

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

**DISSERTAÇÃO**

**IMPACTOS DE DIFERENTES ALIMENTAÇÕES E SUBSTRATOS DE  
DESENVOLVIMENTO NA BIOLOGIA DE *Stomoxys Calcitrans***

**KARINA RIGUETE DE ARAÚJO LIMA**

**2023**



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

**IMPACTOS DE DIFERENTES ALIMENTAÇÕES E SUBSTRATOS DE  
DESENVOLVIMENTO NA BIOLOGIA DE *Stomoxys calcitrans***

**KARINA RIGUETE DE ARAÚJO LIMA**

*Sob a Orientação de*  
**PATRÍCIA FAMPA NEGREIROS LIMA**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de **Mestre em Ciências**, no  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias da UFRRJ

Seropédica, RJ

Setembro/2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

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

L 732i Lima, Karina Riguete de Araújo, 1995-  
IMPACTOS DE DIFERENTES ALIMENTAÇÕES E SUBSTRATOS DE  
DESENVOLVIMENTO NA BIOLOGIA DE STOMOXYS CALCITRANS /  
Karina Riguete de Araújo Lima. - Seropédica, 2023.  
55 f.: il.

Orientadora: Patrícia Fampa Negreiros Lima.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias, 2023.

1. Impacto alimentar. 2. Sobrevivência. 3.  
Potencial reprodutivo. I. Lima, Patrícia Fampa  
Negreiros, 1976-, orient. II Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias III. Titulo.



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



ATA N° 3941/2023 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.064858/2023-20

Seropédica-RJ, 26 de setembro de 2023.

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

KARINA RIGUETE DE ARAÚJO LIMA

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/09/2023

(Assinado digitalmente em 26/09/2023 15:07)  
PATRICIA FAMPA NEGREIROS LIMA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DCFar (12.28.01.00.00.00.47)  
Matrícula: #00092185

(Assinado digitalmente em 26/09/2023 11:48)  
PATRICIA SILVA GOLO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DepPA (12.28.01.00.00.00.55)  
Matrícula: #00021805

(Assinado digitalmente em 26/09/2023 12:03)  
FERNANDO ARIEL GENTA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: #000.000.108-00

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documents/index.jsp> informando seu número: 3941, ano: 2023, tipo: ATA, data de emissão: 26/09/2023 e o código de verificação: 4457f465e4

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por cuidar de mim por toda a jornada até aqui, me dando forças para continuar, mesmo nos piores momentos.

Aos espíritos que me guiam e aconselham.

À minha mãe, Sebastiana, que é minha inspiração, força e motivação para seguir em frente.

Ao meu querido pai, Ernesto, que mesmo não estando mais presente fisicamente, sempre foi meu maior incentivador, a quem dedico, em especial, a conclusão desta etapa.

Ao meu irmão Leandro, por estar presente nos melhores e piores momentos, me ensinando a ver a vida de forma mais leve.

Ao David, por dividir a vida comigo, por confiar em mim e me dar todo o suporte para a concretização dos meus objetivos.

Aos meninos, Orion e Apollo, meus melhores amigos de quatro patas.

À minha querida amiga Dayana, por todo suporte, incentivo e conselhos, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

Ao Leonardo, pela amizade e momentos de partilha.

À minha orientadora, Patrícia Fampa, por confiar em mim e me dar a oportunidade de crescer academicamente.

À equipe do laboratório de Parasitos e Vetores, pelos momentos felizes e enriquecedores que compartilhamos.

À banca, por disponibilizar seu tempo e conhecimento em vista da melhoria deste trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por todo ensinamento recebido durante o curso.

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

## RESUMO

*Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) é uma mosca hematófaga obrigatória, ectoparasita de diversas espécies de mamíferos, sendo bovinos e equinos os mais impactados por seu hábito alimentar agressivo e persistente. Surtos populacionais, relacionados ao aumento da atividade sucroenergética em áreas de produção pecuária, e a capacidade aumentada de resistência a inseticidas, intensificam a preocupação com a espécie, uma vez que ela é responsável pela disseminação mecânica de diversos patógenos entre os animais parasitados, assim como gera onerosas perdas à bovinocultura. Dessa forma, estudos que possibilitem o desenvolvimento de estratégias de controle do inseto são de grande importância. O hábito alimentar generalista de *S. calcitrans* gera interessante ponto de investigação. Por esse motivo, durante este trabalho foi analisado a influência de diferentes alimentações (solução de sacarose e sanguess bovino, equino, ovino, de coelho e humano) e substratos de desenvolvimento (à base de cana-de-açúcar e feno de alfafa) na biologia da mosca. Análises sobre o comportamento alimentar, demonstraram maior atração da mosca aos sanguess bovino e equino e à solução de sacarose, sendo consistentes com os hospedeiros preferenciais da mosca na natureza e ao hábito de consumir alimentações açucaradas em seu habitat natural. Experimentos de longevidade demonstraram maior sobrevivência em moscas alimentadas com sangue ovino, seguido por bovino, desenvolvidos em substrato à base de cana-de-açúcar. Demonstrando ainda a alimentação com sangue ovino, em ambos os substratos, os maiores valores de potencial reprodutivo para a espécie. Contrariando nossas expectativas, a alimentação com sangue equino demonstrou impactos negativos à sobrevivência e reprodução da mosca, apesar de cavalos serem considerados um de seus hospedeiros preferenciais. Ao observar o desenvolvimento dos ovários, atraso no desenvolvimento do órgão foi observado em decorrência da alimentação com sangue equino e de coelho, tendo as alimentações com sangue bovino e ovino demonstrado padrões superiores de desenvolvimento, demonstrando resultados pertinentes aos índices de oviposição analisados. As diferentes alimentações e substratos de desenvolvimento não apresentaram resultados significativamente diferentes entre os grupos analisados. As alterações observadas possivelmente estão fundamentadas nas diferenças nutricionais de cada condição, assim como nos impactos diretos à digestão e à microbiota. O maior conhecimento sobre a biologia de *S. calcitrans* contribui para o desenvolvimento de novas estratégias de controle ao mesmo tempo em que buscamos otimizar os parâmetros de produção das mordas em colônia.

**Palavras-chave:** impacto alimentar, sobrevivência, potencial reprodutivo

## ABSTRACT

*Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) is an obligatory hematophagous fly, an ectoparasite of various mammal species, with bovines and equines being the most affected due to its aggressive and persistent feeding habits. Population outbreaks, related to increased sugarcane production in livestock areas, and the increased resistance to insecticides, intensify concerns about this species, as it is responsible for the mechanical transmission of various pathogens among parasitized animals, as well as causing significant losses in cattle farming. Therefore, studies that enable the development of insect control strategies are of great importance. The generalist feeding habit of *S. calcitrans* provides an interesting point of investigation. For this reason, this study analyzed the influence of different diets (sucrose solution and bovine, equine, ovine, rabbit, and human blood) and developmental substrates (sugarcane-based and alfalfa hay-based) on the fly's biology. Analyses of feeding behavior showed a greater attraction of the fly to bovine and equine blood and sucrose solution, consistent with the fly's preferred hosts in nature and its habit of consuming sugary foods in its natural habitat. Longevity experiments demonstrated higher survival rates in flies fed with ovine blood, followed by bovine blood, developed on sugarcane-based substrate. Furthermore, feeding on ovine blood, in both substrates, resulted in the highest values of reproductive potential for the species. Contrary to our expectations, feeding on equine blood showed negative impacts on the fly's survival and reproduction, despite horses being considered one of its preferred hosts. When observing ovarian development, delays in organ development were observed as a result of feeding on equine and rabbit blood, while feeding on bovine and ovine blood showed superior patterns of development, demonstrating relevant results for the analyzed oviposition rates. The different diets and developmental substrates did not show significantly different results among the analyzed groups. The observed changes are possibly based on the nutritional differences of each condition, as well as direct impacts on digestion and the microbiota. A better knowledge of *S. calcitrans* biology contributes to the development of novel control strategies at the same time that we intend to optimize the parameters of colony flies production.

**Keywords:** feeding impact, survival, reproductive potential.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribuição cosmopolita de <i>Stomoxys calcitrans</i> .....	3
<b>Figura 2.</b> Representação do ciclo de vida de <i>Stomoxys calcitrans</i> . ....	4
<b>Figura 3.</b> Ovos de <i>Stomoxys calcitrans</i> . ....	5
<b>Figura 4.</b> Larva de <i>Stomoxys calcitrans</i> . Comparação entre espiráculos de <i>S. calcitrans</i> e <i>Musca domestica</i> .....	6
<b>Figura 5.</b> Pupas de <i>Stomoxys calcitrans</i> . ....	7
<b>Figura 6.</b> Vista dorsal e ventral de <i>Stomoxys calcitrans</i> . ....	7
<b>Figura 7.</b> Dimorfismo sexual apresentado no espaçamento entre os olhos de <i>Stomoxys calcitrans</i> , estreito em machos e mais espaçado em fêmeas. ....	8
<b>Figura 8.</b> Fases do desenvolvimento dos ovários de <i>S. calcitrans</i> . ....	12
<b>Figura 9.</b> Impacto de diferentes alimentações na propensão alimentar de <i>S. calcitrans</i> . ....	19
<b>Figura 10.</b> Curva de Kaplan-Meier demonstrando a influência de diferentes alimentações sobre a sobrevivência de <i>S. calcitrans</i> através do tempo, em moscas desenvolvidas em substrato de Alfafa e Cana-de-Açúcar .....	20
<b>Figura 11.</b> Curva de Kaplan-Meier demonstrando a taxa de sobrevivência de <i>S. calcitrans</i> alimentada com duas fontes distintas de sangue equino. ....	21
<b>Figura 12.</b> Gráfico de barras demonstrando a média de ovos postos por <i>S. calcitrans</i> de acordo com a alimentação consumida e o tipo de substrato de desenvolvimento.....	22
<b>Figura 13.</b> Gráfico de barras demonstrando a mortalidade pré-oviposição de <i>S. calcitrans</i> de acordo com a alimentação consumida e o tipo de substrato de desenvolvimento.....	23
<b>Figura 14</b> Análise do impacto no desenvolvimento dos ovários de <i>S. calcitrans</i> realizado por diferentes alimentações.....	26

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1. Impacto de diferentes dietas e substratos de desenvolvimento em aspectos reprodutivos de *S. calcitrans*. Letras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .** ..... 24

**Tabela 2. Impactos de diferentes dietas e substratos no desenvolvimento dos estágios imaturos de *S. calcitrans*. Letras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .** ..... 28

## **LISTA DE ABREVIASÕES**

CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
IGRs	Inseticidas Reguladores de Crescimento
MT <sub>50</sub>	Mortalidade de 50% dos indivíduos
PBS	Phosphate Buffered Saline
SSA	Alimentação com sacarose em moscas desenvolvidas em alfafa
SBA	Alimentação com sangue bovino em moscas desenvolvidas em substrato à base de feno de alfafa
SEA	Alimentação com sangue bovino em moscas desenvolvidas em substrato à base de feno de alfafa
SOA	Alimentação com sangue ovino em moscas desenvolvidas em substrato à base de feno de alfafa
SCA	Alimentação com sangue de coelho em moscas desenvolvidas em substrato à base de feno de alfafa
SHA	Alimentação com sangue humano em moscas desenvolvidas em substrato à base de feno de alfafa
SSC	Alimentação com solução de sacarose a 10% em moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar
SBC	Alimentação com sangue bovino em moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar
SEC	Alimentação com sangue equino em moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar
SOC	Alimentação com sangue ovino em moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar
SCC	Alimentação com sangue de coelho em moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar
SHA	Alimentação com sangue humano em moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar

## Sumário

<b>1.</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.</b>	<b>Classificação de <i>Stomoxys calcitrans</i> (Linnaeus, 1758) .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2.</b>	<b>Dispersão e distribuição geográfica .....</b>	<b>3</b>
<b>2.3.</b>	<b>Ciclo de Vida e Desenvolvimento .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3.1.</b>	<b>Ovos .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3.2.</b>	<b>Larvas.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3.3.</b>	<b>Pupas .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3.4.</b>	<b>Adultos.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4.</b>	<b>Comportamento alimentar.....</b>	<b>8</b>
<b>2.5.</b>	<b>Reprodução.....</b>	<b>10</b>
<b>2.6.</b>	<b>Impactos causados por <i>S. calcitrans</i> .....</b>	<b>12</b>
<b>2.7.</b>	<b>Estratégias de Controle.....</b>	<b>13</b>
<b>3.</b>	<b>Objetivos .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1.</b>	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2.</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>14</b>
<b>4.</b>	<b>Materiais e Métodos .....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.</b>	<b>Colônia de <i>Stomoxys calcitrans</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>4.2.</b>	<b>Condições Experimentais .....</b>	<b>15</b>
<b>4.3.</b>	<b>Análise dos impactos de diferentes dietas sanguíneas na propensão alimentar de <i>S. calcitrans</i>.....</b>	<b>16</b>
<b>4.4.</b>	<b>Análise dos impactos de diferentes substratos e dietas sanguíneas na longevidade de <i>S. calcitrans</i>.....</b>	<b>16</b>
<b>4.5.</b>	<b>Análise dos impactos de diferentes substratos e dietas sanguíneas na reprodução de <i>S. calcitrans</i>.....</b>	<b>16</b>
<b>4.6.</b>	<b>Análise dos impactos de diferentes substratos e dietas sanguíneas no desenvolvimento dos estágios imaturos de <i>S. calcitrans</i> .....</b>	<b>17</b>
<b>4.7.</b>	<b>Análise da interferência de diferentes alimentações no desenvolvimento dos ovários..</b>	<b>17</b>
<b>4.8.</b>	<b>Análises estatísticas .....</b>	<b>17</b>
<b>5.</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>18</b>
<b>5.1.</b>	<b>Diferentes dietas podem impactar a propensão alimentar em adultos de <i>S. calcitrans</i> 18</b>	
<b>5.2.</b>	<b>Diferentes fontes alimentares afetam a longevidade de <i>S. calcitrans</i> de formas distintas 19</b>	
<b>5.3.</b>	<b>Alimentações diferentes impactam a reprodução de <i>S. calcitrans</i> .....</b>	<b>21</b>
<b>5.4.</b>	<b>Diferentes dietas afetam o desenvolvimento dos ovários de <i>S. calcitrans</i> .....</b>	<b>24</b>

<b>5.5. Diferentes dietas e substratos não influenciam significativamente no desenvolvimento dos estágios imaturos de <i>S. calcitrans</i> .....</b>	<b>27</b>
<b>6. Discussão .....</b>	<b>28</b>
<b>7. Conclusões.....</b>	<b>33</b>
<b>8. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>34</b>

## **1. Introdução**

*Stomoxys calcitrans* (Diptera:Muscidae), conhecida popularmente como mosca-dos-estábulos, é uma mosca hematófaga, com hábito alimentar agressivo e persistente. A espécie não apresenta um hospedeiro específico, podendo se alimentar em diversos animais de sangue quente, inclusive o homem, na ausência de seus hospedeiros preferenciais. Apesar da pouca seletividade, há a hipótese de que a mosca seja oportunista, preferindo se estabelecer em áreas com grandes criações de animais em confinamento, devido à disponibilidade inesgotável de alimentação e substrato para sua reprodução, uma vez que seus ovos são postos em matéria vegetal em processo de decomposição podendo ter associação com fezes de herbívoros (Jeanbourquin, 2005). Dessa maneira, os maiores danos causados pela espécie são relacionados aos bovinos, que são particularmente sensíveis à sua picada, principalmente em grandes infestações. As picadas da mosca geram grande estresse entre os animais parasitados, que reagem através de movimentos defensivos, como movimentação de cauda, pele, cabeça e pisoteios na intenção de espantá-la. Tais fatores levam a gasto desnecessário de energia e diminuição do tempo de alimentação e consequente perda de peso, além de perda significativa de sangue, principalmente em surtos do inseto (Dougherty *et al.*, 1992 e Baldacchino *et al.*, 2013).

Além disso, a mosca pode ainda carrear mecanicamente diversos patógenos, como vírus, bactérias, helmintos e protozoários, através de sua probóscide contaminada ou por eventos de regurgitação de conteúdos do trato digestório (Baldacchino *et al.*, 2013). A picada do inseto favorece esse tipo de transmissão devido a sua probóscide robusta e presença de estruturas semelhantes a dentes no labelo. Sua alimentação é dolorosa. Por esse motivo, frequentemente, as moscas são espantadas pelo hospedeiro, podendo iniciar alimentação em outro animal com as partes bucais ainda contaminadas pelo sangue do hospedeiro anterior, fator que coloca *S. calcitrans* como peça importante na epidemiologia de diversas doenças. Em relação à hematofagia, machos e fêmeas necessitam de alimentação sanguínea para sua plena sobrevivência e reprodução, fator que agrava seu impacto aos animais (Jones, 1992; Meola *et al.*, 1977; Anderson, 1978 e Moobola & Cupp, 1978)

Nos últimos anos, diversos surtos populacionais do inseto vêm sendo registrados no Brasil, principalmente em áreas rurais aonde existam, em proximidade, criações de rebanho e usinas de cana-de-açúcar (Dominghetti *et al.*, 2015). Os subprodutos produzidos pelo processamento da cana-de-açúcar fornecem substrato favorável ao desenvolvimento dos estágios imaturos da mosca, quando não realizado manejo adequado. Tal cenário enriquece a

problemática na qual *S. calcitrans* está envolvida, sendo ainda observado que a mosca é responsável por onerosas perdas ao setor pecuário, afetando fortemente a produção de carne e de leite (Grisi *et al.*, 2014). Aliado a isso, a utilização de inseticidas não se demonstra uma forma de controle eficaz, uma vez que o inseto demonstra alta capacidade em desenvolver resistência aos químicos utilizados, sendo atualmente o manejo ambiental e sanitário adequado as melhores opções para a prevenção de *S. calcitrans* (Barros *et al.*, 2019; Reissert-Oppermann *et al.*, 2019 & Tainchum *et al.*, 2018.)

A pouca seletividade quanto à escolha de seus hospedeiros demonstra ponto interessante de estudo. É conhecido que o sangue proveniente de espécies diferentes apresenta perfis bioquímicos próprios, que podem afetar de maneiras distintas a fisiologia de artrópodes hematófagos em diversas níveis, abrangendo desde a digestão da alimentação até a produção de ovos (Lehane, 2005 & Ramalho-Ortigão, 2007). Além disso, alimentações distintas podem causar diversos impactos à microbiota desses organismos, fator que pode impactar a longevidade, reprodução e resistência a inseticidas (Muturi *et al.*, 2021).

Entender sobre a biologia e fisiologia da mosca frente a diferentes desafios nutricionais pode favorecer o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle populacional do inseto, ponto que se demonstra fundamental para mitigar os danos causados pela espécie. A criação de *S. calcitrans* em laboratório é fundamental nesse sentido, sendo o desenvolvimento de estratégias que aumentem a produtividade em colônias do inseto muito vantajosas para a realização de estudos com a espécie.

Nesse sentido, no presente trabalho, foi analisado o impacto de diferentes alimentações (solução de sacarose, sangue bovino, equino, ovino, de coelho e humano) e substratos de desenvolvimento (cana-de-açúcar e feno de alfafa), na propensão alimentar, longevidade, reprodução e desenvolvimento de *S. calcitrans*.

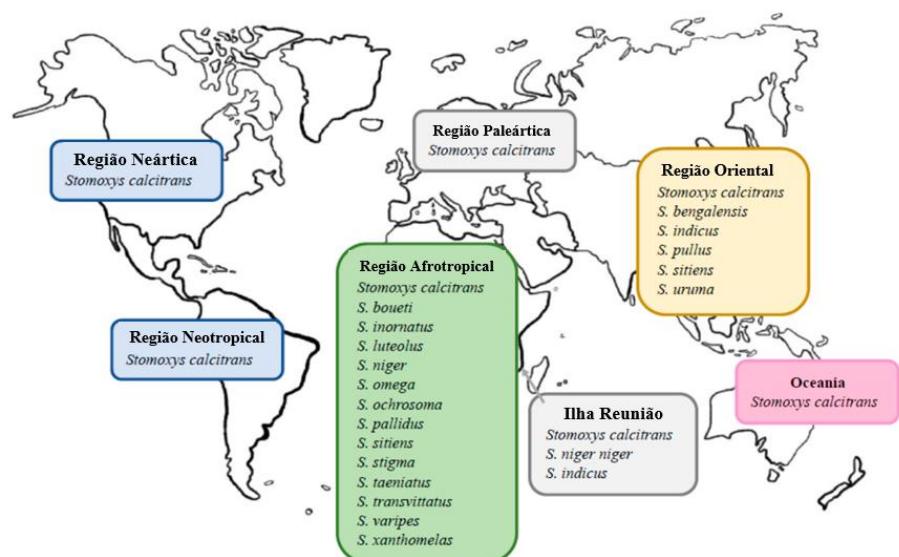
## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Classificação de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758)

Reino: Animalia  
Filo: Arthropoda  
Classe: Insecta  
Ordem: Diptera  
Subordem: Brachycera  
Infraordem: Muscomorpha  
Superfamília: Muscoidea  
Família: Muscidae  
Gênero: Stomoxys

### 2.2. Dispersão e distribuição geográfica

*Stomoxys calcitrans* é uma das 18 espécies pertencentes ao gênero *Stomoxys*. O cenário mais parcimonioso sobre a origem geográfica do inseto, ao analisar populações do Novo Mundo, aponta que seu surgimento ocorreu na região Paleártica, nos últimos 500 anos (Marquez *et al.*, 2007). Esta se demonstra como a única do gênero a ocupar as Américas e a Europa, apresentando distribuição cosmopolita (**Figura 1**) (Duvallet & Hogsette, 2023).



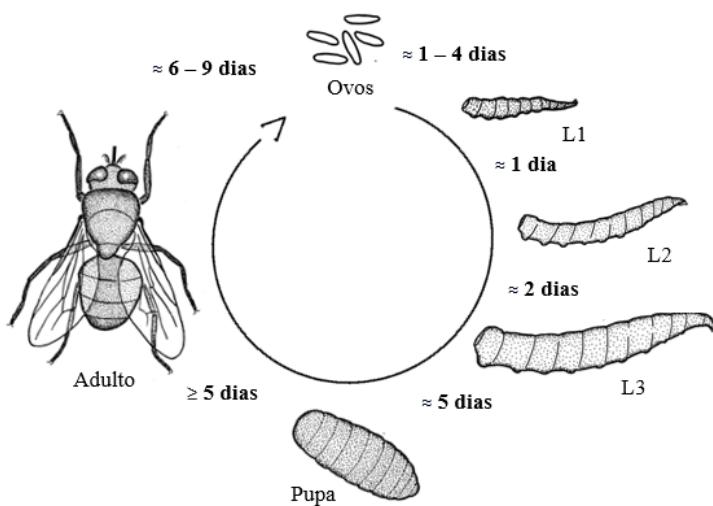
**Figura 1.** Distribuição cosmopolita de *Stomoxys calcitrans*. Fonte: Duvallet *et al.*, 2023.

Em experimentos de marcação-soltura-recaptura, foi observado que a mosca pode atravessar mais de 5 km em busca de uma refeição sanguínea e quando observada a dispersão

após tempestades, esse deslocamento pode ser superior a 225 km do ponto de marcação. Essas análises evidenciam a grande capacidade de dispersão da espécie, o que pode explicar sua distribuição cosmopolita (Bailey *et al.*, 1979; Hogsette *et al.*, 1987 & Foil & Hogsette, 1994).

### 2.3. Ciclo de Vida e Desenvolvimento

*S. calcitrans* possui desenvolvimento caracterizado como holometábolo, visto que em seu ciclo de vida (**Figura 2**) a mosca passa pelos estágios de ovo, três instares larvais e pupa, até atingir a fase adulta. O desenvolvimento de ovo a adulto ocorre aproximadamente em 20 dias, sendo fortemente impactado pela temperatura e umidade, uma vez que podem acelerar ou retardar o processo. A mosca adulta pode alcançar longevidade média de 48 dias para fêmeas e 51 dias para machos (Gilles *et al.*, 2005; Salem *et al.*, 2012 e Issimov *et al.*, 2020).



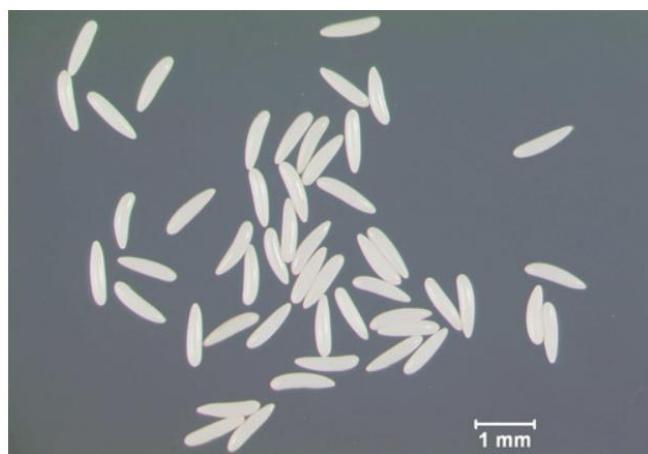
**Figura 2.** Representação do ciclo de vida de *Stomoxys calcitrans*. Fonte: Wikimedia Commons, 2016

A espécie permanece no estágio de ovo de 1 a 4 dias, do qual eclode a larva de 1º ínstار (L1). Esta se mantém nesse estágio por 24 horas até atingir o 2º íнстар (L2), que leva cerca de 48 horas até alcançar o 3º íнстar larval (L3). A formação de pupas ocorre em cerca de 8 dias após a eclosão dos ovos e o organismo pode permanecer nesse estágio de 5 a 26 dias, até a emergência do adulto (Parr, 1962 e Gilles et. all, 2005).

#### 2.3.1. Ovos

Seus ovos (**Figura 3**) são elípticos e de coloração branca, com aproximadamente 1mm de comprimento e 0,25 – 0,30 mm de largura, apresentando uma prega de eclosão lateralmente (Kano, 1953). Geralmente são postos em lotes contendo de 20 – 100 ovos, no interior do

substrato. Na natureza, fêmeas podem produzir de 60 a 800 ovos ao longo da vida, fazendo de quatro a cinco posturas nesse período (Abbas *et al.*, 2022).



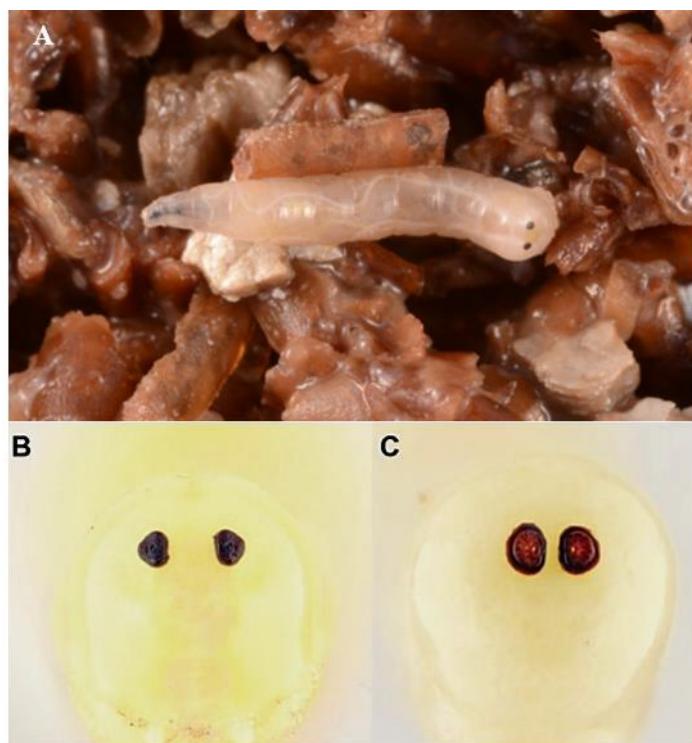
**Figura 3.** Ovos de *Stomoxys calcitrans*. Fonte: Lyle Buss, Universidade da Flórida

A oviposição ocorre em matéria orgânica de origem vegetal em processo fermentativo e de decomposição, sendo observada sua ocorrência em silagem, feno apodrecido, aparas de gramas, resíduos de cana-de-açúcar e até mesmo em ervas marinhas. Fezes de animais herbívoros também são escolhidas por fêmeas grávidas para a postura, principalmente quando em associação com restos vegetais e umedecidos com urina, sendo pouco atrativas quando não misturadas com matéria vegetal em fermentação, sendo a mosca capaz de decidir pelo substrato ideal através de pistas olfativas percebidas à distância (Hafez & Gamal-Eddin, 1959; Todd, 1963; Zumpt, 1973; Axtell, 1986; Foil & Hogsette *et. all*, 1994 e Jeanbourquin & Guerin, 2007).

### 2.3.2. Larvas

As larvas de *S. calcitrans* (**Figura 4A**) são claras e vermiformes, apresentando placadas espiraculares posteriores. Durante todo o processo, o desenvolvimento larval ocorre de maneira acelerada, passando por 3 íntares larvais. Os ovos eclodem dando origem às larvas de 1º ínstare, com aproximadamente 1mm de comprimento, que aumentam em tamanho ( $\approx 1,7$  mm) e sofrem muda para o 2º ínstare ( $\approx 2,8$  mm), que diferem do estágio anterior por possuírem espiráculos anteriores com 4-7 lobos, fracamente pigmentados, com duas fendas não sinuosas em cada um. Após rápido crescimento, estas originam o 3º ínstare ( $\approx 5.2 - 11$  mm), que possuem três fendas sinuosas em cada espiráculo posterior (Rochon *et al.*, 2021). Nesse estágio, os espiráculos se mostram arredondados, de coloração escura e amplamente espaçados (**Figura 4B**), o que difere as larvas de *S. calcitrans* das de *Musca domestica*, uma vez que nesta última as placas espiraculares se demonstram mais próximas (**Figura 4C**). Outra característica que difere as

larvas de *S. calcitrans* das de outros Muscidae é a presença de um esqueleto cefalofaríngeo e existência de um gancho bucal.



**Figura 4.** Larva de *Stomoxys calcitrans* (A). Fonte: Lyle Buss, Universidade da Flórida; Comparação entre espiráculos de *S. calcitrans* (B) e *Musca domestica* (C). Fonte: Rochon *et al.*, 2021.

### 2.3.3. Pupas

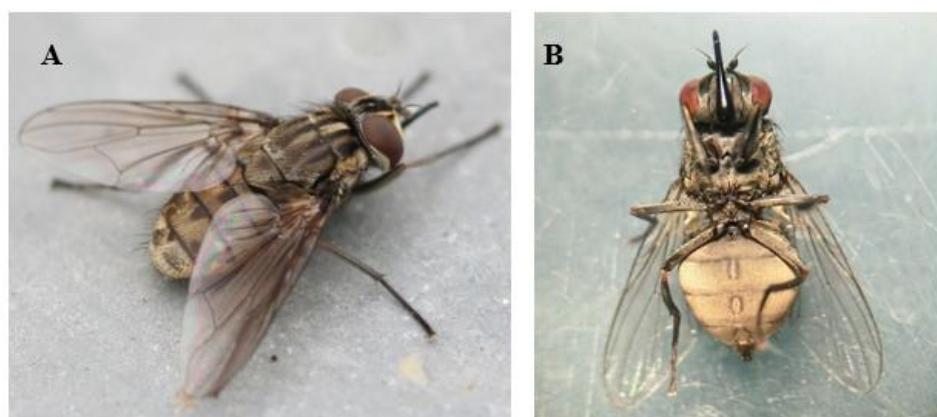
A formação das pupas se inicia com a redução da mobilidade das larvas de 3º instar, que se tornam menores em comprimento e maiores em largura, até alcançar o formato oval padrão do estágio. No início do processo, a antiga pele larval, que compõem a parte externa da pupa, se apresenta clara e macia, passando por endurecimento e escurecimento gradual da cutícula, dando origem a pupas com aproximadamente 5mm de comprimento e de coloração marrom escura (**Figura 5**) (Parr, 1962).



**Figura 5.** Pupas de *Stomoxys calcitrans*. Fonte: Lyle Buss, Universidade da Flórida

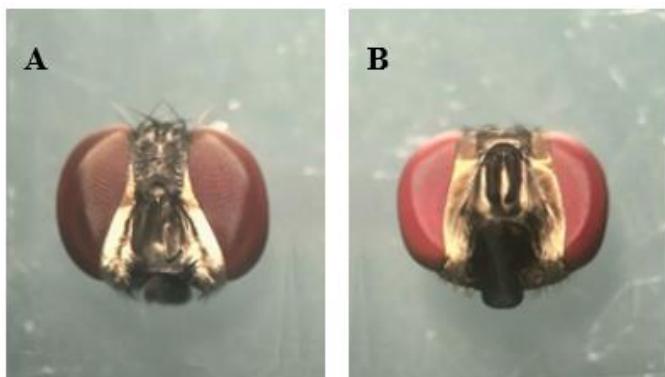
#### 2.3.4. Adultos

A fase adulta de *S. calcitrans* (**Figura 6A e B**) assemelha-se à de *M. domestica* e à mosca dos chifres (*Haematobia irritans*). Sua coloração é cinza, com tonalidades amarelo-esverdeado, podendo medir de 4-7 mm de comprimento, com manchas arredondadas e uma linha mediana incompleta no abdômen, as asas são claras e iredescentes (Zumpt, 1973). A probóscide se projeta a frente da cabeça, caracterizando todo o gênero, sendo fortemente esclerotizada, portanto rígida e robusta. Este aparelho é formado por três longas partes: labium (lábio superior), labrum (lábio inferior) e hipofaringe, que é composta por dois tubos. Através de um dos finos tubos da hipofaringe, a saliva é injetada, enquanto o sangue é puxado por um tubo mais espesso, formado pela conjunção do labium e da parte dorsal da hipofaringe (Foil & Hogsette, 1994).



**Figura 6.** Vista dorsal (A) e ventral (B) de *Stomoxys calcitrans*. Fontes: David Nicholls, Inglaterra (A) e autoria própria (B).

Machos e fêmeas são distinguidos pela presença de modificações para cópula e oviposição na parte posterior do abdômen e pelo espaçamento dos olhos no ápice da cabeça, mais estreito nos machos e mais espaçado nas fêmeas (Zumpt, 1973).



**Figura 7.** Dimorfismo sexual apresentado no espaçamento entre os olhos de *Stomoxys calcitrans*, estreito em machos (A) e mais espaçado em fêmeas. Fonte: autoria própria.

## 2.4. Comportamento alimentar

O comportamento alimentar da espécie é agressivo e persistente, realizando sucessivas picadas até obter uma refeição completa. A mosca, preferencialmente, escolhe partes no corpo do hospedeiro onde hajam menos obstáculos para a alimentação, como as partes inferiores e as patas dianteiras dos animais pois, além do pelo ser mais curto, o local evita a perturbação dos movimentos defensivos da cauda (Abbas & Ali, 2022 e Cortinas & Jones, 2006). *S. calcitrans* alimenta-se de uma a duas vezes por dia, levando aproximadamente de 3-4 minutos para engorgitar, podendo consumir uma média de 11-15 ul por alimentação (Schowalter & Klowden, 1979; Rochon *et al.*, 2011 e Abbas & Ali, 2022). Em análises realizadas por Schofield & Torr (2002), foi observado que a mosca frequentemente abandona o hospedeiro antes de completar uma alimentação completa devido a distúrbios causados por outras moscas e por movimentos defensivos dos animais parasitados, provocados pela dor de sua picada devido a robustez de sua probóscide, presença de estruturas semelhantes a dentes no labelo e ausência de anestésicos em sua saliva (Baldacchino *et al.*, 2013 e Cortinas & Jones, 2006).

Sobre seus hospedeiros, *S. calcitrans* é conhecida como uma importante peste do gado, motivo pelo qual recebe a alcunha “mosca dos estábulos”. Contudo, uma grande gama de animais, selvagens e domésticos, podem ser parasitados. Dentre os animais domésticos, cavalos, bovinos, suínos, cães, gatos, ovinos e caprinos são citados como alvos de seus ataques, podendo a mosca atacar inclusive seres humanos na ausência de seus hospedeiros preferenciais (Patra *et al.*, 2018).

Levantamentos realizados em regiões distintas, reportam diferenças na escolha preferencial por hospedeiros: Hafez & Gamal-Eddin (1959), no Egito, observaram preferência por burros seguidos de cavalos, Gruvil & Balis (1966) observaram que camelos são alvos preferenciais em Chad (África Central) e Warnes & Finlayson (1984) observou que bovinos são hospedeiros

preferenciais seguido por cavalos, no Reino Unido, não registrando ataques em ovinos e caprinos. Aliado a isso, em termos ecológicos, existe a hipótese de que a espécie seja oportunista, podendo *S. calcitrans* preferir hospedeiros que estejam em grande número em áreas delimitadas, o que pode explicar a grande atração a rebanhos, pois tais criações fornecem acesso fácil e inesgotável a fontes de alimento e substratos para sua reprodução (Jeanbourquin, 2005).

O comportamento alimentar generalista dessa espécie gera interessante ponto de investigação, uma vez que o sangue proveniente de hospedeiros distintos possui perfis bioquímicos próprios. Além disso, é conhecido que após a alimentação sanguínea há a expressão de diversas moléculas que participam de vários processos fisiológicos, abrangendo desde a digestão do sangue até o desenvolvimento dos ovos. Dessa forma, há indícios que diferentes fontes de alimentação sanguíneas possam impactar de maneiras distintas a fisiologia de artrópodes hematófagos (Lehane, 2005 & Ramalho-Ortigão, 2007). Essa diversidade alimentar pode trazer também impactos à microbiota desses organismos, sendo conhecido que algumas espécies de bactérias presentes, principalmente, no intestino de artrópodes, podem aumentar sua longevidade e capacidade reprodutiva, como também modular a resistência a inseticidas e modificar a susceptibilidade a patógenos (Muturi *et al.*, 2021).

Além disso, é sugerido que refeições sanguíneas realizadas em diferentes hospedeiros, por insetos hematófagos, provoquem certas alterações na fisiologia digestiva através de variações na produção de enzimas, indicando um refinado nível de controle da digestão (Lehane, 2005). *S. calcitrans* pode levar de 14-21hrs para realizar a digestão completa de uma refeição de sangue, dependendo da temperatura e da presença de açúcares, que proporcionam um atraso no processo digestivo (Lee & Davies, 1979). Na digestão de *S. calcitrans*, os agentes hemolíticos, que realizam a quebra das hemárias, são liberados na região posterior do intestino médio em resposta à refeição sanguínea (Kirch *et al.*, 1991). Devido ao alto teor de proteínas no sangue, a maior parte das enzimas envolvidas na digestão de insetos hematófagos são proteases, com ação predominante de tripsinas, tendo carboxipeptidases, quimotripsinas e aminopeptidases papel subsidiário e além dessas, invertases, amilases e esterases também estão presentes (Lehane, 2005). Embora recebam pouca atenção, glicosidases também participam desse processo, sendo necessárias para a digestão de açúcares e carboidratos presentes na alimentação da mosca (DeLoach & Spates, 1984).

## 2.5. Reprodução

Machos e fêmeas são hematófagos obrigatórios, sendo a hematofagia crucial para a sobrevivência plena de *S. calcitrans*, sendo determinante para sua reprodução. É conhecido que a alimentação estrita com solução de sacarose a 20% causa redução no tempo de vida da mosca, ocasionando longevidade média de 4,4 dias (Jones, 1992).

Em estudo realizado por Meola *et al.* (1977) foi analisado o impacto da alimentação sanguínea no comportamento sexual da mosca. Apenas fêmeas alimentadas com sangue produzem hidrocarbonetos cuticulares, que agem como feromônios sexuais. Foi observado ainda pelos autores que a ausência de consumo de sangue faz com que machos não sejam responsivos aos estímulos químicos desses feromônios, não demonstrando comportamento de cópula.

Além disso, em machos, apesar da ausência de alimentação sanguínea não comprometer a maturação dos espermatozoides, se faz necessário ao menos uma digestão de sangue para que as células da glândula acessória sejam capazes de produzir fluido seminal, elemento necessário para a transferência espermática (Anderson, 1978). Já em fêmeas, a ausência de alimentação sanguínea impede o desenvolvimento dos ovários, levando-os a permanecerem no estágio de “repouso”, sem deposição de vitelo nos folículos (Moobola & Cupp, 1978).

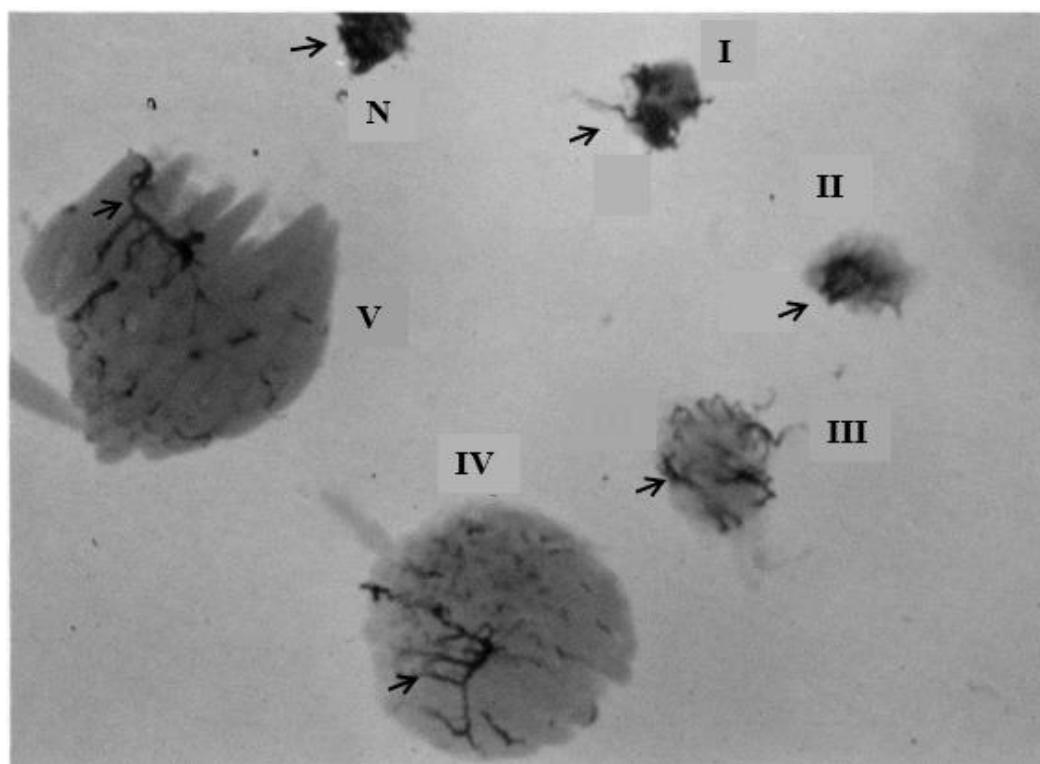
Contudo, a alimentação de néctar e líquidos de frutos em decomposição também são hábitos comuns desse organismo, já que o açúcar presente nessas fontes fornece energia imediata para atividades como o voo (Jones *et al.*, 1992 e Zumpt, 1973).

*S. calcitrans* necessita de ao menos uma refeição sanguínea para que se inicie a oogênese, sendo esta etapa independentemente do acasalamento. Diferentemente de mosquitos, *S. calcitrans* não apresenta concordância gonotrófica, ou seja, necessita de diversas alimentações sanguíneas – de seis a nove – para a maturação e postura de cada lote de ovos. Apesar de não haver necessidade de cópula para o início da oogênese, esta se mostra fundamental para o seu desenvolvimento e consequente oviposição (Moobola & Cupp, 1978 e Venkatesh & Morrison, 1978).

O ovário cresce rapidamente em tamanho, com constante deposição de vitelo. Em *Stomoxys*, as proteínas do vitelo são utilizadas como fonte primária de nutrientes para o desenvolvimento embrionário, sendo derivadas de uma classe de proteínas derivadas de lipases (Chen *et al.*, 1987 e Tufail *et al.*, 2008). Essas proteínas funcionam como fontes de aminoácidos e também como transportadores de nutrientes essenciais, como lipídeos e vitaminas (Stevens, 1996). Segundo a classificação realizada por Detinova (1962), a oogênese pode ser dividida em

seis estágios (**Figura 8**). No estágio N, primeira etapa do desenvolvimento, os ovários são constituídos de células indiferenciadas, com forte presença do sistema traqueal (ramos da traqueia que se subdividem recobrindo toda a estrutura do ovário), normalmente ocorrendo em moscas recém emergidas. No estágio I, inicia-se a deposição de vitelo dentro dos oócitos, que passam a ocupar cerca de 20% do folículo, em moscas em torno de 3 dias de idade. No estágio II, os folículos começam a se alongar juntamente com o crescimento do oóbito (que ocupa agora 40% do folículo), em torno de 4 a 5 dias de vida. Posteriormente, o aumento gradativo de vitelo no interior dos oócitos ocorre nos estágios III (5 a 6 dias) e IV (6 a 8), até atingir o último estágio (V), que ocorre entre 7 e 10 dias de vida da mosca, normalmente, aonde o folículo atinge seu tamanho máximo com o oóbito preenchendo-o 100%, havendo espessamento do córion (membrana externa que confere proteção aos ovos, representando a casca) com a presença já formada da prega de eclosão. Durante todo o processo de desenvolvimento dos oócitos, o ovário vai crescendo em comprimento e largura, devido ao crescimento dos folículos. Além disso, ramos do sistema traqueal, que ligam os troncos principais da traqueia aos ovários, suprem o órgão de oxigênio durante o seu desenvolvimento. Eles podem ser observados sobre a superfície ou entremeados entre os folículos ovarianos ao decorrer do crescimento do órgão. Sua presença nos estágios iniciais de desenvolvimento é maior, chegando a recobrir maior parte da superfície dos ovários no estágio N, contudo, conforme o crescimento ovariano vai ocorrendo, os ramos do sistema traqueal vão gradualmente se deslocando para fora do ovário (Detinova, 1962).

2.6.



**Figura 8.** Fases do desenvolvimento dos ovários de *S. calcitrans*. Setas indicando ramos do sistema traqueal. Fonte: Detinova, 1962.

#### Impactos causados por *S. calcitrans*

*S. calcitrans* causa diversos transtornos aos hospedeiros. Sua alimentação causa desconforto aos animais, que reagem através de movimentos defensivos na tentativa de escapar de suas picadas, como pisoteios, movimentações de cabeça, orelhas, pele e rabo, e comportamentos de fuga. Tais eventos levam a grande estresse, perda de energia e redução no tempo de alimentação. Aliados à perda de sangue, o hábito alimentar da mosca gera, diretamente, efeitos imunossupressivos entre os parasitados (Baldacchino *et al.*, 2013 e Swist *et al.*, 2002).

Esse impacto direto auxilia a aquisição e desenvolvimento de infecções, uma vez que o comportamento alimentar de *S. calcitrans* possibilita a transmissão mecânica de diversos patógenos, como vírus, bactérias, protozoários e helmintos. Dentre esses, são observados vírus da febre do Nilo Ocidental (Doyle *et al.*, 2011), *Bacillus anthracis* (Turrel *et al.*, 1987), *Anaplasma marginale* (Scoles *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2011 e Araújo *et al.*, 2021), *Trypanosoma vivax* (Mihok *et al.*, 1995 e Cuglovici *et al.*, 2010), entre outros, que podem ser transmitidos quando há a troca de hospedeiros durante a alimentação, incentivada pelas reações defensivas dos animais e por eventos de regurgitação dos conteúdos do trato digestório da

mosca (Baldacchino *et al.*, 2013). *S. calcitrans* é também hospedeira intermediária dos nematóides *Habronema muscae* e *H. microstoma* (Farkas & Hogsette, 2000 e Rodríguez-Batista *et al.*, 2005).

Como parte da problemática exposta, surtos de *S. calcitrans* vêm se demonstrando cada vez mais frequentes no Brasil. Acometendo principalmente as regiões Centro-Oeste e Sudeste do país, o aumento populacional da mosca está intimamente ligado ao aumento das atividades agrícolas, com destaque para a produção de cana-de-açúcar (Dominghetti *et al.*, 2015). Observa-se que a expansão da indústria sucroalcooleira se relaciona com o aumento severo de ataques em fazendas de gado, localizadas nas proximidades de usinas de cana-de-açúcar (Barros *et al.*, 2010). A ampla utilização da vinhaça, um subproduto resultante da fermentação do caldo da cana-de-açúcar, como fertilizante, e a proibição da queima pré-colheita dessa cultura proporcionam grandes sítios de matéria vegetal em fermentação, substrato ideal para o desenvolvimento da mosca (Cançado *et al.*, 2013 e Corrêa *et al.*, 2013).

Todos esses fatores geram grandes prejuízos à pecuária. É estimado que, no Brasil, infestações de *S. calcitrans* resultem em perdas de \$335.46 milhões ao setor, uma vez que animais parasitados possam ter uma redução de até 19% no ganho de peso e de 40-60% no rendimento da produção de leite (Campbell *et al.*, 2001; Grisi *et al.*, 2002; Carn, 1996 e Walker, 1990). A mosca também causa prejuízos ao setor sucroalcooleiro, através da necessidade de investimento em medidas de manejo dos subprodutos da cana-de-açúcar e em controle químico (Dominghetti *et al.*, 2015).

## 2.7. Estratégias de Controle

O controle de *S. calcitrans* se demonstra um grande desafio, principalmente em criações de gado e usinas de cana-de-açúcar. As principais práticas de prevenção necessitam de constante manejo da matéria orgânica produzida, de forma a evitar que se tornem sítios de reprodução da mosca. Dentre as técnicas utilizadas, pode-se citar a redução da utilização de fertilizantes orgânicos, a incorporação de resíduos de cana-de-açúcar no solo, assim como a adoção de boas práticas de manejo sanitário em criações de animais, evitando o acúmulo de fezes e restos de alimentações (Skoda *et al.*, 1991; Foil & Hogsette, 1994; Broce *et al.*, 2005; Buralli *et al.*, 1987 e Bittencourt, 2012).

Apesar do uso de inseticidas ser a primeira escolha pela a maioria dos produtores na tentativa de se livrar da mosca-dos-estábulos, essa prática se demonstra pouco eficiente, sendo recomendada apenas em situações emergenciais. O desenvolvimento de resistência a diversos químicos já vem sendo observado em populações de *S. calcitrans*. Olafson *et al.* (2021), durante

o sequenciamento do genoma de *S. calcitrans*, demonstraram que a espécie apresenta grande capacidade para detoxificação metabólica, devido ao aumento da família de genes citocromo P450. É conhecido que o citocromo P450 possui diversas funções na fisiologia de insetos, dentre elas a desintoxicação xenobiótica (Schuler & Berenbaum, 2013). Em associação a esse fato, vem sendo observado o aumento de populações selvagens resistentes, principalmente, a piretróides, muito relacionado ao uso indiscriminado do pesticida (Barros *et al.*, 2019; Reissert-Oppermann *et al.*, 2019 e Tainchum *et al.*, 2018).

Estratégias de controle focadas nos estágios imaturos se demonstram promissoras. Macedo *et al.* (2005), demonstraram a eficácia da aplicação preventiva de avermectina em bovinos. O tratamento reduziu o desenvolvimento de larvas em adultos em 84%, em fezes de animais tratados. A aplicação de inseticidas reguladores de crescimento (IGRs) no esterco de bovinos também demonstrou eficaz impacto no desenvolvimento dos estágios imaturos de *S. calcitrans* (Liu *et al.*, 2012 e Lohmeyer & Pound, 2012).

Formas de controle biológico também vêm sendo desenvolvidas. Baleba *et al.* (2021) demonstraram que a infecção com o fungo entomopatogênico *Metharhizium anisopliae* reduz a sobrevivência da mosca, além de reduzir o número e a eclosão dos ovos. A utilização de ácaros do gênero *Macrocheles*, predador natural dos estágios imaturos de *S. calcitrans*, também vem sendo estudada, demonstrando potencial desse organismo no controle populacional da mosca (Azevedo *et al.*, 2018).

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Analisar os impactos que diferentes substratos de desenvolvimento e alimentações podem causar nos estágios imaturos e adultos de *S. calcitrans*.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Observar os efeitos que diferentes dietas (sangue bovino, equino, ovino, coelho, humano e solução de sacarose a 10%) causam na propensão alimentar de adultos de *S. calcitrans*;
- Analisar os impactos que diferentes substratos de desenvolvimento (feno de alfafa e cana-de-açúcar) e diferentes alimentações (sangue bovino, equino, ovino, coelho, humano e solução de sacarose a 10%) causam na longevidade, reprodução e desenvolvimento de *S. calcitrans*;

- Observar as alterações que diferentes dietas (sangue bovino, equino, ovino, coelho, humano e solução de sacarose a 10%) causam no desenvolvimento dos ovários de *S. calcitrans*;

## **4. Materiais e Métodos**

### **4.1. Colônia de *Stomoxys calcitrans***

Para o desenvolvimento do trabalho foram utilizados indivíduos adultos, emergidos em laboratório, provenientes da colônia de *S. calcitrans*, mantida no Laboratório de Parasitos e Vetores, situado no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – UFRRJ, sob coordenação Profª. Patrícia Fampa Negreiros Lima. A colônia foi estabelecida a partir da coleta *S. calcitrans* em bovinos da Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz da UFRRJ e mantida de acordo como descrito por Florencio *et al.* (2020). As moscas foram coletadas com auxílio de um puçá, em animais contidos – a contenção para tal procedimento foi realizada de acordo com as normas do CONCEA e aprovada pela CEUA, número de protocolo 728021022 – e levadas para laboratório, aonde passaram por triagem para identificação da espécie, descarte de indivíduos comprometidos e parasitados por ácaros do gênero *Macrocheles*, conhecidos predadores de larvas e ovos (Beresford & Sutcliffe, 2009). Os insetos são mantidos em gaiolas com oferta diária de sangue bovino heparinizado e algodão envolto em pano preto, que serve como sítio para oviposição das moscas, sob um regime de fotoperíodo de 12 luz:12 escuro, em umidade e temperatura ambientes. Os ovos gerados são recolhidos diariamente e postos em potes contendo de 40 a 60g de substrato a base de cana de açúcar ou a base de feno de alfafa.

### **4.2. Condições Experimentais**

Para a análise dos impactos de diferentes dietas e substratos de desenvolvimento no histórico de vida de *S. calcitrans*, foram testadas as alimentações com sangue bovino, equino, ovino, coelho, humano e solução de sacarose a 10%. Os sangues bovino e humano são heparinizados e os sangues equino, ovino e de coelho desfibrinados, mantidos congelados a -20°C e descongelados imediatamente antes do uso.

Os substratos de desenvolvimento testados são à base de cana de açúcar, preparado com 360g de cana de açúcar moída, 120g de farelo de trigo, 40g de farinha de carne, 5g de bicarbonato de sódio e 125 mL de água destilada, fermentado por 3 dias, como descrito por Christmas (1970) com adaptações, e à base de feno de alfafa, preparado a partir de 100g de feno

de alfafa picado umedecidos com 200 mL de água destilada, fermentado por 6 dias, como descrito por Dillmann *et al.* (2021).

#### **4.3. Análise dos impactos de diferentes dietas sanguíneas na propensão alimentar de *S. calcitrans***

Nesse experimento foram utilizados seis grupos de cinco moscas, desenvolvidas em substrato a base de feno de alfafa, com até três dias de idade, mantidas em alimentação com solução de sacarose a 10%. Moscas de cada grupo foram colocadas, individualmente, em gaiolas, contendo 3 mL de alimentação fornecida em algodão preso na parte superior. Para cada grupo, foi oferecida uma das alimentações descritas no item 3.2. A alimentação foi disponibilizada por 10 minutos, sendo analisado a quantidade de sangue consumido, através do registro do peso do indivíduo antes e depois da alimentação com cada dieta; o tempo de atração, contabilizado desde o fornecimento do alimento até o início da alimentação das moscas, observado através da inserção da probóscide na dieta; e o tempo gasto em cada alimentação, registrado desde o momento da inserção da probóscide na fonte alimentar até sua retirada.

#### **4.4. Análise dos impactos de diferentes substratos e dietas sanguíneas na longevidade de *S. calcitrans***

Os adultos utilizados nesse experimento foram obtidos em duas condições distintas: 1) moscas que tiveram o desenvolvimento dos estágios imaturos em substrato a base de cana-de-açúcar e 2) que se desenvolveram em substrato a base de feno de alfafa. Dessa forma, seis grupos de 30 moscas (15 machos:15 fêmeas), para cada condição, foram alocados em gaiolas. Os grupos receberam individualmente 2mL de uma das alimentações descritas no item 3.2, sendo a mesma oferecida em algodão e trocada diariamente. O acompanhamento das gaiolas foi realizado até a morte do último indivíduo, sendo diariamente checada em busca de óbitos. Quando presentes, as mesmas foram retiradas das gaiolas e sexadas.

#### **4.5. Análise dos impactos de diferentes substratos e dietas sanguíneas na reprodução de *S. calcitrans***

A partir do experimento descrito no tópico anterior, análises de reprodução foram realizadas. Para isso, foi registrado o período pré-oviposição (tempo levado para o início da postura de ovos em cada gaiola); a mortalidade pré-oviposição das fêmeas; o número de posturas; a fertilidade das fêmeas (através do número de ovos postos em cada tratamento) e a eclosibilidade dos ovos postos. As moscas ovipositaram tanto em algodão umedecido envolto

em pano preto, oferecido como superfície para oviposição, quanto no algodão com alimentação oferecida. Para o recolhimento dos ovos, ambas as superfícies foram lavadas em água corrente sobre uma peneira granulométrica (0.8 mm), sendo contabilizados visualmente com auxílio de um contador numérico manual. Para as análises de fertilidade, os ovos foram transferidos para substratos à base de cana-de-açúcar ou feno alfafa, de acordo com a condição prévia dos adultos de cada grupo, sendo a eclosibilidade dos ovos registrada através da contabilização das larvas. O potencial reprodutivo para cada condição foi analisado, segundo Sutherland (1978), levando em consideração a porcentagem de fêmeas mortas no período pré-oviposição, o número de ovos postos e o percentual de eclosão.

#### **4.6. Análise dos impactos de diferentes substratos e dietas sanguíneas no desenvolvimento dos estágios imaturos de *S. calcitrans***

Os substratos à base de cana-de-açúcar e feno de alfafa contendo os ovos transferidos, citados no tópico anterior, foram acompanhados diariamente. Aspectos relacionados ao desenvolvimento dos estágios imaturos até a formação do adulto foram registrados. Dessa forma foi observado o tempo para eclosão dos ovos; período até a formação de pupas; conversão de ovo a pupa; peso pupal; tempo até a emergência dos adultos; peso dos adultos e percentual de adultos emergidos.

#### **4.7. Análise da interferência de diferentes alimentações no desenvolvimento dos ovários**

Para observar se as diferentes alimentações impactam o desenvolvimento dos ovários, foram utilizados seis grupos de 25 moscas recém emergidas, na proporção sexual 4:1. Cada grupo recebeu 2mL de uma das alimentações descritas no item 3.2. Após esse período, foi realizada a dissecção dos ovários, em PBS. Para esse procedimento as moscas foram anestesiadas por resfriamento. Os ovários extraídos foram fixados em álcool 70% e mantidos sob refrigeração até serem realizadas as análises em microscópio estereoscópico, aonde foram realizadas as medições, assim como registros de imagens, através do software Olympus cellSens Dimension<sup>TM</sup>.

#### **4.8. Análises estatísticas**

Os gráficos e análises estatísticas foram realizados no software GraphPad Prism<sup>TM</sup>, versão 6.0. Para as análises de sobrevivência, foi utilizado o teste de long-rank, sendo os

tratamentos considerados diferentes significativamente quando o valor de  $p<0,0001$ . Para as demais análises, foi realizado o teste One-way Anova para amostras independentes, com pós-teste de Turkey, sendo o valor de significância considerado  $p<0,05$ .

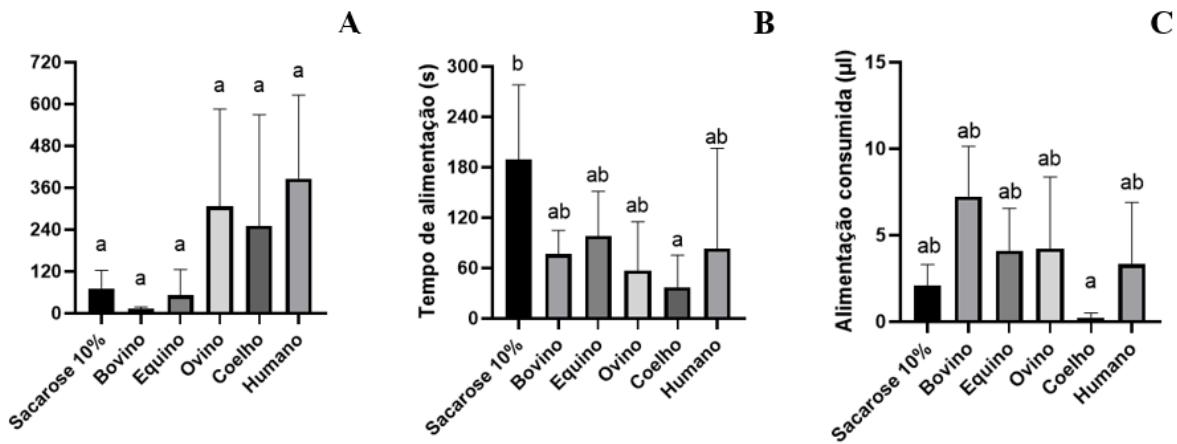
## 5. Resultados

### 5.1. Diferentes dietas podem impactar a propensão alimentar em adultos de *S. calcitrans*

Seis grupos de cinco moscas recém emergidas foram mantidas em solução de sacarose por três dias e em seguida alimentadas com diferentes tipos de dietas. A alimentação foi ofertada aquecida, em algodão preso no topo da gaiola. O tempo de atração à fonte alimentar (**Figura 9A**) foi menor para os grupos sangue bovino (13 segundos), sangue equino (51 segundos) e solução de sacarose (1,11 minutos). Os demais grupos demonstraram menor atração pelo alimento disponibilizado, levando cerca de 4,18 minutos para moscas iniciarem o consumo de sangue de coelho, 5,10 minutos para sangue ovino e 6,5 minutos, para sangue humano.

Quando observado o tempo médio de alimentação (**Figura 9B**), foi percebido que o grupo alimentado com solução de sacarose teve a alimentação mais longa, levando 3,15 minutos até retirar a probóscide da fonte alimentar. Os grupos sangue equino, humano e bovino tiveram tempos aproximados de alimentação (1.38, 1.23 e 1.16 minutos, respectivamente), sendo seguidos por sangue ovino (57 segundos) e sangue de coelho (37 segundos).

Através da pesagem das moscas antes e depois da alimentação foi possível calcular a quantidade de sangue consumido (**Figura 9C**). O grupo alimentado com sangue bovino teve a maior taxa de alimentação, consumindo em média 7,4  $\mu\text{l}$  por indivíduo, seguido pelo grupo alimentado com sangue equino (4,2  $\mu\text{l}$ ), sangue ovino (4,2  $\mu\text{l}$ ), sangue humano (3,34  $\mu\text{l}$ ), solução de sacarose (2,10  $\mu\text{l}$ ) e sangue de coelho (0,2  $\mu\text{l}$ ).



**Figura 9.** Impacto de diferentes alimentações na propensão alimentar de *S. calcitrans*. **(A)** Gráfico de barras demonstrando tempo médio levado pela mosca para se atrair a fonte alimentar; **(B)** gráfico de barras ilustrando o tempo levado por *S. calcitrans* para realizar uma alimentação em diferentes dietas; **(C)** gráfico de barras apresentando a quantidade de sangue consumido durante a alimentação em diferentes fontes alimentares. Experimentos realizados em uniplicada, com 5 indivíduos por grupo alimentar. Letras acima das barras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .

## 5.2. Diferentes fontes alimentares afetam a longevidade de *S. calcitrans* de formas distintas

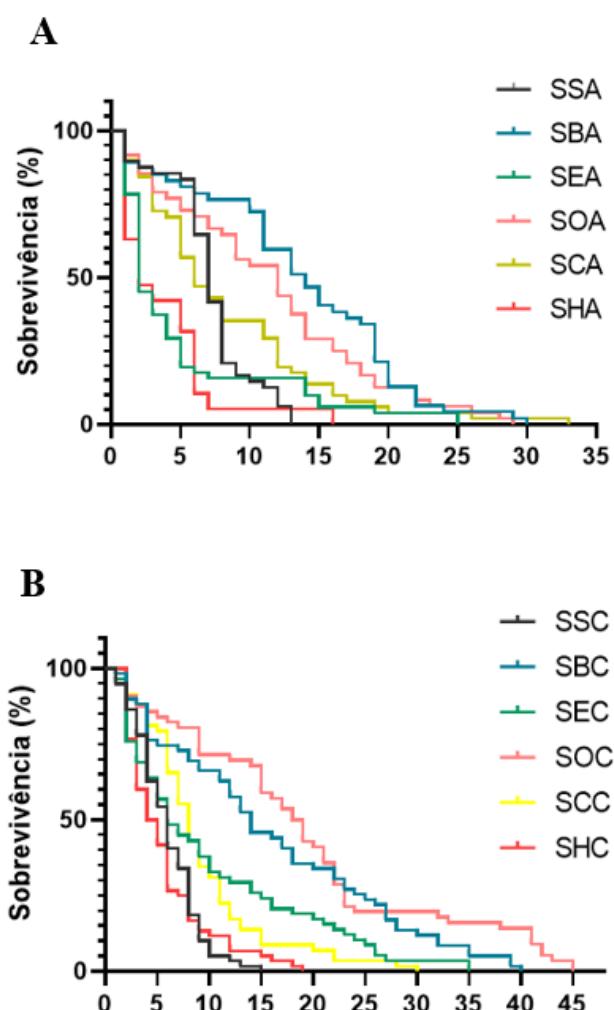
Para melhor fluidez do texto, siglas foram adotadas. Quando desenvolvidas em substrato a base de feno de Alfafa, foram adotadas as siglas SSA (Solução de Sacarose), SBA (Sangue Bovino), SEA (Sangue Equino), SOA (Sangue Ovino), SCA (Sangue de Coelho) e SHA (Sangue Humano). Quando desenvolvidas em substrato a base de cana-de-açúcar: SSC (Solução de Sacarose), SBC (Sangue Bovino), SEC (Sangue Equino), SOC (Sangue Ovino), SCC (Sangue de Coelho) e SHC (Sangue Humano). Sendo alterada apenas a última letra da sigla de acordo com o tipo de substrato: cana (C) ou alfafa (A).

As diferentes alimentações impactaram de forma significativa a taxa de sobrevivência de *S. calcitrans* desenvolvidas em substrato à base de feno de alfafa (**Figura 10A**) e à base de cana-de-açúcar (**Figura 10B**).

Ao verificar o tempo levado para a morte de 50% dos indivíduos ( $MT_{50}$ ) entre os grupos testados, foi observado que as alimentações com sangue bovino e ovino apresentaram maior média de sobrevivência. O grupo alimentado com sangue bovino (SBA e SBC) demonstrou a mesma  $MT_{50}$ , 14 dias, para os indivíduos desenvolvidos em ambos os substratos. Para o grupo alimentado com sangue ovino, foi observada uma  $MT_{50}$  de 12 (SOA) e 18,5 dias (SOC). Para

nossa surpresa, após alimentação com sangue equino, um dos hospedeiros preferenciais de *S. calcitrans*, foi observada MT<sub>50</sub> superior à alimentação com solução de sacarose, em moscas desenvolvidas em substrato de alfafa (SEA: 2 dias e SSA: 6 dias), possuindo a mesma MT<sub>50</sub> (6 dias) quando analisadas moscas provenientes do substrato de cana-de-açúcar (SEC e SSC). A alimentação com sangue de coelho levou a uma MT<sub>50</sub> de 6 (SCA) e 8 dias (SCC), sendo a alimentação com sangue humano a mais prejudicial, com MT<sub>50</sub> de 2 (SHA) e 4,5 dias (SHC).

Além disso, a criação em diferentes substratos de desenvolvimento levou a alterações na longevidade máxima alcançada para cada grupo. A máxima sobrevivência do grupo alimentado com solução de sacarose foi de 13 (SSA) e 15 dias (SSC); indivíduos do grupo alimentado com sangue bovino atingiram 30 (SBA) e 40 dias (SBC); com sangue equino, 25 (SEA) e 35 dias (SEC); com sangue ovino, 29 (SOA) e 45 dias (SOC); com sangue de coelho, 33 (SCA) e 30 (SCC); e com sangue humano, 16 (SHA) e 19 dias (SHC).

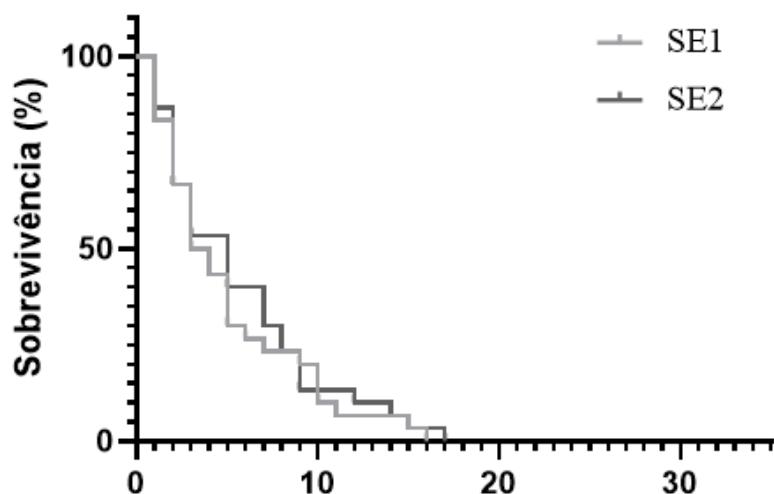


**Figura 10.** Curva de Kaplan-Meier demonstrando a influência de diferentes alimentações sobre a sobrevivência de *S. calcitrans* através do tempo, em moscas desenvolvidas em substrato de Alfafa (teste de long-rank

$X_2 = 61,84$ ,  $df = 5$ ,  $p < 0,0001$ ) (**A**) e Cana-de-Açúcar (teste de long-rank  $X_2 = 113,9$ ,  $df = 5$ ,  $p < 0,0001$ ) (**B**). Experimento realizado em duplicata experimental.

Nessas análises foi possível perceber que além do impacto causado pelas diferentes alimentações na longevidade dos adultos, o tipo de substrato utilizado para a criação dos estágios imaturos impacta na MT<sub>50</sub> dos indivíduos em alguns grupos (sangue ovino, equino, coelho e humano) e causa alterações na longevidade máxima.

O grande impacto da alimentação com sangue equino na sobrevivência de *S. calcitrans* nos chamou atenção, uma vez que cavalos são citados como hospedeiros preferenciais da mosca. Dessa maneira, foi realizado mais uma análise, comparando sangues equinos de origens distintas (**Figura 11**). As análises não demonstraram diferença entre os tratamentos, confirmando os resultados anteriores.

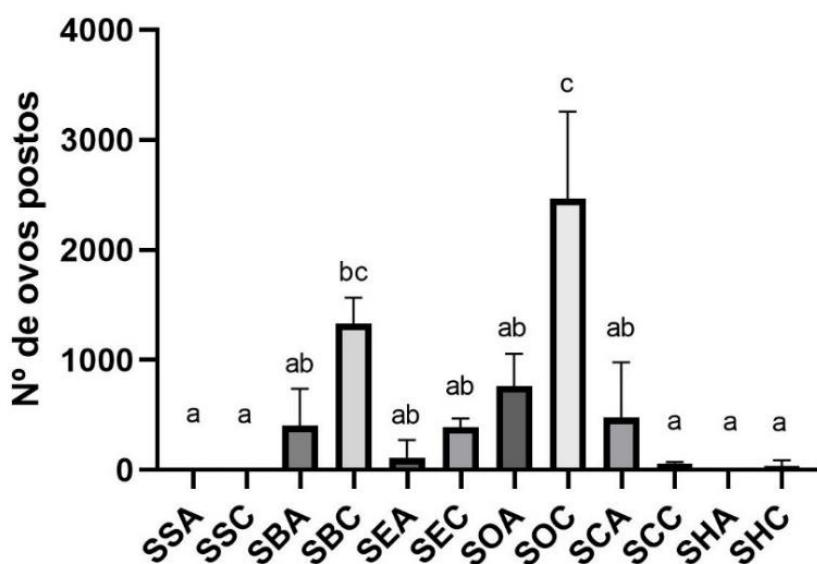


**Figura 11.** Curva de Kaplan-Meier demonstrando a taxa de sobrevivência de *S. calcitrans* alimentada com duas fontes distintas de sangue equino. Experimento realizado em uniplicata, demonstrando não ter diferença estatística entre os tratamentos ( $X_2 = 0,2369$ ,  $df = 1$  e  $p = 0,6264$ ).

### 5.3. Alimentações diferentes impactam a reprodução de *S. calcitrans*

A fertilidade das fêmeas (**Figura 12**) em cada tratamento foi acessada através do registro da oviposição realizada durante o ensaio do item 4.2. Moscas do grupo SOC tiveram a maior taxa de postura, com média de 2465 ovos postos, possuindo diferença significativa dos demais tratamentos, com exceção do grupo SBC, que ovipositiou uma média de 1329 ovos. O grupo SOA teve a terceira melhor oviposição (763,5 ovos) entre os tratamentos, sendo seguido por SCA (479 ovos), SBA (403 ovos), SEC (391 ovos), SEA (113 ovos), SCC (58 ovos) e SHC (36

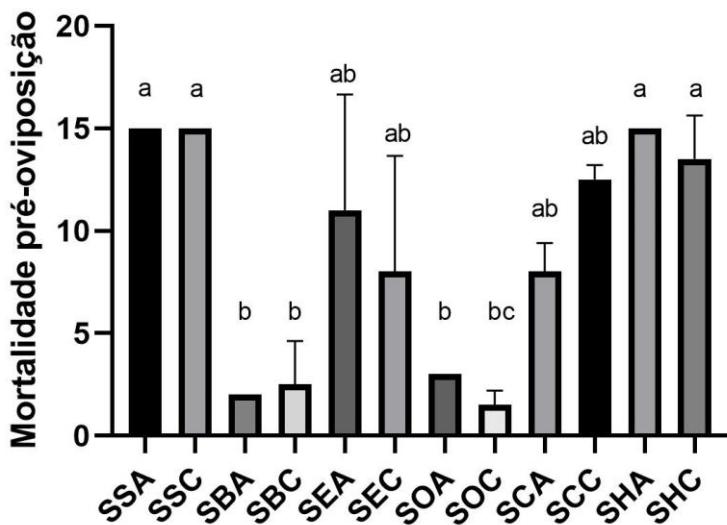
ovos). O grupo SHA não realizou oviposição durante o ensaio e como esperado, os grupos SSA e SSC também não ovipositaram.



**Figura 12.** Gráfico de barras demonstrando a média de ovos postos por *S. calcitrans* de acordo com a alimentação consumida e o tipo de substrato de desenvolvimento. Experimento realizado em duplicata experimental. Letras acima das barras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .

Com o objetivo de analisar a quantidade de fêmeas presentes nos grupos tratados durante o período de oviposição, fator que impacta a quantidade de ovos postos, foi realizada análise da mortalidade no período pré-oviposição (**Figura 13**). Dessa maneira, foi demonstrado que os grupos com maior taxa de ovos postos (SOC, SBC e SOA) tiveram baixas taxas de mortalidade antes do início da postura nas gaiolas, com média de 1.5, 2.5 e 3 indivíduos mortos por grupo, respectivamente. O grupo SBA também apresentou baixa mortalidade no período citado (2 fêmeas mortas), embora não tenha se sobressaído na oviposição. Apesar de os grupos SEC e SCA apresentarem taxa de oviposição similar à de SBA, os mesmos tiveram mortalidade média de 8 moscas, representando mais que a metade das fêmeas presentes na gaiola. Os grupos SEA,

SCC e SHC tiveram as maiores mortalidades entre os grupos que ovipositararam, com uma média de 11, 12,5 e 13,5 fêmeas mortas.



**Figura 13.** Gráfico de barras demonstrando a mortalidade pré-oviposição de *S. calcitrans* de acordo com a alimentação consumida e o tipo de substrato de desenvolvimento. Experimento realizado em duplicata experimental. Letras acima das barras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .

Outras análises sobre os impactos de diferentes alimentações e substratos de desenvolvimento na reprodução de *S. calcitrans* foram realizadas (Tabela 1). Ao analisar o período pré-oviposição, tempo levado pelas moscas até iniciarem a postura dos ovos, não foi observada diferença significativa entre os grupos. Entretanto, o grupo SOC demonstrou necessitar de menos tempo para iniciar a postura durante o experimento (4,5 dias), contrastando com o grupo SCC, que apresentou a maior demora para iniciar a oviposição (16 dias). Quando analisado o tempo de oviposição dos ovos, foi observado que o grupo SBC realizou o maior número de posturas, com média de 22,5 eventos registrados, seguido por SOC, com 21 ocorrências, tendo os grupos SHC e SHA as menores frequências observadas, com média de 1 e 1,5 dias. A eclodibilidade dos ovos postos foi maior para o grupo SOC, apresentando 59% de viabilidade, sendo seguido por SOA (43,84%). As menores taxas de eclodibilidade foram observadas para os grupos SBA e SCA, contudo, SCA apresentou uma das menores taxas de fertilidade entre os grupos, ovipositando apenas 58 ovos.

Foi observado ainda, que a capacidade reprodutiva de *S. calcitrans* pode ser influenciada pelo tipo dieta e substrato em que ela se desenvolve. Através do cálculo de potencial reprodutivo, foi possível notar que a alimentação com sangue ovino afetou positivamente parâmetros fundamentais para a reprodução da mosca (mortalidade pré-oviposição, número de

ovos postos e eclodibilidade), tendo o grupo SOC o maior desempenho reprodutivo, seguido por SOA. A alimentação com sangue bovino apresentou o terceiro maior valor de potencial reprodutivo para o grupo SBC, seguido por SBA. Os grupos SEA, SEC, SCA e SCC tiveram a pior classificação, demonstrando que o sangue equino e de coelho afetam grandemente a reprodução da mosca, exceto pelos grupos alimentados com sangue humano e solução de sacarose, que tiveram 100% de mortalidade das fêmeas no período pré-oviposição (SSA, SSC e SHA) ou ovipositaram ovos não viáveis (SHC). Em relação à influência do substrato de desenvolvimento, foi possível observar que, exceto pelos grupos alimentados com sangue de coelho (SCA e SCC), todos os demais apresentaram maiores valores de potencial reprodutivo quando desenvolvidos em substrato à base de cana-de-açúcar.

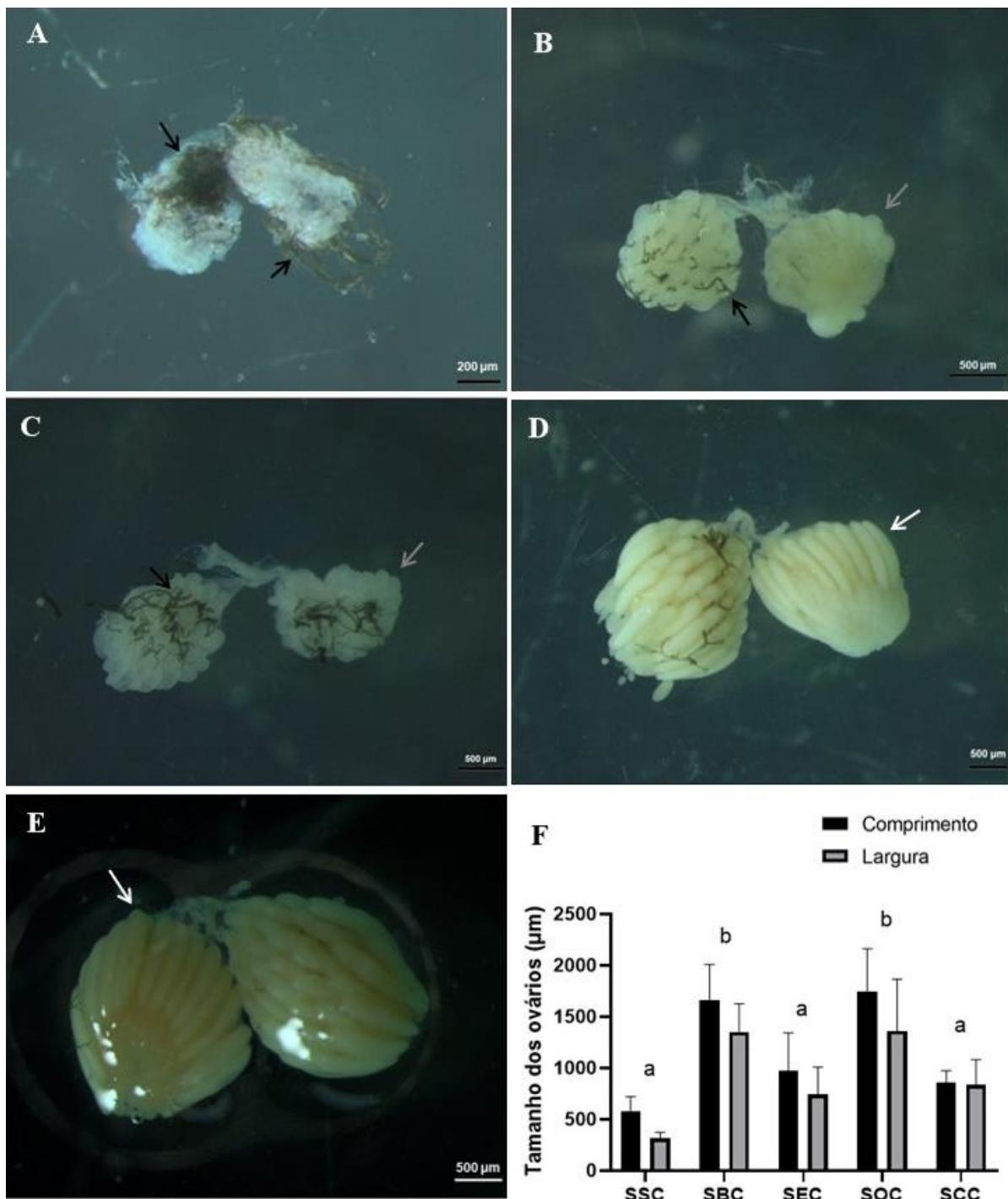
**Tabela 1. Impacto de diferentes dietas e substratos de desenvolvimento em aspectos reprodutivos de *S. calcitrans*. Letras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .**

Grupos	Pré-oviposição			Ovos postos		Potencial Reprodutivo
	Mortalidade (PQM) (%)	Período (dias)	Postura (dias)	Número (N)	Eclodibilidade (H) (%)	$\frac{(100 - PQM) \times NxH}{100}$
SSA	100 a	-	-	-	-	-
SSC	100 a	-	-	-	-	-
SBA	13,3 b	7,5 a	9,5 ab	403 ab	18,43 a	6.768 a
SBC	16,6 b	7 a	22,5 a	1329 b	25,73 a	27.777 a
SEA	73,3 ab	10,5 a	7 b	113 ab	33,64 a	1.732 a
SEC	53,3 ab	11 a	12 ab	391 ab	34,84 a	5.633 a
SOA	20 b	10 a	10,5 ab	763,5 ab	43,84 a	30.656 a
SOC	10 bc	4,5 a	21 a	2465 bc	59 a	136.968 b
SCA	53,3 ab	8,5 a	10 ab	479 ab	13,65 a	2.126 a
SCC	83,3 ab	16 a	1,5 b	58 a	29 a	355 a
SHA	100 a	-	-	-	-	-
SHC	90 a	16 a	1 b	36 a	0	-

#### 5.4. Diferentes dietas afetam o desenvolvimento dos ovários de *S. calcitrans*

Para compreender melhor os efeitos das diferentes alimentações na reprodução de *S. calcitrans*, os ovários de fêmeas alimentadas por 8 dias com sacarose a 10%, sangue bovino, equino, ovino e de coelho, foram observados, não sendo realizado em sangue humano devido à alta mortalidade do grupo. A análise demonstrou que os diferentes tipos de dietas impactaram de formas distintas o processo de desenvolvimento do órgão. A alimentação com sacarose a 10% (**Figura 13A**) gerou ovários com aspecto atrofiado, possuindo o menor comprimento e

largura dentre os grupos de alimentação (**Figura 13F**). Os folículos não estão aparentes ou bem definidos, existindo grande presença de estruturas do sistema traqueal envolvendo os ovários, característico do estágio N, perfil esperado, uma vez que é conhecido que a alimentação estrita com sacarose faz com que os ovários permaneçam em estágio de “repouso”. O desenvolvimento dos ovários dos grupos alimentados com sangue equino (**Figura 13B**) e sangue de coelho (**Figura 13C**) foi semelhante, observando-se folículos já aparentes, mas ainda não alongados, apresentando-se em formato oval. Os grupos demonstraram ovários de tamanhos semelhantes (**Figura 13F**), seus folículos apresentam membrana ainda translúcida, devido ao não espessamento do córion, possuindo coloração esbranquiçada, existindo maior presença do sistema traqueal em ovários do grupo alimentado com sangue de coelho. Já os grupos alimentados com sangue ovino (**Figura 13D**) e sangue bovino (**Figura 13E**) demonstraram ovários com o maior comprimento e largura (**Figura 13F**), em estágios mais avançados de desenvolvimento que os demais. Seus folículos apresentam-se alongados, dispostos em toda a superfície do ovário, com coloração amarelada e opaca, devido à presença de córion mais espesso envolvendo todo o folículo.



**Figura 14** Análise do impacto no desenvolvimento dos ovários de *S. calcitrans* realizado por alimentação com (A) solução de sacarose (SS); (B) sangue equino (SE); (C) sangue de coelho (SC); (D) sangue ovino (SO); (E) sangue bovino (SB) e (F) gráfico de barras demonstrando comparativamente as medidas de comprimento e largura dos ovários para cada tipo de alimentação. Setas pretas indicam a presença de sistema traqueal, setas cinzas a presença de folículos ovalados e setas brancas a presença de folículos alongados. Letras acima das barras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .

### **5.5. Diferentes dietas e substratos não influenciam significativamente no desenvolvimento dos estágios imaturos de *S. calcitrans***

Para esse experimento, foram utilizados cerca de 100 ovos para cada grupo tratado, com exceção para os grupos que não alcançaram esse número de ovos postos. Os ovos recolhidos foram colocados em substrato à base de cana-de-açúcar ou feno de alfafa, de acordo com o substrato de desenvolvimento parental. Todo o desenvolvimento foi registrado, sendo observado que o tipo de substrato de desenvolvimento e tipo de alimentação dos adultos, não afetou significativamente o desenvolvimento dos estágios imaturos (**Tabela 2**). Contudo, alguns pontos interessantes foram observados. O tempo de eclosão dos ovos foi menor para os grupos desenvolvidos em substrato de alfafa nos grupos SBA e SEA, sendo igual entre os dois substratos nos demais grupos. Com exceção dos grupos alimentados com sangue de coelho (SCA e SCC), houve um atraso para a formação das pupas (contabilizado a partir da eclosão dos ovos) de cerca de dois dias, em todas os grupos. O percentual de pupas formadas foi maior para os grupos desenvolvidos em cana-de-açúcar (SBC, SEC e SOC), exceto, novamente, para o grupo alimentado com sangue de coelho. Ainda no percentual de formação de pupas, observa-se que os grupos alimentados com sangue ovino obtiveram maior desempenho na conversão dos ovos em pupas em ambas as condições de desenvolvimento (feno de alfafa e cana-de-açúcar). O peso pupal se demonstrou maior para os grupos desenvolvidos em substrato à base de feno de alfafa, com exceção para o alimentado com sangue equino, que demonstrou pupas mais pesadas em substrato à base de cana-de-açúcar. Não houve grandes alterações no tempo até a emergência do adulto (contabilizado a partir do dia de formação da pupa), contudo o grupo SBA apresentou a emergência mais precoce entre os grupos. O percentual de moscas emergidas também foi maior para o grupo SBA (97,5 %), seguida por SEC (93,75%), não havendo muita alteração entre os demais grupos. O tempo de desenvolvimento em substrato à base de feno de alfafa também foi maior em comparação com o desenvolvimento em substrato à base de cana-de-açúcar, com exceção para o grupo alimentado com sangue ovino. Os grupos SBC e SOC apresentaram o menor tempo para a conclusão do ciclo de vida (tempo decorrido para o desenvolvimento de ovo a adulto), completando seu desenvolvimento em 14,5 dias, seguido pelo grupo SEC (16 dias), tendo os demais completado seu ciclo de vida entre 17 e 17,5 dias.

**Tabela 2. Impactos de diferentes dietas e substratos no desenvolvimento dos estágios imaturos de *S. calcitrans*. Letras indicam teste de Turkey para comparações múltiplas, com letras diferentes indicando diferença significativa entre os grupos, com  $p < 0,05$ .**

Grupos	Eclosão dos ovos (d)	Tempo até pupação (d)	Pupaçao (%)	Peso pupal (mg)	Tempo até Emergência (d)	Emergência (%)	Peso adulto (mg)	Ciclo (d)
SSA	-	-	-	-	-	-	-	-
SSC	-	-	-	-	-	-	-	-
SBA	2 a	9,5 a	17,7 a	12,6 a	5,5 a	97,5 a	9,85 a	17 a
SBC	3 a	5,5 a	25,7 a	10,1 a	6 a	87,2 a	7,1 a	14,5 a
SEA	3 a	8 a	22,85 a	12,2 a	6,5 a	82,25 a	10,35 a	17,5 a
SEC	3,5 a	6,5 a	32 a	13 a	6 a	93,75 a	7,9 a	16 a
SOA	2,5 a	8,5 a	44,29 a	12,6 a	6,5 a	89 a	8,45 a	17,5 a
SOC	2,5 a	6 a	59 a	10,1 a	6 a	86,35 a	9,45 a	14,5 a
SCA	3 a	7,5 a	33,3 a	13,3 a	6,5 a	87,5 a	8,55 a	17 a
SCC	3 a	8,5 a	22 a	11,6 a	6 a	81 a	7,8 a	17,5 a
SHA	-	-	-	-	-	-	-	-
SHC	-	-	-	-	-	-	-	-

## 6. Discussão

A concretização do estudo possibilitou o entendimento da influência de diferentes alimentações e substratos de desenvolvimento sobre o histórico de vida de *S. calcitrans*. Por se tratar de condições que podem ocorrer naturalmente na vida do organismo, tais análises demonstram grande potencial informativo.

Ao observar o potencial de atração a diferentes fontes alimentares, percebe-se que as dietas sanguíneas mais atrativas, sangue bovino e equino, possuem relação com os hospedeiros mais citados como preferenciais pela espécie (Hafez & Gamal-Eddin, 1959 e Warnes, 1984). Solução de sacarose a 10% também demonstrou grande atratividade, sendo consistente com o hábito de consumo de alimentações com presença de açúcares, como néctar de plantas e líquidos de frutos em decomposição (Jones *et al.*, 1983 e Zumpt, 1973). A relação entre tempo de alimentação e quantidade de dieta consumida demonstrou que não necessariamente os grupos que levaram maior tempo para se alimentar, consumiram maior quantidade de alimentação, nesse ponto é importante salientar que o peso médio de alimentação consumida está intimamente correlacionado com o peso de *S. calcitrans* (Dougherty *et al.*, 1995).

Ao analisar a longevidade de moscas alimentadas com diferentes dietas, foi observado que as alimentações com sangue bovino e ovino levaram à maior média de sobrevivência. Os resultados obtidos para alimentação com solução de sacarose a 10% eram esperados, contudo, apesar de cavalos serem reconhecidos como um dos hospedeiros preferenciais da mosca, a

alimentação com sangue equino demonstrou reduzir seu tempo de vida em níveis iguais (em substrato de cana-de-açúcar) ou inferiores (substrato de feno de alfafa) ao observado para a alimentação com solução de sacarose. Entretanto, tais dados demonstram-se em paridade com o observado por Sutherland (1978), que observou MT<sub>50</sub> de 6 dias em moscas alimentadas com sangue equino, sendo igual ao observado para o grupo alimentado com sangue equino desenvolvido em substrato de cana-de-açúcar. A alimentação com sangue humano levou às menores médias de sobrevivência entre os grupos, não sendo uma alimentação vantajosa para *S. calcitrans*, uma vez que se demonstra inferior até mesmo a alimentação com sacarose a 10%. Coincidemente, na natureza, observa-se que a mosca só busca se alimentar em seres humanos na ausência de seus hospedeiros preferenciais ou em grandes surtos populacionais. Alguns pontos podem ser levantados na tentativa de esclarecer as possíveis causas referentes às alterações observadas na longevidade. Muturi *et al* (2019) observaram que a alimentação com sangue de diferentes hospedeiros impacta a composição da microbiota em *Aedes aegypti*. É conhecido que a composição bacteriana possui importante papel na vida de artrópodes, podendo impactar em quesitos nutricionais, reprodutivos e de longevidade (Minard *et al*, 2013). Em termos de nutrição, a microbiota intestinal pode produzir compostos que possam ser assimilados diretamente pelo hospedeiro, podendo também dar suporte à digestão, através da produção de enzimas que facilitem a degradação de moléculas complexas, sendo crucial para o melhor aproveitamento da refeição consumida (Douglas, 1998). Dessa forma, uma vez que ocorra alteração na composição da microbiota intestinal devido às diferentes alimentações, nutrientes essenciais para a mosca podem estar sendo absorvidos de maneiras distintas entre os grupos de alimentação, impactando no estado nutricional do inseto e consequente longevidade.

Além disso, insetos hematófagos possuem refinado nível de controle do processo digestivo, sendo possível que a alimentação em diferentes hospedeiros provoque alterações na fisiologia digestiva, através de variações na produção de enzimas (Lehane, 2005). Nesse sentido, Gama *et al.* (2023) demonstraram que em *Rhodnius prolixus*, a produção de L-fucosidase, uma carboidrase, está ligada a diferentes estímulos bioquímicos, não sendo notada produção da enzima após o consumo apenas da fração de células vermelhas do sangue, mas sendo produzida após o consumo de plasma e proteínas, sugerindo que a produção de enzimas digestivas está sob controle de diferentes sinais convergentes. Em relação a produção de enzimas nesses insetos, é observado que há um aumento na produção de proteases nos dias subsequentes a alimentação, estimulado por um mecanismo secretagogo, aonde sua produção depende da concentração de proteínas na refeição (Garcia & Garcia, 1977). Em *S. calcitrans*, as enzimas são produzidas e estocadas em

grânulos secretores nas células do intestino médio para serem liberadas em resposta a uma alimentação, entretanto, de forma similar, mais enzimas não são produzidas e secretadas durante o processo digestivo (Lehane, 2005). Dessa maneira, pode-se sugerir que modificações na composição sanguínea de diferentes hospedeiros podem influenciar o padrão de produção de enzimas digestivas. Tal questão é de grande relevância, uma vez que enzimas digestivas podem ser utilizadas como alvos específicos para inibidores enzimáticos, podendo residir ai um ponto de estudo para formulação de estratégias contra *S. calcitrans* (Soares et al., 2015). Em consonância com as informações levantadas, pode ser levantada a hipótese que *S. calcitrans*, por se alimentar de diferentes hospedeiros na natureza, possa ser capaz de contrabalancear os efeitos nocivos de determinadas alimentações com os efeitos positivos de outras, através de modulações na produção de enzimas mediante regulação de genes específicos.

Ao analisar os diferentes substratos, foi possível notar que para a maioria dos grupos testados, moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar tiveram um aumento em sua longevidade, quando comparado aos grupos desenvolvidos em feno-de-alfafa. Nesse sentido, é conhecido que o valor nutricional do substrato impacta no fitness do adulto formado, como visto por Baleba et al. (2019) que notou que substratos de diferentes qualidades impactam na geometria das asas de *S. calcitrans*. Outro trabalho do grupo demonstrou que altas concentrações de certos micronutrientes (nitrogênio, fósforo, potássio e zinco) foram determinantes para a emergência de moscas com maiores tamanhos de asas. Gilles et al., (2008) demonstraram que existe correlação linear entre a quantidade de celulose presente no substrato e o peso do adulto gerado, levantando a hipótese que a presença de celulose beneficia indiretamente o desenvolvimento da mosca, uma vez que suas larvas são incapazes de sobreviver sem a presença de bactérias em sua dieta, podendo meios ricos em celulose favorecer o crescimento bacteriano no substrato. Além disso, Takken et al. (2013) observou que substratos larvais com baixa concentração de nutrientes geram fêmeas de *Anopheles gambiae* e *Anopheles stephensi* com baixas reservas de proteínas, lipídios e glicogêneo em comparação às larvas criadas em meio enriquecido. Levando-se em consideração que o substrato de desenvolvimento larval representa o habitat e a fonte alimentar dos estágios imaturos, sua composição é de suma importância, possuindo a capacidade de afetar os estágios subsequentes da mosca (Gilles et al., 2008). Nesse sentido, o substrato a base de cana-de-açúcar possui uma formulação mais complexa, composto por cana-de-açúcar, farelo de trigo e farinha de carne, em comparação ao substrato a base de feno de alfafa, composto apenas por ramas de alfafa trituradas e umedecidas.

Dessa forma, pode-se dizer que os impactos observados sejam decorrentes das diferenças nutricionais entre os substratos analisados.

As análises de reprodução demonstraram alterações entre os grupos. Foi visto que a alimentação com sangue ovino e bovino aumentam o potencial reprodutivo da mosca, quando desenvolvidas em substrato a base de cana-de-açúcar. Entre os dois grupos, o sangue ovino demonstrou aumento acentuado na produção de ovos. As diferenças observadas entre as alimentações podem ser explicadas devido à existência de parâmetros hematológicos distintos entre os vertebrados, que podem levar a diferenças significativas em relação ao diâmetro de hemácias, hematócitos, níveis de hemoglobina, conteúdo de proteínas no plasma e concentrações de sais, mineirais e micronutrientes (Wintrobe, 1934 e Hawkey *et al.*, 1991). E, nesse sentido, já foi observado que, em mosquitos, a composição da alimentação sanguínea disponibilizada afeta a fertilidade dos insetos (Harrington *et al.*, 2001; Lyimo *et al.*, 2009 & Lyimo *et al.*, 2012). Como por exemplo, Harrison *et al.* (2021) ao alimentar *Aedes aegypti* com diferentes frações sanguíneas, observaram que a ausência do aminoácido interleucina compromete a deposição de vitelo nos oócitos, comprometendo sua reprodução.

As diferentes alimentações também afetaram o desenvolvimento dos ovários de *S. calcitrans*. Para essa análise, foram escolhidas moscas desenvolvidas em substrato à base de cana-de-açúcar, por demonstrar potencial de aumentar taxa de sobrevivência em quase todas as alimentações. Geralmente, a classificação de estágio de desenvolvimento dos ovários é realizada através da medida de deposição de vitelo no interior dos folículos, contudo, como os ovários precisaram ser fixados em álcool 70% para posterior análise, não foi possível observá-los. Contudo, apenas na visualização do órgão é possível perceber alterações no estágio de desenvolvimento entre os grupos avaliados. Como esperado, moscas alimentadas com solução de sacarose a 10% não tiveram desenvolvimento observado nos ovários, não havendo presença de folículos aparentes e com grande presença do sistema traqueal. O sistema traqueal se origina a partir dos troncos principais da traqueia e, no início do desenvolvimento dos ovários, envolve boa parte da superfície do órgão, sendo observada menor presença dos ramos traqueais conforme o desenvolvimento vai progredindo (Detinova, 1962). Dessa forma, segundo a classificação de Detinova, os ovários de moscas alimentadas com solução de sacarose apresentam estar no primeiro estágio de desenvolvimento, também chamado de estágio N. Sangue equino e de coelho, embora demonstrem ovários em processo de desenvolvimento, ainda se encontram em estágios anteriores, quando comparado aos ovários dos grupos alimentados com sangue bovino e ovino. Os estágios de desenvolvimento observados são

pertinentes aos impactos observados nos aspectos reprodutivos de cada grupo. A explicação para os perfis encontrados podem residir nas alterações nutricionais entre as alimentações analisadas. Durante o sequenciamento do genoma da mosca, Olafson *et al.* (2021) demonstraram que *S. calcitrans* apresenta expansão da família de genes de proteínas do vitelo, em relação a outras moscas (*M. domestica*, *Drosophila melanogaster* e *Glossina morsitans*), sugerindo que essa expansão pode conferir à mosca-dos-estábulos uma vantagem reprodutiva através do aumento de sua capacidade reprodutiva. Dessa forma, as alterações no desenvolvimento dos ovários podem ser devidas a regulações positivas ou negativas desses genes em decorrência das diferentes alimentações. Nesse sentido, De Wilde (1964) propôs o termo castração nutricional, referindo-se ao processo de esterilização de insetos em consequência da ausência alimentar ou deficiência de um elemento nutricional específico.

No contexto apresentado, a análise dessas questões enriquece o conhecimento sobre *S. calcitrans*, sendo de grande valia pesquisas que elucidem fatores que possam influenciar na sobrevivência e reprodução da espécie, ainda mais devido ao fato de que há poucos estudos gerados recentemente avaliando esses aspectos. O estudo da mosca possibilita o desenvolvimento de estratégias que diminuam seus impactos nocivos à saúde animal e ambiental e produção pecuária, refletindo em aspectos como segurança alimentar, redução do uso de inseticidas e disseminação de doenças entre os animais parasitados. Nesse sentido, entender a ação de diferentes dietas e substratos na longevidade e reprodução da mosca-dos-estábulos é essencial para o desenvolvimento de estratégias que aumentem a produtividade em colônias desse inseto, fator que reflete diretamente no estudo da mosca-dos-estábulos.

## **7. Conclusões**

- Foi observado que dietas diferentes possuem potencial de impactar a propensão alimentar de *S. calcitrans*, sendo demonstrado que o sangue bovino e equino causam mais atratibilidade ao inseto e que o sangue bovino causa maior consumo como fonte nutricional;
- A análise do impacto de diferentes alimentações e substratos de desenvolvimento demonstraram que a alimentação com sangue ovino em substrato de cana-de-açúcar resulta em maior longevidade e reprodução da espécie, seguido pelo sangue bovino nas mesmas condições. O desenvolvimento dos estágios imaturos não variou significativamente entre os tratamentos;
- Observou-se que diferentes alimentações provocam alterações no desenvolvimento dos ovários da mosca, após dez dias de alimentação, sendo demonstrado que os sangues ovino e bovino proporcionam desenvolvimento superior quando comparado com as demais alimentações.

## 8. Referências Bibliográficas

- Abbas, K. H., Alfatlawi, M. A. A., & Ali, M. J.. Pests of Livestock: I-*Stomoxys calcitrans* (Insecta: Diptera: Muscidae)(Stable fly). **HIV Nursing**, v. 22, n. 2, p. 1237–1240-1237–1240, 2022.
- Araújo, T. R., Mota Júnior, L. A M., Vilela, T. S., Bittecourt, A. J., Santos, H. A., Fampa, P. First report of the presence of *Anaplasma marginale* in different tissues of the stable-fly *Stomoxys calcitrans*(Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. v. 23, p. 100515, 2021.
- Anderson, J. R.. Mating behavior of *Stomoxys calcitrans*: Effects of a blood meal on the mating drive of males and its necessity as a prerequisite for proper insemination of females. **Journal of Economic Entomology**, v. 71, n. 2, p. 379-386, 1978.
- AXTELL, R. C.. Fly Control in Confined Livestock and Poultry Production. **Technical Monograph**, p. 1–59. Ciba-Geigy Corporation, Greensboro, NC, 1986.
- Azevedo, L. H., Ferreira, M. P., de Campos Castilho, R., Cançado, P. H. D., & de Moraes, G. J. Potential of Macrocheles species (Acari: Mesostigmata: Macrochelidae) as control agents of harmful flies (Diptera) and biology of *Macrocheles embersoni* on *Stomoxys calcitrans* (L.) and *Musca domestica* L.(Diptera: Muscidae). **Biological Control**, v. 123, p. 1-8, 2018.
- Bailey, D.L., Whitfield, T.L., Smittle, B.J. Flight and dispersal of the stable fly. **Journal of Economic Entomology**. v. 66, p. 410–411, 1979.
- Baldacchino, F., Muenworn, V., Desquesnes, M., Desoli, F., Charoenviriyaphap, T., & Duvallet, G. Transmission of pathogens by *Stomoxys* flies (Diptera, Muscidae): a review. **Parasite**, v. 20, 2013.
- Baleba, S. B., Torto, B., Masiga, D., Weldon, C. W., & Getahun, M. N.. Egg-laying decisions based on olfactory cues enhance offspring fitness in *Stomoxys calcitrans* L.(Diptera: Muscidae). **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 38-50, 2019.

Baleba, S. B., Agbessenou, A., Getahun, M. N., Akutse, K. S., Subramanian, S., & Masiga, D.. Infection of the Stable Fly, *Stomoxys calcitrans*, L. 1758 (Diptera: Muscidae) by the Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) Negatively Affects Its Survival, Feeding Propensity, Fecundity, Fertility, and Fitness Parameters. **Frontiers in Fungal Biology**, v. 2, p. 1-16, 2021.

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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 945-952, 2010.

Barros, A. T. M. D., Rodrigues, V. D., Cançado, P. H. D., & Domingues, L. N. Resistance of the stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae), to cypermethrin in outbreak areas in Midwestern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, p. 802-806, 2019.

Beresford, D. V., & Sutcliffe, J. F. The effect of *Macrocheles muscaedomesticae* and *M. subbadius* (Acarina: Macrochelidae) phoresy on the dispersal of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Systematic and Applied Acarology Special Publications**, v. 23, p. 1-30-1-30, 2009.

Bittencourt, A. J. Avaliação de surtos e medidas de controle ambiental de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) na Região Sudeste do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 34, p. 73-82, 2012.

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. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 6, p. 2307-2312, 2005.

Buralli, G. M., Born, R. H., Gerola Jr, O., & Pimont, M. P. Soil disposal of residues and the proliferation of flies in the state of São Paulo. **Water Science and Technology**, v. 19, n. 8, p. 121-125, 1987.

Campbell, J. B., Skoda, S. R., Berkebile, D. R., Boxler, D. J., Thomas, G. D., Adams, D. C., & Davis, R. Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) on weight gains of grazing yearling cattle. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, p. 780-783, 2001.

Cançado, P. H. D., de Barros, A. T. M., Catto, J. B., Koller, W. W., & Soares, C. O. Uso da queima profilática no controle emergencial e prevenção de surtos pela mosca-dos-estábulos

(*Stomoxys calcitrans*) em propriedades produtoras de cana-de-açúcar. **Campo Grande:Embrapa Gado de Corte**, 2013.

Carn, V. M. The role of dipterous insects in the mechanical transmission of animal viruses. **British Veterinary Journal**, v. 152, n. 4, p. 377-393, 1996.

Chen, A. C., Kim, H. R., Mayer, R. T., & Norman, J. O. Vitellogenesis in the stable fly, *Stomoxys calcitrans*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 88, n. 3, p. 897-903, 1987.

Christmas, P. E. Laboratory rearing of the biting fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **New Zealand Entomologist**, v. 4, n. 4, p. 45-49, 1970.

Cortinas, R., & Jones, C. J.. Ectoparasites of cattle and small ruminants. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 22, n. 3, p. 673-693, 2006.

Corrêa, E. C., Ribas, A. C. A., Campos, J., & Barros, A. T. M. Abundância de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em diferentes subprodutos canavieiros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 1303-1308, 2013.

Cuglovici, D. A., Bartholomeu, D. C., Reis-Cunha, J. L., Carvalho, A. U., & Ribeiro, M. F. B. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state. Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 3-4, p. 320–326, 2010.

DeLoach, J. R., & Spates, G. E. Glycosidase activity from midgut region of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Insect biochemistry**, v. 14, n. 2, p. 169-173, 1984.

Detinova, T. S. & Bertram, D. S. Age-grouping methods in Diptera of medical importance, with special reference to some vectors of malaria. **World Health Organization**, 1962.

DeWilde, J. Reproduction—endocrine control. M. Rockstein, The physiology of Insecta, vol. 1. **Academic Press**, New York, 1964.

Dillmann, J. B., Cossetin, L., dos Santos Petry, L., de Souza, T. P., & Monteiro, S. G. An alternative protocol for rearing of stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. **International Journal of Tropical Insect Science**, p. 1-6, 2021.

Dominghetti, T. F. D. S., Barros, A. T. M. D., Soares, C. O., & Cançado, P. H. D. *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) outbreaks: current situation and future outlook with emphasis on Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinaria**, v. 24, p. 387-395, 2015.

Dougherty, C. T., Knapp, F. W., Burrus, P. B., Willis, D. C., Burg, J. G., Cornelius, P. L., & Bradley, N. W. Stable flies (*Stomoxys calcitrans*L.) and the behavior of grazing beef cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 35, n. 3, p. 215-233, 1993.

Douglas, A. E. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria Buchnera. **Annual review of entomology**, v. 43, n. 1, p. 17-37, 1998.

Doyle, M. S., Swope, B. N., Hogsette, J. A., Burkhalter, K. L., Savage, H. M. & Nasci, R. S. Vector competence of the stable fly (Diptera: Muscidae) for West Nile virus. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 3, p. 656-668, 2011.

Duvallet, G & Hogsette, J. A. Global Diversity, Distribution, and Genetic Studies of Stable Flies (*Stomoxys sp.*). **Diversity**, v. 15, n. 5, p. 600, 2023.

Farkas, R., & Hogsette, J. Current and prospective control possibilities of Filth-breeding flies in livestock and poultry production. **Handbook of Palearctic Flea Beetles**, 2000.

Foil, L. D., & Hogsette, J. A. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. **Revue scientifique et technique-Office international des épizooties**, v. 13, p. 1125-1125, 1994.

Friesen, K., Chen, H., Zhu, J., & Taylor, D. B. External morphology of stable fly (Diptera: Muscidae) larvae. **Journal of medical entomology**, v. 52, n. 4, p. 626-637, 2015.

Gama, M. D. V. F., Alexandre, Y. D. N., Pereira da Silva, J. M., Castro, D. P., & Genta, F. A.. Digestive α-L-fucosidase activity in *Rhodnius prolixus* after blood feeding: effect of secretagogue and nutritional stimuli. **Frontiers in Physiology**, v. 14, p. 1123414, 2023.

Garcia, E. D. S., & Garcia, M. L. M. Control of protease secretion in the intestine of fifth instar larvae of *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 23, n. 2, p. 247-251, 1977.

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 Reunion Island. **Journal of medical entomology**, v. 42, n. 3, p. 260-265, 2005.

Gilles, J., David, J. F., Lecomte, P., & Tillard, E. Relationships between chemical properties of larval media and development of two *Stomoxys* species (Diptera: Muscidae) from Reunion Island. **Environmental entomology**, v. 37, n. 1, p. 45-50, 2008.

Grisi, L., Massard, C. L., Moya Borja, C. E. & Pereira, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 8-10, 2002.

Gruvel, J., & Balis, J. Trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi* in the camel in Chad and its chief vectors. **Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, v. 18, n. 4, 1966.

Hafez, M. & Gamal-Eddin, F. M. Ecological studies on *Stomoxys calcitrans* L. and *sitiens* Rond. in Egypt, with suggestions on their control. **Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte**, v. 43, p. 245-283, 1959.

Harrington, L. C., Edman, J. D., & Scott, T. W.. Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? **Journal of medical entomology**, v. 38, n. 3, p. 411-422, 2001.

Harrison, R. E., Brown, M. R., & Strand, M. R. Whole blood and blood components from vertebrates differentially affect egg formation in three species of anautogenous mosquitoes. **Parasites & vectors**, v. 14, p. 1-19, 2021.

Hawkey, C. M., Bennett, P. M., Gascoyne, S. C., Hart, M. G., & Kirkwood, J. K.. Erythrocyte size, number and haemoglobin content in vertebrates. **British journal of haematology**, v. 77, n. 3, p. 392-397, 1991.

Hogsette, J. A., Ruff, J. P., & Jones, C. J. Stable fly biology and control in northwest Florida. **Journal of agricultural entomology**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 1987.

Issimov, A., Taylor, D. B., Zhugunissov, K., Kutumbetov, L., Zhanabayev, A., Kazhgaliyev, N., & White, P. J.. The combined effects of temperature and relative humidity parameters on the reproduction of *Stomoxys* species in a laboratory setting. **Plos one**, v. 15, n. 12, p. e0242794, 2020.

Jeanbourquin, P. The Role of Odour Perception in the Sensory Ecology of the Stable Fly, *Stomoxys calcitrans*L. **PhD dissertation, Université de Neuchâtel**, 2005.

Jeanbourquin, P., & Guerin, P. M. Sensory and behavioural responses of the stable fly *Stomoxys calcitrans* to rumen volatiles. **Medical and veterinary entomology**, v. 21, n. 3, p. 217-224, 2007.

Jones, C. J., Milne, D. E., Patterson, R. S., Schreiber, E. T., & Milio, J. A. Nectar feeding by *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae): effects on reproduction and survival. **Environmental Entomology**, v. 21, n. 1, p. 141-147, 1992.

Lee, R. M., & Davies, D. M. Feeding in the stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) I. Destination of blood, sucrose solution and water in the alimentary canal, the effects of age on feeding, and blood digestion. **Journal of Medical Entomology**, v. 15, n. 5-6, p. 541-554, 1979.

Lehane, M. J. The biology of blood-sucking in insects. **Cambridge University Press**, 2º ed, 2005.

Liu, S. S., Li, A. Y., Lohmeyer, K. H., & Perez De Leon, A. Effects of pyriproxyfen and buprofezin on immature development and reproduction in the stable fly. **Medical and veterinary entomology**, v. 26, n. 4, p. 379-385, 2012.

Lohmeyer, K. H., & Pound, J. M. Laboratory evaluation of novaluron as a development site treatment for controlling larval horn flies, house flies, and stable flies (Diptera: Muscidae). **Journal of medical entomology**, v. 49, n. 3, p. 647-651, 2012.

Lyimo, I. N., & Ferguson, H. M. Ecological and evolutionary determinants of host species choice in mosquito vectors. **Trends in parasitology**, v. 25, n. 4, p. 189-196, 2009.

Lyimo, I. N., Keegan, S. P., Ranford-Cartwright, L. C., & Ferguson, H. M. The impact of uniform and mixed species blood meals on the fitness of the mosquito vector *Anopheles gambiae* ss: does a specialist pay for diversifying its host species diet? **Journal of Evolutionary Biology**, v. 25, n. 3, p. 452-460, 2012.

Kano, R., Kaneko, K., Miyamoto, K., Shinonaga, S., Kiuna, H., Okazaki, T., & Habutsu, Y. Notes on flies of medical importance in Japan, Part XXIII. Seasonal fluctuation of flies in the Imperial Palace Grounds, Tokyo. **Journal of Medical Entomology**, v. 1, n. 4, p. 387-394, 1965.

Kirch, H. J., Spates, G., Droleskey, R., Kloft, W. J., & DeLoach, J. R. Mechanism of haemolysis of erythrocytes by haemolytic factors from *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Journal of insect physiology**, v. 37, n. 11, p. 851-861, 1991.

Macedo, D. M., Chaaban, A., & Borja, G. E. M. Desenvolvimento pós-embriônário de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) criadas em fezes de bovinos tratados com diferentes avermectinas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 2, p. 45-50, 2005.

Marquez, J. G., Cummings, M. A., & Krafur, E. S. Phylogeography of stable fly (Diptera: Muscidae) estimated by diversity at ribosomal 16S and cytochrome oxidase I mitochondrial genes. **Journal of medical entomology**, v. 44, n. 6, p. 998-1008, 2007.

Meola, R. W., Harris, R. L., Meola, S. M., & Oehler, D. D. Dietary-Induced Secretion of Sex Pheromone and Development of Sexual Behavior in the Stahle Fly. **Environmental Entomology**, v. 6, n. 6, p. 895-897, 1977.

Mihok, S., Maramba, O., Munyoki, E. & Kagoiya, J. Mechanical transmission of *Trypanosoma* spp. by African Stomoxyinae (Diptera: Muscidae). **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 46, n. 2, p. 103-105, 1995.

Minard, G., Mavingui, P., & Moro, C. V. Diversity and function of bacterial microbiota in the mosquito holobiont. **Parasites & vectors**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2013.

Moobola, S. M., & Cupp, E. W.. Ovarian development in the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, in relation to diet and juvenile hormone control. **Physiological Entomology**, v. 3, n. 4, p. 317-321, 1978.

Muturi, E. J., Dunlap, C., Ramirez, J. L., Rooney, A. P., & Kim, C. H. Host blood-meal source has a strong impact on gut microbiota of *Aedes aegypti*. **FEMS microbiology ecology**, v. 95, n. 1, 2019.

Muturi, E. J., Njoroge, T. M., Dunlap, C. & Cáceres, C. E. Blood meal source and mixed blood-feeding influence gut bacterial community composition in *Aedes aegypti*. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 1-10, 2021.

Olafson, P. U., Aksoy, S., Attardo, G. M., Buckmeier, G., Chen, X., Coates, C. J. & Benoit, J. B. The genome of the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, reveals potential mechanisms underlying reproduction, host interactions, and novel targets for pest control. **BMC biology**, v. 19, n. 1, p. 1-31, 2021.

Oliveira, J. B., Montoya, J., Romero, J. J., Urbina, A., Soto-Barrientos, N., Melo, E. S. P. & Ramos, C. A. N., Araujo, F. R. Epidemiology of bovine anaplasmosis in dairy herds from Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v. 177, n. 3-4, p. 359-365, 2011.

Parr, H. C. M. Studies on *Stomoxys calcitrans* (L.) in Uganda, East Africa. II.—Notes on life-history and behaviour. **Bulletin of Entomological Research**, v. 53, n. 2, p. 437-443, 1962.

Patra, G., Behera, P., Das, S. K., & Saikia, B. *Stomoxys calcitrans* and its importance in livestock. **International Journal of Advance Agricultural Research**, v. 6, p 30-37, 2018

Ramalho-Ortigão, M., Jochim, R. C., Anderson, J. M., Lawyer, P. G., Pham, V. M., Kamhawi, S., & Valenzuela, J. G. Exploring the midgut transcriptome of *Phlebotomus papatasi*:

comparative analysis of expression profiles of sugar-fed, blood-fed and *Leishmania major*-infected sandflies. **BMC genomics**, v. 8, n. 1, p. 1-17, 2007.

Reissert-Oppermann, S., Bauer, B., Steuber, S., & Clausen, P. H.. Insecticide resistance in stable flies (*Stomoxys calcitrans*) on dairy farms in Germany. **Parasitology research**, v. 118, p. 2499-2507, 2019.

Rochon, K., Baker, R. B., Almond, G. W., & Watson, D. W. Assessment of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) as a vector of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. **Journal of medical entomology**, v. 48, n. 4, p. 876-883, 2011.

Rochon, K., Hogsette, J. A., Kaufman, P. E., Olafson, P. U., Swiger, S. L., & Taylor, D. B.. Stable fly (Diptera: Muscidae)—biology, management, and research needs. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 12, n. 1, p. 38, 2021.

Rodríguez-Batista, B. Z., Leite, R. C., Oliveira, P. R., Lopes, C. M. L. & Borges L. M. F. Populational dynamics of *Stomoxys calcitrans* (Linneaus) (Diptera: Muscidae) in three biocenosis, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 130, 343-346, 2005.

Salem, A., Franc, M., Jacquiet, P., Bouhsira, E., & Liénard, E. Feeding and breeding aspects of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. **Parasite**, v. 19, n. 4, p. 309, 2012.

Schofield, S.; Torr, S. J. A comparison of the feeding behaviour of tsetse and stable flies. **Medical and veterinary entomology**, v. 16, n. 2, p. 177-185, 2002.

Schowalter, T. D. & Klowden, MJ. Blood meal size of the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, measured by the HiCN method. **Journal of the Florida Anti Mosquito Association**, v. 53, p. 17-19, 1979.

Scoles, G. A., Broce, A. B., Lysyk, T. J. & Palmer, G. H. Relative efficiency of biological transmission of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) by *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) compared with mechanical transmission by *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Journal of medical entomology**, v. 42, n. 4, p. 668-675, 2005.

Schuler, M. A., & Berenbaum, M. R.. Structure and function of cytochrome P450S in insect adaptation to natural and synthetic toxins: insights gained from molecular modeling. **Journal of chemical ecology**, v. 39, p. 1232-1245, 2013.

Skidmore, P. The biology of the Muscidae of the world. **Springer Science & Business Media**, 1985.

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. **Journal of economic entomology**, v. 84, n. 1, p. 191-197, 1991.

Soares, T. S., Torquato, R. J. S., Gonzalez, Y. G., Lemos, F. J. A., & Tanaka, A. S. Production of serine protease inhibitors by mutagenesis and their effects on the mortality of *Aedes aegypti* L. larvae. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2015.

Stevens, L. Egg proteins: what are their functions?. **Science Progress**, v. 79, p. 65-87, 1996.

Sutherland, B. Nutritional values of different blood diets expressed as reproductive potentials in adult *Stomoxys calcitrans* L.(Diptera: Muscidae). **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, 1978.

Swist, S. L., Wilkerson, M. J., Wyatt, C. R., Broce, A. B., & Kanost, M. R. Modulation of bovine lymphocyte response by salivary gland extracts of the stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 900-907, 2002.

Takken, W., Smallegange, R. C., Vigneau, A. J., Johnston, V., Brown, M., Mordue-Luntz, A. J., & Billingsley, P. F. Larval nutrition differentially affects adult fitness and Plasmodium development in the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi*. **Parasites & vectors**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2013.

Tainchum, K., Shukri, S., Duvallet, G., Etienne, L., & Jacquiet, P. Phenotypic susceptibility to pyrethroids and organophosphate of wild *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) populations in southwestern France. **Parasitology research**, v. 117, p. 4027-4032, 2018.

Todd, D. H., Douglas H. The biting fly *Stomoxys calcitrans* (L.) in dairy herds in New Zealand. **New Zealand journal of agricultural research**, v. 7, n. 1, p. 60-79, 1964.

Tufail, M., & Takeda, M. Molecular characteristics of insect vitellogenins. **Journal of insect physiology**, v. 54, n. 12, p. 1447-1458, 2008.

Turell, M. J. & Knudson, G. B. Mechanical transmission of *Bacillus anthracis* by stable flies (*Stomoxys calcitrans*) and mosquitoes (*Aedes aegypti* and *Aedes taeniorhynchus*). **Infection and immunity**, v. 55, n. 8, p. 1859-1861, 1987.

Venkatesh, K., & Morrison, P. E. Some aspects of oogenesis in the stable fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 26, n. 10, p. 711-715, 1980.

Zumpt F. The Stomoxine biting flies of the world. Taxonomy, biology, economic importance and control measures. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart, 1973.

Walker, A. R. Disease caused by arthropods. **Handbook on animal diseases in the tropics (4th edition)**, Bailliere Tindall: London, 1990.

Warnes, M. L., & Finlayson, L. H. Effect of host behaviour on host preference in *Stomoxys calcitrans*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 1, n. 1, p. 53-57, 1987.

Wintrobe, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia haematologica**, v. 51, n. 32, p. 32-49, 1934.