

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**TESE**

**Avaliação da eficácia de nematoides entomopatogênicos submetidos a diferentes pressões de pulverização sobre larvas de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) em subprodutos da indústria sucroalcooleira**

**AMÉRICO DE CASTRO MONTEIRO SOBRINHO**

**2024**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Avaliação da eficácia de nematoides entomopatogênicos submetidos a diferentes pressões de pulverização sobre larvas de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) em subprodutos da indústria sucroalcooleira**

**AMÉRICO DE CASTRO MONTEIRO SOBRINHO**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Avelino José Bittencourt**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2024

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com  
os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M512aa Monteiro Sobrinho, Américo de Castro, 15/06/1990  
Avaliação da eficácia de nematoides  
entomopatogênicos submetidos a diferentes pressões  
de pulverização sobre larvas de *Stomoxys calcitrans*  
(Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) em subprodutos  
da indústria sucroalcooleira / Américo de Castro  
Monteiro Sobrinho. - SEROPÉDICA, 2024.  
68 f.: il.

Orientador: Avelino José bittencourt.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
VETERINÁRIAS, 2024.

1. Controle Biológico. 2. Mosca-dos-estábulos. 3.  
Heterorhabditis. 4. Cana-de-açúcar. I. bittencourt,  
Avelino José, 1961-, orient. II Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS VETERINÁRIAS III. Título.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

ATA Nº 304/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.008585/2024-14

Seropédica-RJ, 22 de fevereiro de 2024.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**AMÉRICO DE CASTRO MONTEIRO SOBRINHO**

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor(a) em Ciências, no Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias.

**TESE APROVADA EM 20/02/2024**

*(Assinado digitalmente em 22/02/2024 09:19)*

**AVELINO JOSE BITENCOURT**  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)  
Matrícula: ###818#1

*(Assinado digitalmente em 22/02/2024 09:29)*

**MELISSA CARVALHO MACHADO DO COUTO  
CHAMBARELLI**  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)  
Matrícula: ###218#0

*(Assinado digitalmente em 22/02/2024 11:39)*

**ANTONIO THADEU MEDEIROS DE BARROS**  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.577-##

*(Assinado digitalmente em 22/02/2024 11:19)*

*(Assinado digitalmente em 22/02/2024 09:53)*

**CAIO MÁRCIO DE OLIVEIRA MONTEIRO**  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.206-##

**MARGARETH MARIA DE CARVALHO QUEIROZ**

ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.732-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **304**, ano: **2024**, tipo: **ATA**, data de emissão: **22/02/2024** e o código de verificação: **ebd128aa79**

A Deus, pela vida, saúde e por me permitir chegar tão longe. À minha família e a todos os entes queridos que se foram durante a pandemia de Covid-19.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Avelino José Bittencourt, pelos conselhos, ensinamentos e parceria, por sempre me instigar no caminho do conhecimento e estar disposto a ajudar e extrair o melhor de seus alunos e orientados. O senhor é um expoente pessoal e profissional.

À professora Dra. Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt e sua equipe de pesquisa, pelo apoio antes e durante os trabalhos que originaram esta tese.

À professora Dra. Melissa Carvalho Machado do Couto Chambarelli, pelos ensinamentos e por fornecer os nematoides utilizados nesta pesquisa.

À minha companheira de laboratório, Ana Carolina Ferreira, sem a sua ajuda o caminho seria mais árduo.

Aos meus pais, Valdery Régis Sarmiento e Maria Helena Monteiro Sarmiento, por sempre acreditarem no poder transformador da educação; ao meu irmão João Luiz, pela ajuda e conselhos durante a realização deste trabalho; à minha tia Maria Lindalva, por todo o apoio e incentivo durante esses anos que estou no Rio de Janeiro.

À minha companheira de vida, Gabriela Almeida, pelo carinho, amor, ternura e paz que me trouxe nos dias estressantes dos últimos anos.

Aos meus animais de estimação Nick, Kirk, Cocada, Pizza, Luffy, Baleia, Matilda, Tofik e Dilma, por me ensinarem diariamente a ser um humano e médico veterinário melhor.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), por fomentarem a realização deste projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - código de financiamento 001.

## RESUMO

MONTEIRO-SOBRINHO, Américo de Castro. **Avaliação da eficácia de nematoides entomopatogênicos submetidos a diferentes pressões de pulverização sobre larvas de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) em subprodutos da indústria sucroalcooleira.** 2024. 55p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

*Stomoxys calcitrans* é um díptero hematófago capaz de parasitar diversas espécies animais. Devido à resistência das pragas aos pesticidas químicos, somada à demanda mundial por alimentos livres destas substâncias, diferentes organismos vêm sendo pesquisados com o objetivo de verificar suas possíveis aplicações no controle de parasitas de importância econômica. Neste contexto, diversos agentes surgem como alternativas para o uso no controle de pragas, entre esses estão os nematoides entomopatogênicos (NEPs). O presente estudo objetivou determinar sob quais pressões de pulverização os NEPs mantêm sua capacidade de infectar e matar larvas de *S. calcitrans* em subprodutos da indústria sucroalcooleira. Grupos de dez larvas foram depositados em recipientes contendo duas folhas de papel de filtro e diferentes subprodutos. Utilizou-se os juvenis infectantes (JIs) de *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7 e *H. indica* LPP30, submetidos às pressões de 60, 70 e 80 psi. O volume total foi de quatro mL de água destilada por tratamento e quatro mL de vinhoto 50%, a concentração utilizada foi de 200 JIs/larva. O grupo controle teve a mesma concentração de JIs, porém sem ter passado pelo sistema de pressão. Houve um grupo controle sem NEPs. Os experimentos foram mantidos em  $27\pm 1$  °C e  $70\pm 10\%$  UR, com seis repetições. Foi feito um experimento em condições ambientais, pulverizando (60 psi) os NEPs em recipientes plásticos contendo palha de cana e 20 larvas da mosca, cada, com três repetições. Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de Bartlett. Aplicou-se a análise de variância, seguido dos testes de Tukey e Dunnett ( $p<0,05$ ). No experimento 1, não houve efeito significativo entre NEPs e pressões, havendo efeito isolado apenas para os NEPs, com mortalidade média foi de 84,6%. Em torta de filtro, *H. bacteriophora* e *H. indica* não foram afetadas pelas pressões. Em bagaço, as pressões avaliadas não apresentaram variações entre si. Em palha, *H. bacteriophora* até 70 psi causou mortalidade em níveis superiores a 88%. No experimento 5 (em vinhoto), foi observado que as pressões não causaram variações na mortalidade larvar, com média de 87,1%. Em torta de filtro independentemente da pressão utilizada, *H. bacteriophora* (82,5%) causou a maior mortalidade das larvas da mosca. Em bagaço, os NEPs e as pressões não influenciaram a mortalidade das larvas. Em palha, para *H. bacteriophora*, a utilização de 80 psi provocou redução da infectividade deste NEP, todavia, até 70 psi, esta espécie causou a mortalidade das larvas da mosca em níveis superiores a 86%. Em condições ambientais, não houve diferença entre *H. bacteriophora* (33,3%) e o grupo controle (38,3%). Já *H. indica* e *H. baujardi* LPP7, causaram taxas de mortalidade de 81,7-73,3%, respectivamente. Conclui-se que os NEPs *H. bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 são capazes de infectar e matar as larvas da mosca-dos-estábulo nos variados subprodutos de cana-de-açúcar, quando submetidos a pressões de pulverização distintas, em laboratório. Em condições ambientais, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 são eficazes contra larvas da mosca-dos-estábulo, enquanto *H. bacteriophora* HP88 não apresenta semelhante eficácia.

Palavras-chave: Controle Biológico, Mosca-dos-estábulo, *Heterorhabditis*.

## ABSTRACT

MONTEIRO-SOBRINHO, Américo de Castro. **Evaluation of the efficacy of entomopathogenic nematodes submitted to different sprinkling pressures on *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) larvae (Diptera: Muscidae) in sugarcane by-products.** 2024. 55p. Thesis (Doctorate in Veterinary Science). Institute of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

*Stomoxys calcitrans* is a hematophagous dipteran capable of parasitizing several animal species. Due to the resistance of pests to chemical pesticides, added to the global demand for foods free of these substances, different organisms have been researched with the aim of verifying their possible applications in the control of parasites of economic importance. In this context, several agents emerge as alternatives for use in pest control, including entomopathogenic nematodes (EPNs). The present study aimed to determine under what sprinkling pressures EPNs maintain their ability to infect and kill *S. calcitrans* larvae in by-products of the sugar and alcohol industry. Groups of ten larvae were deposited in containers containing two sheets of filter paper and different by-products. The infective juveniles (IJs) of *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7 and *H. indica* LPP30 were used, subjected to pressures of 60, 70 and 80 psi. The total volume was four mL of distilled water per treatment and four mL of 50% vinasse, the concentration used was 200 IJs/larva. The control group had the same concentration of IJs, but without having passed through the pressure system. There was a control group without EPNs. The experiments were maintained at  $27\pm 1$  °C and  $70\pm 10\%$  RH, with six replications. An experiment was carried out under environmental conditions, spraying (60 psi) the EPNs in plastic containers containing sugarcane straw and 20 fly larvae, each, with three replications. The data were subjected to the Shapiro-Wilk normality and Bartlett homoscedasticity tests. Analysis of variance was applied, followed by the Tukey and Dunnett tests ( $p < 0.05$ ). In experiment 1, there was no significant effect between EPNs and pressures, with an isolated effect only for EPNs, with an average mortality of 84.6%. In filter cake, *H. bacteriophora* and *H. indica* were not affected by pressure. In bagasse, the pressures evaluated did not vary between each other. In straw, *H. bacteriophora* up to 70 psi caused mortality at levels greater than 88%. In experiment 5 (in vinasse), it was observed that pressure did not cause variations in larval mortality. In filter cake, regardless of the pressure used, *H. bacteriophora* (82.5%) caused the highest mortality of fly larvae. In bagasse, EPNs and pressures did not show variations on larval mortality. In straw, for *H. bacteriophora*, the use of 80 psi caused a reduction in the infectivity of this EPN, however, up to 70 psi, this species caused mortality of fly larvae at levels greater than 86%. Under environmental conditions, there was no difference between *H. bacteriophora* (33.3%) and the control group (38.3%). *H. indica* and *H. baujardi* LPP7 caused mortality rates of 81.7 and 73.3%, respectively. It is concluded that the EPNs *H. bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 and *H. baujardi* LPP7 are capable of infecting and killing stable fly larvae in various sugarcane by-products, when subjected to different sprinkling pressures, in the laboratory. Under environmental conditions, *H. indica* LPP30 and *H. baujardi* LPP7 are effective against stable fly larvae, while *H. bacteriophora* HP88 does not show similar efficacy.

Keywords: Biological Control, Stable fly, *Heterorhabditis*.



## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Análise de variância (ANOVA) para a mortalidade de larvas de *Stomoxys calcitrans* infectadas por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização em água.....26

**Tabela 2.** Análise de variância (ANOVA) para a mortalidade de larvas de *Stomoxys calcitrans* infectadas por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização em vinhoto a 50%.....31

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fases do ciclo biológico de <i>Stomoxys calcitrans</i> : ovos, larvas, pupa e adulto.....	4
<b>Figura 2.</b> Ciclo biológico dos nematoides entomopatogênicos.....	13
<b>Figura 3.</b> Colônia de <i>Stomoxys calcitrans</i> . Gaiola com adultos, absorventes com sangue para alimentação e tecido de algodão umedecido para postura.....	16
<b>Figura 4.</b> Ovos de <i>Stomoxys calcitrans</i> em tecido preto e absorventes.....	18
<b>Figura 5.</b> Colônia de nematoides entomopatogênicos.....	18
<b>Figura 6.</b> Bomba hidráulica com manômetro e controlador de pressão.....	19
<b>Figura 7.</b> Passagem dos nematoides entomopatogênicos pelo sistema de pressão.....	20
<b>Figura 8.</b> Nematoides entomopatogênicos concentrando em tubos Falcon.....	20
<b>Figura 9.</b> Ensaio biológico para avaliação da mortalidade de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> por nematoides entomopatogênicos.....	21
<b>Figura 10.</b> Becker contendo vinhaça sendo aquecida em banho-maria.....	22
<b>Figura 11.</b> Armadilha de emergência com coletor plástico.....	23
<b>Figura 12.</b> Bandejas plásticas contendo solo e palha de cana.....	24
<b>Figura 13.</b> Armadilhas de emergência sobre bandejas plásticas contendo solo, palha de cana e larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> expostas a nematoides entomopatogênicos pulverizados em vinhoto.....	24
<b>Figura 14.</b> Armadilha de White (1927) com larvas mortas da mosca-dos-estábulo após a infecção por nematoides entomopatogênicos. ....	26
<b>Figura 15.</b> Nematoides entomopatogênicos adultos no interior da larva da mosca-dos-estábulo.....	27
<b>Figura 16.</b> Mortalidade larvar de <i>Stomoxys calcitrans</i> por <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88, <i>H. indica</i> LPP30 e <i>H. baujardi</i> LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água.....	28
<b>Figura 17.</b> Mortalidade larvar de <i>Stomoxys calcitrans</i> em torta de filtro por <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88, <i>H. indica</i> LPP30 e <i>H. baujardi</i> LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água.....	29
<b>Figura 18.</b> Mortalidade larvar de <i>Stomoxys calcitrans</i> em bagaço de cana-de-açúcar por <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88, <i>H. indica</i> LPP30 e <i>H. baujardi</i> LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água.....	30
<b>Figura 19.</b> Mortalidade larvar de <i>Stomoxys calcitrans</i> em palha de cana-de-açúcar por <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88, <i>H. indica</i> LPP30 e <i>H. baujardi</i> LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água.....	31

- Figura 20.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%.....32
- Figura 21.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em torta de filtro por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%.....33
- Figura 22.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em bagaço de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%.....33
- Figura 23.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em palha de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%.....34
- Figura 24.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em palha de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos à pressão de pulverização de 60 psi, em vinhoto a 50% em condições ambientais.....35

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Classificação e Biologia de <i>Stomoxys calcitrans</i> .....	4
2.2. Prejuízos Econômicos Devido a <i>Stomoxys calcitrans</i> .....	6
2.3. Surtos de <i>Stomoxys calcitrans</i> e Sua Relação com a Indústria Sucroalcooleira.....	8
2.4. Ataques de <i>Stomoxys calcitrans</i> a Humanos.....	9
2.5. Criação de <i>Stomoxys calcitrans</i> em Laboratório.....	9
2.6. Medidas de Controle de <i>Stomoxys calcitrans</i> .....	10
2.7. Nematoides Entomopatogênicos .....	12
2.8. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Localização dos Experimentos.....	16
3.2. Manutenção da Colônia de <i>Stomoxys calcitrans</i> Para Obtenção de Larvas.....	16
3.3. Manutenção da Colônia de Nematoides Entomopatogênicos.....	18
3.4. Quantificação das Suspensões com Nematoides Entomopatogênicos.....	19
3.5. Sistema de Pressurização e Coleta dos Nematoides Entomopatogênicos.....	19
3.6. Experimentos com Nematoides Entomopatogênicos em Água.....	21
3.6.1. Experimento 1: em água, sem subprodutos de cana-de-açúcar.....	21
3.6.2. Experimentos 2 a 4: em água, com subprodutos de cana-de-açúcar.....	21
3.7. Experimentos com Nematoides Entomopatogênicos em Vinhoto.....	22
3.7.1. Experimento 5: em vinhoto sem outros subprodutos de cana-de-açúcar.....	22
3.7.2. Experimentos 6 a 8: em vinhoto, com suprodutos de cana-de-açúcar.....	22
3.7.3. Experimento 9: pulverização de nematoides entomopatogênicos (diluídos em vinhoto) sobre larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> em bandejas plásticas mantidas no meio ambiente.....	23
3.8. Armadilhas de White.....	25
3.9. Desenho experimental e Análise estatística.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Experimentos em Água.....	26

<b>4.2 Experimentos utilizando vinhoto a 50 %.....</b>	<b>30</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>39</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>39</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>40</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

*Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) é um díptero hematófago conhecido como “mosca-dos-estábulo”, capaz de parasitar diversas espécies animais, tais como: bovinos, equídeos, ovinos, caprinos, suínos, cães, gatos (BISHOPP, 1913), podendo também se alimentar em animais silvestres (FOSBROOKE, 1963), aves (GONÇALVES; VEIGA, 1998) e até mesmo seres humanos (KING; LENERT, 1936; HANSENS, 1951; BARROS et al., 2010; BITTENCOURT, 2012). Sua presença foi detectada no Brasil no século XVI, quando os indígenas a chamavam de “muruanja” (BARROS et al., 2023). De acordo com relatos da época, essas moscas costumavam “comer” as orelhas de cães (SOUZA, 1851; PAPAVERO; COURI, 2012).

No Brasil, os nomes atribuídos a esse inseto variam dependendo da região e de sua associação com as diferentes cadeias produtivas. Ela pode ser chamada de mosca-da-cana, mosca-da-palha-do-café, mosca-da-vinhaça, mosca-do-bagaço, mosca-do-inhame e mosca-do-gado, entre outros termos (BARROS et al., 2023). Além disso, recebe nomes de origem indígena, como bernanha, beruanha, beronha, bironha, biruanha, buruanha, meruanha, murianha, murinhanha e muruanha (MICHAELIS, 2022; BARROS et al., 2023). É provável que essas palavras sejam oriundas da palavra “mberu ãã”, que em tupi significa “mosca com dente” (CARVALHO, 1987).

A mosca-dos-estábulo possui distribuição cosmopolita (BISHOPP, 1913), com aumento populacional nos períodos mais quentes do ano (BITTENCOURT, 1998). A sazonalidade de *S. calcitrans* apresenta dois picos anuais em países tropicais e subtropicais, sendo esses relacionados aos períodos mais quentes e úmidos, ainda que a mosca ocorra durante o ano todo (MULLENS; MEYER, 1987). Dominghetti (2017), no planalto central, relatou maior abundância do inseto entre os meses de abril/maio e dezembro, com temperaturas variando entre 18,6 e 26,8°C, que é o período em que ocorre a safra da cana-de-açúcar.

De acordo com Guimarães (1983), as larvas utilizam matéria orgânica como fonte de alimentação e desenvolvimento, sendo suas fases imaturas capazes de utilizar diferentes substratos, destacando-se fezes de diversos animais (GUIMARÃES, 1983; BRUNO et al., 1993) somados a restos de alimentação animal como silagem e capim (SKODA et al., 1991). Algas (SIMMONS, 1944), restos culturais de abacaxi e mamão (HERRERO et al., 1989), casca e palha de café (BITTENCOURT, 1998) também podem servir como fontes de matéria orgânica para o desenvolvimento das formas imaturas deste díptero. As larvas se aprofundam no substrato em busca de proteção contra os fatores abióticos e bióticos, por isso esta fase é crítica em termos de sobrevivência. Já o estágio pupal é o estágio imaturo de maior segurança para o inseto (MELLO, 1989).

O parasitismo desta mosca é considerado um empecilho à pecuária mundial, pois este inseto possui a picada dolorosa, o que leva ao estresse dos animais, fazendo com que se alimentem de forma inadequada, balançando constantemente cabeça e pescoço, com movimentação cutânea constante mesmo quando o parasitismo é moderado (STEELMAN, 1987; BITTENCOURT, 1998; CAMPBELL et al., 1987). Segundo Wieman et al. (1992), estas reações podem causar perdas correspondentes a 71,5% no ganho de peso em bovinos.

Por serem hematófagos, machos e fêmeas podem ocasionar severa espoliação sanguínea (STORK, 1979), além de serem vetores de diversos patógenos, tais como protozoários, fungos, bactérias, rickettsias e vírus (CASTRO et al., 2008; CASTRO et al., 2011; GREENBERG, 1971;

PRULLAGE et al., 1993; WEIBLEN, 1998; SCHOFIELD; TORR, 2002; BALDACCHINO et al., 2013; HASPELAGH et al., 2018), atuando ainda como vetor forético dos ovos de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr, 1781) (MOYA BORJA, 1982). Lesões cutâneas macroscópicas (BITTENCOURT, 1998) e microscópicas (CHAGAS et al., 2011) podem ser verificadas na pele dos animais parasitados, principalmente nos animais magros, devido a menor camada de gordura subcutânea desses (PHILPOOT; EZEH, 1978). Todos estes fatores levam a perdas econômicas consideráveis, com estimativas de 2,221 bilhões de dólares (TAYLOR, 2012) nos Estados Unidos, e 335,5 milhões de dólares ao ano no Brasil (GRISI et al., 2014). Cabe destacar que estes valores são subestimados, pois não levam em consideração os recentes surtos deste inseto principalmente nas regiões Centro-Oeste e Sudeste brasileiras (DOMINGHETTI et al., 2015; DOMINGHETTI, 2017; GOMES et al., 2018; SOUZA et al., 2021).

Os surtos recentes de *S. calcitrans* no Brasil estão intimamente relacionados com a expansão da agroindústria da cana-de-açúcar, pois a fertirrigação dos canaviais com vinhoto (também chamado de vinhaça, restilo e garapão), e outros subprodutos da cana mantêm a umidade e favorece a fermentação da matéria orgânica depositada sobre o solo. Esta atividade também atrai e estimula a postura da mosca-dos-estábulo (CORRÊA et al., 2013), porque o grande volume de matéria orgânica torna o ambiente ideal para a postura das fêmeas e desenvolvimento dos estágios imaturos desse inseto. Destes subprodutos, as moscas adultas emergem e voam até as propriedades vizinhas, atacando animais e humanos (BITTENCOURT, 2012; CORRÊA et al., 2013, GUIMARÃES, 1983).

O uso frequente e inadequado dos inseticidas químicos no controle parasitário tem reduzido a eficácia destas substâncias, principalmente os da classe piretroide; e essa realidade tem sido evidenciada no aparecimento de indivíduos resistentes nas diferentes populações de moscas, especialmente na mosca-doméstica (*Musca domestica*), mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) e na mosca dos estábulo (SODERLUND; KNIPPLE, 2003; BARROS et al., 2019). Assim, demandando novos métodos para o controle destas pragas (DAVIDSON; SWEENEY, 1983).

Devido à resistência das pragas aos pesticidas químicos, somada à demanda mundial por alimentos livres destas substâncias, diferentes organismos vêm sendo pesquisados nos últimos anos com o objetivo de verificar suas possíveis aplicações no controle de parasitos de importância econômica, seja no controle biológico ou no controle integrado (químico e biológico) (DAVIDSON; SWEENEY, 1983; MORAES et al., 2008; MONTEIRO et al., 2014a; MONTEIRO-SOBRINHO et al., 2023). Neste contexto, o controle biológico se apresenta como uma alternativa promissora, porque minimiza o acúmulo de resíduos químicos nos produtos agropecuários, além de diminuir a resistência das pragas aos compostos químicos (ALVES, 1998). Diversos agentes surgem como alternativas para o uso no controle biológico de pragas, entre esses estão fungos, bactérias, vírus e nematoides entomopatogênicos (NEPs). Os NEPs possuem alta virulência e especificidade relativa para artrópodes; são móveis, podem ser cultivados *in vitro* e detêm grande potencial reprodutivo. Os NEPs possuem a capacidade de infectar e matar inúmeras espécies de artrópodes, como por exemplo dípteros e ixodídeos (NEVES, 1999; GREWAL et al., 2001; HAZIR et al., 2003; DOLINSKI, 2006; MONTEIRO et al., 2014a; ARCHANA et al., 2017; ARRIAGA; CORTEZ-MADRIGAL, 2018, MONTEIRO SOBRINHO et al., 2023).

A patogenicidade dos NEPs advém do fato desses organismos carregarem consigo bactérias simbiotas, dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus* que vivem no interior do

intestino dos nematoides *Steinernema* e *Heterorhabditis*, respectivamente. Estas bactérias causam septicemia e morte dos hospedeiros (GEORGIS; MANWEILER, 1994; BURNELL; STOCK, 2000).

Os NEPs possuem diferentes tipos de estratégias para localizar seus hospedeiros, além de serem compatíveis com a maioria dos pesticidas químicos, entretanto, algumas bases podem levar a perda de infectividade destes organismos, por isso, quando usados em sistemas integrados de controle de pragas, é preciso ter conhecimento sobre a compatibilidade do NEP com o pesticida em questão, sempre buscando o NEP mais virulento para o artrópode a ser controlado (ALVES, 1998; GREWAL et al., 2001; KOPPENHÖFER; GREWAL, 2005). As bactérias simbiotas fazem a produção de toxinas, liberando também substâncias que são capazes de inibir o crescimento de microrganismos indesejados no hospedeiro parasitado (KAYA; GAUGLER, 1993).

Estes nematoides necessitam de uma fina camada líquida para sua locomoção no solo, logo, são ineficientes em ambientes com solos secos. Já em locais muito úmidos, a sua movimentação fica comprometida pelo excesso de água, além da baixa disponibilidade de oxigênio (ROHDE et al., 2010). Eles conseguem se adaptar a sistemas de irrigação que mantenham níveis ótimos de umidade no solo (GRIFFIN et al., 2005; SHAPIRO-ILAN et al., 2006). Estes nematoides podem tolerar temperaturas similares às de seus locais de origem, podendo completar seu ciclo normalmente (MOLYNEUX, 1986), porém, algumas espécies, por apresentarem ampla distribuição geográfica, são mais tolerantes a grandes variações de temperatura (GREWAL et al., 1994; HOMINICK, 2002).

Os NEPs e seus hospedeiros são incapazes de desenvolver uma relação hospedeiro-parasito bem adaptada devido à rápida morte do hospedeiro após a infecção; esta morte rápida permite aos NEPs explorarem uma diversidade de hospedeiros que inclui praticamente todas as ordens de insetos (KAYA; GAUGLER, 1993), podendo superar a maioria dos fungos entomopatogênicos em eficácia, pois durante períodos de condições adversas, vários NEPs possuem a capacidade de realizar muda para uma forma de resistência de longa duração que não se alimenta (DOLAN et al., 2002). Os fatores apresentados acima mostram o quanto são promissores estes organismos para o controle da mosca-dos-estábulo.

O presente estudo objetivou: avaliar *in vitro* a influência das pressões de pulverização/aspersão da água e vinhoto 50% na viabilidade e infectividade de NEPs a larvas de *S. calcitrans*; avaliar o efeito da infecção de *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7 e *H. indica* LPP30 submetidos a diferentes pressões de pulverização sobre larvas de *S. calcitrans* em subprodutos da indústria sucroalcooleira (vinhoto, torta de filtro, bagaço e palha de cana-de-açúcar).



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Classificação e Biologia de *Stomoxys calcitrans*

*Stomoxys calcitrans* pertence ao Filo Arthropoda, Classe Insecta; Ordem Diptera, Subordem Brachycera, Infraordem Muscomorpha, subsecção Calyptratae, família Muscidae e subfamília Stomoxydinae (GUIMARÃES et al., 2001). A duração de seu ciclo de vida (Figura 1) está diretamente relacionada às características ambientais e climáticas da região, podendo variar de 12 a 43 dias (VARGAS-CHACÓN; SOLÓRZANO, 2016), porém alguns autores relataram que o ciclo completo da mosca-dos-estábulo dura entre 20 e 30 dias (GUIMARÃES, 1984; MATTOS-JUNIOR, 1986; MELLO, 1989).



**Figura 1.** Fases do ciclo biológico de *Stomoxys calcitrans*: ovos, larvas, pupa e adulto.

A incubação dos ovos leva em média quatro dias (MELLO, 1989). As larvas da mosca utilizam matéria orgânica vegetal em decomposição para o seu desenvolvimento, o que leva entre seis a 30 dias em temperaturas que variam de 21 a 26 °C, após este período, as larvas procuram lugares menos úmidos no substrato para evoluírem para o próximo estágio, o de pupa, com duração entre cinco a dez dias (MELLO, 1989). De acordo com Neves e Faria (1988), as pupas são encontradas principalmente em uma faixa de cinco centímetros de profundidade, pois após a emergência de adultos, a sua chegada à superfície é dificultada em profundidades superiores a dez centímetros. É possível observar que o estágio larval é o mais sensível à ação de agentes externos, como luz, umidade, ressecamento, e inimigos naturais (GUIMARÃES, 1983).

Após a emergência dos adultos, este inseto pode viver por até um mês, causando a espoliação sanguínea dos animais, porque as fêmeas de *S. calcitrans* necessitam de sangue para que ocorra o desenvolvimento e maturação de seus ovários (FOIL; HOGSETTE, 1994). O sangue de suínos é o mais favorável a este processo, seguido do sangue bovino, ovino e equino (MELLO; GARCIA, 1983). Este inseto pode ingerir até três vezes sua massa corporal em sangue (PARR, 1962).

A maturação ovariana leva em média nove dias para ocorrer, em que cada fêmea pode por até 100 ovos durante o período de oviposição (MELLO, 1989). Em condições naturais, este díptero possui picos populacionais durante a primavera e verão, pois nessas estações ocorre um aumento de temperatura/umidade, favorecendo a proliferação deste parasito (BITTENCOURT, MOYA-BORJA, 2000). Entretanto, há relatos de picos populacionais deste inseto durante os meses mais frios do ano, devido ao grande volume de matéria orgânica gerada pela agroindústria da cana-de-açúcar (DOMINGHETTI, 2017).

O ciclo biológico da mosca-dos-estábulo está diretamente associado à matéria orgânica vegetal em decomposição (HOGSETTE et al., 1987; CORRÊA et al., 2013; COOK et al., 2018). As fezes de animais não se apresentam como um bom substrato para o desenvolvimento dos estágios imaturos de *S. calcitrans*, todavia, a mistura de dejetos de animais (fezes e urina) com sobras de alimentos fornecidos aos animais (como feno e silagem), acaba criando um ambiente favorável para o desenvolvimento da mosca (HOGSETTE et al., 1987; BROCE et al., 2005), permitindo assim a manutenção de populações destas moscas nas propriedades, o que pode ocasionalmente levar a futuros surtos.

Segundo Thomas et al. (1996), em sistemas de criação baseados em confinamento, a produção e a falha do manejo de resíduos orgânicos podem criar ambiente favorável para o desenvolvimento e proliferação da mosca-dos-estábulo. Contudo, há relatos do desenvolvimento deste díptero em fezes de vários animais, tais como equinos, ovinos, bovinos e até mesmo aves (misturadas com capim úmido e fermentando) (GUIMARÃES, 1984; MATTOS-JUNIOR, 1986; BRUNO et al., 1993; BITTENCOURT, 1998; COOK et al., 1999). De acordo com Cook et al. (1999), a cama de frango quando utilizada como fertilizante em plantações de hortaliças, leva a criação de um ambiente favorável para o desenvolvimento populacional da mosca-dos-estábulo, produzindo em média dois milhões de moscas por hectare, uma vez que os compostos produzidos atraem e estimulam a postura deste inseto (SUTHERLAND, 1978a; TANGTRAKULWANICH et al., 2015; COOK et al., 2018).

A alfafa, grãos embaixo de cochos, pilhas de grama cortada, vinhoto de usinas de açúcar, esterco bovino acumulado próximo aos currais e resíduos de cervejaria também servem como meio de desenvolvimento dos estágios imaturos da mosca-dos-estábulo (GUIMARÃES, 1983; BADINI et al., 2003). Apenas as fezes de animais não formam o ambiente ideal para o desenvolvimento da mosca, pois quando as larvas estão em grande densidade populacional, a escassez de nutrientes irá provocar alterações morfológicas nas moscas adultas, alterando tamanho e forma de algumas estruturas, como asas (BALEBA et al., 2019).

Em condições naturais, a sazonalidade de *S. calcitrans* no Brasil apresenta um ou dois picos populacionais anuais durante a estação chuvosa, período de maior abundância da mosca no país (RODRÍGUEZ-BATISTA et al., 2005; BITTENCOURT, 2012), entretanto, além dos picos populacionais naturais, a ocorrência de grandes infestações desta mosca tem sido relatada em diferentes épocas do ano, afetando de forma incisiva a agropecuária brasileira (BARROS et al., 2010; DOMINGHETTI et al., 2015; SOUZA et al., 2021). Estas explosões populacionais da mosca-dos-estábulo são denominadas “surtos”, pois ocorre uma massiva produção de insetos em resíduos e/ou subprodutos orgânicos oriundos de atividades agroindustriais ou agropecuárias.

Essas explosões populacionais relacionadas a subprodutos agroindustriais também foram observadas em outros países, como Costa Rica (SOLÓRZANO et al., 2015), Colômbia (MORA et al., 1997) e Austrália (COOK et al., 1999), onde centenas de moscas foram observadas atacando os animais, e milhares puderam ser capturadas diariamente em armadilhas, podendo esta situação persistir por meses (SOLÓRZANO, 2014, DOMINGHETTI, 2017; SOUZA et al., 2021).

Os picos populacionais que ocorrem de forma natural, apresentam menor duração, abrangência e intensidade, com menos de 30 moscas observadas por animal (RODRÍGUEZ-BATISTA et al., 2005; ZIMMER et al., 2010). A ação da mosca durante os surtos, tem obrigado pecuaristas a realizar alterações de manejo do gado, além de transportar os animais para áreas livres desse inseto. Esses fatores têm levado muitas pessoas ao abandono da atividade pecuária, além de fomentar uma intensa e calorosa discussão entre pecuaristas e indústria sucroalcooleira (BITTENCOURT, 2012).

*Stomoxys calcitrans* tem preferência em parasitar principalmente as extremidades dos membros anteriores, pois esta região possui boa disponibilidade de vasos sanguíneos superficiais, além disso, é uma localidade de difícil acesso para cauda e boca, e sem tremor cutâneo, dificultando assim a defesa dos animais (BITTENCOURT; MOYA BORJA, 2002). A mosca-dos-estábulo costuma atacar os animais em dois períodos principais: pela manhã antes das dez horas (LORN et al., 2020), e ao entardecer, evitando assim os picos de temperatura durante o dia (CARRERA, 1991; HERRERO et al., 1989), entre esses dois períodos citados acima, é possível encontrar as moscas em mourões de cerca, muros ou paredes de instalações ou pousadas em locais frescos e com sombra (MATTOS-JUNIOR, 1986; CARRERA, 1991).

## **2.2 Prejuízos Econômicos Devido a *Stomoxys calcitrans***

No Brasil, as perdas econômicas causadas por *S. calcitrans* à pecuária brasileira foram estimadas em US\$ 335 milhões (GRISI et al., 2014), sem levar em consideração os recentes surtos da mosca (SOUZA et al., 2021). Segundo Gomes et al. (2018), os prejuízos diretos e indiretos causados por surtos da mosca-dos-estábulo a 90 propriedades pecuárias dentro de um raio de 30 km de uma usina de cana com surto da mosca, podem ser de R\$ 3,5 milhões anuais. Nos Estados Unidos, as perdas anuais causadas por esta mosca atingem o montante de US\$ 2,2 bilhões (TAYLOR et al., 2012). Todos estes valores são estimativas, uma vez que a variedade de ambientes propícios ao desenvolvimento deste artrópode e a diversidade de problemas causados fazem com que as perdas econômicas decorrentes de seu parasitismo sejam difíceis de se estimar, logo, há a possibilidade de que tais valores estejam na verdade subestimados.

Segundo Bruce e Decker (1958), o parasitismo deste díptero leva a perdas de até 20% na produção animal; já Campbell et al. (1987), relataram que a presença de 35 moscas parasitando o membro de um bovino é suficiente para causar perdas de 12% na conversão alimentar e de 20% no ganho de peso; o estudo supracitado também afirmou que bovinos parasitados por até duas moscas por membro anterior, ou oito moscas em todo o corpo, não tem queda de produção. Já Dougherty et al. (1993) relataram redução de 28,68% no ganho de peso de bovinos parasitados pela mosca-dos-estábulo. Campbell et al. (1977) observaram que animais não parasitados por *S. calcitrans* tiveram ganho de peso diário variando de 90 g a 200 g a mais que animais acometidos por 50 e 100 moscas, respectivamente, durante um período de 100 dias.

Os animais parasitados pela mosca-dos-estábulo apresentam alterações comportamentais, tais como movimentação de cabeça, orelhas, cauda e outras partes do corpo, o que leva a um maior consumo de energia que afeta o ganho de peso. Quando há infestação

intensa, como mecanismo de defesa, os animais se aglomeram, levando ao aumento da temperatura corporal dos animais e uma queda no pastejo desses (WIEMAN et al., 1992). Além da inquietude, há também queda na produção leiteira do rebanho (BITTENCOURT, 1998). Segundo Mullens et al. (2006), o parasitismo de *S. calcitrans* leva a diminuição da ingestão de alimentos, emagrecimento e queda da imunidade.

*Stomoxys calcitrans* pode se infectar, carrear e transmitir diferentes microrganismos causadores de doenças como protozoários, bactérias, fungos e vírus aos animais (BALDACCHINO et al., 2013; PHILPOOT; EZEH, 1978; FOIL et al., 1983; TARRY; CARROLL, 1988; RODRÍGUEZ et al., 2014; KAHANA-SUTIN et al., 2017; OLESEN et al., 2018; SOHIER et al., 2019). Como a picada da mosca é dolorosa, os animais tendem a fazer movimentos de defesa, fazendo com que a alimentação desses insetos seja interrompida, isso irá favorecer ainda mais a transmissão mecânica e a consequente disseminação de patógenos para um número maior de animais (BALDACCHINO et al., 2013; BITTENCOURT, 1998), pois as moscas irão parasitar outros indivíduos. A mosca-dos-estábulos age como hospedeira intermediária de *Habronema majus* e é responsável pela transmissão mecânica de agentes que desenvolvem infecções septicêmicas (SOULSBY, 1987).

De acordo com Moya-Borja (1982), *S. calcitrans* pode veicular ovos da mosca-do-berne (*Dermatobia hominis*) tanto a campo, como em condições laboratoriais; já Foil et al. (1983) relataram a capacidade desse díptero em carrear o vírus da anemia infecciosa equina em pôneis. Há relatos da mosca-dos-estábulos transmitindo mecanicamente diferentes espécies de *Trypanosoma* no continente africano, tanto para animais quanto para humanos (SOULSBY, 1987); já no Brasil, Heller et al. (2024) relataram que apesar do potencial para a transmissão de *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) a bovinos, *S. calcitrans* não se mostrou um bom vetor para este protozoário. Em animais de companhia, a picada da mosca-dos-estábulos causa principalmente lesões nas orelhas e extremidades do focinho, podendo levar a reações de hipersensibilidade que podem evoluir para dermatites e furunculose eosinofílica (WHITE; BOURDEAU, 1995). Chagas et al. (2011) relataram alterações histopatológicas, hematológicas e alterações comportamentais em coelhos devido à ação deste inseto.

A mosca-dos-estábulos tem estreita relação com os casos de mastite bovina. Stork (1979) isolou *Corynebacterium pyogenes* de moscas coletadas de rebanho leiteiro, e após medidas de redução e controle deste díptero, os casos de mastite diminuíram significativamente. Já Badini et al. (2004) avaliaram a capacidade desse inseto em carrear bactérias causadoras de mastite; os autores observaram que *Staphylococcus aureus* foi identificado em 41,65% das amostras de leite de vacas positivas para mastite clínica ou subclínica, enquanto que 50% dos isolados encontrados nas moscas pertenciam à mesma espécie de bactéria.

Moraes et al. (2004) observaram a presença de *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* e *S. aureus* em amostras de leite de vacas positivas para mastite, e em macerado de moscas capturadas em propriedades rurais. Os estudos supracitados foram realizados em localidades onde ocorria pecuária leiteira e olericultura, deste modo, resultando em concentrações de animais e o consequente acúmulo de cama de frango, que favorece o desenvolvimento das fases imaturas da mosca (COOK et al., 1999).

Adultos de *S. calcitrans* possuem alta capacidade de dispersão, Lempereur et al. (2018) relataram distância de voo de 300 metros para a mosca-dos-estábulos, valores consideravelmente inferiores aos relatados por Taylor et al. (2010), que observaram que moscas parasitando um rebanho bovino nas planícies do Nebraska (EUA) podem percorrer um raio de até cinco

quilômetros; este alcance de voo depende de alguns fatores, como: a topografia da região e a intensidade dos ventos. Já Bailey et al. (1973) observaram que este díptero foi capaz de percorrer 29 quilômetros em um dia. Hogsette e Ruff (1985) discorreram que as distâncias percorridas pela mosca-dos-estábulo podem ser de até 225 quilômetros.

### **2.3 Surtos de *Stomoxys calcitrans* e Sua Relação com a Indústria Sucroalcooleira**

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2023), a safra 2022/23 de cana-de-açúcar encerrou-se com uma produção estimada em 610,1 milhões de toneladas em mais de 8,3 milhões de hectares cultivados, utilizados para produzir 37,04 milhões de toneladas de açúcar e 27,37 bilhões de litros de etanol. Deste montante resultaram aproximadamente 480 bilhões de litros de vinhoto, 26 milhões de toneladas de torta de filtro e 1,2 milhão de toneladas de cinzas.

De acordo com Fuess et al. (2017), a vinhaça contém alta concentração de minerais, e quando despejada em ambientes aquáticos, provoca a proliferação de algas microscópicas que se localizam na superfície, criando uma camada espessa, e bloqueando a entrada de luz, assim, os organismos clorofilados localizados nas camadas mais profundas são impedidos de realizarem fotossíntese, ocasionando sua morte, a proliferação de bactérias decompositoras e o aumento do consumo de oxigênio por esses organismos, processo denominado eutrofização (FUESS et al., 2017). A redução da concentração de oxigênio resulta na mortandade de organismos aeróbios como os peixes, e, por fim, na ausência de oxigênio, a decomposição da matéria orgânica torna-se anaeróbia, resultando em gases tóxicos como o gás sulfídrico (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Visando o equilíbrio ecológico nos corpos hídricos, no Brasil, foi criada a Portaria/GM 323 de novembro de 1978, proibindo o despejo de vinhaça em coleções de água, passando a vinhaça a ser aplicada *in natura* no próprio canal, em um processo denominado “fertilização” (BARROS et al., 2023; SOUZA et al., 2021).

No ano de 1997 o Brasil tornou-se signatário do Protocolo de Quioto, que visava a diminuição da emissão de gases causadores do efeito estufa, devido a isso, o Brasil passou a adotar medidas mais rígidas contra a emissão de gases poluentes, resultando no Decreto N° 2.661 de julho de 1998, que proibia o uso de fogo em práticas agropastoris e florestais; com isso o despalhamento da cana-de-açúcar por fogo passou a não ser mais feito, resultando em grande deposição da palha de cana pós colheita sobre grandes extensões dos canais fertilizados com vinhaça e demais substratos, levando assim a predisposição da ocorrência de surtos de *S. calcitrans* no Brasil (DOMINGHETTI et al., 2015; BARROS et al., 2023).

Dentre os subprodutos de cana-de-açúcar, a palha com vinhaça e a torta de filtro são os com maior potencial de causar explosões populacionais da mosca-dos-estábulo, sendo a torta de filtro o substrato com a maior produção de moscas por metro quadrado (55,8 moscas/m<sup>2</sup>); felizmente, a torta é produzida em menor quantidade quando comparada com a palha com vinhaça, que produz 24,2 moscas/m<sup>2</sup>, fazendo com que esses dois últimos sejam os mais importantes na dinâmica dos surtos devido à grande extensão das áreas fertilizadas (CORRÊA et al., 2013).

Os surtos associados a atividades agrícolas no Brasil tiveram seus primeiros relatos na década de 1970 (NAKANO et al., 1973). A partir de então, a expansão da agroindústria da cana e as mudanças em seu manejo devido a motivos econômicos, produtivos e ambientais, fizeram

com que houvesse grande produção de subprodutos ricos em matéria orgânica, o que, por sua vez, têm levado à ocorrência de superpopulações desta mosca no país, pois substratos como palha e bagaço de cana, torta de filtro e vinhoto, criam um ambiente ideal para o desenvolvimento dos estágios imaturos deste inseto (BARROS et al., 2010; CORRÊA et al., 2013; BARROS et al., 2023).

Apesar de não afetar diretamente a produtividade das lavouras de cana-de-açúcar, este díptero é capaz de se desenvolver amplamente nestas localidades, tendo em vista que o método utilizado para a fertirrigação dos canaviais (aspersão do vinhoto) acaba favorecendo a criação de áreas adequadas ao desenvolvimento da mosca durante todo período de safra (SOUZA et al., 2021; REIS e SILVA et al., 2013; BITTENCOURT, 2012). Barros et al. (2010) associaram as explosões populacionais de *S. calcitrans*, no estado do Mato Grosso do Sul, com à irrigação dos canaviais com vinhaça.

De acordo com Guimarães (1983) e Buralli et al. (1987), a amônia liberada na fermentação da vinhaça tem efeito atrativo e estimula a postura destes muscídeos; já Souza et al. (2021) relataram a captura, por armadilhas de emergência, de milhares de espécimes de *S. calcitrans* atraídos nas primeiras horas após a aplicação da vinhaça no canavial, o que perdurou por alguns dias, confirmando que o processo de fertirrigação com vinhaça é fator atrativo à mosca-dos-estábulo. Este poder atrativo e estimulante da vinhaça é um sério problema, levando em consideração que ocorrerá um grande número de indivíduos ovíparos (SOUZA et al., 2021), podendo acarretar surtos da mosca-dos-estábulo, e como estes insetos têm grande capacidade de dispersão, podendo viajar por dezenas de quilômetros (HOGSETTE; RUFF, 1985), tendem a atacar os animais e humanos nas propriedades pecuárias vizinhas aos canaviais (BITTENCOURT, 2012).

Outros compostos como fenóis, álcoois, aldeídos e ácidos carboxílicos também podem ter efeito atrativo para a mosca-dos-estábulo (JELVEZ SERRA et al., 2017). Os surtos de *S. calcitrans*, devido aos subprodutos da cana, deixaram de ser um problema focal, estendendo-se à medida que a indústria da cana se expande no Brasil (DOMINGHETTI et al., 2015).

## **2.4 Ataques de *Stomoxys calcitrans* a Humanos**

Seres humanos também podem ser parasitados pela mosca-dos-estábulo, mesmo não sendo o seu alvo preferencial, isso ocorre principalmente em áreas próximas a surtos relacionados à matéria orgânica vegetal em decomposição, como por exemplo em praias (KING; LENERT, 1936) e parques (HANSENS, 1951), demonstrando que este inseto pode se desenvolver em diferentes regiões desde que haja ambiente favorável. No Brasil, devido a produção massiva de substratos da agroindústria de açúcar e etanol, *S. calcitrans* encontrou um ambiente favorável para sua massiva proliferação, favorecendo a ocorrência de surtos que acometem também a população humana (BARROS et al., 2010).

## **2.5 Criação de *Stomoxys calcitrans* em Laboratório**

A criação e manutenção de colônias de *S. calcitrans* em laboratório é sem dúvida uma importante atividade, pois permite a realização de diversos ensaios biológicos visando entender melhor a biologia e o controle deste inseto (MELLO, 1989; MORAES, 2007; MOURA, 2015).

Os estudos abordando aspectos significativos relacionados à criação da mosca-dos-estábulo em laboratório são escassos quando comparados com outros artrópodes de interesse veterinário, logo, a criação deste díptero em ambiente de laboratório apresenta desafios substanciais, tais como informações detalhadas e disponíveis sobre métodos de criação, tipos de

gaiolas, procedimentos para manutenção da higiene das instalações, fornecimento de sangue, manipulação de larvas recém-eclodidas e estratégias para evitar contaminação por fungos e ácaros (JONES, 1966; WATSON et al., 1995; MACEDO, 2001; SKOVGÅRD; STEENBERG, 2002).

A produção em larga escala deste díptero, em laboratório, necessita de amplo conhecimento sobre a biologia deste inseto (BAILEY et al., 1973). Lysyk (1998) relatou que o desenvolvimento dos estágios imaturos dessa mosca sofre influência da variação de temperatura; e a postura dos adultos depende de temperaturas ideais para que ocorra. Gilles et al. (2005) observaram que em temperaturas variando entre 20 e 25 °C, os estágios imaturos da mosca se desenvolvem de forma eficiente, porém quando em temperaturas extremas (abaixo de 15 e acima de 35 °C) ocorre elevada mortalidade.

Parr (1962) relatou que em condições laboratoriais, em temperatura de 26,7°C (80°F) e umidade relativa de 80%, as larvas da mosca-dos-estábulo podem eclodir após 24 horas de incubação e o período de pupa dura apenas dois dias. A temperatura de armazenamento para as dietas de desenvolvimento larvar deve ser em média 26,7°C, já a temperatura ideal para a manutenção de estágios imaturos e adultos deve ser de 24°C, e umidade relativa variando de 30% a 50%, com fotoperíodo de 12/12 horas na sala de criação (BAILEY et al., 1973; FLOREZ-CUADROS et al., 2019).

Segundo Foil e Hogsette (1994), *S. calcitrans* depende do sangue de vertebrados para sua sobrevivência e reprodução, realizando repasto sanguíneo sobre o hospedeiro em relativamente pouco tempo. O oferecimento de sangue de bovinos, equinos ou suínos às moscas, resulta em melhores resultados de postura do que quando alimentadas com sangue ovino, de cobaia ou de ratos (JONES, 1966); com um maior volume de ovos produzidos quando alimentadas com sangue de herbívoros ao invés de carnívoros ou onívoros. Já quando se usa sangue de galinha, a postura torna-se quase nula (SUTHERLAND, 1978b).

Parr (1962), relatou resultados satisfatórios quando ofereceu às moscas, duas vezes ao dia, sangue bovino em almofadas de algodão, com a colônia sendo mantida em 26,6 °C e 60-70% de umidade relativa, observando um elevado número de ovos produzidos por fêmea, com alta eclodibilidade (quase 80%). Mello (1989) observou que a oferta de sangue bovino aquecido em banho maria (37 °C), duas vezes ao dia, foi suficiente para um ótimo desempenho da colônia de *S. calcitrans*.

Moraes (1990) relatou bons resultados na criação de *S. calcitrans* quando utilizou dieta nutritiva com componentes semelhantes aos utilizados por Christmas (1970). O referido meio de desenvolvimento larvar foi adaptado por Macedo (2001) e consiste de cana-de-açúcar, farelo de trigo, farinha de carne e bicarbonato de sódio. Já Barros et al. (2014) também adaptaram a dieta de Christmas (1970), composta por cana-de-açúcar (330 g), farelo de soja (125 g), farinha de carne (40 g), bicarbonato de sódio (5 g) e água destilada (125 mL), esse meio de desenvolvimento resultou em elevadas taxas de eclosão (86,3%-89,6%), pupação (87,4%-90,3%) e emergência (84,3%-88,2%).

## **2.6 Medidas de Controle de *Stomoxys calcitrans***

As estratégias de controle deste díptero devem ser muito bem elaboradas, pois *S. calcitrans* possui um comportamento biológico bastante versátil, com variados locais para o desenvolvimento de seus estágios imaturos (ODA; ARANTES, 2010).



O manejo adequado de matéria orgânica, seja na indústria ou nas fazendas, é essencial para que outras medidas de controle da mosca-dos-estábulo sejam eficientes, porém isso demanda tempo e treinamento dos colaboradores, o que muitas das vezes não é feito, levando a falhas neste processo (BITTENCOURT, 2012; NAKANO et al., 1973).

*Stomoxys calcitrans* não permanece por muito tempo sobre o corpo dos animais, logo, a aplicação de inseticidas químicos sobre o animal pode não ser a melhor das opções. Para explorar ao máximo o potencial dessas substâncias sobre este díptero, o recomendado é utilizá-las nos locais onde ocorre o desenvolvimento das fases imaturas da mosca (LYSYK et al., 2010), entretanto, *S. calcitrans* já apresenta resistência à pelo menos uma base química (BARROS et al., 2019).

No Brasil, a agroindústria da cana-de-açúcar é responsável pela produção de toneladas de subprodutos ricos em matéria orgânica, que podem ser utilizados como fonte de desenvolvimento da mosca-dos-estábulo. Em casos de ameaças de surtos desse díptero, uma alternativa de controle emergencial é a queima profilática da palhada, pois a queima é regulamentada e autorizada, quando justificada, pelo órgão do Sistema Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 1998).

Koller et al. (2009) descreveram uma série de medidas a serem tomadas para evitar surtos de *S. calcitrans* em propriedades pecuárias e usinas sucroalcooleiras, tais como: manter a higiene das instalações, principalmente naquelas propriedades com sistema de confinamento ou leiterias; remoção e destino adequado (espalhamento ou compostagem) dos resíduos alimentares de animais, bem como de dejetos e matéria orgânica acumulados; revolver o material de compostagem completamente duas vezes por semana e evitar o empoçamento da água da chuva próximo a locais com matéria orgânica; avaliar a eficácia dos diferentes princípios ativos inseticidas utilizados no combate às moscas adultas antes de sua aplicação; usar, quando necessário, inseticidas que sabidamente funcionam, na dose correta e com origem reconhecida e registro para uso em animais; procurar a assistência técnica, sempre, e, especialmente, quando for percebido que os produtos de controle não estão fazendo o efeito; realizar o controle químico, quando necessário, apenas nos dias previamente programados, de forma coordenada; distribuição fracionada do vinhoto em duas etapas com intervalo entre aplicações, suficiente para que seja rapidamente absorvida pelo solo; realizar, se possível, o trato cultural de incorporação da palha de cana pós-colheita ao solo após a primeira aplicação de vinhaça e se possível, não distribuir quando o solo ainda estiver encharcado com água de chuvas. Dominghetti (2017) utilizou com sucesso variados tipos de armadilhas para a captura e monitoramento da mosca-dos-estábulo.

O uso de agentes biológicos também é uma alternativa no controle de *S. calcitrans*, havendo vários estudos sob condições controladas em laboratório. Ratcliffe et al. (2002) observaram resultados promissores na utilização de himenópteros parasitoides no controle de estágios imaturos de *S. calcitrans*. Já Moraes et al. (2015) relataram que o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* não foi eficaz no controle de estágios imaturos da mosca-dos-estábulo. Monteiro-Sobrinho et al. (2016) e Leal et al. (2017) utilizaram nematoides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* para o controle de *S. calcitrans*, em que estes organismos foram capazes de causar altas taxas de mortalidade larvar.

Os NEPs são seres bastante resistentes e virulentos, pois mesmo após serem submetidos a temperaturas acima de 30 °C e utilizados juntamente com vinhoto, foram capazes de causar mortalidade larvar de *S. calcitrans* acima de 90%, além de conseguirem procurar e matar as larvas da mosca em diferentes substratos oriundos da atividade sucroalcooleira (MONTEIRO-SOBRINHO et al., 2023).

Também foi observada a predação de larvas de *S. calcitrans* por aves em uma usina sucroalcooleira no interior do Estado de São Paulo (ODA; ARANTES, 2010). Possivelmente o



uso destes agentes biológicos a campo diminuirá o impacto no ambiente e a dependência por produtos químicos, diminuindo assim a população de moscas resistentes e abrandando os surtos deste díptero no Brasil.

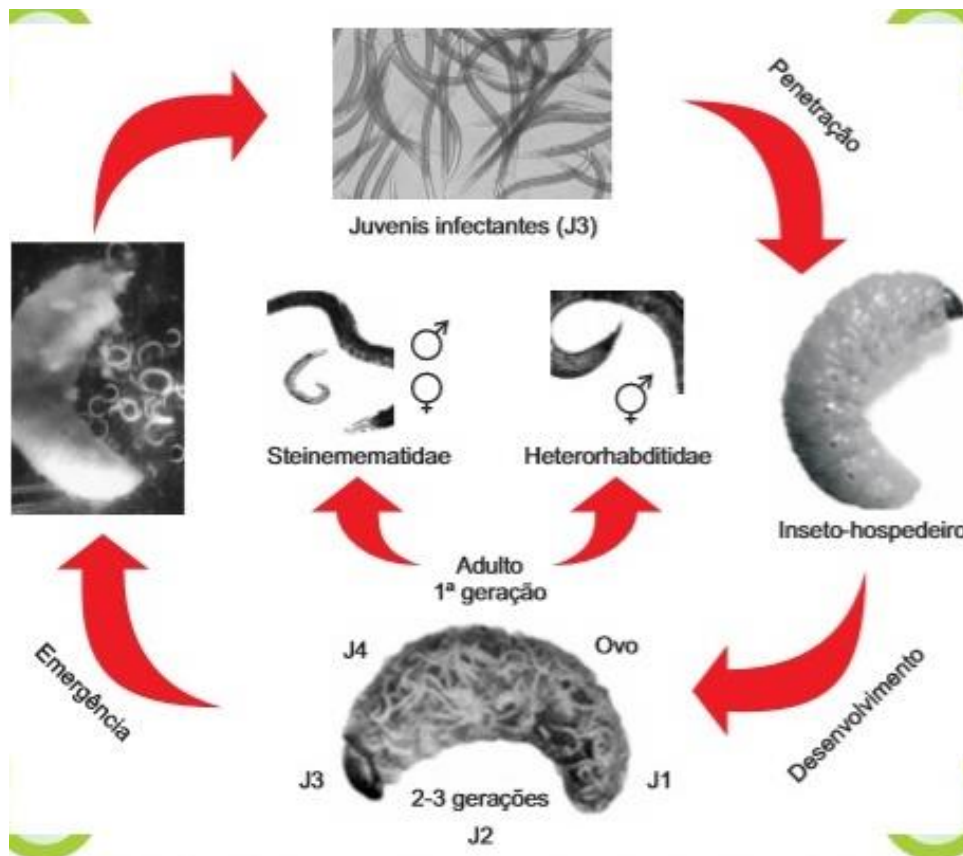
## 2.7 Nematoides Entomopatogênicos

Existem vários relatos na literatura que demonstram o potencial de nematoides entomopatogênicos para o controle de diferentes pragas da agropecuária, principalmente sobre aqueles organismos que tenham pelo menos um estágio de desenvolvimento no solo (DOLINSKI, 2006; DOLINSKI & MOINO JR, 2006). A produção de nematoides em escala industrial já é feita por empresas nos EUA, Europa, Cuba, Japão e Israel.

No Brasil, três produtos a base de NEPS já são registrados. Recentemente a empresa Kooport do Brasil Holding S.A. começou a comercializar um produto a base de NEPs da espécie *Steinernema carpocapsae*, com indicação para o uso no controle de pragas da agricultura. Dentre as pragas está o bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* Laurie 1978 (Coleoptera Curculionidae). Isto abre uma grande possibilidade para o uso de NEPs no canavial visando o controle da mosca-dos-estábulo, uma vez que o uso destes organismos nas lavouras de cana não é novidade.

Os nematoides entomopatogênicos pertencem à ordem Rhabditida (Nematoda: Secernentea), e estão divididos entre as famílias Steinernematidae (gêneros *Steinernema* e *Neosteinernema*) e Heterorhabditidae, formada apenas pelo gênero *Heterorhabditis* (MOLINA-OCHOA et al., 2009).

Em seu ciclo biológico (Figura 2), os NEPs possuem as fases de ovo, larva ou juvenil (J1, J2, J3 e J4) e adultos de sexos distintos; em espécies pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*, há também uma geração de hermafroditas (FERRAZ, 1998; DOLINSKI et al., 2006; DOLINSKI; MOINO JR., 2006).



**Figura 2.** Ciclo biológico dos nematoides entomopatogênicos. Fonte: Dolinski e Moino Júnior (2006).

A fase infectante e de vida livre é denominada juvenil infectante (JI/J3), é durante essa fase que o nematoide faz a infecção do artrópode hospedeiro, localizando-o através de análise dos níveis de CO<sub>2</sub>, detecção de produtos de excreção e gradientes de temperatura. O NEP então irá adentrar o organismo alvo pelas aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos respiratórios) ou por entradas feitas pelo próprio NEP na cutícula do hospedeiro, através da utilização de uma estrutura localizada na porção anterior do JI conhecida como “dente-quitinoso”, presente apenas em indivíduos do gênero *Heterorhabditis* (KAYA; GAUGLER, 1993; DOLINSKI; MOINO JR., 2006).

No gênero *Steinernema*, a primeira geração de NEPs adultos apresenta machos e fêmeas; já no gênero *Heterorhabditis*, a primeira geração de adultos é exclusivamente de indivíduos hermafroditas com morfologia feminina; a partir da segunda geração, haverá a distinção entre machos e fêmeas. A ação patogênica destes nematoides sobre o hospedeiro está diretamente relacionada a bactérias simbiotes que vivem em seu interior, sendo do gênero *Xenorhabdus* (associado a *Steinernema*) e ou *Photorhabdus*, em *Heterorhabditis* spp. (GEORGIS; MANWEILER, 1994; BURNELL; STOCK, 2000).

Uma vez que os NEPs adentram a hemocele do artrópode alvo, ocorre a liberação de bactérias simbiotes, estas bactérias então começam a se multiplicar e, como resultado desta atividade, ocorre a produção de toxinas letais para o hospedeiro parasitado, levando a uma rápida septicemia e conseqüente morte do artrópode (FERRAZ, 1998; HAZIR et al., 2003). As substâncias oriundas do metabolismo das bactérias também levam à inibição do desenvolvimento

de outros microrganismos no artrópode colonizado (KAYA; GAUGLER, 1993), potencializando a infecção e a virulência dos NEPs e bactérias.

Quando se exaurem os nutrientes no artrópode parasitado, os JIs fazem o armazenamento das bactérias simbiotes em seus intestinos, além de reterem a cutícula do segundo estágio larvar (J2), deste modo, os JIs abandonam o artrópode cadáver em busca de um novo hospedeiro; durante essa fase os NEPs de vida livre não se alimentam, podendo suportar as adversidades ambientais, por isso esta fase é conhecida como a mais resistente (FERRAZ, 1998; DOLINSKI, 2006).

Para localizar os artrópodes alvos, os NEPs possuem diferentes estratégias, e podem ser classificados de acordo com o tipo de comportamento: 1- Cruzadores (*cruisers*): os representantes deste grupo conseguem ir ativamente atrás do alvo, pois possuem a capacidade de rapidamente analisar o ambiente buscando marcadores químicos liberados pelos artrópodes, estes organismos são capazes de se movimentar de forma intensa; 2- Emboscadores (*ambushers*): estas espécies se locomovem pouco no ambiente, logo, para encontrar potenciais hospedeiros é preciso que estes nematoides façam uma análise mais elaborada do ambiente; após o artrópode ser localizado, estes NEPs fazem a “nictação”, que é um movimento que consiste em erguer o corpo e “saltar” em direção ao alvo (GREWAL et al., 2001); 3- Mistos: são os nematoides que apresentam os dois comportamentos anteriores (cruzador e emboscador), isso permite que esses organismos consigam parasitar espécies sedentárias e móveis de artrópodes (GREWAL et al., 2001; HAZIR et al., 2003; DOLINSKI, 2006).

Estudos mostram que os NEPs possuem a capacidade de infectar e matar uma gama de espécies de artrópodes (NEVES et al., 1999; GREWAL et al., 2001; HAZIR et al., 2003; DOLINSKI, 2006; MONTEIRO et al., 2014a, MONTEIRO-SOBRINHO et al., 2023).

O baixo custo da produção em grande escala desses agentes (em artrópodes hospedeiros ou sistemas artificiais); a capacidade dos NEPs resistirem por longos períodos de armazenamento (TAYLOR et al., 1998); compatibilidade e facilidade de aplicação no campo via sistemas de irrigação/pulverização; compatibilidade com a maioria dos pesticidas químicos; a inocuidade a outros seres invertebrados e vertebrados e a alta especificidade das linhagem dos nematoides, prevenindo assim uma mortalidade indiscriminada de artrópodes, evitando efeitos indesejados sobre o ambiente (NEVES et al., 1999; GREWAL et al., 2001; KOPPENHÖFER; GREWAL, 2005; DOLINSKI; MOINO JR., 2006); tornam os NEPs organismos potenciais no controle de pragas na agricultura e pecuária, principalmente aquelas que tenham pelo menos um estágio de desenvolvimento no solo (DOLINSKI, 2006).

A alta incidência de radiação ultravioleta é nociva aos NEPs, diminuindo a sua infectividade e virulência. Cada espécie de NEP possui uma faixa ideal de temperatura e umidade, a eficiência do nematoide em parasitar o artrópode tende a acompanhar as condições climáticas predominantes nas áreas de ocorrência destas espécies (MOLYNEUX, 1986), ou seja, as espécies nativas de regiões de clima temperado, geralmente tendem a ter melhor desempenho em baixas temperaturas, o mesmo vale para NEPs de climas tropicais (HAZIR et al., 2003; SHAPIRO-ILAN et al., 2006), por isso é necessário selecionar espécies e linhagens oriundas de regiões de clima parecido com o local/região onde estes agentes serão empregados, uma vez fora destes padrões, estes agentes perdem muito de suas funcionalidades (GAUGLER; BOUSH, 1978; SHAPIRO-ILAN et al., 2006).

Os NEPs são muito afetados em solos com baixa umidade, pois há a necessidade de uma camada líquida em nível adequado para a dispersão e locomoção desses organismos, por outro

lado, em solos muito úmidos ocorre a escassez de oxigênio, desse modo dificultando a ação desses organismos (ROHDE et al., 2010). É de suma importância selecionar espécies de NEPs com patogenicidade direcionada a um artrópode-alvo específico, evitando assim danos a outras espécies que não sejam pragas (SHAPIRO-ILAN et al., 2006).

No Brasil, a utilização de NEPs tem sido estudada visando principalmente o controle de artrópodes pragas da agricultura, apresentando elevadas taxas de mortalidade (LEITE et al. 2003; BUSSOLA et al. 2004; ALVES et al. 2005; MACHADO et al. 2005). Na década passada, Monteiro et al. (2014b) deram um importante passo para o controle de pragas que acometem os animais domésticos, utilizando os NEPs para o controle do carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* em formulação inseto-cadáver (*Galleria mellonella*); já Monteiro-Sobrinho et al. (2016) e Leal et al. (2017) iniciaram, no Brasil, os estudos de controle de *S. calcitrans* utilizando nematoides entomopatogênicos.

## 2.8 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) são uma agenda mundial adotada durante a Cúpula das Nações Unidas sobre o Desenvolvimento Sustentável em setembro de 2015, em Nova Iorque (Estados Unidos da América) composta por 17 objetivos e 169 metas a serem atingidos até 2030, visando a proteção do planeta e que as pessoas encontrem a paz e prosperidade (ONU, 2024). Dentre os ODS, alguns desses podem se relacionar com o presente estudo, sendo demonstrados logo abaixo.

**ODS 2:** Fome Zero e Agricultura Sustentável: Erradicar a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável.

O presente trabalho apresentou resultados que poderão auxiliar no combate a mosca-dos-estábulo no Brasil, diminuindo assim os impactos causados por este díptero no país, fazendo com que os prejuízos financeiros ao setor pecuário sejam atenuados, deste modo podendo influenciar no preço da carne, tornando-a mais acessível às diferentes camadas sociais. Além disso, o uso de agentes biológicos no campo, faz com que o uso de pesticidas químicos seja reduzido, melhorando assim a qualidade dos produtos e reduzindo perigos aos atores envolvidos no processo.

**ODS 9:** Indústria, Inovação e Infraestrutura: Construir infraestruturas resilientes, promover a industrialização inclusiva e sustentável e fomentar a inovação.

De fato, o uso de nematoides entomopatogênicos no combate a mosca-da-vinhaça nos canaviais seria uma inovação tecnológica, podendo futuramente gerar patentes de produtos, fazendo com que a indústria sucroalcooleira seja menos dependente do uso de pesticidas sintéticos para combater a mosca, que já possui resistência a uma gama destes inseticidas (BARROS et al., 2019).

**ODS 15:** Vida Terrestre: Proteger, restaurar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, travar e reverter a degradação dos solos e travar a perda da biodiversidade.

O uso de pesticidas químicos é extremamente deletério ao meio ambiente (ALVES, 1998), causando mortandade indiscriminada aos diferentes organismos ambientais, mesmo aqueles não alvos, logo, buscar medidas alternativas de controle para as pragas que afetam a agricultura é de suma importância para manter o equilíbrio dos ecossistemas. O uso de

nematoides entomopatogênicos pode ser mais uma estratégia no controle de pragas da agropecuária, pois não causam danos ambientais significativos (SHAPIRO-ILAN et al., 2006).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Localização dos Experimentos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisa de Dípteros Hematófagos, que faz parte do Laboratório de Controle Microbiano da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizado na Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Instituto de Veterinária da UFRRJ, onde foram mantidas a colônia de *Stomoxys calcitrans* e de nematoides entomopatogênicos, bem como os materiais necessários para o desenvolvimento do estudo.

O presente estudo está cadastrado no Sistema de Gestão de Patrimônio Genético e do conhecimento Tradicional Associado (SisGen) – sob o código A4F96E2.

#### 3.2 Manutenção da Colônia de *Stomoxys calcitrans* Para Obtenção de Larvas

Os dípteros adultos foram capturados no campus da UFRRJ, com o auxílio de rede entomológica, armazenados em gaiolas plásticas para transporte (15x15x20cm), levados ao laboratório e identificados segundo Furman e Catts (1982). As moscas foram mantidas em gaiolas plásticas (teladas com Nylon®) de maiores dimensões (60x40x50cm) e alimentadas com sangue bovino (Figura 3). O sangue utilizado na dieta das moscas foi proveniente de bovinos abatidos em matadouro no município de Barra Mansa - RJ, ao qual foi adicionado citrato de sódio a 0,38% (BENIGNO, 1987; WATSON et al., 1995).

O sangue a ser fornecido pela manhã era retirado do freezer no dia anterior e armazenado em refrigerador para que descongelasse lentamente. Após descongelamento, o sangue era transferido para um becker e aquecido em banho-maria (em torno de 37 °C); simulando a temperatura corporal do animal parasitado (MELLO, 1989), e fornecido em absorvente feminino de algodão às moscas adultas, esse processo era realizado uma vez ao dia, colocando-o sobre a gaiola e em contato com a tela de Nylon®. A quantidade de sangue era suficiente para evitar gotejamento (MELLO, 1989; MORAES, 2007; MOURA, 2015). Havia também um tecido de algodão preto umidificado com água na parte superior da gaiola, onde as moscas faziam a oviposição.



**Figura 3.** Colônia de *Stomoxys calcitrans*. Gaiola com adultos, absorventes com sangue para alimentação e tecido de algodão umedecido para postura.

A coleta de ovos foi realizada diretamente dos absorventes e do tecido preto estendidos sobre as gaiolas (Figura 4); lavados em água corrente e coletados em peneira granulométrica de 500 MESH. Para a obtenção de larvas foi utilizado o meio desenvolvido por Christmas (1970) e adaptado por BARROS et al. (2014), composto por cana-de-açúcar (330g), farelo de trigo (125g), farinha de carne (40g), bicarbonato de sódio (5g) e água destilada (125mL). A colônia das moscas foi mantida em  $27\pm 1$  °C e 70%-80% de umidade relativa.





Figura 4. Ovos de *Stomoxys calcitrans* em tecido preto e absorventes.

### 3.3 Manutenção da Colônia de Nematoides Entomopatogênicos

Os nematoides utilizados tiveram sua manutenção e multiplicação feita através da multiplicação *in vivo* em *Galleria mellonella* e/ou *Tenebrio molitor* (LINDEGREN et al., 1993; KAYA; STOCK, 1997) de acordo com a disponibilidade desses. Os juvenis infectantes (JIs) foram armazenados em câmara climatizada do tipo B.O.D. (Eletrolab®, modelo EL 212) a  $16 \pm 1$  °C e 70%-80% UR em frascos de cultivo celular de 40mL (Figura 5). Os nematoides utilizados nos experimentos descritos a seguir não foram armazenados em câmara climatizada, sendo capturados diretamente das armadilhas de White (WHITE, 1927) e utilizados imediatamente após sua coleta.



Figura 5. Colônia de nematoides entomopatogênicos.

### 3.4 Quantificação das Suspensões com Nematoides Entomopatogênicos

Os juvenis infectantes (JIs) foram quantificados através da contagem de 12 alíquotas de dez  $\mu\text{L}$ , obtidas a partir de suspensão aquosa de NEPs, retirados das armadilhas e depositados em garrafa de cultivo celular de 40 mL. Após a contagem dos JIs nas 12 alíquotas, descartou-se a maior e a menor quantidade de NEPs/alíquota, calculando-se a uma média de JIs nas dez alíquotas restantes, a partir deste cálculo, a concentração das suspensões foi ajustada em JIs/mL (TAYLOR et al.,1998).

### 3.5 Sistema de Pressurização e Coleta dos Nematoides Entomopatogênicos

As pressões utilizadas neste estudo foram semelhantes àquelas geradas pelos sistemas de pulverização/aspersão utilizados na fertirrigação dos canaviais no Brasil e mesmo superiores (variando entre 58 e 71 psi) (TESTEZLAF, 2017). Para se obter as pressões desejadas (60, 70 e 80 psi), utilizou-se uma bomba hidráulica (superagri®, 100 psi, 12 volts, 3.0 ampères, vazão de 4 L/min) com controlador de pressão e um bico de aspersão. A essa bomba foi acoplado um manômetro, para verificação das pressões (Figura 6). Quando as pressões estipuladas eram alcançadas, passava-se os nematoides por este sistema (Figura 7), esses então eram coletados em um balde plástico de 10 litros, em seguida a solução coletada contendo os NEPs era colocada em tubos Falcon de 50 mL (Figura 8), visando concentrar estes organismos, porque o volume de água utilizada na bomba era alto. Após a concentração, os NEPs foram quantificados novamente e então utilizados nos experimentos a seguir. Após cada espécie de NEP passar pelo sistema de pressão, esse foi lavado com água destilada, evitando assim a mistura de diferentes espécies de NEPs.

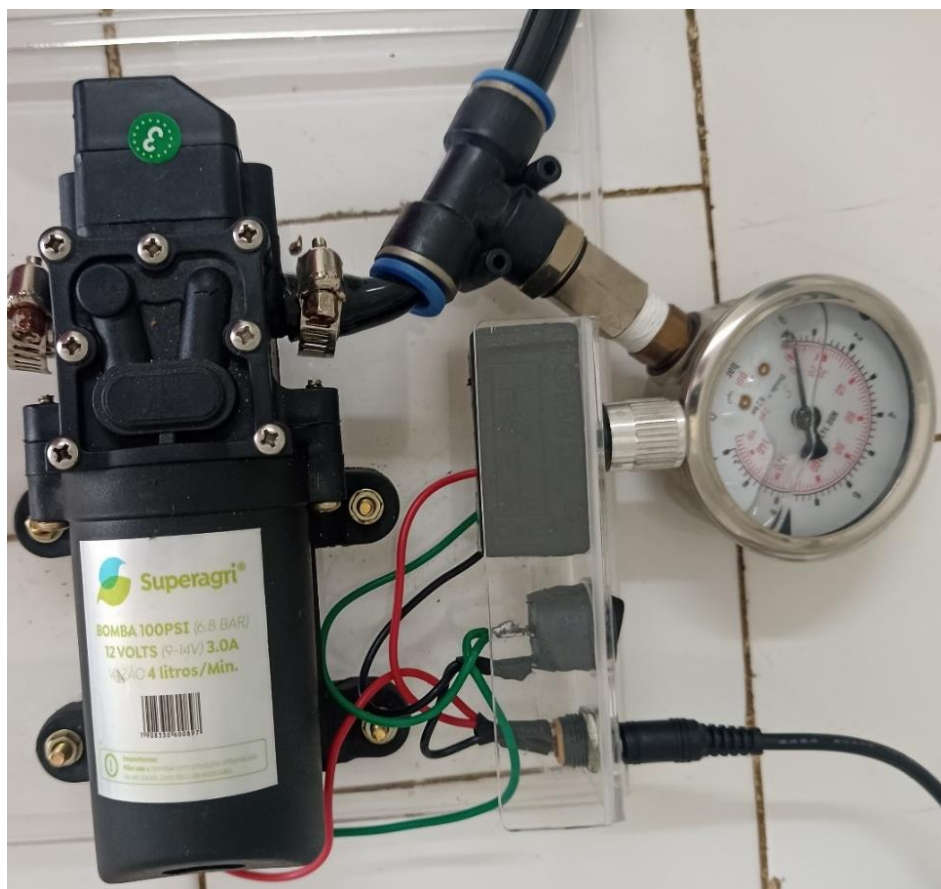


Figura 6. Bomba hidráulica com manômetro e controlador de pressão.





**Figura 7.** Passagem dos nematoides entomopatogênicos pelo sistema de pressão.



**Figura 8.** Nematoides entomopatogênicos concentrando em tubos Falcon.

### 3.6 Experimentos com Nematoides Entomopatogênicos em Água

Os experimentos foram feitos primeiramente em água, com o objetivo de avaliar se os NEPs tiveram sua infectividade afetada à medida que a pressão aumentou, pois, o uso de substratos da cana mais pressões poderia acarretar em problemas aos NEPs. Uma vez que se viu que os NEPs aparentemente não sofreram com o aumento de pressão, foram feitos os demais experimentos envolvendo subprodutos canavieiros.

#### 3.6.1 Experimento 1: em água, sem subprodutos de cana-de-açúcar

Grupos de dez larvas de terceiro instar (oito a dez dias de idade) da mosca-dos-estábulo foram depositados, com auxílio de pinça entomológica, em recipientes plásticos (7,5 x 7,5 x 4 cm), contendo duas folhas de papel de filtro secas (Figura 9). Utilizou-se os JIs de *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7 e *H. indica* LPP30 já submetidos às pressões de 60, 70 e 80 psi. Os nematoides foram depositados nos recipientes plásticos contendo as larvas de *S. calcitrans*. O volume total foi de quatro mL de água destilada por tratamento, e a concentração de NEPs utilizada foi de 200 JIs/larva (LEAL et al., 2017). O grupo controle teve a mesma concentração de JIs, porém sem ter passado pelo sistema de pressão (somente pressão atmosférica  $\approx 14,7$ psi). Também foi avaliado um grupo controle sem a presença de NEPs. O ensaio biológico foi observado diariamente durante sete dias. O experimento foi mantido em  $27\pm 1$  °C e  $70\%\pm 10\%$  UR, com seis repetições.



**Figura 9.** Ensaio biológico para avaliação da mortalidade de larvas de *Stomoxys calcitrans* por nematoides entomopatogênicos.

#### 3.6.2 Experimentos 2 a 4: em água, com subprodutos de cana-de-açúcar

A metodologia utilizada foi a mesma do experimento anterior (item 3.6.1), porém com a prévia adição de diferentes subprodutos do processamento da cana aos recipientes. Utilizou-se torta de filtro (experimento 2), bagaço de cana (experimento 3) e palha de cana-de-açúcar (experimento 4), na quantidade de três gramas do substrato por unidade experimental.

### 3.7 Experimentos com Nematoides Entomopatogênicos em Vinhoto

A utilização de vinhoto 50% deu-se pelo fato desta concentração ser comumente utilizada na fertirrigação dos canaviais brasileiros (MACEDO; CARVALHO, 2007).

#### 3.7.1 Experimento 5: em vinhoto sem outros subprodutos de cana-de-açúcar

A metodologia empregada seguiu basicamente a descrita no experimento 1, porém utilizou-se os JIs de *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7 e *H. indica* LPP30 em solução de vinhoto (aquecida a 35 °C) (Figura 10) em vez de água destilada, já submetidos às pressões de 60, 70 e 80 psi (em solução de vinhoto).

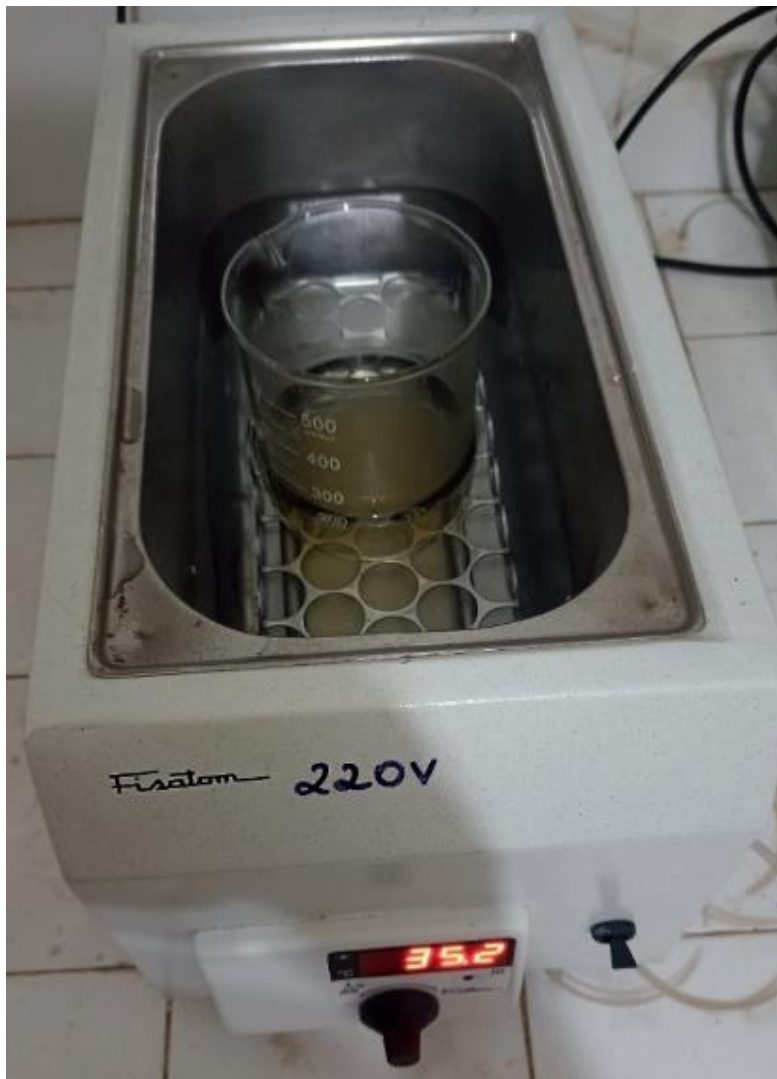


Figura 10. Becker contendo vinhaça sendo aquecida em banho-maria.

#### 3.7.2 Experimentos 6 a 8: em vinhoto, com suprodutos de cana-de-açúcar

A metodologia utilizada foi a mesma do experimento 5 (item 3.7.1), porém diferentes subprodutos de cana foram previamente adicionados aos recipientes. Utilizou-se torta de filtro

(experimento 6), bagaço de cana (experimento 7) e palha de cana-de-açúcar (experimento 8), na quantidade de três gramas de substrato em cada unidade experimental.

### **3.7.3. Experimento 9: pulverização de nematoides entomopatogênicos (diluídos em vinhoto) sobre larvas de *Stomoxys calcitrans* em bandejas plásticas mantidas no meio ambiente**

O modelo das armadilhas de emergência utilizadas no presente estudo foi cedido pelos pesquisadores da Embrapa Gado de Corte, Dr. Antonio Thadeu Medeiros de Barros e Dr. Paulo Henrique Duarte Cançado (comunicação via internet), esse modelo foi baseado no de Corrêa et al. (2013). As armadilhas eram compostas por uma armação metálica piramidal (50 x 50 x 50 cm) e revestidas por tecido translúcido (tule-filó), no topo da armação piramidal tinha um anel metálico com “gotas de solda” para o encaixe de uma garrafa de plástico de 400 mL (coletor), para a captura das moscas recém emergidas (Figura 11).



**Figura 11.** Armadilha de emergência com coletor plástico.

Grupos de 20 larvas de terceiro instar (oito a dez dias de idade) da mosca-dos-estábulo foram depositados, com auxílio de pinça entomológica, em recipientes plásticos (35 x 20 x 10 cm) contendo um quilo de solo autoclavado e 200 g de palha de cana, cada (Figura 12). Em seguida pulverizou-se 200 JIs/larva (diluídos em 450 mL de vinhoto 50%) sobre as bandejas com



larvas, então foram colocadas armadilhas de emergência sobre os recipientes para se observar a possível emergência de adultos da mosca (Figura 13). No grupo controle não havia NEPs, apenas vinhaça. Utilizou-se JIs de *H. bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 em solução de vinhoto (aquecida a 35 °C) submetidos a pressão de 60 psi. O experimento foi mantido ao ar livre, em condições ambientais, porém em local com sombra; o experimento teve três repetições e foi observado diariamente durante 15 dias.



**Figura 12.** Recipientes plásticos contendo solo e palha de cana.



**Figura 13.** Armadilhas de emergência sobre bandejas plásticas contendo solo, palha de cana e larvas de *Stomoxys calcitrans* expostas a nematoides entomopatogênicos pulverizados em vinhoto.

### **3.8 Armadilhas de White**

Após a morte das larvas (nos experimentos 1 a 8), essas foram colocadas em armadilhas de White (WHITE, 1927) adaptadas, para que houvesse a confirmação da infecção pelos NEPs através da observação da presença do nematoide adulto no interior das larvas da mosca, provando assim que o ciclo se completou dentro das larvas mortas de *S. calcitrans*, e que os NEPs foram os causadores da morte.

### **3.9 Desenho Experimental e Análise Estatística**

#### **Em laboratório**

Os experimentos com água e vinhoto realizados em condições de laboratório (Exp. 1 a 8) foram randomizados em delineamento inteiramente ao acaso, com tratamentos arranjados em esquema fatorial (3 x 4) + 1, proveniente da combinação entre três espécies de nematoides entomopatogênicos (*H. bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7), quatro pressões (pressão atmosférica, 60, 70 e 80 psi) e um tratamento adicional (controle – sem NEPs), com seis repetições.

Primeiramente, os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de Bartlett. Quando observados os pressupostos, aplicou-se a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para comparação das médias dos grupos entre si, e o teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ) para a comparação de cada grupo com o grupo controle. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico R versão 4.0.2 (R CORE TEAM, 2022), e os gráficos foram confeccionados no software Prism GraphPad 9.5.1.

#### **Em condições ambientais**

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de Bartlett. Quando observados os pressupostos, aplicou-se a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para comparação das médias dos grupos entre si. As análises estatísticas e os gráficos foram realizados com auxílio do programa estatístico Prism GraphPad 9.5.1.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Experimentos em Água

Por meio da análise de variância (Tabela 1), identificou-se variações estatísticas em todos os experimentos conduzidos em água, indicando que, independentemente do substrato utilizado, os nematoides entomopatogênicos submetidos a diferentes pressões impactaram na mortalidade de *S. calcitrans*.

**Tabela 1** – Análise de variância (ANOVA) para a mortalidade de larvas de *Stomoxys calcitrans* infectadas por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização em água.

FV	GL	Quadrados médios			
		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4
NEPs (N)	2	495,4*	13926,4**	1181,4**	3200,4**
Pressão (P)	3	133,1 <sup>ns</sup>	581,5 <sup>ns</sup>	364,5 <sup>ns</sup>	543,5**
Interação N x P	6	330,4 <sup>ns</sup>	785,7**	51,7 <sup>ns</sup>	423,7**
Fatorial x Trat. Adicional	1	16566,5**	25756,5**	11868,5**	18115,7**
Resíduo		157,7	221,1	214,1	103,0
CV (%)		18,9	20,0	20,4	17,9

ns, \*, \*\* - efeito não significativo, significativo a 5% e significativo a 1% de chance de erro pelo teste F. FV – fontes de variação; GL – graus de liberdade; Exp. 1 – avaliação em água; Exp. 2 – avaliação em água e torta de filtro; Exp. 3 – avaliação em água e bagaço de cana-de-açúcar; Exp. 4 – avaliação em água e palha de cana-de-açúcar.

Foi possível observar a mudança de coloração das larvas da mosca na armadilha de White (Figura 14), tornando-se escuras devido a ação das bactérias oriundas dos nematoides entomopatogênicos (LEAL et al., 2017). Também foi possível observar a presença de nematoides adultos no interior das larvas da mosca (Figura 15).



**Figura 14.** Armadilha de White (1927) com larvas mortas da mosca-dos-estábulos após a infecção por nematoides entomopatogênicos.

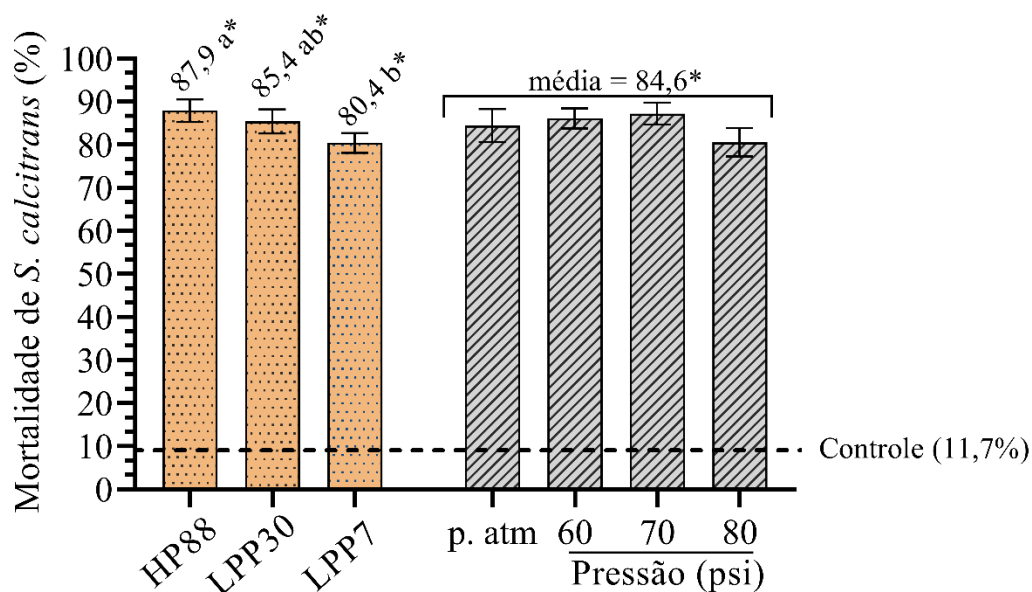


**Figura 15.** Nematoides entomopatogênicos adultos no interior da larva da mosca-dos-estâbulos.

### **Experimento 1- Experimento em água sem a presença de subprodutos de cana-de-açúcar**

Neste experimento não houve efeito significativo entre NEPs e pressões, havendo efeito isolado apenas para os nematoides; independentemente da pressão utilizada, a mortalidade média foi de 84,6%. As espécies *H. bacteriophora* HP88 e *H. indica* LPP30 foram as mais virulentas às larvas de *S. calcitrans*, apresentando médias de mortalidade superiores a 85%, sendo *H. bacteriophora* HP88 estatisticamente igual a *H. indica* LPP30, entretanto superior a *H. baujardi* LPP7. Entre as pressões às quais os NEPs foram submetidos, embora estatisticamente semelhantes entre si, essas aparentemente não afetaram a virulência dos NEPs, uma vez que todos os grupos formados foram superiores ao tratamento controle (Figura 16).





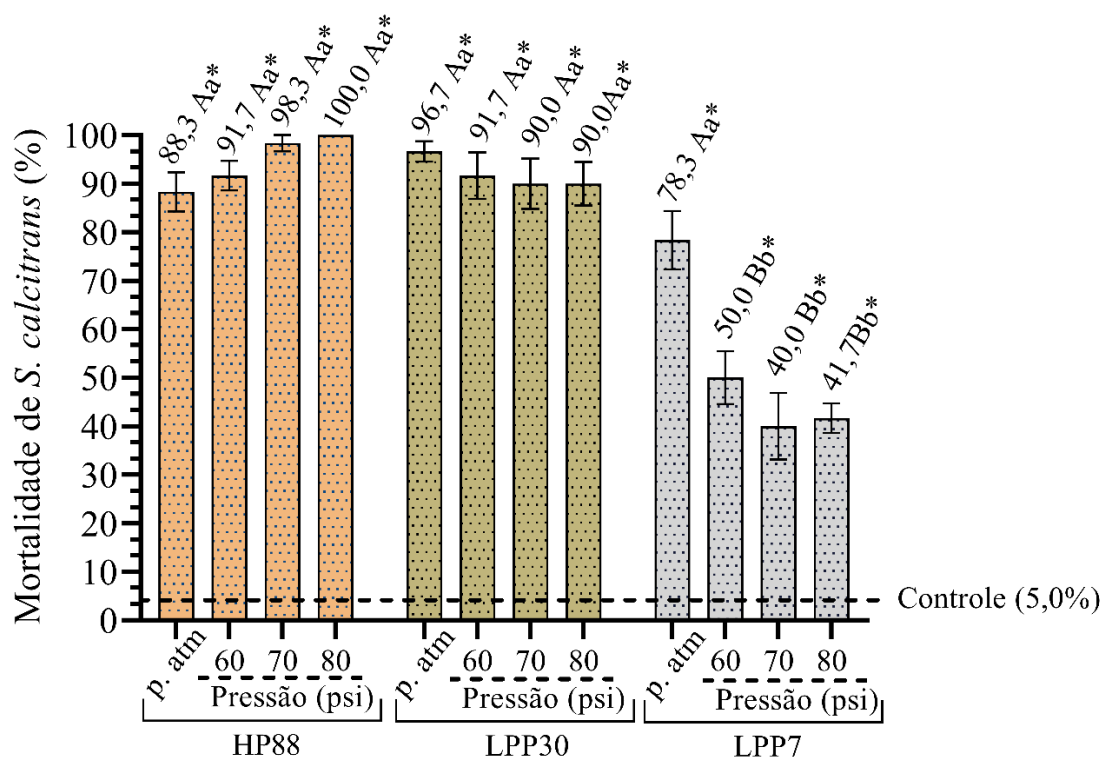
**Figura 16.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* indica diferença estatística do grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

## Experimentos com NEPs em água e subprodutos de cana-de-açúcar

### Experimento 2 - Exposição das larvas de *Stomoxys calcitrans* aos NEPs em torta de filtro

Em torta de filtro, as espécies de NEPs e as pressões avaliadas interagiram entre si. As espécies *H. bacteriophora* HP88 e *H. indica* LPP30 não foram afetadas pelas pressões as quais foram submetidas, indicando que o efeito dessas duas espécies de NEPs sobre a mortalidade de *S. calcitrans* não decaiu quando submetidas a pressões de até 80 psi. Esses resultados divergem do observado em *H. baujardi* LPP7, que apresentou queda na eficiência quando submetido a 60, 70 e 80 psi (Figura 17).

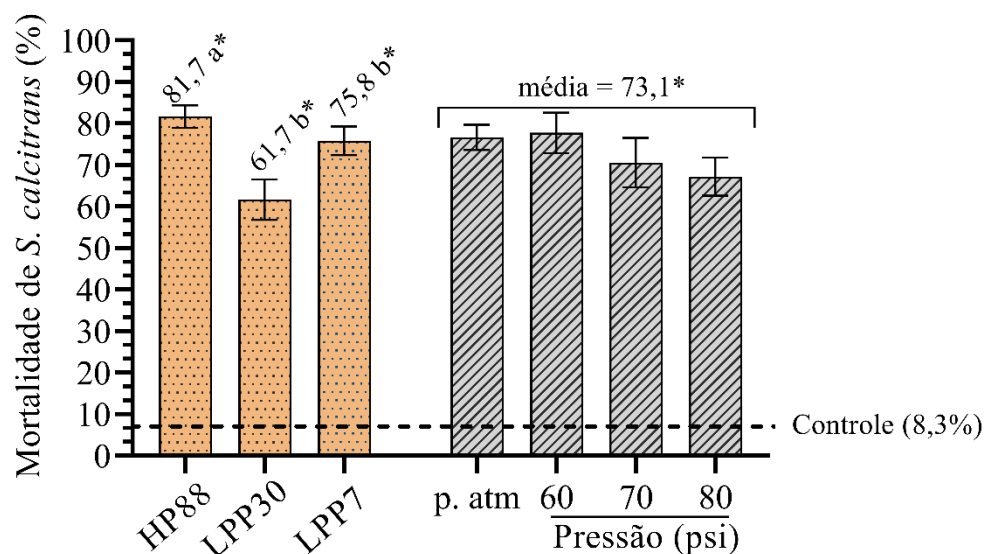
De modo geral, *H. bacteriophora* HP88 e *H. indica* LPP30, quando submetidos a diferentes pressões, foram mais eficientes que *H. baujardi* LPP7, indicando que este NEP é mais susceptível às pressões utilizadas no presente estudo. Porém, em condições normais de pressão (p. atm), os três NEPs não apresentaram diferenças entre si.



**Figura 17.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em torta de filtro por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água. Letras minúsculas comparam as pressões em cada nematoide, letras maiúsculas comparam os nematoides em cada pressão ( $p < 0,05$ ). \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

### Experimento 3 - Exposição das larvas de *Stomoxys calcitrans* aos NEPs em bagaço de cana-de-açúcar

Em bagaço de cana-de-açúcar não houve efeito significativo da interação entre NEPs e pressões, havendo apenas efeito isolado dos nematoides sobre a mortalidade das larvas da mosca, sendo *H. bacteriophora* HP88 (81,7%) o mais virulento, enquanto os demais NEPs não diferiram entre si. As pressões avaliadas, com média de 73,1% de mortalidade, não apresentaram variações entre si, indicando que as pressões não diminuíram a virulência dos NEPs, os quais, após submetidos a 60, 70 e 80 psi, mantiveram seu efeito nocivo às larvas da mosca, com média de mortalidade superior a 70% (Figura 18).

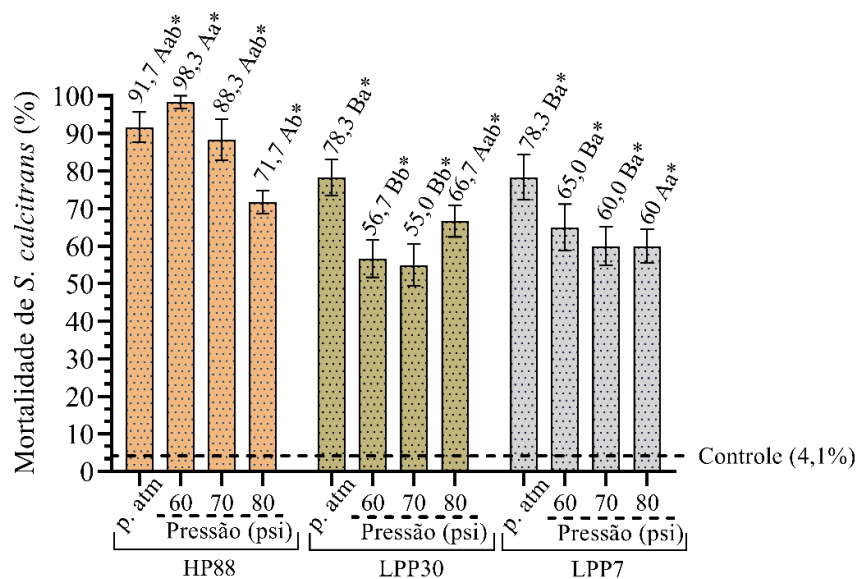


**Figura 18.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em bagaço de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

#### Experimento 4 - Exposição das larvas de *Stomoxys calcitrans* aos NEPs em palha de cana-de-açúcar

Em palha de cana-de-açúcar, os fatores testados interagiram entre si. Para *H. bacteriophora* HP88, a utilização de 80 psi provocou ligeira redução da virulência, causando mortalidade larvar de *S. calcitrans* de 71,7%, no entanto, até 70 psi, essa espécie causou a mortalidade das larvas da mosca em níveis superiores a 88%. Nas espécies *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7, a aplicação das pressões (60,70 e 80 psi) causou a redução na mortalidade das larvas, mesmo que os valores finais sejam significativamente mais altos comparados à mortalidade observada no grupo controle (4,1%) (Figura 19).

De modo geral, *H. bacteriophora* HP88 foi o mais eficiente quando associado a todas as pressões avaliadas.



**Figura 19.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em palha de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em água. Letras minúsculas comparam as pressões em cada nematoide, letras maiúsculas comparam os nematoides em cada pressão ( $p < 0,05$ ). \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2 Experimentos Utilizando Vinhoto a 50 %

Por meio da análise de variância (Tabela 2), identificou-se efeito significativo da interação entre NEPs e pressões apenas no experimento 8. Os efeitos isolados foram identificados nos experimentos 5 (NEPs) e 6 (NEPs e pressões). Já no experimento 7, os fatores avaliados não causaram variação na mortalidade das larvas da mosca, exceto quanto à interação entre os grupos em fatorial e o tratamento controle (Fatorial x Trat. Adicional), que também ocorreu nos demais experimentos.

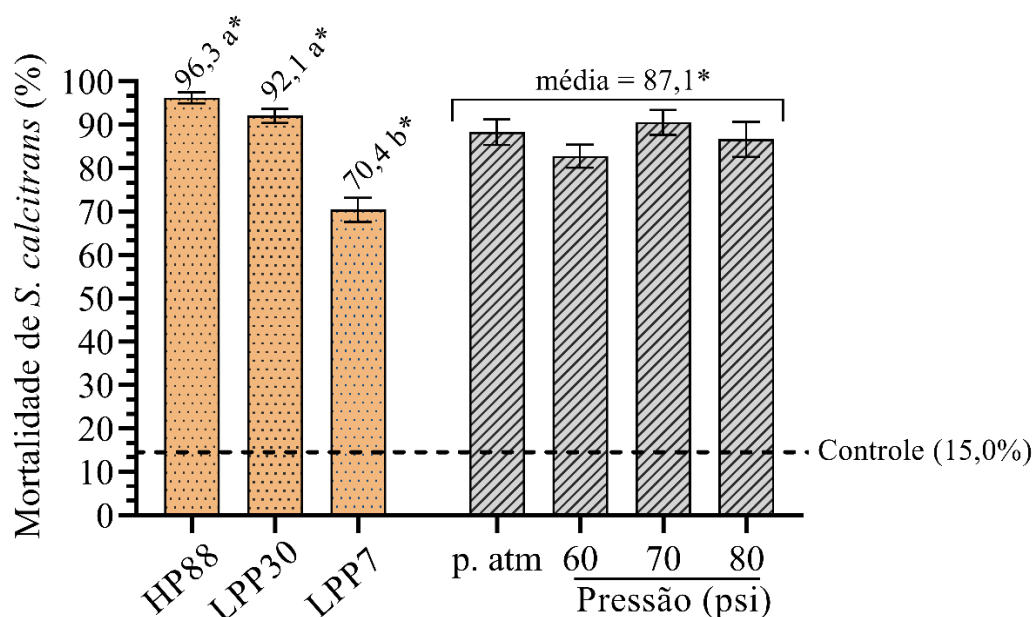
**Tabela 2** – Análise de variância (ANOVA) para a mortalidade de larvas de *Stomoxys calcitrans* infectadas por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de aspersão em vinhoto a 50%.

FV	GL	Quadrados médios			
		Exp. 5	Exp. 6	Exp. 7	Exp. 8
NEPs (N)	2	4616,7**	2712,5**	418,1 <sup>ns</sup>	1059,7**
Pressão (P)	3	105,1 <sup>ns</sup>	493,9**	271,8 <sup>ns</sup>	335,2**
Interação N x P	6	87,0 <sup>ns</sup>	99,5 <sup>ns</sup>	310,7 <sup>ns</sup>	172,7**
Fatorial x Trat. Adicional	1	28116,4**	27462,5**	27030,9**	25651,7**
Resíduo	65	104,1	91,8	198,5	57,2
CV (%)		12,6	14,4	21,3	10,2

ns, \*\* - efeito não significativo e significativo a 1% de chance de erro pelo teste F, respectivamente. FV – fontes de variação; GL – graus de liberdade; Exp. 5 – avaliação em vinhoto; Exp. 6 – avaliação em vinhoto e torta de filtro; Exp. 7 – avaliação em vinhoto e bagaço de cana-de-açúcar; Exp. 8 – avaliação em vinhoto e palha de cana-de-açúcar.

## Experimento 5 - Experimento em vinhoto sem a presença dos demais subprodutos de cana-de-açúcar

Foi observado que as pressões avaliadas, com média de 87,1%, não causaram variações na mortalidade larvar, indicando que a virulência dos NEPs não foi afetada quando esses foram submetidos a diferentes pressões. Todos os tratamentos tiveram médias de mortalidade superiores ao grupo controle sem NEPs (15,0%), sendo *H. bacteriophora* HP88 estatisticamente igual a *H. indica* LPP30, com médias de mortalidade superiores a 90%, e ambos superiores a *H. baujardi* LPP7 (70,4%) (Figura 20).

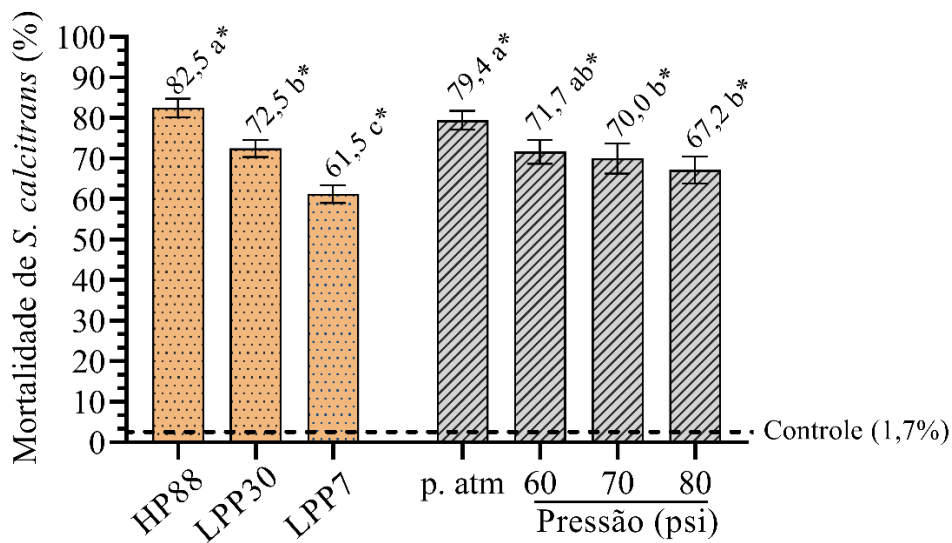


**Figura 20.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

## Experimentos com NEPs em vinhoto a 50% e subprodutos de cana-de-açúcar

### Experimento 6 - Exposição das larvas de *Stomoxys calcitrans* aos NEPs em torta de filtro

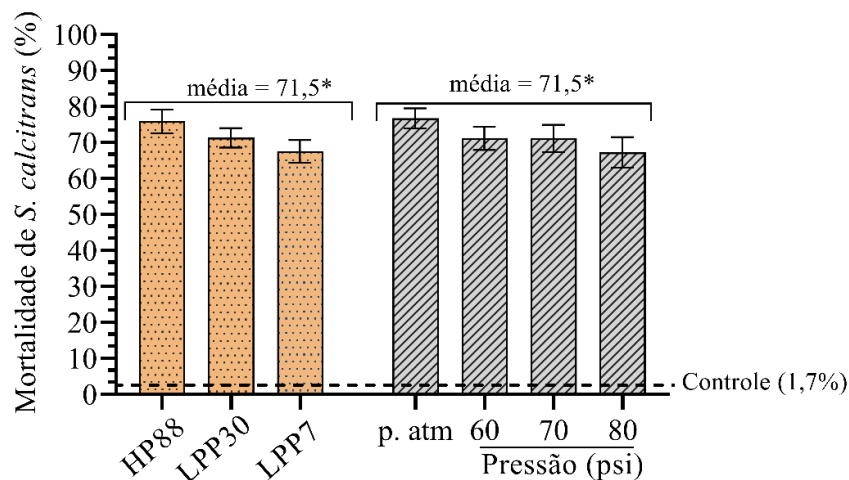
Em torta de filtro foi observado efeito isolado para os nematoides e para as pressões utilizadas. Assim, independentemente da pressão, o nematoide *H. bacteriophora* HP88 (82,5%) causou a maior mortalidade das larvas da mosca-dos-estábulo, seguido de *H. indica* LPP30 (72,5%) e de *H. baujardi* LPP7 (61,5%). Entre as pressões testadas, a virulência dos NEPs foi inferior a 70 e a 80 psi, quando comparadas à pressão atmosférica (79,4%). A 60 psi, a mortalidade das larvas (71,7%) apresentou comportamento similar às demais pressões. Todos os tratamentos testados apresentaram médias de mortalidade superiores ao apresentado no grupo controle sem NEPs (1,7%) (Figura 21).



**Figura 21.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em torta de filtro por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

### Experimento 7 - Exposição das larvas de *Stomoxys calcitrans* aos NEPs em bagaço de cana-de-açúcar

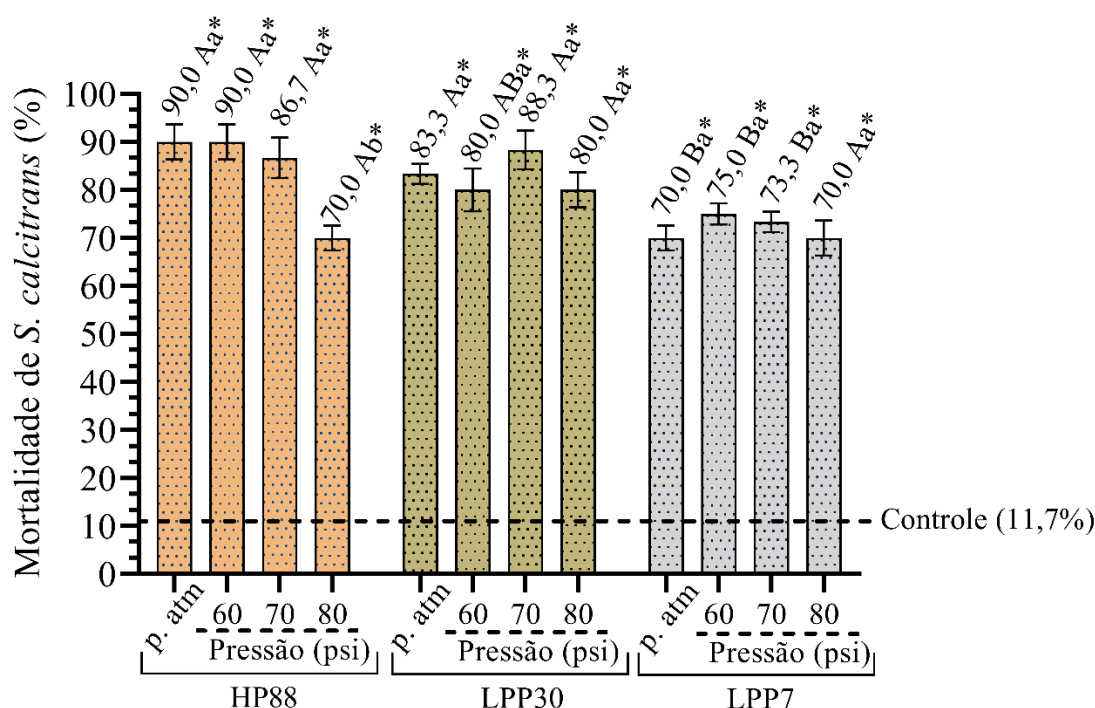
Em bagaço de cana, com média geral de 71,5%, os NEPs e as pressões avaliados não apresentaram variações sobre a mortalidade das larvas de *S. calcitrans*, embora todas as combinações entre NEP e pressão tenham sido significativamente superiores ao tratamento controle (1,7%) (Figura 22).



**Figura 22.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em bagaço de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%. \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

## Experimento 8 - Exposição das larvas de *Stomoxys calcitrans* aos NEPs em palha de cana-de-açúcar

Em palha de cana-de-açúcar, os fatores testados (NEPs e pressões) interagiram entre si. Para *H. bacteriophora* HP88, a utilização de 80 psi causou redução da virulência deste NEP, todavia, até 70 psi, essa espécie causou a mortalidade das larvas da mosca em níveis superiores a 86%. Na espécie *H. índica* LPP30 não houve diminuição da mortalidade larvar à medida que as pressões foram aumentando, uma vez que as taxas de mortalidade são estatisticamente iguais entre si para todas as pressões. Já para *H. baujardi* LPP7, a aplicação das pressões (60,70 e 80 psi) não afetou o desempenho deste nematoide, causando mortalidade das larvas igual ou superior a 70% (Figura 23). A mortalidade observada com *H. bacteriophora* HP88 foi igual a *H. índica* LPP30 em todas as pressões utilizados, porém quando comparou-se *H. bacteriophora* HP88 a *H. baujardi* LPP7, foi observado que *H. bacteriophora* foi superior a *H. baujardi* em todas as pressões, exceto em 80 psi, em que ambos foram estatisticamente iguais. O NEP *H. índica* LPP30 foi superior a *H. baujardi* LPP7 nas pressões atmosférica (Patm) e 70 psi, entretando iguais em 60 e 80 psi. Todos os grupos tratados foram superiores ao grupo controle sem NEPs (11,7%).



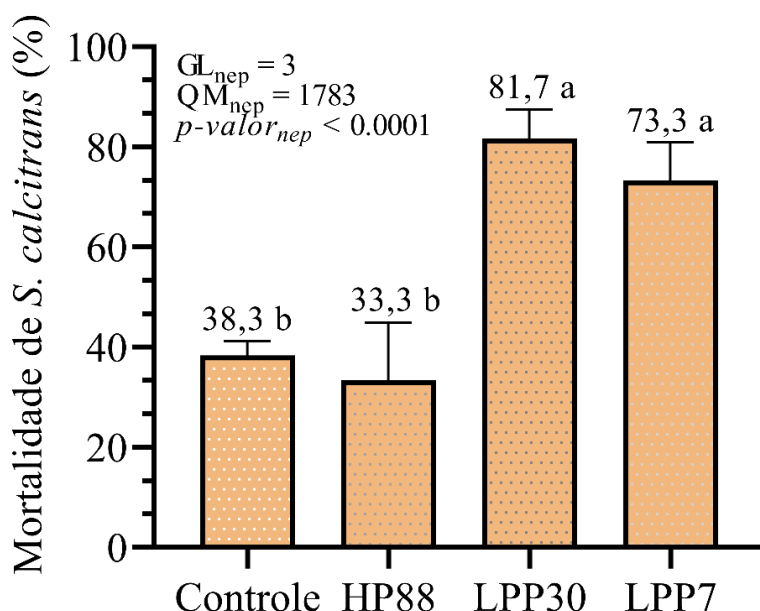
**Figura 23.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em palha de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos a diferentes pressões de pulverização, em vinhoto a 50%. Letras minúsculas comparam as pressões em cada nematoide, letras maiúsculas comparam os nematoides em cada pressão ( $p < 0,05$ ). \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

## Experimento 9 - Pulverização de NEPs (diluídos em vinhoto a 50%) sobre larvas de *S. calcitrans* em bandejas plásticas contendo palha de cana-de-açúcar

Em condições ambientais, quando pulverizados com vinhaça a 60 psi sobre bandejas contendo larvas da mosca-dos-estábulo em palha de cana, o NEP *H. bacteriophora* HP88



apresentou taxa de mortalidade de 33,3%, não havendo diferença estatística para grupo controle (38,3%). Já os NEPs *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 causaram taxas de mortalidade de 81,7% e 73,3%, respectivamente; sendo ambos superiores a *H. bacteriophora* HP88 e ao grupo controle, porém iguais entre si nessas condições (Figura 24).



**Figura 24.** Mortalidade larvar de *Stomoxys calcitrans* em palha de cana-de-açúcar por *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 submetidos à pressão de pulverização de 60 psi, em vinhoto a 50% em condições ambientais. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os nematoides entomopatogênicos têm se mostrado eficazes contra variadas famílias de dípteros de importância econômica e sanitária. Cardoso et al. (2015) relataram altas taxas de mortalidade larvar de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) quando expostas a *Heterorhabditis indica* LPP35, *H. indica* LPP1 e *H. baujardi* LPP31. Minas (2008) descreveu taxas de mortalidade larvar de *Ceratitis capitata* (Diptera: Thephritidae) superiores a 80% quando as larvas desta mosca foram expostas a *H. baujardi* LPP7. Aatif et al. (2019), utilizaram NEPs para o controle de larvas de terceiro instar de *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Thephritidae), os autores observaram mortalidade de 69,42% quando as larvas foram expostas a *H. bacteriophora*.

Bream et al. (2018) em estudo sobre ação de *H. bacteriophora* sobre larvas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), observaram mortalidade larvar de 100%, demonstrando grande potencial desta espécie de NEP frente as larvas da mosca doméstica. Mahmoud et al. (2007), utilizaram *Steinernema feltiae* para o controle de larvas de terceiro instar de *S. calcitrans*, os autores observaram mortalidade larvar variando de 16,6% a 25%, na concentração de 200 NEPs/larva.



Leal et al. (2017) relataram que os NEPs *H. bacteriophora* HP88 e *H. baujardi* LPP7, na concentração de 200 NEPs/larva, causaram mortalidade de 96,7% e 93,3%, respectivamente, às larvas de *S. calcitrans*. Os referidos autores usaram NEPs diluídos em água destilada, tal qual os experimentos 1 a 4 do presente estudo, onde foi possível observar que no experimento 1, a mortalidade causada por *H. bacteriophora* HP88 foi de 87,9%, enquanto que *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 apresentaram taxas de mortalidade de 85,4% e 80,4%, respectivamente (Figura 16).

As taxas de mortalidade apresentadas pelos NEPs no estudo de Leal et al. (2017) foram superiores aos encontrados no presente estudo, porém o que pode ter impactado na ação dos NEPs, no presente estudo, é a presença de subprodutos de cana, pois no estudo de Leal et al. (2017) não houve a adição de nenhum subproduto oriundo da indústria sucroalcooleira, além dos NEPs não terem sido submetidos a um sistema de pressão.

No estudo de Monteiro-Sobrinho et al. (2021), foi observado que os NEPs *H. bacteriophora* HP88 e *H. baujardi* LPP7 causaram mortalidade larvar de 91,7% e 35,0%, respectivamente, quando as larvas da mosca-dos-estábulo foram expostas por até 48 horas a esses agentes; esses resultados são próximos aos encontrados para *H. bacteriophora* HP88 no presente estudo (87,9%), porém, bastante inferiores para *H. baujardi* LPP7 (80,4%) (Figura 16), talvez isso tenha ocorrido porque o NEP *H. baujardi* LPP7 necessita de mais tempo para causar taxas mais elevadas de mortalidade, sendo 48 horas insuficientes para esse nematoide expressar todo o seu potencial larvicida.

Monteiro-Sobrinho et al. (2016) observaram que em torta de filtro, em água, o NEP *H. bacteriophora* HP88 (200 NEPs/larva) foi capaz de causar mortalidade de 83,3% das larvas de *S. calcitrans*, porém sem ter passado por um sistema de pressão, esse resultado é próximo aos encontrados no presente estudo (experimento 2), onde a mortalidade larvar variou de 88% a 100% (Figura 17), mesmo nas pressões mais altas, indicando que independente do aumento de pressão, o nematoide *H. bacteriophora* HP88 foi capaz de causar a morte das larvas da mosca em níveis consideráveis. Estes achados estão de acordo com os encontrados por Monteiro-Sobrinho et al. (2023), onde o NEP em questão causou 83% de mortalidade às larvas de *S. calcitrans* de oito dias de idade em torta de filtro.

*H. indica* LPP30 apresentou comportamento parecido com o observado para *H. bacteriophora* HP88 no presente estudo, enquanto *H. baujardi* LPP7 causou taxas de mortalidade inferiores àquela observada por Monteiro-Sobrinho et al. (2016), variando de 40,0% a 78,3% (Figura 17), com diminuição de sua virulência a medida que a pressão aumentou, demonstrando que nessas condições *H. baujardi* LPP7 é menos virulento que os demais NEPs utilizados.

Monteiro-Sobrinho et al. (2023) relataram que *H. baujardi* LPP7 causou mortalidade de 80% das larvas (quatro dias de idade) da mosca-dos-estábulo, demonstrando que quanto mais jovem a larva, mais susceptível ela é à ação dos NEPs, uma vez que *H. baujardi* LPP7 causou mortalidade de apenas 53% das larvas com oito dias de idade, mesmo sem esse NEP ter passado por um sistema de pressão. Mesmo que *H. baujardi* LPP7, em torta de filtro, não cause taxas de mortalidade larvar superiores àquelas causadas por *H. bacteriophora* HP88 e *H. indica* LPP30, ainda assim esses resultados são superiores aos apresentados em outros estudos visando o controle biológico de larvas da mosca-dos-estábulo (MORAES et al., 2008; ALVES et al., 2012).

Em bagaço de cana-de-açúcar, Monteiro-Sobrinho et al. (2023) relataram que *H. bacteriophora* HP88 (500 NEPs/larva) causou mortalidade de aproximadamente 90% das larvas da mosca-dos-estábulo, sendo mais virulento que *H. baujardi* LPP7 (60%) na mesma concentração de NEPs; estes resultados estão de acordo com os encontrados no presente estudo

(experimento 3), onde *H. bacteriophora* HP88 (81,7%) foi mais virulento que *H. indica* LPP30 (61,7%) e *H. baujardi* LPP7 (75,8%), sendo ambos estatisticamente iguais entre si (Figura 18). No experimento 3, as pressões não tiveram efeito nocivo sobre os NEPS, mesmo nas mais altas.

Em palha de cana-de-açúcar (em água) (experimento 4), todas as espécies de nematoides testadas causaram taxas de mortalidade larvar superiores a 60%, sendo que em 60 psi, *H. bacteriophora* HP88 alcançou taxa de mortalidade de 98,3% (Figura 19), demonstrando que os NEPs são capazes de infectar e matar as larvas da mosca no substrato mais importante (junto ao vinhoto) na dinâmica dos surtos da mosca-dos-estábulo associados à indústria sucroalcooleira (CORRÊA et al., 2013).

Os estudos envolvendo a relação entre nematoides entomopatogênicos, vinhaça e mosca ainda são escassos na literatura científica. Monteiro-Sobrinho et al (2023) observaram que os NEPs *H. bacteriophora* HP88 e *H. baujardi* LPP7 foram resistentes a diferentes concentrações de vinhaça (50% e 100%), sendo o *H. bacteriophora* HP88 superior ao *H. baujardi* LPP7 em ambas as concentrações, causando morte de mais de 96% das larvas de *S. calcitrans*. Esses resultados estão de acordo com o presente estudo (experimento 5), onde *H. bacteriophora* HP88, em vinhoto diluído a 50%, causou mortalidade de 96,3% das larvas da mosca-dos-estábulo, independente da pressão utilizada, enquanto o *H. baujardi* LPP7 causou mortalidade larvar de 70,4% (Figura 20), valor praticamente idêntico ao encontrado para o mesmo NEP (70%) no referido estudo. Faz-se necessário salientar que no estudo de Monteiro-Sobrinho et al. (2023), os NEPs não foram submetidos a um sistema de pressão, e mesmo assim os resultados do presente estudo foram semelhantes aos encontrados pelos autores supracitados, demonstrando que, aparentemente, os NEPs são compatíveis com o sistema de fertirrigação por aspersão/pulverização utilizado nos canaviais.

Em torta de filtro e vinhaça (experimento 6), os resultados encontrados foram deveras promissores, uma vez que todos os NEPs causaram taxas de mortalidade larvar superiores a 60% em todas as pressões utilizadas, sendo *H. bacteriophora* HP88 (82,5%) e *H. indica* LPP30 (72,5%) os mais virulentos, com o *H. baujardi* LPP7 sendo inferior a ambos, porém causando mortalidade de mais de 60% das larvas da mosca-dos-estábulo, independente da pressão utilizada (Figura 21). Assim, compreende-se que futuramente as estratégias de controle para *S. calcitrans* em torta de filtro poderão também utilizar os NEPs, uma vez que se mostraram eficientes neste substrato que possui grande importância na dinâmica de explosões populacionais da mosca (CORRÊA et al., 2013).

De acordo com Corrêa et al. (2013), o bagaço de cana é o substrato com menor potencial para o desenvolvimento de estágios imaturos da mosca-dos-estábulo. Antes considerado um subproduto que trazia problemas, seu atual aproveitamento abrange ração animal, fertilizantes, matéria-prima para indústria química e co-geração de energia, uma de suas principais aplicações (SILVA et al., 2010), tornando-o menos importante nos surtos de *S. calcitrans*. Entretanto, este substrato não deve ser considerado inócuo, uma vez que a disposição do bagaço excedente forma pilhas ao ar livre, favorecendo assim a fermentação e a decomposição desse material e atraindo adultos de *S. calcitrans*, tornando-se necessário estudar a ação dos NEPs sobre larvas da mosca neste subproduto. No presente estudo (experimento 7) foi possível observar que *H. bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7, em bagaço, não diferiram estatisticamente entre si, causando mortalidade larvar média de 71,5%, independente da pressão utilizada (Figura 22).

Ao contrário do bagaço de cana, a interação entre palha com vinhaça é capaz de gerar grande quantidade de moscas (CORRÊA et al., 2013; SOUZA et al., 2021), somente produzindo menos moscas por m<sup>2</sup> que a torta de filtro, todavia, a área recoberta por palha com vinhaça é consideravelmente superior à área com torta de filtro, fazendo com que palha e vinhaça sejam os

principais subprodutos na dinâmica de explosões populacionais de *S. calcitrans* nos canaviais brasileiros (CORRÊA et al., 2013). Neste cenário, os NEPs têm se mostrado capazes de resistir à diferentes concentrações de vinhaça (*in vitro*), causando mortalidade considerável contra larvas da mosca-dos-estábulo (MONTEIRO-SOBRINHO et al., 2023). No presente estudo (experimento 8) foi possível observar que em palha de cana com vinhoto, os NEPs foram capazes de suportar tanto a vinhaça a 50% quanto as diferentes pressões de pulverização testadas, causando mortalidade larvar de *S. calcitrans* em níveis superiores a 85% para *H. bacteriophora* HP88, 80% para *H. indica* LPP30 e 70% para *H. baujardi* LPP7 (Figura 23). Assim, os NEPs foram capazes de infectar e matar larvas da mosca-dos-estábulo nos subprodutos mais importantes associados à indústria sucroalcooleira (CORRÊA et al., 2013), nas pressões comumente utilizadas na fertirrigação dos canaviais (TESTEZLAF, 2017).

Lara et al. (2008a) submetaram *H. baujardi* LPP7 a um sistema de irrigação por microaspersão com 20-35 psi, tendo sido observado que além de o NEP resistir às pressões utilizadas, esses organismos foram capazes de causar 85% de mortalidade larvar em *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Já no presente estudo, com *S. calcitrans*, a mesma espécie de NEP utilizada por Lara et al. (2008a) foi capaz de causar taxas de mortalidade superiores a 60% em praticamente todos os ensaios biológicos. A maior mortalidade causada a *G. mellonella* que a *S. calcitrans* talvez se deva ao fato de que *G. mellonella* seja consideravelmente mais susceptível a ação dos NEPs do que a mosca-dos-estábulo, uma vez que é costumeiramente utilizada na manutenção *in vivo* de colônias de NEPs (LINDEGREN et al., 1993). Além disso, as pressões utilizadas no presente estudo são bastante superiores às usadas por Lara et al. (2008a); entretanto, Lara et al. (2008b), observaram que *H. baujardi* LPP7 foi capaz de tolerar pressões de até 340 psi, bastante superior às utilizadas no presente estudo.

Fife et al. (2003) relataram que *H. bacteriophora* pode suportar pressões de até 290 psi, todavia, esses autores observaram que a viabilidade de *H. bacteriophora* decresceu à medida que a pressão aumentou para limites além de 180 psi. Segundo Grewal (2002), os NEPs, de forma geral, não devem ser submetidos a pressões superiores a 300 psi. Desta forma, é provável que NEPs submetidos a pressões tão altas não causariam taxas de mortalidade consideráveis em *S. calcitrans*, principalmente *H. baujardi* LPP7, que se mostrou sensível ao aumento de pressão em alguns ensaios biológicos no presente estudo.

A pressão de pulverização escolhida para ser utilizada no experimento 9 foi a de 60 psi, pois em condições laboratoriais (Experimento 8), os NEPs quando submetidos a esta pressão não apresentaram queda em sua eficácia (figura 23). Quando os NEPs foram testados em condições ambientais (Experimento 9) foi observado que a virulência de *H. bacteriophora* HP88 decaiu consideravelmente, causando às larvas de *S. calcitrans* taxa de mortalidade de 33,3% (Figura 24). Este resultado é bastante inferior aos encontrados em condições laboratoriais no presente estudo, o que talvez tenha ocorrido devido à grande variação de temperatura e umidade durante os 15 dias em que ocorreu o experimento em questão (11 a 26 de janeiro de 2024), onde as temperaturas na cidade de Seropédica-RJ chegaram a picos de aproximadamente 40 °C (INMET, 2024) (Anexo A), e umidade relativa variando em torno de 60 a 95%, com mínimas de aproximadamente 35% (INMET, 2024) (Anexo B).

Os fatores citados acima podem ter afetado negativamente a ação de *H. bacteriophora* HP88, pois este NEP aparentemente não suportou as altas temperaturas e a variação de umidade encontradas durante o verão na região da Baixada Fluminense do Estado no Rio de Janeiro, sendo a temperatura provavelmente o mais importante e impactante fator, uma vez que o experimento 9 continha vinhaça, mantendo assim a umidade necessária para os nematoides. Monteiro-Sobrinho et al. (2023) relataram que *H. bacteriophora* HP88 em temperaturas variando de 16 a 35 °C, em vinhoto a 50% (em laboratório), foi capaz de causar mortalidade média de

97,8% das larvas da mosca-dos-estábulo. Isso talvez tenha explicação na origem deste nematoide, oriundo do Estado de Nova Jersey, nos Estados Unidos da América (ALVES et al., 2009), região de clima temperado, mostrando que este agente é mais efetivo em temperaturas iguais ou inferiores a 35 °C.

De fato, a principal limitação para a implementação de programas de controle utilizando NEPs em regiões tropicais, é a sensibilidade destes organismos às elevadas temperaturas destas regiões, alterando a mobilidade, sobrevivência, desenvolvimento, reprodução e capacidade de infecção destes organismos (DUNPHY; WEBSTER, 1986). De acordo com Mukuka et al. (2009) e Ulu e Susurluk (2013), *H. bacteriophora* pode ser severamente danificado em temperaturas próximas ou superiores a 40 °C. Por isso é importante pesquisar e utilizar espécies de NEPs nativas, já que são adaptadas as condições climáticas do local (DOLINSKI; MOINO-Jr, 2006).

Ao contrário de *H. bacteriophora* HP88, os NEPs *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7, são nativos do território brasileiro, sendo *H. indica* LPP30 oriundo de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro (MINAS, 2012); enquanto que *H. baujardi* LPP7 é nativo da floresta amazônica, tendo sido isolado em Monte Negro, Rondônia (DOLINSKI et al., 2008).

*H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 causaram altas taxas de mortalidade às larvas de *S. calcitrans*, quando em condições ambientais (Figura 24). Estes nematoides apresentaram taxas de mortalidade próximas às encontradas nos ensaios biológicos em laboratório no presente estudo, mostrando que estas espécies aparentemente não sofreram com as altas temperaturas e a variação de umidade que acometeram o Estado do Rio de Janeiro em janeiro de 2024. Estas temperaturas são bastante semelhantes às encontradas durante o verão na região Centro-Oeste do Brasil (MARCUIZZO et al., 2012), onde surtos da mosca-dos-estábulo vêm ocorrendo com frequência nas últimas décadas (BARROS et al., 2023), demonstrando que futuramente *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 poderão ser empregados em programas de controle de *S. calcitrans*, mesmo durante os períodos mais quentes do ano.

## 5 CONCLUSÕES

Conclui-se que os NEPs *H. bacteriophora* HP88, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 são capazes de infectar e matar as larvas da mosca-dos-estábulo nos variados subprodutos de cana-de-açúcar, quando submetidos a pressões de pulverização distintas, em laboratório.

Em condições ambientais, *H. indica* LPP30 e *H. baujardi* LPP7 são eficazes contra larvas da mosca-dos-estábulo, enquanto *H. bacteriophora* HP88 não apresenta semelhante eficácia.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os nematoides demonstraram resistência às pressões de pulverização utilizadas, matando as larvas da mosca-dos-estábulo mesmo quando submetidos à maior pressão (80 psi) avaliada neste estudo. Ou seja, os NEPs suportaram e se mantiveram infectantes nas pressões utilizadas na fertirrigação dos canaviais no Brasil, tanto apenas em água como na presença de diferentes subprodutos de cana-de-açúcar, podendo a sua utilização no campo ser uma opção interessante. Entretanto, antes de utilizá-los diretamente no canavial, visando o controle da mosca, é preciso avaliar como os NEPs se comportarão frente aos fatores abióticos que podem causar efeitos negativos na virulência destes agentes. Enfim, os nematoides entomopatogênicos se mostraram eficazes contra larvas de *S. calcitrans*, e futuramente podem ser utilizados em programas de controle biológico ou integrado da mosca-dos-estábulo, ajudando assim a diminuir os problemas econômicos, sanitários e sociais oriundos da ação deste artrópode.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AATIF, H. M.; HANIF, M. S.; FERHAN, M.; RAHEEL, M.; SHAKEEL, Q.; ASHRAF, W.; ULLAH, M. I.; ALI, S. Assessment of the entomopathogenic nematodes against maggots and pupae of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), under laboratory conditions. **Egypt J Biol Pest Control**, v.29, p.51-55, 2019.
- ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed., São Paulo: FEALQ. 1998. 1163p.
- ALVES, L. F.; ROHDE, A. C.; ALVES, V. S. Patogenicidade de *Steinernema glaseri* e *S. carpocapsae* (Nematoda: Rhabditida) contra o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotrop Entomol**, v.34, p.139-141. 2005.
- ALVES, P. S.; MORAES, A. P. R.; SALLES, C. M. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; BITTENCOURT, A. J. *Lecanicillium lecanii* no controle de estágios imaturos de *Stomoxys calcitrans*. **Braz J Vet Med**; 34(Suppl S1): 66-72, 2012.
- ALVES, V. S.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; ANDALÓ, V.; SOUZA, G. C. Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. **Arq. Inst. Biol.** v.76, n.1, p.67-73, 2009.
- ARCHANA, M.; D'SOUZA, P.E.; PATIL, J. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) on developmental stages of house fly, *Musca domestica*. **J Parasit Dis**, v. 41, p. 782-794, 2017.
- ARRIAGA, A. A. M.; CORTEZ-MADRIGAL, H. Susceptibility of *Musca domestica* larvae and adults to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) native to Mexico. **J Vec Ecol**, p. 312-320. 2018.
- BADINI, P. V.; MORAES, A. P. R. CASTRO, B. G.; ALMEIDA, C. R. R.; SOUZA, M. M. S.; BITTENCOURT, A. J. Avaliação da capacidade de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) em carrear bactérias envolvidas nas etiologias das mastites no município de Rio Claro – RJ. In: XIV JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, 2004. Seropédica. **Anais[...]**. Seropédica: Editora da Universidade Rural, 2004. v.14, n.1, p.443-448.
- BADINI, P. V.; MORAES, A. P. R.; SILVA, R. T.; BITTENCOURT, A. J. Parasitismo por *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) associado a diferentes regiões do corpo e pelagem de vacas leiteiras do município de Resende – RJ. In: XIII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, 2003. Seropédica. **Anais[...]** Seropédica: Editora da Universidade Rural, 2003. v.13, n.1, p.335-338.
- BAILEY, D. L.; WHITFIELD, T. L.; SMITTLE, B. J. Flight and dispersal of stable fly. **J Econ Entomol**, v.66, n.2, p.410-411, 1973.
- BALDACCHINO, F.; MUENWORN, V.; DESQUESNES, M.; DESOLI, F.; CHAROENVIRIYAPHAP, T.; DUVALLET, G. Transmission of pathogens by *Stomoxys* flies (Diptera, Muscidae): a review. **Parasite**, 20:26, 2013. doi: 10.1051/parasite/2013026. Epub 2013 Aug 29. PMID: 23985165; PMCID: PMC3756335.

BALEBA, S. B. S.; MASIGA, D.; TORTO, B.; WELDON, C. W.; GETAHUN, M. N. Effect of larval density and substrate quality on the wing geometry of *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae). **Parasit Vectors**, v.12, n.1, p.222, 2019.

BARROS, A. T. M.; KOLLER, W. W.; CATTO, J. B.; SOARES, C. O. Surtos por *Stomoxys calcitrans* em gado de corte no Mato Grosso do Sul. **Pesq Vet Bras**, v.30, n.11, p.945-952, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010001100008>.

BARROS, A. T. M.; RODRIGUES, V.D.; CANÇADO, P.H.D.; DOMINGUES, L.N. Resistance of the stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae), to cypermethrin in outbreaks areas in Midwestern Brazil. **Braz J Vet Parasitol**, v. 28, n.4, p. 802-806, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612019089>. PMID:31691737

BARROS, A. T. M.; SOARES, F. G.; BARROS, T. N.; CANÇADO, P. H. D. Stable fly outbreaks in Brazil: a 50-year (1971-2020) retrospective. **Braz J Parasitol Vet**, 32(2), e015922, 2023. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023017>.

BARROS, A. T. M.; SOUZA, T. F.; CANÇADO, P. H. D. Metodologia para bioensaios com imaturos de *Stomoxys calcitrans*. Congresso brasileiro de parasitologia veterinária. Gramado. 2014. **Anais[...]** Gramado. Disponível: [http://www.cbpv.org.br/congressos/parasitologia\\_2014\\_anais\\_online/trabalhos/trabalho\\_1471.html](http://www.cbpv.org.br/congressos/parasitologia_2014_anais_online/trabalhos/trabalho_1471.html).

BENIGNO, R. N. M. **Classificação etária, fisiológica e comportamento alimentar de acordo com o sexo e desenvolvimento ovariano em *Stomoxys calcitrans* (L.) (DIPTERAMUSCIDAЕ)**. 1987. 96f. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1987.

BITTENCOURT, A. J. **Aspectos clínico-epidemiológicos de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) em bovinos e equinos no município de Espírito Santo do Pinhal – SP**. 1998. 120p. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1998.

BITTENCOURT, A. J. Avaliação de surtos e medidas de controle ambiental de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) na Região Sudeste do Brasil. **Rev Bras Med Vet**, v.34; supl.1; p.73-82, 2012.

BITTENCOURT, A. J.; MOYA BORJA, G. E. Flutuação sazonal de *Stomoxys calcitrans* em bovinos e equinos no Município de Espírito Santo do Pinhal. **Rev Univ Rural – Sér Ci Vida**, v.22, p.101-106, 2000.

BITTENCOURT, A. J.; MOYA BORJA, G. E. *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera, Muscidae): preferência por locais do corpo de bovinos para alimentação. **Rev Bras Zootecias**, v.4, n.1, p.75-83, 2002.

BISHOPP, F. C. The stable fly (*Stomoxys calcitrans*: L.) an important livestock pest. **J Econ Entomol**, v.6, n.1, p.112-116, 1913.

BREAM, A. S.; FOUDA, M.A.; IBRAHIM E. SHEHATA, I.E.; RAGAB, S.H. Evaluation of four entomopathogenic nematodes as biological control agents against the housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Egypt Acad J Biolog Sci (A. Entomology)**, v.11(1), p.79-89, 2018.

- BURNELL, A.N.N.M.; STOCK, S.P. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts-lethal pathogens of insects. **Nematology**. v. 2, p. 31-42, 2000.
- BUSSOLA, R. A.; TAVARES, F. M.; GOULART, R. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; AMBROS, C. M. G. Avaliação do nematoide *Heterorhabditis* sp. em cultura de violetas contra larvas de *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae). **Arq Inst Biol**, v.71, p.113-114, 2004.
- BRASIL. Presidência da República. **Decreto nº 2.661, de 8 de julho de 1998**. Dispõe sobre normas de regulamentação relativas ao emprego do fogo em práticas agropastoris e florestais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Jul, 1998. Disponível em: <<http://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=DEC&numero=2661&ano=1998&ato=373ETUE50dNpWT98a>>. Acesso em 08/09/2023.
- BROCE, A. B.; HOGSETTE, J.; PAISLEY, S. Winter feeding sites of hay in round bales as major developmental sites of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) in pastures in Spring and Summer. **J Econ Entomol**, v. 98, n. 6, p. 2307-2312, 2005.
- BRUCE, W. N.; DECKER, G. C. The relationship of stable fly abundance to milk production in dairy cattle. **J Econ Entomol**, v.51, n.3, p.269-274, 1958.
- BRUNO, T. V.; GUIMARÃES, J. H.; SANTOS, A. M. M. D. & TUCCI, E. C. Synantropic flies (Diptera) and their predators breeding in poultry manure in the state of São Paulo, Brazil. **Rev Bras Entomol**, v.37, n.3, p.577-590, 1993.
- BURALLI, G. M.; BORN, R. H.; GEROLA, O.; PIMONT, M. P. Soil disposal of residues and the proliferation of flies in the State of São Paulo. **Water Sci Technol**, v.19, n.8, p.121-125, 1987.
- CAMPBELL, J. B.; BERRY, I. L.; BOXLER, D. J.; DAVIS, R. L.; CLANTON, D. C.; DEUTSCHER, G. H.; Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) on weight gain and feed efficiency of feedlot cattle. **J Econ Entomol**, v.80, n.1, p.117-119, 1987.
- CAMPBELL, J. B.; WHITE, R. G.; WRIGHT, J. E.; CROOKSHANK, R.; CLANTON, D. C. Effects of stable flies on weight gain and feed efficiency of calves on growing or finishing rations. **J Econ Entomol**, v.70, n.5, p.592-594, 1977.
- CARDOSO, D. O.; GOMES, V. M.; DOLINSKI, C.; SOUZA, R. M. Potential of entomopathogenic nematodes as biocontrol agents of immature stages of *Aedes aegypti*. **Nematoda**, 2:e092015, 2015. <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.09015>.
- CARRERA, M. **Insetos de interesse Médico Veterinário**. Curitiba: Editora da UFPR, 1991, 228p.
- CASTRO, B. G.; SOUZA, M. M. S.; BITTENCOURT, A. J. Microbiota bacteriana em segmentos de mosca do estábulo *Stomoxys calcitrans* no Brasil: Primeiro relato de espécies. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v.60, n.3, p.1029-1031, 2008.
- CASTRO, B. G.; SOUZA, M. M. S.; RÉGUA-MANGIA, A.H.; BITTENCOURT, A. J. Caracterização genotípica de amostras de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v.63, n.2, p.515-517, 2011.

CARVALHO, M. R. **Dicionário Tupi (antigo) - Português**. Salvador, 1987. Disponível em: [Dicionário tupi \(antigo\)-português \(Carvalho 1987\) - Biblioteca Digital Curt Nimuendajú \(etnolinguistica.org\)](http://www.etnolinguistica.org).

CHAGAS, W. N.; MORAES, A. P. R.; LOPES, C. W. G.; BITTENCOURT, A. J. Alterações histopatológicas e hematológicas causadas em coelhos infestados experimentalmente com *Stomoxys calcitrans*. **Rev Bras Med Vet**, v.33, n.3, p.165-170, 2011.

CHRISTMAS, P. E. Laboratory rearing of the biting fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **N Z Entomol**, v.4, n.4, p.45-49, 1970.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Boletim da safra de cana-de-açúcar-Safra 2022/2023- 4º levantamento**, 2023. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>.

COOK, D. F.; DADOUR, I. R.; KEALS, N. J. Stable fly, house fly (Diptera: Muscidae), and other nuisance fly development in poultry litter associated with horticultural crop production. **J Econ Entomol**, v. 92, n. 6, p. 1352-1357, 1999.

COOK, D. F.; JENKINS, S. N.; ABBOTT, L. K.; D'ANTUONO, M. F.; TELFER, D. V.; DEYL, R. A.; LINDSEY, J. B. Amending Poultry Broiler Litter to Prevent the Development of Stable Fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) and Other Nuisance Flies. **J Econ Entomol**, v.111, n.6, p.2966-2973, 2018.

CORRÊA, E. C.; RIBAS, A. C. A.; CAMPOS, J.; BARROS, A. T. M. Abundância de *Stomoxys calcitrans* (diptera: muscidae) em diferentes subprodutos canavieiros. **Pesq Vet Bras**, v. 33, n.11, p. 1303-1308, 2013.

DAVIDSON, E. W.; SWEENEY, A. W. Microbial control of vectors: A decade of progress. **J Med Entomol**, v.20, n.3, p.235-247, 1983.

DOLAN, K. M.; JONES, J. T.; BURNELL, A. Detection of changes occurring during recovery from the dauer stage in *Heterorhabditis bacteriophora*. **Parasitol**, v.125, p.71- 81, 2002.

DOLINSKI, C. Nematóides como agentes do controle biológico de insetos. In: OLIVEIRA FILHOS, E.C.; MONNERAT, R.G. **Fundamentos para regulação de semioquímicos inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas**. Brasília: EMBRAPA, 2006. Cap.4, p.73-101.

DOLINSKI, C.; DEL VALLE, E.E.; STUART, R.J. Virulence of entomopathogenic nematodes to larvae of *Guava weevil*, *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae), in laboratory and green house experiments. **Biol control**, v.38, p. 422-427, 2006.

DOLINSKI, C.; KAMITANI, F. L.; MACHADO, I. R.; WINTER, C. E. Molecular and morphological characterization of heterorhabditid entomopathogenic nematodes from the tropical rainforest in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, vol. 103(2), 2008.

DOLINSKI, C.; MOINO JR. A. Utilização de nematoides entomopatogênicos nativos ou exóticos: o perigo das introduções. **Nematol Bras**, v.30, p.139-149, 2006.

DOMINGHETTI, T. F. S. **Dinâmica populacional e surtos de *Stomoxys calcitrans* em usina sucroalcooleira e propriedades pecuárias adjacentes**. 2017, 89f. Tese (Doutorado em ciência



animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. Disponível em: [https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id\\_trabalho=5829613](https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=5829613).

DOMINGHETTI, T. F. S.; BARROS, A. T. M.; SOARES, C. O.; CANÇADO, P. H. D. *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) outbreaks: current situation and future outlook with emphasis on Brazil. **Braz J Parasitol Vet**, v.24, n.4, p.1984-2961, 2015.

DOUGHERTY, C. T.; KNAPP, F. W.; BURRUS, P. B.; WILLIS, D. C.; BURG, J. G.; CORNELIUS, P. L.; BRADLEY, N. W. Stable flies (*S. calcitrans* L.) and the behavior of grazing beef cattle. **Appl Anim Behavi Sci**, v.35, n.3, p.215-233, 1993.

DUNPHY, G. B.; WEBSTER, J. M. Temperature effects on the growth and virulence of *Steinernema feltiae* strains and *Heterorhabditis heliothidis*. **J Nematol**. 18: 270-272, 1986.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematoides Entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FAPESP & FEALQ. 541-569, 1998.

FIFE, J. P.; DERKSEN, R. C.; OZKAN, H. E.; GREWAL, P. S. Effects of pressure differentials on the viability and infectivity of entomopathogenic nematodes. **Biol Control**, 27: 65-72, 2003.

FLOREZ-CUADROS, M.; BERKEBILE, D.; BREWER, G.; TAYLOR, D. B. Effects of Diet Quality and Temperature on Stable Fly (Diptera: Muscidae) Development. **Insects**, v.10, n.7, p.207, 2019.

FOIL, L. D.; HOGSETTE, J. A. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. **Rev Sci Tech**, v.13, n.4, p.1125-1158, 1994.

FOIL, L. D.; MEEK, C. L.; ADAMS, W. V.; ISSEL, C. J. Mechanical transmission of equine infectious anemia virus by deer flies (*Crysops flavidus*) and stable flies (*Stomoxys calcitrans*). **Am J Vet Res**, v.44, n.1, p.155-156, 1983.

FOSBROOKE, H. A. The *Stomoxys* plague in Ngorongoro, 1962. **Afr J Ecol**, v. 1, n. 1, p. 124-126, 1963.

FURMAN, D. P.; CATTS, E. P. **Manual of medical entomology**. 4a ed, Cambridge: University Press, 1982, 207p.

FUESS, L. T.; RODRIGUES, I. J.; GARCIA, M. L. Fertirrigation with sugarcane vinasse: foreseeing potential impacts on soil and water resources through vinasse characterization. **J Environ Sci Health**, Part A, v. 52, n. 11, p. 1063-1072, 2017.

GAUGLER, R.; BOUSH G. M. Effects of ultraviolet radiation and sunlight on the entomogenous nematode, *Neoaplectana carpocapsae*. **J Invertebr Pathol**, v.32, p.291-296, 1978.

GEORGIS, R.; MANWEILER, S. A. Entomopathogenic nematodes: a developing biological control technology. **Agric Zool Rev**, v.6, p.63-94, 1994.

- GILLES, J. DAVID, J.-F.; DUVALLET, G. Temperature Effects on Development and Survival of Two Stable Flies, *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* (Diptera: Muscidae), in La Réunion Island. **J Med Entomol**, v.42, n.3, p.260-265, 2005.
- GOMES, R. A.; FREDERICO, M. A.; MEIRELES, A. C.; PEREIRA, R. D. L.; PASSOS, V. T.; RIGAMONTE, B. L. Gastos médios financeiros e prejuízos com *Stomoxys calcitrans* “mosca da vinhaça”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 20, 2018, Londrina. **Anais[...]** Londrina: CBPV, 2018. p. 216.
- GONÇALVES, N. M. F. M.; VEIGA, L. A. S. Variação nos hábitos alimentares da mosca de estábulos *Stomoxys calcitrans* L. **Braz Arch Biol Technol**, v. 41, n. 3, p. 1-5, 1998.
- GREENBERG, B. **Flies and diseases: Ecology, classification and biotic association**. Vol. 1 Princeton: Princeton University Press, 1971, 856p.
- GREWAL, P.S. Formulation and application technology. In: GAUGLER, R. (ed). **Entomopathogenic Nematology**. CABI Publishing, New York, p. 265-288, 2002.
- GREWAL, P. S.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. **Neotrop Entomol**, v.30, p.191-205, 2001.
- GREWAL, P.S; SELVAN, S.; GAUGLER, R. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection establishment, and reproduction. **J Therm Biol**. v. 19, p. 245-253, 1994.
- GRIFFIN, C. T.; BOEMARE, N. E.; LEWIS, E. E. Biology and behavior. In: GREWAL, P. S.; EHLERS, R. -U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Ed.). **Nematodes as Biocontrol Agents**. Boston: Cabi Publishing, 2005. p. 47-64.
- GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEON, A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Braz J Parasitol Vet**, v.23 n.2, p.150-156, 2014.
- GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo, Editora PLÊIADE/FAPESP, 2001.
- GUIMARÃES, J. H. Mosca dos estábulos - Uma importante praga do gado. **Agroquímica Ciba-Geigy**, n.23, p.10-14, 1984.
- GUIMARÃES, J. H. Moscas - biologia, ecologia e controle. **Agroquímica Ciba-Geigy**, n.21, p.20-26, 1983.
- HANSENS, E. J. The stable fly and its effects on seashore recreational areas in New Jersey. **J Econ Entomol**, v.44, n.4, p.482-487, 1951.
- HASPESLAGH, M.; VLAMINCK, L.; MARTENS, A. The possible role of *Stomoxys calcitrans* in equine sarcoid transmission. **Vet J**, v.231, p.8-12, 2018.
- HAZIR, S.; KAYA, H.K.; STOCK, P.; KESKIN, N. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turk J Biol**, v.27, p.181-202, 2003.

HELLER, L. M.; BASTOS, T. D.; ZAPA, D. M. B.; MORAIS, I. M. L.; SALVADOR, V. F.; LEAL, L. L. L.; COUTO, L. F. M.; NEVES, L. C.; PAULA, W. V. F.; FERREIRA, L. L.; BARROS, A. T. M.; CANÇADO, P. H. D.; MACHADO, R. Z.; SOARES, V. E.; CADIOLI, F. A.; KRAWCZAC, F. S.; LOPES, W. D. Z. Evaluation of mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* by *Stomoxys calcitrans* in a region without a cyclic vector. **Parasitol Res**, v. 123, 96, 2024. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-08102-z>

HERRERO, M. V.; MONTES, L.; SANABRIA, C.; SÁNCHEZ, A.; HERNÁNDEZ, R. Estudio inicial sobre la mosca de los establos *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae), em la region del pacífico sur de Costa Rica. **Cienc Vet**, v.11, n.2 e 3, p.11-14, 1989.

HOGSETTE, J. A.; RUFF, J. P. Stable fly (Diptera: Muscidae) migration in Northwest Florida. **Environ Entomol**, v.14, p.170-175, 1985.

HOMINICK, W.H. Biogeography. In: GAUGLER, R., (Ed.). **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: Rutgers University. p. 115-143, 2002.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). <https://mapas.inmet.gov.br/>. Acesso em: 26 de jan. de 2024.

JELVEZ SERRA, N. S.; GOULART, H. F.; TRIANA, M. F.; TAVARES, S. D. S.; ALMEIDA, C. I. M., DA COSTA, J.G.; SANTANA, A. E. G.; ZHU, J. J. Identification of stable fly attractant compounds in vinasse, a byproduct of sugarcane-ethanol distillation. **Med Vet Entomol**, v.31, n.4, p.381-391, 2017.

JONES, C. M. Stable Flies. In: SMITH, C. N. **Insect Colonization and Mass Production**. Nova York: Academic Press, 1966, p.145-152.

KAHANA-SUTIN, E.; KLEMENT, E.; LENSKY, I.; GOTTLIEB, Y. High relative abundance of the stable fly *Stomoxys calcitrans* is associated with lumpy skin disease outbreaks in Israeli dairy farms. **Med Vet Entomol**, v.31, n.2, p.150-160, 2017.

KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. **Annu Rev Entomol**, v.38, p.181-206, 1993.

KAYA, H. K.; STOCK, P. Techniques in insect nematology. In: lacey, I.a. (ed.). **Manual of techniques in insect pathology**, Academic, CA, 1997, p.281-324.

KING, W. V.; LENERT, L. G. Outbreaks of *Stomoxys calcitrans* L. ('dog flies') along Florida's northwest coast. **Fla Entomol**, v. 19, n.3, p.33-39, 1936.

KOLLER, W. W.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I.; SOARES, C. O.; PAIVA, F.; TAVARES, L. E. R.; GRACIOLLI, G. Surtos da mosca-dos-estábulo, *Stomoxys calcitrans*, em Mato Grosso do Sul: novo problema para as cadeias produtivas da carne e sucoalcooleira? Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2009. (**Embrapa Gado de Corte. Documentos, 175**). 31p.

KOPPENHÖFER, A. M.; GREWAL, P. S. Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. In: GREWAL, P. S.; EHLERS, R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Eds). **Nematodes as biological control agents**. CAB International, Wallingford, UK, 2005. p. 363–381.

HOGSETTE, J. A.; RUFF, J. P.; JONES, C. J. Stable fly biology and control in northwest Florida. **J Agr Entomol**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 1987.

LARA, J. C.; DOLINSKI, C.; SOUSA, E. F.; DAHER, R. F. Effect of mini-sprinkler irrigation system on *Heterorhabditis baujardi* lpp7 (Nematoda: Heterorhabditidae) infective juvenile. **Sci. Agric**, v.65, n.4, p.433-437, 2008a.

LARA, J. C.; DOLINSKI, C.; SOUSA, E. F. Viability, Infectivity, and Search Capability of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Heterorhabditidae) under Different Pressure and Temperature Conditions. **Nematol Bras**, Vol. 32(3), 2008b.

LEMPEREUR, L.; SOHIER, C.; SMEETS, F.; MARÉCHAL, F.; BERKVEN, D.; MADDER, M.; FRANCIS, F.; LOSSON, B. Dispersal capacity of *Haematopota* spp. and *Stomoxys calcitrans* using a mark-release-recapture approach in Belgium. **Med Vet Entomol**, v.32, n.3, p.298-303, 2018.

LEAL, L. C. S. R., MONTEIRO, C.M.O., MENDONÇA, A. E., BITTENCOURT, V. R. E. P., BITTENCOURT, A. J. Potential of entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis* for the control of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Braz J Vet Parasitol**, v.26 (4), p. 451 – 456, 2017. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612017065>

LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; AGUILHERA, M. M.; RODRIGUES, R. C. D.; NEGRISOLI JR. Patogenicidade de *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* sp. (NEMATODA: RHABDITIDA) a ninfas da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar (*Mahanava fimbriolata*). **Rev Agr**, v.78, p.139-148, 2003.

LINDEGREN, J. E.; VALERO, K. A.; MACKEY, B. E. Simple in vivo production and storage methods for *Steinernema carpocapsae* infective juveniles. **J Nematol**, v.5, p.93-197, 1993.

LINNAEUS, C. **Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis**. Tomus I. Editio decima, reformata. Holmiae [= Stockholm]: L. Salvii, 1758, 854 p.

LYSYK, T. J. Relationships between temperature and life-history parameters of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **J Med Entomol**, v.35, n.2, p.107-119, 1998.

LYSYK, T. J.; KALISCHUK-TYMENSEN, L. D.; ROCHON, K.; SELINGER, L. B. Activity of *Bacillus thuringiensis* isolates against immature horn fly and stable fly (Diptera: Muscidae). **J Econ Entomol**, v.103, n.3, p.1019-1029, 2010

LORN, S.; RATISUPAKORN, S.; DUVALLET, G.; CHAREONVIRIYAPHAP, T.; TAINCHUM, K. Species Composition and Abundance of *Stomoxys* spp. (Diptera: Muscidae) in Peninsular Thailand. **J Med Entomol**, v.57, n.1, p.252-258, 2020.

MACEDO, D. M. **Desenvolvimento pós-embrionário de *Musca domestica* (Díptera: Muscidae) e *Stomoxys calcitrans* (Díptera: Muscidae) criadas em fezes de bovinos tratados com diferentes avermectinas**. 2001. 97f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.



of engorged cattle ticks *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Fla Entomol**, v.92, p.660-663, 2009.

MOLYNEUX, A.S. *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp. (= Neoplectana) spp.: Temperature and aspects of behaviour and infectivity. **Exp Parasitol**, v. 62, p. 169-180, 1986.

MONTEIRO, C. M. O., MATOS, R. S., PRATA, M. C. A., BATISTA, E. S., PERINOTTO, W. M. S., BITTENCOURT, V. R. E. P., FURLONG, J., ANDALÓ, V.; Compatibility of *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) strain RSC-5 with different acaricides used for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Arq Inst Biol**, v.81, p.3-8. 2014a.

MONTEIRO, C. M. O.; MATOS, R. S.; ARAÚJO, L. X.; CAMPOS, R.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; DOLINSKI, C.; FURLONG, F.; PRATA, M.C.A. Entomopathogenic nematodes in insect cadaver formulations for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Vet Parasitol**, v.203, p.310-317, 2014b.

MONTEIRO SOBRINHO, A. C.; COSTA, I. L. A.; SOUZA, G. C.; LEAL, L. C. S. R.; MONTEIRO NETO, J. L. L.; CHAMBARELLI, M. C. M. C.; BITTENCOURT, A. J. Infection and reinfection of *Stomoxys calcitrans* larvae (Diptera: Muscidae) by entomopathogenic nematodes in different times of exposure. **Braz J Vet Parasitol**, 30(3): e003721, 2021. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021069>

MONTEIRO SOBRINHO, A. C.; LEAL, L. C. S. R.; MONTEIRO NETO, J. L. L.; CHAMBARELLI, M. C. M. C.; BITTENCOURT, A. J. Evaluation *in vitro* of the virulence of two entomopathogenic heterorhabditid nematodes in the control of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) larvae in byproducts of the sugar and alcohol industry. **Braz J Vet Parasitol**, 32(2): e016022, 2023. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023024>

MONTEIRO SOBRINHO, A. C.; MENDES, C. O. F.; LEAL, L. C. S. R.; BITTENCOURT, A. J. Virulência de *Heterorhabditis bacteriophoracepa* HP88 (Rhabditida: Heterorhabditidae) sobre larvas de *Stomoxys calcitrans* (Díptera: Muscidae) em dieta de torta de filtro. **Rev Bras Med Vet**, v.38 (3), p.9 –13, 2016.

MORA, S. T.; CALVACHE, H. G.; ALVAÑIL, F. A.; TORRES, A. J.; VERDUGO, A.; LUNA, J. E. La mosca de los establos *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae), en palma de aceite. **Palmas**, v. 18, n. 3, p. 31-42, 1997.

MORAES, J. L. C. **Toxicidade comparativa de alguns inseticidas organofosforados e piretroides sobre larvas e adultos de *Stomoxys calcitrans* Linnaeus, 1758**. 1990. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1990.

MORAES, A. P.R.; ANGELO, I. C.; FERNANDES, E. K. K.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; BITTENCOURT, A. J. Virulence of *Metarhizium anisopliae* to eggs and immature stages of *Stomoxys calcitrans*. **Ann N Y Acad Sci**, 1149(1): 384-387, 2008. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1428.008>. PMID:19120256.

MORAES, A. P. R.; BADINI, P. V.; SOUZA, M. M. S.; BITTENCOURT, A. J. Avaliação da capacidade de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) em carrear bactérias envolvidas nas

etiologias das mastites de municípios do Rio de Janeiro. **Rev Bras Parasitol Vet**, v.13, n.4, p.143-149, 2004.

MORAES, A. P. R. ***Stomoxys calcitrans*: estabelecimento de colônia e efeito de *Metarhizium anisopliae* sobre seus estágios imaturos**. 2007, 52f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

MORAES, A.P.R.; SALLES, C.M.C; BITTENCOURT, V.R.E.P.; BITTENCOURT, A.J. Antimicrobial activity of *Stomoxys calcitrans* against *Beauveria bassiana* sensu lato isolates. **Braz. J. Vet. Parasitol.** v. 24, n. 3, p. 331-339, 2015.

MOYA-BORJA, G. E. O berne: biologia, comportamento e controle. **Agroquímica Ciba-Geigy**, v.17, p.19-26, 1982.

MOURA, F.S.V. **Desenvolvimento de substratos para criação de mosca-dos-estábulo *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em laboratório**. 2015. 46f. Dissertação (Mestrado em ciência animal) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015.

MUKUKA, J.; STRAUCH, O.; WAEYENBERGE, L.; VIAENE, N.; MOENS, M.; EHLERS, R. Heat tolerance among different strains of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. **BioControl**, **55**, 423–434, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9255-4>

MULLENS, B. A.; LII, K. S.; MAO, Y.; MEYER, J. A.; PETERSON, N. G.; SZIJJ, C. E. Behavioural responses of dairy cattle to the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, in an open field environment. **Med Vet Entomol**, v.20, n.1, p.122-137, 2006.

MULLENS B. A.; MEYER J. A. Seasonal abundance of stable flies (Diptera: Muscidae) on California dairies. **J Econ Entomol**, v.80, p. 1039–1043, 1987.

NAKANO, O.; PARO, J. R. L. A.; CAMARGO, A. H. Controle químico de adultos e larvas da mosca doméstica. **Biológico**, v.39, p.5-8, 1973.

NEVES, D. P.; FARIA, A. C. Profundidade de empupação de *Stomoxys calcitrans* (Diptera, Muscidae) e presença de microhimenópteros parasitoides nas pupas. **Rev Bras de Biol**, v.48, n.4, p.911-913, 1988.

NEVES, J. M.; SIMOES, N.; MOTA, M. 1999. Nematoides entomopatogênicos: uso e novas perspectivas. **Bol Biotecnol**, v.64, p.23-29, 1999.

ODA, F. H.; ARANTES, C. A. Surto populacional da mosca dos estábulo *Stomoxys calcitrans* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) no município de Planalto, SP. **Rev em Agronegócio e Meio Ambient**, v. 3, n. 1, p. 145-159, 2010.

OLESEN, A. S.; LOHSE, L.; HANSEN, M. F.; BOKLUND, A.; HALASA, T.; BELSHAM, G. J.; RASMUSSEN, T. B.; BØTNER, A.; BØDKER, R. Infection of pigs with African swine fever virus via ingestion of stable flies (*Stomoxys calcitrans*). **Transbound Emerg Dis**, v.65, n.5, p1152-1157, 2018.

PAPAVERO, N.; COURI, M. S. Essays on the history of Brazilian dipterology. I. The first notices about Brazilian Diptera (16th century). **Rev Bras Entomol**, v. 56, n. 1, p. 1-6, 2012.



PARR, H. C. M. Studies on *Stomoxys calcitrans* (L.) in Uganda, East Africa. II. Notes on life – history and behavior. **Bull Soc Entomol D'Égypte**, v.53, n.2, p.437-443, 1962.

PHILPOOT, M.; EZEH, A. O. The experimental transmission by *Musca* and *Stomoxys* species of *D. congolensis* infection between cattle. **Br Vet J**, v.134, n.6, p.515-520, 1978.

PRULLAGE, J. B.; WILLIAMS, R. E.; GAAFAR, S. M. On the transmissibility of *Eperythrozoon suis* by *S. calcitrans* and *Aedes aegypti*. **Vet Parasitol**, v.50, n.1 e 2, p.125-135, 1993.

RATCLIFFE, S. T.; C. J. J. ROBERTSON; G. A. BOLLERO; R. A. WEINZIERL. Assessment of parasitism of house fly and stable fly (Diptera: Muscidae) pupae by pteromalid (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitoids using a polymerase chain reaction assay. **J Med Entomol**, 39: 52-60, 2002.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. 2022. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>.

RODRÍGUEZ-BATISTA, Z.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R.; LOPES, C. M. L.; BORGES, L. M. F. Populational dynamics of *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae) in three biocenosis, Minas Gerais, Brazil. **Vet Parasitol**, v. 130, p. 343-346, 2005.

RODRÍGUEZ, N. F.; TEJEDOR-JUNCO, M. T.; MARTÍN, M. G.; GUTIERREZ, C. *Stomoxys calcitrans* as possible vector of *Trypanosoma evansi* among camels in an affected area of the Canary Islands, Spain. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.47, n.4, p.510-512, 2014.

ROHDE, C.; MOINO JR., A.; SILVA, M.A.T.; CARVALHO, F. D.; FERREIRA, C. S. Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) against larvae of *Ceratitiscapitata*(Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotrop Entomol**, v.39, p.608-611, 2010.

SCHOFIELD, S.; TORR, S. J. A comparison of the feeding behavior of tsetse and stable flies. **Med Vet Entomol**, v.16, p.177-185, 2002.

SIMMONS, S.W. Observations on the biology of stable fly in Florida. **J Econ Entomol.**, v.37 (5), p.680-686, 1944.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Application technology and environmental considerations for use of entomopatogenic nematodes in biological control. **Biol Control**, v.38, p.124-133, 2006.

SKODA, S.R.; THOMAS, G.D.; CAMPBELL, J.B. Developmental sites and relative abundance of immature stages of the stable fly (Diptera: Muscidae) in beef cattle feedlot pens in eastern Nebraska. **J Econ Entomol**, v.84 (1), p.191-197,1991.

SKOVGÅRD, H.; STEENBERG, T. Activity of pupal parasitoids of the stable fly *Stomoxys calcitrans* and prevalence of entomopathogenic fungi in the stable fly and house fly *Musca domestica* in Denmark. **BioControl**, v.47, n.1, p.45-60, 2002.

SODERLUND, D. M.; KNIPPLE, D. C. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. **Insect Biochem Mol Biol**, v. 33, n. 6, p. 563- 577, 2003.



REIS E SILVA, O.; ANDRIOTTI, P. A.; BITTENCOURT, A. J. Efeito do vinhoto e cana de açúcar na viabilidade de adultos de *Stomoxys calcitrans* (DIPTERA: MUSCIDAE). **Rev Bras Med Vet**, 35(Supl.2):61-67, 2013.

SILVA, V. S.; GARCIA, C. A.; SILVA, C. M. O destino do bagaço da cana-de-açúcar: um estudo a partir das agroindústrias. **Rev em Agronegócio e Meio Ambient**, v.3, n.1, p. 59-76, 2010.

OLÓRZANO, J. A. Manejo integrado de la mosca del establo *Stomoxys calcitrans* en Costa Rica. Innovación Tecnológica, Premio Innovagro, 2014. **INTA**, Costa Rica. 2014.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS-BRASIL (ONU, BRASIL). Os objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil. 2024. Disponível em: [As Nações Unidas no Brasil](#)

SOLÓRZANO, J. A.; GILLES, J.; BRAVO, O.; VARGAS, C.; GOMEZ-BONILLA, Y.; BINGHAM, G.V.; TAYLOR, D. B. Biology and trapping of stable flies (Diptera: Muscidae) developing in pineapple residues (*Ananas comosus*) in Costa Rica. **J Insect Sci**, v. 15, n. 1, p. 145-149, 2015.

SOHIER, C.; HAEGEMAN, A.; MOSTIN, L.; DE LEEUW, I.; CAMPE, W. V.; DE VLEESCHAUWER, A.; TUPPURAINEN, E. S. M.; VAN DEN BERG, T.; DE REGGE, N.; DE CLERCQ, K. Experimental evidence of mechanical lumpy skin disease virus transmission by *Stomoxys calcitrans* biting flies and *Haematopota* spp. horseflies. **Sci Rep**, v.9, n.1, p.20076, 2019.

SOULSBY, E. J. L. **Parasitología y enfermedades parasitarias em los animales domésticos**. 7ª. Ed. México: Nova Editorial Interamericana, 1987. 823p.

SOUZA, G. S. de. **Tratado descritivo do Brazil em 1587**. Rio de Janeiro, Typographia Universal de Laemmert, 1851. <https://doi.org/10.1590/S0034-75901971000400015>.

SOUZA, T. F. de; CANÇADO, P. H. D.; BARROS, A. T. M. Attractivity of vinasse spraying to stable flies, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae), in a sugarcane area. **Pesq Vet Bras**, v. 41, e06817, 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-6817>.

STEELMAN, C. D. Effects of external and internal arthropod parasites on domestic livestock production. **Annu Rev Entomol**, v.80, n.4, p.811-815, 1987.

STORK, M. G. The epidemiological and economic importance of fly infestation of meat and milk producing animals in Europe. **Vet Rec**, v.105, p.341-343, 1979.

SUTHERLAND, B. The suitability of various types of dung and vegetable matter as larval breeding media for *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae). **Onderstepoort J Vet Res**, v.45, p.241-243, 1978a.

SUTHERLAND, B. Nutritional values of different blood diets expressed as reproductive potentials in adult *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae). **Onderstepoort J Vet Res**, v.45, n.3, p.209-212, 1978b.

TANGTRAKULWANICH, K.; ALBUQUERQUE, T. A.; BREWER, G. J.; BAXENDALE, F. P.; ZUREK, L.; MILLER, D. N.; TAYLOR, D. B.; FRIESEN, K. A.; ZHU, J. J. Behavioural

- responses of stable flies to cattle manure slurry associated odourants. **Med Vet Entomol**, v.29, n.1, p.82-87, 2015.
- TARRY, D. W.; CARROLL, P. J. Summer mastitis: transmission by blood feeding flies. **Vet Rec**, v.10, p.304, 1988.
- TAYLOR, D. B.; MOON, R. D.; CAMPBELL, J. B.; BERKEBILE, D. R.; SCHOLL, P. J.; BROCE, A. B.; HOGSETTE, J. A. Dispersal of stable flies (Diptera: Muscidae) from larval development sites in a Nebraska landscape. **Environ Entomol**, v.39, n.4, p.1101-1110, 2010.
- TAYLOR, D. B.; MOON, R. D.; MARK, D. R. Economic impact of stable flies (Diptera: Muscidae) on dairy and beef cattle production. **J Med Entomol**, 49: 198–209, 2012.
- TAYLOR, D. B.; SZALANSKI A. L.; ADAMS B. J.; PETERSON II R. D. Susceptibility of house fly (Diptera: Muscidae) larvae to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae). **Environ Entomol**, v. 27, p.1514-1519, 1998.
- TESTEZLAF, R. **Irrigação: métodos, sistemas e aplicações**. 1 ed., Campinas: FEAGRI, 2017, 215p. Disponível em: [IRRIGAÇÃO: MÉTODOS, SISTEMAS E APLICAÇÕES \(unesp.br\)](http://www.feaq.unesp.br/irrigacao)
- THOMAS, G. D.; SKODA, S. R.; BERKEBILE, D. R.; CAMPBELL, J. B. Scheduled sanitation to reduce stable fly (Diptera: Muscidae) populations in beef cattle feedlots. **J Econ Entomol**, v. 89, n. 2, p. 411-414. 1996.
- ULU, T. C.; SUSURLUK, I. A. Heat and desiccation tolerances of *Heterorhabditis bacteriophora* strains and relationships between their tolerances and some bioecological characteristics. **Invertebr Surviv J**, 11 (1): 4-10, 2014.
- VARGAS-CHACÓN, C.; SOLÓRZANO, A. A. Biología y cría de la mosca del establo *Stomoxys calcitrans* L. **Alcances Tecnol**, 11(1): 05-19, 2016.
- WATSON, D. W.; GEDEN, C. J.; LONG, S. J.; RUTZ, D. A. Efficacy of *Beauveria bassiana* for controlling the house fly and stable fly (Diptera: Muscidae). **Biol Control**, v.5, p.405-411, 1995.
- WEIBLEN, R. Doenças Víricas. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. Pelotas: UFPEL, 1998, p.4-44.
- WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v.66, p.302-303, 1927.
- WHITE, S. D.; BOURDEAU, P. J. Hypersensibilités aux piqûres de diptères chez les carnivores. **Le Point Vétérinaire**, v.27, n.169, p.203-206, 1995.
- WIEMAN, G. A.; CAMPBELL, J. A.; DESHAZER, J. A.; BERRY, I. L. Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) in heat stress on weight gain and feed efficiency of feeder cattle. **J econ entomol**, v.85, n.5, p.1835-1842, 1992.
- ZANCHETT, G.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. **Toxins**, v. 5, n. 10, p. 1896-1917, 2013.

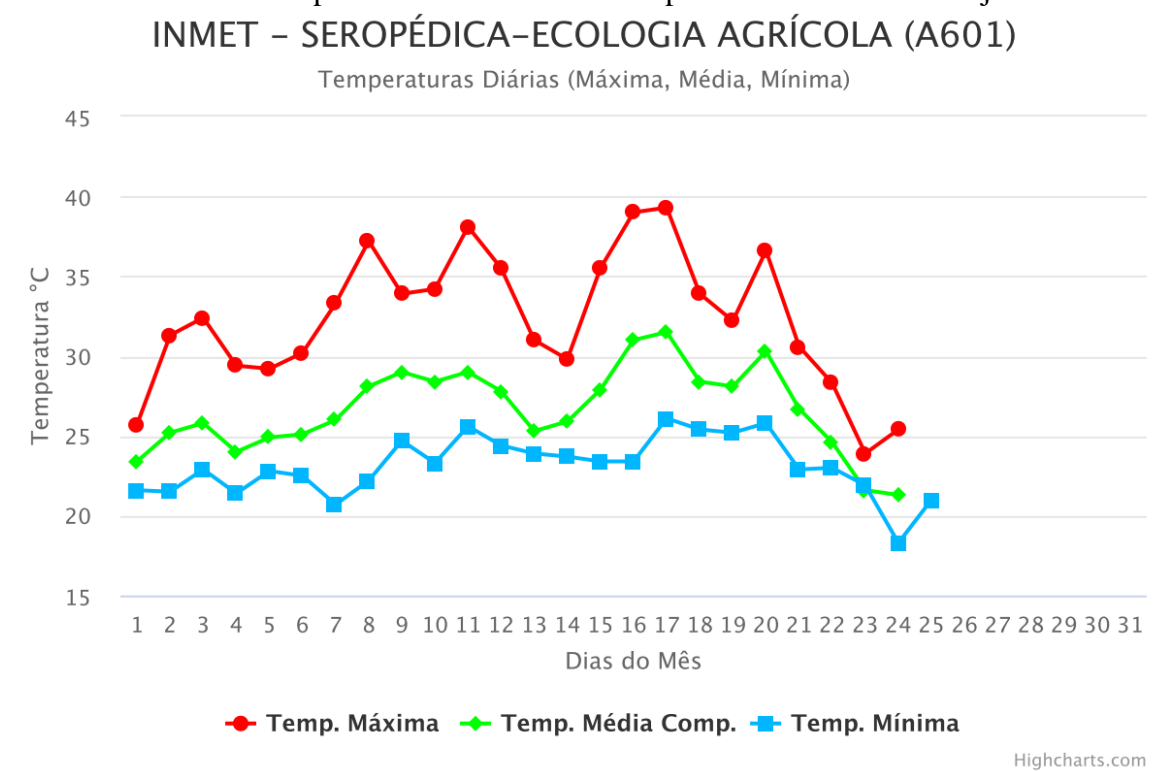
ZIMMER, C. R.; ARAÚJO, D. F.; RIBEIRO, P. B. Flutuação populacional de muscídeos (Diptera, Muscidae) simbovinos e sua distribuição sobre o corpo do gado de leite, em Capão do Leão, RS, Brasil. **Ciênc Rural**, v. 40, n. 3, p. 604-610, 2010.

## 8 ANEXOS

**Anexo A.** Gráfico de temperatura da cidade de Seropédica durante o mês de janeiro de 2024....53

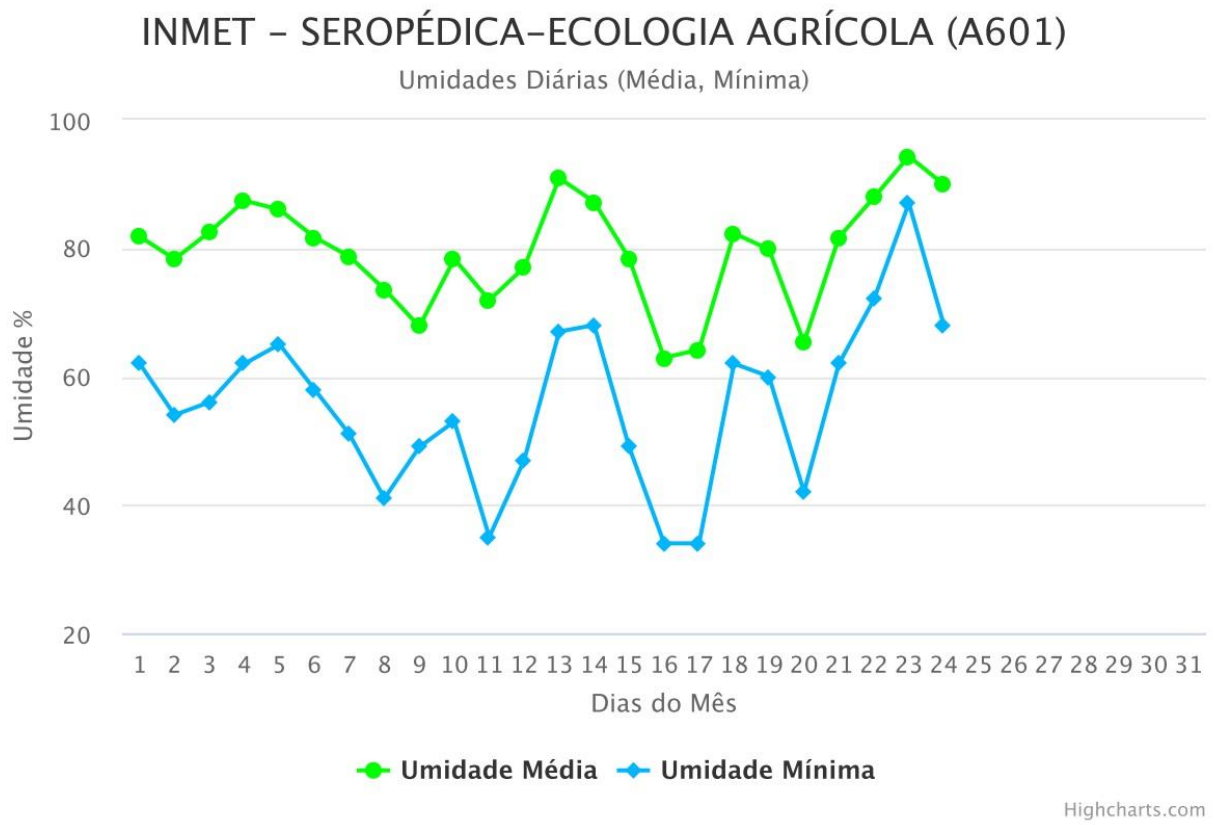
**Anexo B.** Gráfico de umidade da cidade de Seropédica durante o mês de janeiro de 2024.....54

**Anexo A.** Gráfico de temperaturas da cidade de Seropédica durante o mês de janeiro de 2024.



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (2024).

**Anexo B.** Gráfico de umidades da cidade de Seropédica durante o mês de janeiro de 2024



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (2024).