (2000) descreveram *Strelkovivermis amphidis* emergido de larvas de quironomídeos de dois lagos em Minnesota (EUA).

Os microsporídeos estão entre os entomopatógenos mais comumente encontrados em simuliídeos, sendo conhecidas atualmente cerca de 30 espécies distribuídas em sete famílias, parasitando mais de 60 espécies de simuliídeos do mundo. Microsporídeos parecem ocorrer mais frequentemente nas formas imaturas dos borrachudos (WEISER & PRASERTPHON, 1982; GARCIA *et al.*, 1989; CROSSKEY, 1990) e com menor frequência em adultos (UNDEEN, 1981). Nas populações larvais, a prevalência desses protozoários é geralmente abaixo de 1%, mas não são raros relatos de 30% ou 50% (WEISER & UNDEEN, 1981; MADDOX, 1987). Um terceiro grupo de patógenos encontrado em simuliídeos é o dos fungos Phycmycetes, sendo *Coelomycidium* Debaiseux, 1926 um dos gêneros mais registrados no mundo (WEISER & PRASERTPHON, 1982; TORRES *et al.*, 1991).

Objetiva-se determinar a ocorrência de parasitismo em populações larvais de simuliídeos, dada a sua importância no controle natural das populações destes dípteros.

## MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se levantamento em larvas de simuliídeos durante o período de fevereiro de 1996 a maio de 1998, em localidades de São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Santa Catarina e Minas Gerais. Levantamentos realizados em São Paulo: no leito do riacho do rio Cristina, fazenda Cachoeiras, Barra do Una, São Sebastião; na rampa de cimento à jusante do lago da UNICAMP (I), Cidade Universitária 2, Campinas; na rampa de cimento à jusante do lago da UNICAMP (II), Universidade Estadual de Campinas; no leito do riacho e na rampa de cimento à jusante do lago do afluente do Rio Jaguari, fazenda Cachoeirinhas, Morungaba; na rampa de cimento à jusante do lago na lagoa do Parque Ecológico de Paulínia; no leito do riacho e na rampa de cimento à jusante do lago no rio Jundiá, Serra do Japi, Jundiá; no leito do riacho (riacho do lago), na República do Lago, Leme e no leito do riacho no rio Ribeirão de Ferro na Floresta Nacional de Ipanema, Sorocaba. No Paraná foram realizados levantamentos no leito do riacho Ribeirão de Baixo, fazenda da Ilha Iuerá, Tibagi e no leito do riacho do Córrego Coruja, no Pesque

e Pague/Bandeirantes, Rolândia. No Rio Grande do Sul os levantamentos foram feitos no leito do riacho da Cachoeira Grande, Parque Municipal de São Francisco de Paula e no leito do riacho Arroio Barão, Barão. No Mato Grosso, as coletas foram realizadas no leito do riacho do rio Coxipó do Ouro, Salgadeira, Chapada dos Guimarães. Em Santa Catarina foram pesquisados os leitos dos riachos no rio Itajaí, Atalanta, no rio Quilombo, Bairro Quilombo, Florianópolis e no rio Perequê, em Itapema. Em Minas Gerais: no leito do riacho no rio da Vila, fazenda Portal, Monte Verde, Camanducaia. Avaliaram-se ainda coletas provenientes do leito do riacho do rio Castellanos, Canudos, Ilhabela, SP, que tinham sido obtidas em janeiro de 1994.

A coleta de larvas foi feita em vários pontos para cada curso d'água, sendo de 30 m aproximadamente a distância mínima entre cada ponto e cerca de três horas o tempo investido na coleta de material para cada curso d'água. As larvas foram coletadas com as folhas e raízes onde estavam aderidas ou quando sobre pedras, passando a mão ou um pano sobre o substrato. Foram transferidas com auxílio de pinças para sacolas de plástico e transportadas vivas ao laboratório em caixa de isopor com gelo. As larvas de simuliídeos sadias foram fixadas em etanol 70%, e sua identificação baseada nas descrições de VULCANO (1959); MAIA-HERZOG *et al.* (1984), SHELLEY *et al.* (1984) e COSCARÓN (1987). Destaca-se que em algumas ocasiões não foi possível determinar a espécie de simuliídeo, pois só foram encontradas larvas pequenas, sem histoblastos respiratórios.

As larvas parasitadas com nematódeos foram colocadas em placas de Petri com água destilada e mantidas em incubadora a 10°C até a emergência das formas pós-parasitas, as quais foram colocadas em areia úmida a uma temperatura de 17°C para a obtenção dos adultos. Tanto os pós-parasitas como os adultos foram mortos em água quente a 70°C, fixados em T.A.F. (2% trietanolamina, 7% formol, 40% água destilada) e clarificados em glicerina pelo método de evaporação simples (POINAR, 1975). Foram montados em lâminas com gelatina glicerinada (composta por 10 g de folha de gelatina branca, 70 ml de glicerina, 0,5 ml de fenol e 60 ml de água destilada). A identificação foi realizada segundo MULVEY & NICKLE (1978) e RUBTSOV (1981). Fêmeas fixadas em T.A.F. foram lavadas com água durante 24 horas, desidratadas em gradiente de etanol (60% a 100%) para posterior inclusão em paraplast. Foram realizados cortes seriados com 7 µm de espessura e corados com hematoxilina de Erlich e contrastados com eosina. Este mesmo processo foi realizado para a observação histológica de larvas de simuliídeos parasitadas com microsporídeos e com mermitídeos, e em larvas sadias para comparação.

Os microsporídeos de larvas parasitadas foram obtidos de amostras de tecidos infectados realizando-se esfregaços, que foram deixados secar ao ar e posteriormente fixados durante 3 min em álcool metílico. Os esfregaços foram corados por 15 min com Giemsa a 10%. Outras colorações experimentadas foram pelo Gram-Cromótopro quando fixados a quente (MOURA *et al.*, 1996); coloração pelo ácido tricrômico modificada (DIDIER *et al.*, 1995); e coloração pelo AFT (IGNATIUS *et al.*, 1997). A identificação dos microsporídeos foi baseada em WEISER (1982; 1991) e do fungo, em WEISER (1977). O material estudado foi depositado no Museu de História Natural, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorrência de parasitismos por microsporídeos (Protozoa) e/ou mermitídeos (Nematoda) foi observada em espécies de simuliídeos registradas nas localidades pesquisadas (tab. I). Em Morungaba, SP, observou-se parasitismo por *Polydispyrenia simulii* Lutz & Splendore, 1908 (Microspora, Duboscquiidae). Na rampa de cimento (4 x 20 m) pouco inclinada, localizada na saída do lago desta localidade, foi observada a mais alta porcentagem de parasitismo por *P. simulii* (24,1%). No leito do riacho (afluente do rio Jaguari) que se seguia à rampa, o parasitismo foi bem menor (1,4%). Esta diferença parece estar associada à frequência relativa de *Simulium (Chirostilbia) serranum* Coscarón, 1981 (48,9% na rampa e 11,9% no leito) nesses dois microhabitats, caracterizados por diferentes tipos de substrato, respectivamente cimento e vegetação. Parasitismo por *P. simulii* encontrou-se também no leito do riacho do

Tabela I. Ocorrência de parasitismos por microsporídeos e/ou mermitídeos em larvas de *Simulium* nas localidades estudadas nos estados de São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Santa Catarina e Minas Gerais durante o período de fevereiro de 1996 a maio de 1998 (*C.*, *Cerqueirelum*; *Ch.*, *Chirostilbia*; *E.*, *Ectemnaspis*; *G.*, *Grenierella*; *H.*, *Hemicnetha*; *I.*, *Inaequalium*; *P.*, *Psaraniocompsa*; *Ps.*, *Psilopelmia*; *Th.*, *Thyrsopelma*; <sup>1</sup>, parasitadas com *Polydispyrenia simuli*; <sup>2</sup>, parasitadas com *Isomermis* sp.).

Localidades	Espécies	Total coletado	com microsporídeos		com mermitídeos	
			N	%	N	%
Ilha Bela, SP	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	411	0	0,0	0	0,0
Barra do Una, SP	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	1171	27	2,3	3	0,3
	<i>S. (Ch.) serranum</i>	45	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (Psaraniocompsa)</i> sp.	81	0	0,0	0	0,0
	Total (% Geral)	1297	27	(2,1)	3	(0,2)
Cidade	<i>S. (H.) brachycladum</i>	222	0	0,0	0	0,0
Universitária 2, Campinas, SP	<i>S. (Psaraniocompsa)</i> sp.	4	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (Cerqueirelum)</i> sp.	4	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (Chirostilbia)</i> sp.	1	0	0,0	0	0,0
	Total (% Geral)	231	0	(0,0)	0	(0,0)
UNICAMP, Campinas, SP	<i>S. (H.) brachycladum</i>	904	0	0,0	0	0,0
Paulínia, SP	<i>S. (H.) brachycladum</i>	774	1	0,1	0	0,0
Morungaba, SP (leito do riacho)	<i>S. (H.) rubrithorax</i>	1028	7	0,7	0	0,0
	<i>S. (G.) nigri-manum</i>	603	12	2,0	0	0,0
	<i>S. (H.) brachycladum</i>	262	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	108	4	3,7	4	3,7
	<i>S. (Ch.) serranum</i>	42	5	11,9	0	0,0
	<i>S. (Psaraniocompsa)</i> sp.	2	0	0,0	0	0,0
	Total (% Geral)	2045	28 <sup>1</sup>	(1,3) <sup>1</sup>	4	(0,2)
Morungaba, SP (rampa de cimento)	<i>S. (H.) brachycladum</i>	578	49	8,5	1	0,2
	<i>S. (Ch.) serranum</i>	562	275	48,9	0	0,0
	<i>S. (G.) nigri-manum</i>	379	50	13,2	0	0,0
	<i>S. (Psaraniocompsa)</i> sp.	18	1	5,6	0	0,0
	<i>S. (Inaequalium)</i> sp.	17	2	11,8	0	0,0
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	13	0	0,0	0	0,0
	Total (% Geral)	1567	377 <sup>1</sup>	(24,1) <sup>1</sup>	1	(0,1)
Serra do Japi, SP (leito do riacho)	<i>S. (I.) subnigrum</i>	915	0	0,0	87	9,5
	<i>S. (P.) auripellitum</i>	892	6	0,7	19	2,1
	<i>S. (G.) nigri-manum</i>	452	0	0,0	7	1,5
	<i>S. (I.) subclavibranchium</i>	395	0	0,0	3	0,8
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	44	2	4,5	5	11,4
	Total (% Geral)	2698	8	(0,3)	121 <sup>2</sup>	(4,5) <sup>2</sup>
Serra do Japi, SP (rampa de cimento)	<i>S. (G.) nigri-manum</i>	674	0	0,0	34	5,0
	<i>S. (I.) subnigrum</i>	91	0	0,0	9	9,9
	<i>S. (P.) auripellitum</i>	38	0	0,0	2	5,3
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	24	0	0,0	11	45,8
	<i>S. (I.) subclavibranchium</i>	15	1	6,7	0	0,0
	Total (% Geral)	842	1	(0,1)	56 <sup>2</sup>	(6,7) <sup>2</sup>
Leme, SP	<i>S. (E.) perflavum</i>	1864	79	4,2	4	0,2
	<i>S. (I.) subnigrum</i>	463	52	11,2	8	1,7
	<i>S. (Psaraniocompsa)</i> sp.	12	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (Ch.) serranum</i>	3	2	66,7	0	0,0
	Total (% Geral)	2342	133 <sup>1</sup>	(5,7) <sup>1</sup>	12	(0,5)

Cont.

Tabela I. (continuação)

Localidades	Espécies	Total coletado	com microsporídeos		com mermitídeos	
			N	%	N	%
Sorocaba, SP	<i>S. (H.) rubrithorax</i>	595	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	149	1	0,7	2	1,3
	<i>S. (Inaequalium) sp.</i>	47	3	6,4	0	0,0
	Total (% Geral)	791	4	(0,5)	2	(0,3)
Tibagi, PR	<i>S. (Ch.) serranum</i>	171	1	0,6	0	0,0
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	54	0	0,0	1	1,6
	<i>S. (Thyrsopelma) sp.</i>	36	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (I.) subnigrum</i>	8	0	0,0	0	0,0
	Total (% Geral)	269	1	(0,4)	1	(0,4)
Rolândia, PR	<i>S. (H.) rubrithorax</i>	238	0	0,0	0	0,0
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	62	0	0,0	1	1,9
	<i>S. sp.</i>	2	1	50,0	0	0,0
	Total (% Geral)	302	1	(0,3)	1	(0,3)
São Francisco de Paula, RS	<i>S. (Ch.) laneportoi</i>	31	6	19,3	2	6,5
	<i>S. (H.) rubrithorax</i>	4	2	50,0	0	0,0
	<i>S. (Psaraniocompsa) sp.</i>	30	0	0,0	0	0,0
	Total (% Geral)	65	8	(12,3)	2	(3,1)
Barão, RS	<i>S. (P.) incrustatum</i>	1357	3	0,2	33	2,4
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	327	42	12,8	6	1,8
	<i>S. (P.) auripellitum</i>	22	5	22,7	6	27,3
	<i>S. (H.) rubrithorax</i>	11	1	9,1	0	0,0
	Total (% Geral)	1717	51	(3,0)	45	(2,6)
Chapada dos Guimarães, MT	<i>S. (Ch.) laneportoi</i>	368	0	0,0	0	0,0
Atalanta, SC	<i>S. (Psilopelmia) sp.</i>	219	0	0,0	5	2,3
	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	180	0	0,0	4	2,2
	<i>S. (Psaraniocompsa) sp.</i>	29	1	3,4	5	17,2
	Total (% Geral)	428	1	(0,2)	14	(3,3)
Florianópolis, SC	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	231	0	0,0	0	0,0
Itapema, SC	<i>S. (Ch.) pertinax</i>	140	5	3,6	0	0,0
Monte Verde, MG	<i>S. (Psaraniocompsa) sp.</i>	229	0	0,0	7	(3,1)

lago, República do Lago, Leme, SP (5,7%). Nesta localidade, a maior porcentagem de parasitismo foi observada em *S. (Ch.) serranum* (66,7%), correspondendo a duas larvas parasitadas de um total de três encontradas. Encontrou-se parasitismo nesta localidade em larvas de *Simulium (Inaequalium) subnigrum* Lutz, 1910 (11,2%) e em *S. (Ectemnaspis) perflavum* Roubaud, 1906 (4,2%).

Um parasitismo geral alto (12,3%) por outros microsporídeos não identificados encontrou-se em São Francisco de Paula/RS, estando parasitadas duas das três espécies de simuliídeos registradas: *Simulium (Hemicnetha) rubrithorax* Lutz, 1909 (50,0%) e *S. (Chirostilbia) laneportoi* Vargas, 1941 (19,3%). Microsporídeos foram achados também em larvas de *S. (Ch.) pertinax* Kollar, 1832 em Itapema, SC (3,6%) e em Atalanta, SC (0,2%), estando parasitada só uma das três espécies, *S. (Psaraniocompsa) sp.* (3,4%). Na localidade de Barão, RS encontrou-se parasitismo alto para três espécies: *S. (Psaraniocompsa) auripellitum* Enderlein, 1933 (22,7%), *S. (Ch.) pertinax* (12,8%), *S. (H.) rubrithorax* (9,1%) e baixo em *S. (Psaraniocompsa) incrustatum* (0,2%). Em Barra do Una, SP, só uma das três espécies encontradas

estava parasitada: *S. (Ch.) pertinax* (2,3%). Em Paulínia, SP encontrou-se parasitismo (0,1%) na única espécie presente: *Simulium (Hemicnetha) brachycladum* Lutz & Pinto, 1931. Na Serra do Japi, SP o parasitismo em larvas de *S. (P.) auripellitum* foi de 0,7% e em *S. (Ch.) pertinax* de 4,5% no leito do riacho e para *Simulium (Inaequalium) subclavibranchium* Lutz, 1910 foi de 6,7% na rampa de cimento. Nas duas localidades pesquisadas no Paraná o parasitismo foi: em Tibagi nas larvas de *S. (Ch.) serranum* (0,6%) e em Rolândia nas larvas de *Simulium* sp. (50,0%). Nestas localidades não foi possível determinar a espécie de Microspora devido ao baixo número de exemplares parasitados por causa da imaturidade da maioria dos esporos.

As larvas de simúlídeos coletadas que se encontravam parasitadas por microsporídeos se caracterizaram por apresentar massas globulares brancas no abdômen. Essas estruturas, denominadas cistos ou xenomas, correspondem a lóbulos de tecido adiposo invadidos pelo parasita.

SWEENEY & BECNEL (1991) sustentam que é grande o potencial dos microsporídeos para o controle de dípteros aquáticos, especialmente a médio e longo prazo. A dificuldade reside na produção em larga escala a custos que permitam colocar um produto de forma competitiva no mercado mundial. Estudos similares realizados por vários autores mostram que *P. simulii* foi registrada na Região Neotropical parasitando várias espécies de simúlídeos (MARINO *et al.*, 1980; TAKAOKA, 1980; TORRES *et al.*, 1991). No Brasil, os primeiros registros de microsporídeos em simúlídeos foram feitos por LUTZ & SPLENDORE (1908). Mais recentemente têm sido registradas *P. simulii* e *Thelohania* sp. parasitando larvas de simúlídeos na região Sudeste do Brasil (CORDEIRO & CASTELLO BRANCO, 1988; CASTELLO BRANCO & ANDRADE, 1993). HAMADA *et al.* (1997) registraram *Amblyospora bracteata* (Strickland, 1913) na região central da Amazônia. CASTELLO BRANCO (1999) avaliou o efeito de *P. simulii* nas gônadas de *S. pertinax*, não observando diferenças entre o desenvolvimento oogênico e dimensões dos folículos ovarianos de fêmeas sadias quando comparadas com fêmeas provenientes de larvas infectadas; na mesma ocasião foram encontradas diferenças na fecundidade entre fêmeas sadias e infectadas e houve uma redução na motilidade dos espermatozoides dos machos provenientes de larvas infectadas com o microsporídeo.

Outros parasitas de larvas de simúlídeos encontrados nas localidades pesquisadas foram os nematódeos da família Mermithidae. Estes parasitas enrolam-se internamente na região posterior do abdome das larvas ou esticam-se ocupando toda a hemocele ao longo do hospedeiro. Na Serra do Japi, SP, encontrou-se parasitismo por *Isomermis* sp., de maio de 1996 a maio de 1998, a maior porcentagem de parasitismo foi registrada na rampa de cimento da saída do lago (6,7%). Observou-se alto nível de parasitismo em *S. (Ch.) pertinax* (45,8%) e níveis relativamente mais baixos em outras três das cinco espécies presentes: *S. (I.) subnigrum* (9,9%), *S. (P.) auripellitum* (5,3%) e *S. (Grenierella) nigrimanum* Macquart, 1838 (5,0%). No riacho desta mesma localidade observou-se um parasitismo geral relativamente elevado por *Isomermis* sp. (4,5%), estando parasitadas todas as espécies presentes: *S. (Ch.) pertinax* (11,4%), *S. (I.) subnigrum* (9,5%), *S. (P.) auripellitum* (2,1%), *S. (G.) nigrimanum* (1,5%), *S. (I.) subclavibranchium* (0,8%). Na coleta realizada no leito do riacho na Serra do Japi foi encontrado um mermitídeo de outro gênero parasitando *S. (I.) subnigrum*.

Parasitismo por mermitídeos foi constatado em outras localidades de São Paulo. Em Barra do Una observou-se baixo parasitismo em larvas de *S. (Ch.) pertinax* (0,3%); em Morungaba, leito do riacho, também se observou em *S. (Ch.) pertinax* (3,7%); e na rampa de cimento *S. (H.) brachycladum* (0,2%). Em Leme foi verificado em *S. (L.) subnigrum* (1,7%) e em *S. (E.) perflavum* (0,2%). Nos estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Minas Gerais foi registrado parasitismo por mermitídeos em simulídeos. Em São Francisco de Paula, RS, observou-se em *S. (Ch.) laneportoi* (6,5%); em Barão, RS, foi constatado parasitismo em três das quatro espécies: *S. (P.) auripellitum* (27,3%), *S. (Psaraniocompsa) incrustatum* Lutz, 1910 (2,4%) e *S. (Ch.) pertinax* (1,8%). Na localidade de Tibagi, PR, achou-se parasitismo somente em larvas de *S. (Ch.) pertinax* (1,9%). Em Atalanta, SC, encontraram-se parasitadas todas as espécies presentes: *S. (Psaraniocompsa) sp.* (17,2%), *S. (Psilopelmia) sp.* (2,3%) e *S. (Ch.) pertinax* (2,2%). Em Monte Verde, MG, registrou-se também parasitismo em larvas de *S. (Psaraniocompsa) sp.* (3,1%) a uma altitude de 1650 metros.

Para as localidades anteriormente mencionadas não foi possível determinar o gênero e a espécie de mermitídeo, pois não se obtiveram exemplares adultos, que são os que aportam a maior quantidade de caracteres diagnósticos; pode-se sugerir que os mermitídeos de Tibagi, PR, e o encontrado na Serra do Japi, SP, provavelmente correspondam ao gênero *Gastromermis* Micoletzky, 1925, devido à cor esverdeada que apresentam os pós-parasitas vivos e ao apêndice caudal reto e longo, segundo RUBTSOV (1981) característico deste gênero.

Ocorrência em baixa frequência por mermitídeos em simulídeos foi registrada por vários autores. Ao examinar 3144 larvas de cinco espécies de simulídeos na Península do Labrador, Canadá, EZENWA (1973) encontrou uma prevalência geral de 11,2%. TAKAOKA (1980), ao examinar 23 mil larvas de simulídeos da Guatemala, indicou uma prevalência geral de 2,4%. WALSH *et al.* (1981), sugerem a possibilidade de se suspender a aplicação de larvicidas químicos no rio Volta (área de oncocercoses na África ocidental) durante os meses de outubro e novembro, devido à alta incidência de mermitídeos nesse período.

Nas larvas de simulídeos parasitadas por nematódeos, geralmente observou-se um mermitídeo por larva. Os pós-parasitas obtidos ao emergirem das larvas hospedeiras foram fêmeas, com exceção das coletas realizadas na Serra do Japi, SP, em outubro de 1996, julho a setembro de 1997 e nas localidades de São Francisco de Paula e Barão, no Rio Grande do Sul, onde foram encontrados mais de um mermitídeo por larva de simulídeo, obtendo-se nematódeos *Isomermis* sp. fêmeas e machos. Isto concorda com observações feitas pelo primeiro autor em Cuba, onde larvas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera, Culicidae), infectadas com apenas um indivíduo de *Romanomermis culicivorax* Ross & Smith, 1976, apresentaram geralmente pós-parasitas fêmeas, enquanto que das larvas superparasitadas emergiram ambos os sexos e em maior quantidade pós-parasitas machos. PAINE & MULLENS (1994) observaram também esse fenômeno para o mermitídeo *Heleidomermis magnapapula*, parasitando as larvas de *Culicoides variipennis* (Coquillett, 1901), Ceratopogonidae.

Em Leme, SP, registrou-se uma rara infecção simultânea em uma larva de *Simulium* sp. pelo protozoário *P. simulii* e por um mermitídeo. MAURAND & LOUBÉS (1978) e TORRES *et al.* (1991) assinalaram que geralmente só um patógeno ocorre na cavidade celômica das larvas, já que microsporídeos, mermitídeos e fungos do gênero

*Coelomycidium* Debaisieux, 1926 competem pelo mesmo substrato nutricional, o tecido adiposo. MAURAND & LOUBÉS (1978) registraram infecção por microsporídeos e pelo fungo *C. simulii* em uma larva de *Tetisimulium bezzi* Corti, 1914.

Após a análise de 411 larvas de *S. (Ch.) pertinax* em Ithabela, SP, não se encontrou parasitismo por microsporídeos nem mermitídeos, embora tenha sido registrada pela primeira vez nesta localidade a ocorrência de uma micose (0,5%), causada por *Coelomycidium* sp. As larvas de *S. (Ch.) pertinax* infectadas pelo fungo apresentaram pequenas esferas brancas ao longo do corpo, sendo visíveis através da cutícula. Essas estruturas correspondem aos esporângios do patógeno que ocupam toda a cavidade do corpo. Esta localidade foi submetida durante vários anos ao controle químico e na atualidade se emprega o controle biológico com *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* Goldberg & Margalit, 1977, sorotipo H-14.

Segundo NOLAN (1981), *C. simulii* está entre os microorganismos que apresentam maiores perspectivas para utilização no controle biológico de simulídeos. Este fungo tem sido cultivado *in vitro* em vários meios de cultura de tecidos, no entanto sem a produção de zoósporos. Fungos do gênero *Coelomycidium* têm sido registrados em algumas regiões da Pennsylvania (USA) ou na Nigéria, infectando diferentes espécies de simulídeos (ADLER & KIM, 1986; WEISER & PRASERTPHON, 1982). Quanto à prevalência, JAMNBACK (1973) assinalou que em Nova York a incidência de *C. simulii* não ultrapassa 1%, enquanto que WEISER & UNDEEN (1981) registraram um máximo de 40% durante o inverno na Europa central.

Nenhuma parasitose foi encontrada nas localidades pesquisadas de ambiente urbano, seja no município de Campinas, SP, onde a maioria das larvas de simulídeos pertenceram a *S. (H.) brachycladum*, ou em Florianópolis, SC, nas 231 larvas de *S. (Ch.) pertinax* coletadas sobre pedras e lixo submerso no leito do riacho. A ausência de parasitismo foi também registrada em área natural na Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, após a análise de 368 larvas de *S. (Ch.) laneportoi*.

**Agradecimentos.** À Fundação M. Brown e CAPES pelas bolsas de mestrado e ao Dr. Sixto Coscarón (Museo de Historia Natural, Universidad de La Plata) pela confirmação das espécies de simulídeos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADLER, P. H. & KIM, K. C. 1986. The blackflies of Pennsylvania State University. **Coll. Agric. Bull.**, Los Angeles, **856**:1-88.
- CAMINO, N. B. 1991. Presencia de tres especies de mermitidos (Nematoda) parasitando a larvas de *Simulium lahillei* Peterson & Shannon, y descripción de *Mesomermis nortensis* sp. n. en la provincia de Tucuman. **Neotrópica**, La Plata, **37**:3-7.
- CASTELLO BRANCO, A., JR. 1999. Effects of *Polydispyrenia simulii* (Microspora; Duboscquidae) on development of the gonads of *Simulium pertinax* (Diptera; Simuliidae). **Mems Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, **94**:421-424.
- CASTELLO BRANCO, A., JR. & ANDRADE, C. F. S. 1993. Studies on *Polydispyrenia simulii* (Microspora; Pleistophoridae) in *Simulium pertinax* (Diptera; Simuliidae) in Brazil. **Mems Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, **88**:167.
- CORDEIRO, N. S. & CASTELLO BRANCO, A., JR. 1988. Developmental cycle and histopathological studies of *Thelohania* sp. (Microsporida: Thelohanidae) in blackfly larvae (Diptera: Simuliidae). **Mems Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, **83**:232.
- COSCARÓN, S. 1987. **El género Simulium Latreille en la región Neotropical: análisis de**



- los grupos supraespecíficos, especies que los integran y distribución geográfica (Simuliidae, Diptera).** Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi. 112p.
- CROSSKEY, R. W. 1990. **The natural history of blackfly.** London, J. Wiley. 711p.
- DIDIER, E. S.; ORENSTEIN, J. M. *et al.* 1995. Comparison of three staining methods for detecting microsporidia in fluids. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, **33**:3138-3145.
- EZENWA, A. 1973. Mermithid and microsporidian parasitism of blackflies (Diptera: Simuliidae) in the vicinity of Churchill Falls, Labrador. **Can. J. Zool.**, Ottawa, **50**:1109-1111.
- GARCIA, J. J.; HAZARD, E. I. & FUKUDA, T. 1989. Preliminary report of Microsporidia in Simuliidae larvae from Argentina. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, New Jersey, **5**:64-69.
- GAUGLER, R. & MOLLOY, D. P. 1981. Field evaluation of the entomogenous nematode, *Neoaplectana carpocapsae*, as a biological control agent of blackfly (Diptera; Simuliidae). **Mosquito News**, New Jersey, **41**:459-464.
- HAMADA, N.; COSTA, W. L. S. & DARWICH, S. M. 1997. Notes on artificial substrates for black fly (Diptera: Simuliidae) larvae and microsporidian infection in central Amazonia, Brazil. **Anais Soc. ent. Bras.**, Londrina, **26**:589-593.
- IGNATIUS, R.; LEHMANN, M. *et al.* 1997. A new acid-fast - trichrome stain for simultaneous detection of *Cryptosporidium parvum* and microsporidian species in stool specimens. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, **35**:446-449.
- JAMNBACK, H. 1973. Recent developments in control of blackflies. **A. Rev. Ent.**, Palo Alto, **18**:281-304.
- JOHNSON, A. A. & KLEVE, M. G. 2000. *Strelkovimermis amphidis* n. sp. from chironomid adults emerging from Lake Itaska and Long Lake, Minnesota. **J. Parasitol.**, Winston-Salem, **86**:99-102.
- KAISER, H. & DEIXELBERGER, P. 2001. *Utriculimermis microcaudata* n. gen., n. sp. a new genus and species of Mermithidae (Nematoda) of the rivers Lafritz and Teigitsch in the southeastern Austrian Alps. **Nematology**, Wageningen, **3**:229-236.
- LUTZ, A. & SPLENDRE, A. 1908. Ueber Pebrine und verwandte mikrosporidien. **Z. Parasitenkd.**, Berlin, **46**:311-315.
- MADDOX, J. V. 1987. Protozoan diseases. In: FUXA, J. R. & TANADA, Y. eds. **Epizootiology of insect diseases.** London, J. Wiley. p. 417-452.
- MAIA-HERZOG, M.; SHELLEY, A. J. *et al.* 1984. Comparação entre *Simulium brachycladum* e *S. rubrithorax*, suas posições no subgênero *Hemicnetha* e notas sobre uma espécie próxima, *S. scutistriatum* (Diptera: Simuliidae). **Mems Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, **79**:341-356.
- MARINO, G.; COSCARÓN, S. *et al.* 1980. Estudios sobre microsporídeos de la region neotropical. I. Sobre la presencia de *Pleistosphora simulii* (Lutz & Splendore) en la región austral de América (Microspora). **Neotrópica**, La Plata, **25**:127-132.
- MAURAND, J. & LOUBÉS, C. 1978. Les microsporidies des larves de simulies: donnés ultrastructurales. **Z. Parasitenkd.**, Berlin, **56**:131-146.
- MOLLOY, D. P. 1987. The ecology of black fly parasites. In: KIM, K. C. & MERRITT, R. W. eds. **Blackflies, ecology, population management and annotated world list.** London, Pennsylvania State University Park. p. 315-323.
- MOURA, H.; NUNES DA SILVA, J. L. *et al.* 1996. Gram-Cromotrope a new technique that enhances detection of microsporidian spores in clinical samples. **J. Eukaryot. Microbiol.**, Turku, **43**:94-95.
- MULLENS, B. A. & LUBRING, K. A. 1998. Age-dependent parasitism of *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) by *Heleidomermis magnapapula* (Nematoda: Mermithidae) and considerations for assessing parasite impact. **Biological Control**, San Diego, **11**:49-57.
- MULVEY, R. H. & NICKLE, W. R. 1978. Taxonomy of mermithids (Nematoda: Mermithidae) of Canada and in particular of the Mackenzie and Porcupine river systems, and Somerset Island, N. W. T., with descriptions of eight new species and emphasis on the use of male characters in identification. **Can. J. Zool.**, Ottawa, **56**:1291-1329.
- NOLAN, R. 1981. Mass production of pathogens. In: LAIRD, M. ed. **Blackflies: the future for biological methods in integrated control.** London, Academic. p.319-324.
- PAINE, E. O. & MULLENS, B. A. 1994. Distribution, seasonal occurrence, and patterns of parasitism of

- Heleiodermis magnapapula* (Nematoda: Mermithidae), a parasite of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) in California. **Environ. Entomol.**, Lanham, **23**:154-169.
- POINAR, G. O., JR. 1975. **Entomogenous nematodes; a manual and host list of insect-nematode associations.** Leiden, E. J. Brill. 317p.
- RUAS NETO, A. L. 1984. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como alternativa no controle de simuliídeos no Rio Grande do Sul. 1. Susceptibilidade a campo. **B. Saúde**, Porto Alegre, **11**:21-16.
- RUAS NETO, A. L.; SOUZA, M. A. T. *et al.* 1985. Controle integrado do *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax* Kollar, 1832. 1. Utilização de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* em três municípios do Rio Grande do Sul. **B. Saúde**, Porto Alegre, **12**:17-20.
- RUBTSOV, I. A. 1981. Mermithidae: taxonomic criterie for their juvenile stages and blackflies biocontrol prospects. *In*: LAIRD, M. ed. **Blackflies: the future for biological methods in integrated control.** London, Academic. p.171-180
- SHELLEY, A. J.; LUNA DIAS, A. P. A. & MAIA-HERZOG, M. 1984. New specific synonymy in neotropical *Simulium* (Diptera:Simuliidae). **Mems Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, **79**:143-161.
- SWEENEY, A. W. & BECNEL, J. J. 1991. Potential of Microsporidia for the biological control of mosquitoes. **Parasitol. Today**, London, **7**:217-220.
- TAKAOKA, H. 1980. Pathogens of blackfly larvae in Guatemala and their influence on natural populations of three species of onchocerciasis vectors. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, New York, **29**:467-472.
- TORRES, F. O.; MUÑOZ DE HOYOS, P. & ROMERO DE PÉREZ, G. 1991. Parasitismo em larvas de simuliídeos (Diptera: Simuliidae) del rio Teusaca: microsporídios, mermitídeos y hongos. **Revta Acad. Colomb. Cienc.**, Santafe de Bogotá, **18**:254-264.
- UNDEEN, A. H. 1981. Microsporidia infections in adult *Simulium vittatum*. **J. Invertebr. Pathol.**, Riverside, **38**:426-427.
- VULCANO, M. A. 1959. Descrição do alótipo de *Simulium pruinosum* Lutz, 1910 e caracteres adicionais da fêmea. **Mems Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, **57**:33-44.
- WALSH, J. F.; DAVIES, J. B. & CLIFF, B. 1981. World Health Organization onchocerciasis control program in the Volta river basin. *In*: LAIRD, M. ed. **Blackflies: the future for biological methods in integrated control.** London, Academic. p. 85-103.
- WEISER, J. 1977. **An atlas of insect diseases.** The Hague, Czechoslovak Academic of Sciences. 240p.
- \_\_\_\_\_. 1982. Guide to field determination of major groups of pathogens affecting arthropod vectors of human diseases. **WHO Tech. Rep. Ser.**, New York, **860**:1-43.
- \_\_\_\_\_. 1991. **Keys for identification of primary visible infections; biological control of vectors; manual for collecting field determination and handling of biofactors for control of vectors.** New York, World Health Organization. 189p.
- WEISER, J. & PRASERTPHON, S. 1982. Microsporidia infecting *Simulium damnosum* in Nigeria. **Z. Angew. Entomol.**, Berlin, **93**:93-100.
- WEISER, J. & UNDEEN, A. H. 1981. Diseases of blackflies. *In*: LAIRD, M. ed. **Blackflies: the future for biological methods in integrated control.** London, Academic. p.181-196.