

Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - FCBA
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade – PPGECB

BIOLOGIA E CONTROLE DE *Stomoxys calcitrans* (LINNAEUS, 1758)
(DIPTERA: MUSCIDAE) EM ÁREAS DESTINADAS A PRODUÇÃO
DE CANA-DE-AÇÚCAR

Augusto Rodrigues

Dourados-MS
Dezembro de 2022

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Augusto Rodrigues

BIOLOGIA E CONTROLE DE *Stomoxys calcitrans* (LINNAEUS, 1758)
(DIPTERA: MUSCIDAE) EM ÁREAS DESTINADAS A PRODUÇÃO
DE CANA-DE-AÇÚCAR

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.

Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

Orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Coorientador: Dr. Samir Oliveira Kassab

Dourados-MS
Dezembro de 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R696b Rodrigues, Augusto

BIOLOGIA E CONTROLE DE *Stomoxys calcitrans* (LINNAEUS, 1758) (DIPTERA: MUSCIDAE) EM ÁREAS DESTINADAS À PRODUÇÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR [recurso eletrônico] / Augusto Rodrigues. -- 2023.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira.

Coorientador: Samir Oliveira Kassab.

Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2022.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Muscidae. 2. Inseticidas (IGRs). 3. Requerimento térmico. 4. Bioinseticidas. 5. Mosca-dos-estábulo. I. Pereira, Fabricio Fagundes. II. Kassab, Samir Oliveira. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

“BIOLOGIA E CONTROLE DE *Stomoxys calcitrans* (LINNAEUS, 1758) (DIPTERA: MUSCIDAE) EM ÁREAS DESTINADAS À PRODUÇÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR”.

Por

AUGUSTO RODRIGUES

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

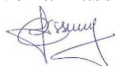


Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador/Presidente – UFGD



Participação remota

Dr. Samir Oliveira Kassab (coorientador)



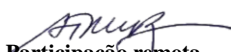
Participação remota

Dr.^a Rosilda Mara Mussury Franco Silva



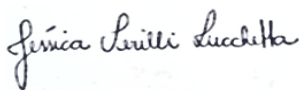
Participação remota

Dr. Carlos Reinier Garcia Cardoso



Participação remota

Dr. Antonio Thadeu Medeiros de Barros



Participação remota

Dr.^a Jéssica Terilli Lucchetta



Participação remota

Dr.^a Cácia Leila Tigre Pereira Viana

Tese aprovada em: 09 de dezembro de 2022.

BIOGRAFIA

Augusto Rodrigues, filho de Ramona Veron Rodrigues, natural de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, nascido em 12 de setembro de 1994.

Estudou o Ensino Fundamental na Escola Municipal Osvaldo de Almeida Matos (2001/2009) e o Ensino Médio na Escola Estadual Joaquim Murtinho (2010/2012), Município de Ponta Porã. Em 2013, ingressou no Curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, finalizando em março de 2017. Durante os anos de graduação foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), onde teve os primeiros contatos científicos com a Entomologia, especificamente, na área de Controle Biológico de Insetos.

Em abril de 2017, iniciou o Curso de Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade na UFGD. No ano 2018, foi aluno do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (Procad), na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Pernambuco, Brasil. Submeteu a defesa de sua Dissertação em abril de 2019. Em maio de 2019, iniciou o Curso de Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade na UFGD e submeteu a defesa de sua tese em dezembro de 2022.

DEDICATÓRIA

Esta tese é dedicada à minha adorável família, em especial aos meus avós maternos Edith (*in memoriam*) e Valdemar pelo apoio que jamais tiveram para si, mesmo assim, conheciam o valor da educação e me incentivaram intensamente a seguir em busca do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar vida e abençoá-la não somente com boas pessoas, mas com oportunidades maravilhosas.

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade (PPGECB) pela possibilidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para conduzir as pesquisas.

À minha mãe, irmãos e avós por todo incentivo para que eu alcançasse meus objetivos e aos meus primos Ivan e Rosenilda por todo apoio nos meus estudos.

À minha companheira de vida e sonhos, Elaine, por tornar meus dias mais felizes. Pelo incentivo, amor e companheirismo em todos os momentos.

Ao meu orientador Fabricio Fagundes Pereira (UFGD), pela credibilidade, motivação, orientação e exemplo de dedicação e profissionalismo. Serei sempre grato.

Ao meu amigo e coorientador Samir Oliveira Kassab, pessoa fundamental na minha vida acadêmica e profissional, que me acompanhou em meus estudos desde a iniciação científica. Sou grato por todo apoio na condução dos experimentos, orientação e ensinamentos.

Ao meu amigo Rodrigo Arakawa pelos ensinamentos, pela parceria em coletar larvas de mosca-dos-estábulo e me mostrar na prática como essa espécie se comporta.

Ao meu amigo Odair Almeida pela parceria durante o desenvolvimento dos meus experimentos de campo.

Ao professor Jorge Braz Torres (UFRPE), pelos ensinamentos e orientações durante as análises estatísticas de meus resultados. Serei sempre grato.

A todos meus professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pelos conhecimentos construídos e demais servidores e colaboradores da UFGD.

A todos aqueles que participaram de alguma forma de minha vida acadêmica. Gratidão.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Histórico de <i>Stomoxys calcitrans</i> (Diptera: Muscidae).....	5
2.2 A mosca-dos-estábulos no Brasil	5
2.3 Biologia da mosca-dos-estábulos	8
2.4 Importância médico-veterinária de <i>Stomoxys calcitrans</i>	9
3. Objetivo geral	12
3.1 Objetivos específicos.....	12
Referências bibliográficas	13
CAPÍTULO I: Inseticidas reguladores de crescimento no controle de <i>Stomoxys calcitrans</i> (Diptera: Muscidae).....	19
Resumo:.....	19
1. Introdução.....	21
2. Material e Métodos	22
2.1 Inseticidas.....	22
2.2 Multiplicação de <i>Stomoxys calcitrans</i>	22
2.3 Eficácia dos IGRs para o controle de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i>	23
3. Análise estatística	24
4. Resultados.....	24
5. Discussão.....	32
6. Conclusão	34
Referências bibliográficas	35
CAPÍTULO II: Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de <i>Stomoxys calcitrans</i> (Diptera: Muscidae).....	39
Resumo.....	39

1.	Introdução	41
2.	Material e Métodos	43
2.2	Coleta e multiplicação de <i>S. calcitrans</i>	43
2.3	Efeito da temperatura no desenvolvimento de <i>S. calcitrans</i>	43
3.	Análise estatística	44
4.	Determinação das exigências térmicas e estimativas do número de gerações de <i>Stomoxys calcitrans</i>	44
5.	Resultados.....	45
5.1	Ciclo de vida de <i>Stomoxys calcitrans</i> em cinco temperaturas constantes.....	45
5.2	Determinação das exigências térmicas e estimativas do número de gerações de <i>Stomoxys calcitrans</i>	49
6.	Discussão.....	50
7.	Conclusão	51
	Referências bibliográficas	52
	CAPÍTULO III: Avaliação <i>in vitro</i> da eficácia de larvicidas biológicos no controle de <i>Stomoxys calcitrans</i> (Diptera: Muscidae).....	56
	Resumo.....	56
1.	Introdução.....	58
2.	Material e métodos	60
2.2	Inseticidas biológicos testados	60
2.3	Multiplicação de <i>Stomoxys calcitrans</i>	60
2.4	Delineamento experimental.....	61
3.	Análise estatística	62
4.	Resultados.....	62
5.	Discussão.....	64
6.	Conclusão	66
	Referências bibliográficas	67
	CONCLUSÕES GERAIS	71

CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
ANEXOS	73

RESUMO GERAL

Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) é uma mosca hematófaga que causa prejuízos expressivos na pecuária mundial e seu controle está principalmente na dependência de medidas preventivas, como a eliminação dos focos de sua proliferação. No entanto, devido à crescente demanda dos setores pecuário e sucroalcooleiro no país, torna-se difícil somente aplicar as medidas de prevenção contra essa espécie, o que se deve ao fornecimento em grande escala de ambientes de proliferação por esses setores, o que propicia surtos populacionais expressivos no Brasil. Assim, o objetivo dos estudos que compõem esta tese foi avaliar a eficácia de Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs) e biodefensivos, especificamente, em larvas de *S. calcitrans*, determinar as exigências térmicas (Tb e K) e estimar o número de gerações de *S. calcitrans*. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia da empresa Legado Pesquisa e Consultoria Agrônômica, Dourados, MS, Brasil. Os reguladores de crescimento de insetos (IGRs) triflumuron, piriproxifem e diflubenzurom reduzem de forma significativa a sobrevivência larval de *S. calcitrans* em 60%, 44% e 68%, respectivamente. Com relação à mortalidade acumulada/eficácia (mortalidade larval + pupal) foi de 82%, 88% e 92%, respectivamente. A mortalidade larval com os biológicos *Bacillus thuringiensis* variedade israelenses e *Beauveria bassiana* foi de 24% e 72%, respectivamente, enquanto que mortalidade acumulada foi de 46% e 86%, respectivamente. O período de desenvolvimento de todos os estágios imaturos de *S. calcitrans* diminuiu com o aumento da temperatura. O período de ovo-adulto variou de 31,1 a 7,2 dias nas temperaturas de 17 e 33°C, respectivamente. A sobrevivência do período ovo-adulto nas temperaturas extremas (17 e 33°C) foi de 20%, enquanto que a 25°C foi de 84%. Com base nos requisitos térmicos para *S. calcitrans* e as temperaturas médias de três municípios do Centro-Oeste brasileiros, estimou-se que *S. calcitrans* é capaz de completar pelo menos 22 gerações anualmente. O limite térmico inferior de desenvolvimento (Tb) e a constante térmica (K) para *S. calcitrans* do ovo-adulto foi de 14,1°C e 153,4 GD, respectivamente. O resultado deste estudo auxilia na estimativa do número de gerações de *S. calcitrans* em função das condições climáticas, bem como opções de larvicidas com diferentes princípios ativos.

Palavras-chave: Muscidae; inseticidas (IGRs); requerimento térmico; bioinseticidas.

GENERAL ABSTRACT

Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) is a hematophagous fly of livestock worldwide and can cause significant damage, its control depends on preventive measures, such as the elimination of the foci of its proliferation. However, due to the growing demand from the livestock and sugar and alcohol sectors in the country, it becomes difficult to apply only preventive measures against this species, which is due to the large-scale provision of environments for immature proliferation by these sectors, generating common outbreaks in Brazil. The objective of this study was to test some IGRs (Insect Growth Regulators) and biological larvicides in larvae of *S. calcitrans*. Furthermore, the studies aimed to determine the thermal requirements (Tb and K) and estimate the number of generations of *S. calcitrans*. The experiments were carried out in the Entomology Laboratory of the company Legado Pesquisa e Consultoria Agronômica, Dourados, MS, Brazil. The results showed that the IGRs triflumuron, pyriproxyfen and diflubenzuron significantly reduced survival of *S. calcitrans* larvae by 60%, 44% and 68%, respectively. Regarding cumulative mortality (larval + pupal mortality) it was 82%, 88% and 92% respectively. Larval mortality with the biological *Bacillus thuringiensis israelensis* variety and *Beauveria bassiana* was 24% and 72%, respectively, while cumulative mortality was 46% and 86%, respectively. The development time of all immature stages of *S. calcitrans* decreased with increasing temperature. The egg-adult period ranged from 31.1 to 7.2 days at temperatures of 17 and 33°C, respectively. Survival of the egg-adult at extreme temperatures (17 and 33°C) was 20%, while at 25°C it was 84%. Based on the thermal requirements for *S. calcitrans* and the average temperatures of three municipalities in the midwest of Brazil, it was estimated that *S. calcitrans* is capable of completing at least 22 generations annually. The lower thermal limit of development (Tb) and the thermal constant (K) for the egg-adult *S. calcitrans* was 14.1°C and 153.4 GD, respectively. The result of this study helps in estimating the number of generations of *S. calcitrans* depending on climatic conditions, as well as larvicide options with different active principles.

Keywords: Muscidae; insecticides (IGRs); thermal requirement; bioinsecticides.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Resíduos industriais são gerados na produção de açúcar e etanol, bem como na produção de ovos, carne ou leite. Portanto, o setor sucroalcooleiro ao longo de sua operação produz vinhaça, torta de filtro, bagaço de cana e palhada e, por outro lado, o setor pecuário produz esterco (CORRÊA, 2012; KASSAB et al., 2012). Nesse aspecto, considerando que a mosca-dos-estábulo explora vários ambientes para a sua proliferação desde que tenha material orgânico em processo de fermentação (ROCHON et al., 2021), logo, os setores mencionados apresentam uns dos principais ambientes de proliferação de mosca-dos-estábulo no Brasil.

O Brasil destaca-se como o maior produtor de cana-de-açúcar em escala mundial. Com base no terceiro levantamento anual realizado pelo Ministério da Agricultura, por meio da Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2021), estima-se que 8,264,4 mil hectares sejam destinados à produção dessa monocultura. Consequentemente, devido ao processamento da cana-de-açúcar para a produção de açúcar e etanol geram-se os subprodutos que são manejados nas próprias áreas de produção de cana.

A utilização dos subprodutos canavieiros nas áreas destinadas à plantação de cana adiciona pontos positivos, como a própria destinação final desse material, incremento de produtividade e solo rico em matéria orgânica. A vinhaça, por exemplo, é utilizada na fertirrigação dos canaviais, pois é uma ótima fonte de água para o solo, além de ser rica em potássio, macronutriente importante para a planta, onde auxiliará dentre outras funções, na fixação de nitrogênio e regula a utilização de água (CORTEZ et al., 1992). Porém, apesar dos benefícios, a utilização de vinhaça na lavoura de cana-de-açúcar juntamente com os restos culturais pós-colheita (ponteiras de cana e palhada) e material compostado (torta de filtro) acarreta a formação de ambientes propícios ao desenvolvimento larval de moscas, principalmente, *Stomoxys calcitrans* e *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) (BARROS et al., 2010).

Além dos canaviais manejados com seus respectivos resíduos, os ambientes de criação de animais como caprinos, ovinos, suínos, avícolas e principalmente bovinos são também considerados locais de proliferação de moscas devido ao material orgânico em decomposição. Além disso, durante a alimentação dos animais pode ocorrer o acúmulo de restos de ração próximos ao cocho, bem como a mistura desse material com dejetos dos animais, o que gera local característico de proliferação de moscas (KOLLER et al., 2009; COOK et al., 2017).

A mosca-dos-estábulo foi relatada em restos culturais de aveia, arroz e trigo nos Estados Unidos (BISHOPP, 1913), na Costa Rica em áreas destinadas ao cultivo de abacaxi, café e palmáceas (HERRERO et al., 1991) e, na Colômbia em cultivos de palmáceas (MORA et al., 1997). No Brasil, a multiplicação de mosca-dos-estábulo com notoriedade foi registrada em áreas de cana-de-açúcar, especificamente, em locais com acúmulo de subprodutos da indústria canavieira (KOLLER et al., 2009), bem como em locais com acúmulo de esterco de animais (BARROS et al., 2010; KASSAB et al., 2012). No entanto, nota-se na literatura que a partir de 1970, no Estado de São Paulo, há os primeiros relatos de incômodos em bovinos ocasionados por mosca-doméstica e mosca-dos-estábulo (NAKANO et al., 1973; BURALLI et al., 1985). A instalação de várias usinas canavieiras, em espaços tradicionais de pecuária, ganhou força nas últimas décadas no Brasil e, com isso, relatos de pecuaristas sobre surtos de mosca-dos-estábulo próximos a elas são constantes (BARROS et al., 2010).

Stomoxys calcitrans é uma das 18 espécies do gênero, caracterizada por ser uma mosca hematófaga e cosmopolita (KHAFILA et al., 2022). Devido ao seu hábito alimentar causa nos animais estresse e agitação em resposta a introdução de seu aparelho bucal, conhecido como probóscide, estrutura rígida e quitinizada, utilizada para perfurar a superfície cutânea durante o repasto sanguíneo (BRITO, 2008; KOLLER et al., 2009). Além disso, pode desenvolver em seus hospedeiros lesões cutâneas dependendo da infestação de adultos no local (GONZÁLEZ et al., 2022); *S. calcitrans* tem como preferências as patas dianteiras e região inferior dos animais (ERASMUS, 2015). E também a mosca-dos-estábulo é considerada mecanicamente um vetor biológico de patógenos para humano e outros animais (VERGNE et al., 2021; MAKHAHLELA et al., 2022).

Pouco se conhece sobre as verdadeiras perdas econômicas envolvendo mosca-dos-estábulo, porém estima-se que anualmente, no Brasil, pode-se gerar em torno de 335 milhões de dólares (GRISI et al., 2014). Vale destacar que os prejuízos econômicos são certos quando há surto, fato que se deve à inquietação do gado e diminuição do consumo de pastagens, o que impacta diretamente na produção de leite e carne e, em alguns casos específicos, ou seja, em elevadas infestações, as moscas podem atacar os seres humanos e os cães. Dessa forma, fica evidente que a mosca-dos-estábulo apresenta elevada adaptabilidade de sobrevivência no agroecossistema canavieiro. Suas larvas já foram relatadas no interior de colmos, que são descartadas durante a colheita (hastes ou ponteiros) de cana, em época em que as condições ambientais são desfavoráveis ao seu

desenvolvimento, como longos períodos de estiagem e baixa umidade relativa do ar (seca), esse material pode servir de habitat, conferindo proteção/abrigo por reter umidade, além de dificultar o controle com inseticidas químicos (CANÇADO et al., 2013).

Pensando no manejo inteligente da mosca-dos-estábulos, é imprescindível a busca por princípios ativos com elevada eficácia de causar mortalidade significativa de suas fases imaturas, conhecer a sua biologia e sua interação com bovinos considerando fatores bióticos e abióticos, bem como suas exigências térmicas para futuras estimativas de suas gerações.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae)

Stomoxys calcitrans (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) é um inseto de origem ainda incerta e tem os primeiros relatos no Continente Africano (MUIR et al., 1914). Os registros de sua introdução no Continente Americano são escassos, porém acredita-se que a espécie *S. calcitrans* tenha sido introduzida na América durante o período colonial (PAPAVERO et al., 2012).

Stomoxys calcitrans está difundida mundialmente (cosmopolita), o que advém de sua adaptabilidade e sobrevivência em diferentes zonas climáticas, assim, tendo sido relatada em diversos países e ilhas ao redor do mundo, os quais se encontram situados nos Continentes Americano (Norte, Central e Sul), Europeu, Africano, Asiático e Oceania, exceto na Antártida (BRUES, 1913; KHAFILA et al., 2022).

Em países como os Estados Unidos, a mosca-dos-estábulos foi relatada em restos culturais de aveia, de arroz e de trigo (BISHOPP, 1913); na Costa Rica em áreas destinadas ao cultivo de abacaxi, de café e de palmáceas (HERRERO et al., 1991); na Colômbia essa espécie também foi registrada em cultivos de palmáceas (MORA et al., 1997) e no Brasil foi registrada em ambientes associados ao cultivo de cana-de-açúcar e fazendas pecuárias (KOLLER et al., 2009).

2.2 A mosca-dos-estábulos no Brasil

No Brasil, a introdução de *S. calcitrans*, possivelmente, ocorreu durante a colonização brasileira, ou seja, a partir do ano de 1500 (PAPAVERO et al., 2012). Dessa forma, infere-se que a partir desse período a sua presença sempre esteve associada aos animais domésticos, porém em equilíbrio populacional (abaixo de causar prejuízos

econômicos). No entanto, observa-se que a expansão industrial no país, principalmente, no setor sucroalcooleiro, possibilitou em determinadas situações o aumento populacional desse inseto por meio do fornecimento de ambientes propícios ao seu desenvolvimento e algumas práticas agrícolas, como fertirrigação com vinhaça em lavoura de cana-de-açúcar. Essa prática de aplicação da vinhaça em áreas de cana é devido a sua contribuição para a produtividade e também para dar um destino a esse resíduo visto que a sua produção é em grandes quantidades (BARROS et al., 2010; DOMINGHETTI et al., 2015).

Há registros de ocorrência de surtos de mosca-dos-estábulo e mosca-doméstica *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) a partir da década de 1970 associados à indústria canavieira no Brasil, especificamente, no Estado de São Paulo (NAKANO et al., 1973; BURALLI & GUIMARÃES 1985). Apesar de ocorrer em todo o Brasil, *S. calcitrans* por muito tempo foi considerada uma praga secundária para a bovinocultura brasileira, uma vez que não havia necessidade de manejo (controle), ou seja, a incidência populacional no ambiente não era preocupante e, portanto, não justificaria o seu controle (KOLLER et al., 2009).

No entanto, esse cenário gradativamente foi mudando, onde produtores, principalmente de gado começam a relatar ataques constantes em suas criações por mosca-dos-estábulo e isso se deve a diversos fatores, incluindo climático, de manejo (resultando em grande disponibilidade de sítios de reprodução), além de proximidade de criações de animais e áreas de abrigo do inseto adulto. Historicamente, a expansão industrial ocupou áreas que anteriormente eram destinadas à pecuária e, portanto, estreitou a distância entre instalações industriais e pecuárias, logo, no ano de 2008 e 2009 resultaram em diversos surtos de *S. calcitrans* nos Estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul (KOLLER et al., 2009; BARROS et al., 2010).

Em outras palavras a frequência com que as infestações de *S. calcitrans* acontecem foi potencializada pelo manejo dos subprodutos de usinas canavieiras em diferentes regiões brasileiras, levando a elevada abundância desse inseto no local (BARROS et al., 2010). Vale enfatizar, também, que o manejo inadequado de materiais orgânicos em fazendas pecuárias, também, pode favorecer a manutenção das moscas, bem com servir de ponto de dispersão para as usinas. Na última década, as regiões afetadas por surtos foram representadas por um polígono, compreendendo a região Centro-Oeste e Sudeste do país. Esse polígono engloba partes dos Estados de Mato Grosso do Sul, Mato

Grosso, Minas Gerais, Goiás e São Paulo, coincidindo com a expansão de instalações industriais recentes nessas regiões (DOMINGHETTI et al., 2015).

A atratividade da vinhaça para adultos de *S. calcitrans* mostra-se após o quarto dia de aplicação desse subproduto nas áreas canavieiras (SOUZA et al., 2021). A vinhaça influencia na resposta sensorial de *S. calcitrans* devido a esse material apresentar compostos voláteis que são extremamente atrativos a essa espécie. Análises químicas demonstraram uma ampla gama de voláteis como ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos e fenóis como potenciais compostos atrativos (JELVEZ SERRA et al., 2017).

A partir do ano 2010, foram desenvolvidos estudos envolvendo surtos populacionais referentes à mosca-dos-estábulo (BARROS et al., 2010; ODA & ARANTES 2010; KASSAB et al., 2012). Esses autores reforçaram que os problemas relacionados à *S. calcitrans* ocorrem devido ao fornecimento de ambientes adequados ao desenvolvimento de suas fases imaturas. Assim, nas propriedades de gado, pode-se destacar os resíduos provenientes dos animais, como (dejetos e restos alimentares) são materiais orgânicos e que se encontram presentes nos estábulos, malhadores e cochos.

No caso das usinas sucroalcooleiras, destacam-se restos da cultura, torta de filtro e o terreno com vinhaça em áreas destinadas à irrigação da cana-de-açúcar. Dessa forma, sugere-se o envolvimento de ambas as partes para o combate às infestações da mosca-dos-estábulo, pois, podem existir focos de proliferação do inseto nas usinas sucroalcooleiras e fazendas destinadas à produção de gado. O seu ciclo de vida está diretamente associado às condições climáticas, podendo alongar-se em temperaturas mais baixas, bem como diminuir em temperaturas elevadas.

Vale destacar também que a mosca-dos-estábulo apresenta elevada adaptabilidade de sobrevivência no agroecossistema canavieiro. Suas larvas já foram relatadas no interior de colmos, que são descartadas durante a colheita (hastes ou ponteiros) de cana em época em que as condições ambientais são desfavoráveis ao seu desenvolvimento, como longos períodos de estiagem e baixa umidade relativa do ar (seca), esse material pode servir de habitat, conferindo proteção/abrigo por reter umidade, além de dificultar o controle com inseticidas químicos (CANÇADO et al., 2013).

As consequências provenientes dos ataques constantes de mosca-dos-estábulo em criações, principalmente, bovinos, traz impactos negativos na produção de leite e carne destes animais. A literatura varia com relação a quantidade de moscas por animal que eventualmente leva à impactos econômicos, porém presume-se uma perda no ganho

de peso em até 20% e entre 40 e 60% na produção de leite em um momento de surto populacional de *S. calcitrans* (CAMPBELL et al., 1993; KOLLER et al., 2009).

Os prejuízos econômicos por mosca-dos-estábulo, deve-se à inquietação dos animais (gasto de energia pelo comportamento defensivo) e diminuição do consumo de alimento e água, o que impacta diretamente na produção de leite e carne. GRISI et al., (2014) relatam que os prejuízos econômicos no Brasil podem chegar a 335 milhões de dólares anualmente.

2.3 Biologia da mosca-dos-estábulo

Stomoxys calcitrans é um inseto hematófago que possui muitos hospedeiros, principalmente, mamíferos e está associada no mundo todo ao gado e animais selvagens (KHALIFA et al., 2022). Em alta infestação populacional dessa espécie pode ocorrer o ataque em humanos, aves, cães, suínos e caprinos (BISHOP 1913).

Atualmente, o gênero *Stomoxys* Geoffroy, 1762 (Diptera: Muscidae) está classificado na subfamília Muscinae, tribo Stomoxyini e compreende 18 espécies (ZUMPT 1973). *Stomoxys calcitrans* é um inseto holometábolo, isto é, apresenta as fases de desenvolvimento, como ovo, larva, pupa e adulta (Figura 01). O tamanho médio do ovo é de aproximadamente 1 mm, da larva de até 11 mm, da pupa de 5 mm e do adulto entre 5 mm a 10 mm (BISHOP, 1913; PARR, 1962). Na fase de larva, alimenta-se de resíduos orgânicos em estado de fermentação/putrefação, especificamente, de nutrientes e microrganismos presentes nesse meio e na fase adulta, alimenta-se de sangue, na maioria das vezes de bovinos (KOLLER et al., 2009; PATRA et al., 2018).

O macho e a fêmea da mosca-dos-estábulo são hematófagos (mesmo comportamento alimentar), porém apresentam comportamento sexual distinto após a emergência. O macho procura ativamente a fêmea logo após emergir, enquanto que a fêmea acasala em torno de 5 dias após emergir, esse período é necessário para que ocorra o seu “amadurecimento sexual” que é o desenvolvimento completo de seus ovários. Após a cópula entre 3 a 5 dias a fêmea começa a realizar postura, isso compreende em torno de 8 dias após emergir para gerar ovos no ambiente, caracterizado como período de pré-postura (MELLO, 1989). Cada fêmea ao longo de sua vida pode apresentar entre um e sete ciclos ovarianos (posturas), com média de produtividade por fêmea de 83,4 ovos e longevidade média dos adultos de 24,3 dias nas condições de 27°C e umidade relativa de 75±5% (MELLO et al., 1989). Cada fêmea pode ovipositar em média 400 ovos ao longo de sua vida. As larvas apresentam três instares larvais (L1, L2 e L3), cada instar assim

como todo o ciclo de desenvolvimento do inseto é influenciado, principalmente, pela temperatura (PARR et al., 1962).

Adultos de *S. calcitrans* são de coloração cinza e apresentam o aparelho bucal (proboscide) de coloração preta, principal característica, projetado a frente da cabeça quando está em repouso. Além disso, podem ser identificadas por 4 listras longitudinais no tórax (PATRA et al., 2018).

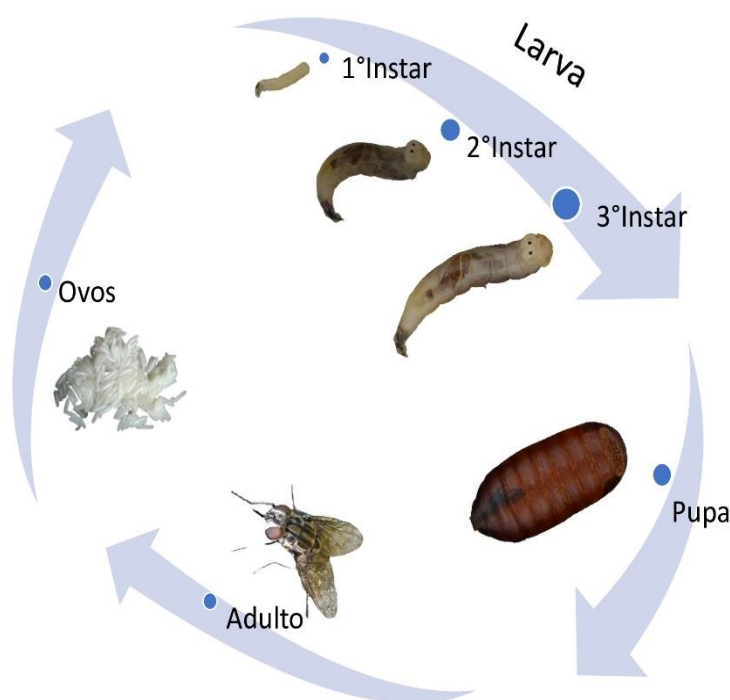


Figura 01. Ciclo biológico de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae).

2.4 Importância médico-veterinária de *Stomoxys calcitrans*

A Tristeza Parasitária Bovina (TPB) é um complexo de duas enfermidades infecciosas bem conhecidas, podendo ocorrer de forma isolada ou associada (concomitante) no animal e tem como agentes etiológicos distintos, protozoários pertencentes ao gênero *Babesia*, causando a doença babesiose e a bactéria *Anaplasma marginale*, principal agente causador da doença anaplasmoze. O principal vetor da TPB é o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ALMEIDA et al., 2006). Porém a *A. marginale* tem um agravante, pois pode ser transmitida por insetos

hematófagos, como a mosca-dos-estábulo, no momento de sua alimentação (GONÇALVES, 2000).

Os sintomas parasitológicos causados na TPB dependem do agente etiológico, porém podem apresentar sinais clínicos semelhantes, de maneira geral, as características comuns desse complexo de enfermidade é que os bovinos apresentem quadro clínico como, febre, anemia, mucosas pálidas, icterícia, anorexia e morbidade quando estão especialmente com a doença anaplasmoze. Essa enfermidade ocorre nas Américas do Sul, Central e do Norte, África e Austrália (KESSLER et al., 1998). O alvo da bactéria *A. marginale* são as células vermelhas (hemácias), que são responsáveis pela distribuição de oxigênio no organismo do animal (KOCAN et al., 2010). A ocorrência de tristeza parasitária bovina, além do risco de morte, pode diminuir a produção de carne e leite e gerar gastos com tratamentos e profilaxia do rebanho (TRINDADE et al., 2011).

Anemia infecciosa equina é outro problema associado à mosca-dos-estábulo é a Anemia Infecciosa Equina (AIE). Os insetos hematófagos não são os únicos meios de transmissão, existem várias formas, incluindo aparelhos cirúrgicos, seringas, agulhas contaminadas ou intrauterina. Essa enfermidade também é conhecida por “febre do pântano” e é limitada a equinos, asininos e muares. O vírus que causa essa doença pertence à família Retroviridae, gênero Lentivirus e sobrevive pouco tempo no aparelho bucal dos insetos hematófagos, mas o suficiente para contaminar um animal, caso a mosca tenha sido alimentada de um hospedeiro contaminado e seu repasto sanguíneo interrompido, o que teoricamente em um curto intervalo de tempo procurará outro hospedeiro (QUINN et al., 2005). Os sintomas frequentes (sinais clínicos) são febres, anemia hemolítica, icterícia, depressão, edema e perda de peso seguido de morte (QUINN et al., 2005). Trata-se de uma doença infecciosa viral e cosmopolita. No Brasil, vários relatos já foram descritos de sua ocorrência em todo o país, principalmente na sua região endêmica, pantanal. Os equinos são ferramentas de extrema importância no manejo pecuário e pode sofrerem consequências no seu desempenho quando contaminados, além dos embargos ao trânsito e interferir nos eventos esportivos equestres, assumindo consequências econômicas significativas (FRANCO & PAES 2011).

Como se trata de uma enfermidade que não há tratamento eficaz ou cura e é considerada a principal doença infecto-contagiosa da equinocultura (SANTOS et al., 2001). No Brasil, salvo animais de região endêmica do Pantanal, os demais testados positivos para AIE, deverá seguir as instruções estabelecidas no Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos (PNSE), no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

(MAPA) para providenciar o abate (eutanásia) ou menos frequente o isolamento vitalício, seguindo a Instrução Normativa nº 45, de 15 de junho de 2004 (FRANCO & PAES 2011).

A Habronemose Gástrica ou Cutânea pode ser transmitida, segundo BALDACCHINO et al., (2013), por meio de *S. calcitrans*. Os referidos autores afirmam que essa espécie pode servir de hospedeiro intermediário para a larva de nematoide do gênero *Habronema*, especialmente *Habronema microstoma*, que causa habronemose gástrica ou cutânea em equinos. Os autores descreveram que o nematoide adulto ocorre no muco estomacal do animal, local onde libera seus ovos que, conseqüentemente, vão parar nas fezes e quando eclodem podem ser ingeridas pelas larvas da mosca-dos-estábulo em desenvolvimento no ambiente. Os estágios de desenvolvimento do nematoide coincidem com os da mosca. O estágio infeccioso do nematoide é atingido quando a mosca emerge da pupa. E como consequência, quando a mosca pousa em locais específicos do animal como lábios ou narinas, transmite esse patógeno que rapidamente é engolido, por exemplo, pelo cavalo e vai para o seu estômago (fechando o ciclo) onde amadurecem, causando inflamação da mucosa, chegando a se desenvolver em gastrite crônica e ulceração, além de distúrbios digestivos e outras séries de conseqüências (habronemose gástrica). Outra situação é quando a mosca pousa e transmite o patógeno nas mucosas, como vulva, prepúcio, olhos ou em tecidos lesionados) e, portanto, o nematoide não consegue fechar o seu ciclo de vida, induzindo uma reação inflamatória no local, causando feridas (habronemose cutânea e /ou oftálmica).

A Tripanossomose é outra doença relacionada à *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) é a tripanossomose bovina causada pelo protozoário *Trypanosoma vivax* (PAIVA et al., 2000). Embora a tripanossomose bovina tenha sido registrada pela primeira vez no Brasil em 1972 (SHAW & LAINSON 1972), o primeiro relatado de surto dessa doença foi no Pantanal brasileiro, região de extensa produção de gado, no ano de 1996. O protozoário *Trypanosoma vivax* é um hemoparasita que capta os nutrientes essenciais na corrente sanguínea dos animais contaminados e, portanto, desencadeia quadros de febre, perda de peso, anemia, fraqueza, aborto e desenteria seguida de morte (SILVA et al., 1996; OLIVEIRA et al., 2019). Quando o controle de vetores como mosca-dos-estábulo e mosca-dos-chifres *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) não se dá adequadamente a ocorrência desse agente etiológico *T. vivax* aumenta exponencialmente no rebanho e aumenta o risco do desenvolvimento dessa enfermidade (OLIVEIRA et al., 2009). O cuidado sanitário preventivo está entre as medidas mais importantes no controle de doenças, dentre os exemplos, podemos evitar o surgimento de locais de reprodução de

moscas hematófagas, além dos cuidados com a testagem do rebanho como recomendado (SOUZA et al., 2008).

3. Objetivo geral

- Estudar os aspectos biológicos de *S. calcitrans*, além de avaliar a eficiência de inseticidas no seu controle, bem como a implicação de sua flutuação populacional no comportamento bovino.

3.1 Objetivos específicos

- Definir as exigências térmicas e estimar o número de gerações de *S. calcitrans* em três municípios produtores de cana-de-açúcar e gado no sul do Estado de Mato Grosso do Sul.
- Avaliar a eficácia de reguladores de crescimento de insetos (IGRs) em larvas de *S. calcitrans* em laboratório.
- Avaliar a eficácia de bioinseticidas em larvas de *S. calcitrans* em laboratório.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, M. B. D.; TORTELLI, F. P.; RIET-CORREA, B.; FERREIRA, J. L. M.; SOARES, M. P.; FARIAS, N. A. R.; SCHILD, A. L. Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 237-242, 2006.

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.

BALDACCHINO, F.; MUENWORN, V.; DESQUESNES, M.; DESOLI, F.; CHAROENVIRIYAPHAP, T.; DUVALLET, G. Transmission of pathogens by *Stomoxys calcitrans* (Diptera, Muscidae): a review. **Parasite**, v. 20, 2013.

BISHOPP, F.C. "The Stable fly (*Stomoxys calcitrans*, L.), an important live-stock pest." **Journal of Economic Entomology**, v.6, p.112-126, 1913.

BRUES, C.T. The geographical distribution of the stable fly *Stomoxys calcitrans*. **Journal of Economic Entomology**, v.6, p. 459-477, 1913.

BURALLI, G.M & GUIMARÃES, J.H. Controle de *Musca domestica* Linnaeus (Diptera, Muscidae) em área de manejo de vinhaça (Macatuba, São Paulo, Brasil). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.3, p.1-6, 1985.

CAMPBELL, J. B.; CATANGUI, M. A.; THOMAS, G. D.; BOXLER D. J.; DAVIS, R. Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) and heat stress on weight gain and feed conversion of feeder cattle. **Journal Agrícola de Entomologia**, v.10, p.155-161, 1993.

CANÇADO, P.H.; FERREIRA, T.; PIRANDA, E.M.; SOARES, C.O. Sugarcane stems as larval habitat for the stable fly (*Stomoxys calcitrans*) in sugarcane plantations. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33 p.741-744, 2013.

CORTEZ, L.; MAGALHÃES, P.; HAPPI, J. Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. **Revista Brasileira de Energia**, v.2, p. 111, 1992.

CORRÊA, E. C. **Prevalência da mosca-dos-estábulos, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: muscidae), em diferentes subprodutos de usina sucroalcooleira**, 2012.

COOK, D. F.; TELFER, D. V.; LINDSEY, J. B.; DEYL, R. A. Substrates across horticultural and livestock industries that support the development of stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Austral Entomology**, v.57, p.344-348, 2017.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**, 2021. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 25 dez. 2022

DOMINGHETTI, T.F.S.; BARROS, A.T.M.; SOARES, C.O.; CANÇADO, P.H.D. *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) outbreaks: current situation and future outlook with emphasis on Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 387-395, 2015.

ERASMUS A S. **The impact of *Stomoxys calcitrans* populations on cattle in a feedlot near Heidelberg, Gauteng, South Africa**. Magister Scientiae in Environmental Sciences Thesis. North-West University, South Africa, 2015.

FRANCO, M.M.J & PAES, A.C. Anemia infecciosa equina. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, p.197-207, 2011.

GONÇALVES, P. M. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região sudeste do Brasil. **Ciência Rural**, v. 30, p. 187-194, 2000.

GRISI, L.; LEITE, R.C.; MARTINS, J.R.S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LÉON, A.A.P.; PEREIRA, J.B.; VILLELA, H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, p.150-156, 2014.

GONZÁLEZ, M.A.; BRAVO-BARRIGA, D.; FERNÁNDEZ, E.B.; FRONTERA, E.; RUIZ-ARRONDO, I. Severe skin lesions caused by persistent bites of the stable

fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) in a donkey sanctuary of western Spain., **Journal of Equine Veterinary Science** (2022).

HERRERO, M.V.; MONTES, P.L.; HERNÁNDEZ, R. Abundancia relativa de *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae) en seis localidades del Pacífico Sur de Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, v. 39, p. 309-310, 1991.

JELVEZ SERRA, N. S.; GOULART, H. F.; TRIANA, M. F.; SANTOS T.S.; ALMEIDA, C. I. M.; COSTA, J. G.; ZHU, J. J. Identification of stable fly attractant compounds in vinasse, a byproduct of sugarcane–ethanol distillation. **Medical and Veterinary Entomology**, v.31, p.381-391, 2017.

KASSAB, S.O.; GAONA, J.C.; LOUREIRO, E.S.; MOTA, T. A.; FONSECA, P.R.B.; ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulo no Mato Grosso do Sul: medidas de controle e prevenção. **Revista Agrarian**, v. 5, p.84-88, 2012.

KHALIFA, A.; NASR, Z.; ERROUISSI, F. First data on the daily and seasonal activity patterns of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under Mediterranean semiarid climate in a dairy cattle farm in Tunisia. **International Journal of Tropical Insect Science** v.42, p.1437–1447, 2022.

KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos. **Embrapa Gado de Corte-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 1998.

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

KOCAN, K. M.; FUENTE, J.; BLOUIN, E. F.; COETZEE, J. F.; EWING, S. A. The natural history of *Anaplasma marginale*. **Veterinary parasitology**, v.167, p.95-107, 2010.

MAKHAHLELA, NB, LIEBENBERG, D., VAN HAMBURG, H., TAIÖE, MO, ONYICHE, T., RAMATLA, T., & THEKISOE, OM. Detection of pathogens of veterinary importance harboured by *Stomoxys calcitrans* in South African feedlots, **Scientific African**, v.15, e0112, 2022.

MELLO, R.P. **Estudo de alguns aspectos do desenvolvimento biológico e do comportamento, em laboratório, de *Stomoxys calcitrans*, (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae)**. 1989. 141f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1989.

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

MUIR, F & JAPAN, T. On the original habitat of *Stomoxys calcitrans*. **Journal of Economic Entomology**, v.7, p. 459-460, 1914.

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

OLIVEIRA, J.B.; GAMBOA, J.H.; ALFARO, C.J.; ZELEDÓN, R.; BLANDÓN, M.; URBINA, A. First report of *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle from Costa Rica. **Veterinary parasitology**, v.163, p.136-139, 2009.

ODA, F. H. & ARANTES, C.A. < b> Surto Populacional da Mosca dos Estábulos *Stomoxys calcitrans*, Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) no Município de Planalto, SP. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.3, p.145-159, 2010.

OLIVEIRA, W. J., BARBOSA, F. C., & MORAES, F. R. Tripanossomose bovina no Brasil. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, 17, 1-11, 2019.

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, p.437-443, 1962.

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

PAIVA, F., LEMOS, R. D., NAKAZATO, L., MORI, A. E., BRUM, K. B., & BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I. Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, p.135-141, 2000.

PATRA, G.; BEHERA, P.; DAS, S. K.; SAIKIA, B.; GHOSH, S.; BISWAS, P.; DEBBARMA, A. *Stomoxys calcitrans* and its importance in livestock, **International Journal of Advance Agricultural Research**, v.6, p.30-37, 2018.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. Retroviridae. In: **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 2ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed. p.346-355, 2005.

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, 38, 2021.

SHAW, J.J & R. LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* no Brasil, **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v.66, p.25-32, 1972.

SANTOS, R. M. L.; REIS, J. K. P.; SANTOS, F. G. A.; OLIVEIRA, I. C. S. Frequência de anemia infecciosa em eqüinos no Acre, 1986 a 1996. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 310-315, 2001.

SILVA, R. A. M. S.; SILVA, J. A.; SCHNEIDER, R. C.; FREITAS, J. D.; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; PEREIRA, M. E. B. Outbreak of trypanosomiasis is dueto *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.91, p.561-562, 1996.

SOUZA, A.O.; SALVATTI, J.J.R.; PICCININ, A. Anemia infecciosa equina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 10, 2008.

SOUZA T.F.; CANÇADO, P.H.D.; BARROS A.T.M. Attractivity of vinasse spraying to stable flies, *Stomoxys calcitrans* in a sugarcane area. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.41, e06817, 2021.

TRINDADE, H.I.; ALMEIDA, K.S.; FREITAS, F.L.C. Tristeza parasitária bovina-revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária, Garça**, 2011.

VERGNE, T.; ANDRAUD, M.; BONNET, S.; DE REGGE, N.; DESQUESNES, M.; FITE, J.; BOUHSIRA, E. Mechanical transmission of African swine fever virus by *Stomoxys calcitrans*: Insights from a mechanistic model. **Doenças Transfronteiriças e Emergentes**, v.68, p.1541-1549, 2021.

ZUMPT, F. 1973. **The Stomoxylene Biting Flies of the World. Diptera: Muscidae. Taxonomy, biology, economic importance and control measures.** Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, Germany, p.175, 1973.

CAPÍTULO I

Artigo 1

Growth regulating insecticides to *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) control **Inseticidas reguladores de crescimento no controle de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae)**

Augusto Rodrigues¹, Samir Oliveira Kassab², Fabricio Fagundes Pereira¹ Jorge Braz Torres³, José Cola Zanuncio⁴, Rodrigo Keiti Arakava²

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Legado Pesquisa e Consultoria Agronômica, 79.823-290, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³Departamento de Agronomia/Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52.171-900, Recife, Pernambuco, Brasil.

⁴Departamento de Entomologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, 36.570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Autor de correspondência: augustorodriguesbio@gmail.com

Resumo: *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) é uma praga de importância veterinária que devido ao hábito hematófago dos adultos pode causar prejuízos expressivos na produção animal. O controle destinado aos adultos torna-se ineficiente quando há ambientes propícios ao desenvolvimento de suas fases imaturas em estábulos e áreas canavieiras. Assim, é necessário um controle adicional voltado aos imaturos. Este estudo considerou a aplicação de inseticidas reguladores de crescimento (IGRs) para o controle da fase larval de *S. calcitrans* com objetivo de avaliar sua eficácia em condições de laboratório. Para isto, larvas de *S. calcitrans* (terceiro ínstar) foram expostas em dieta artificial (20g) tratada ou não (controle) com os IGRs: triflumuron, piriproxifem e diflubezuron nas dosagens de 10, 20, 30, 40 e 50g de cada ingrediente ativo (i.a.), respectivamente. A eficácia de controle de *S. calcitrans* com triflumuron, piriproxifem e diflubenzuron foi de 82%, 88% e 92% na dosagem de 50 g de i.a., respectivamente. Portanto, com base na metodologia utilizada, os IGRs testados indicam resultados satisfatório no controle de *S. calcitrans*.

Palavras-chave: Ecdisteroides, entomologia médico-veterinária, juvenoides, mosca-dos-estábulos.

Abstract: *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) is a pest of veterinary importance that, due to the feeding habit of the adult being hematophagous, can cause significant damage to animal production. Control intended for adults becomes inefficient when there are environments conducive to the development of their immature stages, which are mainly found in livestock and sugarcane areas. Thus, additional control is required. This study considered the application of growth regulating insecticides (IGRs) to control of *S. calcitrans* larvae efficacy in order to evaluate their. For this, *S. calcitrans* larvae (third instar) were exposed to an artificial diet treated or not (control) with the IGRs: triflumuron, pyriproxyfen and diflubenzuron at dosages of 10, 20, 30, 40 and 50g of each active ingredient (i.a.), respectively. The control efficacy against *S. calcitrans* larvae and pupae of triflumuron, pyriproxyfen and diflubenzuron was 82%, 88% and 92% at a dose of 50 g a.i., respectively. Based on the methodology used and the results obtained, the application of the tested IGRs can be used to control *S. calcitrans*.

Keywords: Ecdysteroids, veterinary entomology, juvenoids, stable fly.

1. Introdução

Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) foi introduzida no Brasil no período colonial e, desde então, sempre esteve associada à pecuária (PAPAVERO et al., 2012). No Brasil, o cenário entre rebanhos bovinos e as populações de *S. calcitrans* começou a mudar devido à expansão do setor sucroalcooleiro. Vale ressaltar que os registros de ocorrência de surtos de mosca-dos-estábulo e mosca-doméstica (*Musca domestica*) existem na literatura nacional desde o início da década de 1970 relacionados à indústria sucroalcooleira no Estado de São Paulo (NAKANO et al., 1973; BURALLI et al., 1985).

A expansão da indústria sucroalcooleira aumentou a quantidade de resíduos como a vinhaça e torta de filtro ambos utilizados na fertilização dos canaviais. Ainda, devido a proibição da queima da cana antes da colheita, ocorreu um aumento expressivo da biomassa presente no solo (palhada) e por consequência a aplicação de vinhaça e/ou torta de filtro de maneira inadequada tem produzido ambientes favoráveis ao crescimento populacional da praga por ofertar habitat adequado ao desenvolvimento das fases imaturas (ovos, larvas e pupas) de *S. calcitrans* (BARROS et al., 2010; KASSAB et al., 2012; CÔRREA et al., 2013).

O hábito alimentar hematófago dos adultos de *S. calcitrans* tem sido foco de preocupação dos pecuaristas. Este comportamento causa estresse aos animais atacados, o que resulta em perdas econômicas na produção de carne e leite em até 20% e 50%, respectivamente (KOLLER et al., 2009). Além disso, outros estudos evidenciam a dificuldade de se estimar as consequências advindas dos surtos de *S. calcitrans*, e acredita-se que no Brasil os prejuízos possam ultrapassar os 335 milhões de dólares anualmente (GRISI et al., 2014).

No Brasil, a expressividade na produção de bovinos é evidente, pois o país ocupa o primeiro lugar no ranking mundial. A estimativa é de um rebanho de 217 milhões de animais (FAOSTAT, 2020), que pode ser submetido a vários fatores de redução de produtividade como a diminuição do bem-estar animal com a presença da mosca-dos-estábulo. O bem-estar animal “estado de harmonia entre o animal e o seu ambiente”, os quais devem estar em equilíbrio, pois assim a produção proporciona melhores resultados econômicos, o que aumenta a lucratividade e a qualidade de vida dos animais (HURNIK, 1992). Vale ressaltar que a indústria sucroalcooleira, concentrada no Estado de São Paulo e nordeste, se expandiu para outras regiões tradicionalmente produtoras de gado, tais como: Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Paraná e, gerou uma associação indesejada entre os pecuaristas e o setor sucroalcooleiro (TANACA et al.,

2008). Assim, os inseticidas que atuam de forma específicas no desenvolvimento das fases imaturas dos insetos (piriproxifem, diflubenzurom e triflumurom) foram estudados com o objetivo de avaliar suas eficiências no controle de *S. calcitrans* e conseqüentemente serem utilizados para a redução populacional dessa espécie.

2. Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Legado Pesquisa e Consultoria Agronômica localizado no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

2.1 Inseticidas

Os IGRs utilizados no experimento foram os inseticidas triflumurom (Certero[®] 480 SC - Bayer S/A), piriproxifem (Eplinge[®] 100 EC - Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda) e diflubenzuron (Dimilin[®] 80 WG - UPL do Brasil) foram avaliados em condições de laboratório.

2.2 Multiplicação de *Stomoxys calcitrans*

A multiplicação de *S. calcitrans* foi baseada nas metodologias de Moraes (2007) e Friesen et al. (2018). As larvas foram coletadas em áreas destinadas ao cultivo de cana-de-açúcar localizadas nos municípios de Caarapó e Rio Brillhante, Mato Grosso do Sul, Brasil. No laboratório, as larvas foram mantidas em dieta artificial nas condições de (25 ± 2°C), umidade relativa de 70-80% e fotoperíodo de 12:12h (L: E). A criação foi realizada com as larvas mantidas em bandejas plásticas (30 × 20 × 5 cm de comp. × L × A) contendo a dieta artificial composta de farelo de trigo (250 g), cana-de-açúcar seca triturada (100 g), farinha de peixe (10 g) e água (500 mL). Um total de 100 pupas de *S. calcitrans*, sem distinção de sexo, foram coletadas da dieta e transferidas para uma caixa plástica telada (40 × 30 × 30 cm de comp × L × A) até a emergência dos adultos. Os adultos foram alimentados com sangue bovino fornecido pelo Abatedouro São Luiz, Dourados, MS, Brasil. O sangue foi tratado com citrato de amônio para inibir a coagulação na dose de 3,5g/L de sangue. Após tratado, o sangue foi armazenado à -6°C. Os adultos foram alimentados diariamente utilizando uma placa de Petri (5,0 × 2,5 cm de diam × A) contendo gaze, a qual foi umedecida com sangue (MELLO, 1989). Adicionalmente, em outra placa de Petri de mesmas dimensões foi fornecido gaze umedecido como fonte de água. No oitavo dia após a emergência dos insetos foi oferecido

substrato para oviposição, o qual consistiu de uma mistura de solo (60 g) e triturado de palha e colmo de cana (60 g) umedecidos com vinhaça autoclavada. Após a oviposição, as larvas eclodiram e se desenvolveram até o segundo instar, quando então foram transferidas para a dieta de criação de larva proposta por Friesen et al. (2018). Os adultos foram identificados de acordo com as características morfológicas descritas por MAKHAHLELA et al., (2022).

2.3 Eficácia dos IGRs para o controle de larvas de *Stomoxys calcitrans*

Os inseticidas IGRs foram avaliados nas concentrações 10, 20, 30, 40 e 50 g de i.a padronizados para o volume de calda de 100 L por hectare. O método escolhido de exposição das larvas aos inseticidas considerou o comportamento natural do inseto em campo. No monitoramento direto (“in loco”), observou-se que a distribuição das fases imaturas (ovos, larvas e pupas de *S. calcitrans*) é agregada devido ao padrão de oviposição da mosca e por conta da formação de locais adequados para a postura do inseto, ou seja, quando ocorre irregularidades na aplicação de composto e/ou vinhaça. Dessa forma, reconhece-se a necessidade do controle localizado da praga.

Os experimentos foram realizados com larvas de terceiro instar de *S. calcitrans* (48 a 72 h). Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cada inseticida separadamente e sua respectiva testemunha. O experimento teve seis tratamentos (testemunha e cinco concentrações do inseticida) com cinco repetições cada. Cada repetição foi representada por um grupo de 10 larvas, (pseudo-repetição) totalizando 50 larvas por tratamento.

A dieta de criação das larvas foi composta de cana-de-açúcar seca e triturada (60 g), farelo de trigo (120 g), farinha de peixe (10 g) e solo fertirrigado (120 g). A dieta foi empregada para a exposição das larvas aos inseticidas. Dessa forma, a dieta foi submergida por um período de 5 minutos na calda inseticida nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50 g de (i.a.) para 100 L. Para o preparo das caldas contendo os inseticidas foi efetuado um ajuste para o volume de 1L de água e a diluição dos produtos foi equalizada para esse volume. O tempo de 5 min foi suficiente para umedecer o substrato de forma homogênea. Em seguida foi retirado o excesso de calda por meio de papel filtro e adicionado as larvas. Para cada repetição foi considerado 20g da dieta e, diariamente, o material foi umedecido com 5 mL de água, até o término das avaliações.

O instar de *S. calcitrans* foi determinado por meio do tempo médio (dias após a eclosão: DAE) (PARR, 1962).

3. Análise estatística

Os dados de mortalidade larval foram anotados diariamente e empregados para construção das curvas de sobrevivência de larvas até a pupação por meio do método de Kaplan-Meier. As curvas foram submetidas ao Proc LIFETEST do SAS (SAS Institute 2001) para estimativa das médias de sobrevivência e comparação por pares pelo teste de Log-Rank ($\alpha = 0,05$).

As variáveis mortalidade larval e mortalidade acumulada de triflumurom, bem como mortalidade larval de piriproxifem e mortalidade acumulada de diflubenzuron assumiram normalidade e homogeneidade da variância, especificamente, a variável mortalidade larval de diflubenzuron foi transformada em raiz quadrada de $x+0,5$ e, assim, submetidas à análise de variância pelo Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0.05$). As variáveis mortalidade pupal de triflumurom, bem como mortalidade pupal e mortalidade acumulada de piriproxifem e mortalidade pupal de diflubenzuron não atenderam tais pressupostos e foram submetidas a análise não paramétrica por meio do teste de Kruskal-Wallis pelo Proc NPAR1WAY do SAS (SAS Institute 2001), e comparadas pelo Intervalo de Confiança a 95% de probabilidade. Não se utilizou de correção de mortalidade natural, visto que nos tratamentos controle a mortalidade não foi significativa e, portanto, não foi incluída para comparações nas análises.

4. Resultados

4.1 Eficácia dos IGRs para o controle de larvas de *Stomoxys calcitrans*

A sobrevivência larval de *S. calcitrans* foi influenciada pelas diferentes concentrações de triflumurom ($\chi^2 = 50,36$; GL= 5; $P < 0,0001$), piriproxifem ($\chi^2 = 29,97$; GL= 5; $P < 0,0001$) e diflubenzuron ($\chi^2 = 44,99$; GL= 5; $P < 0,0001$), demonstrando uma correlação de maior mortalidade com o aumento de concentração desses inseticidas (Figuras 1 A, B e C). A sobrevivência de larvas até a pupação quando submetidas aos inseticidas nas concentrações de 10 a 50g de triflumurom variou de 74% a 40%; piriproxifem de 80 a 56% e diflubenzuron de 82 a 32%, respectivamente (Figura 1 A, B e C).

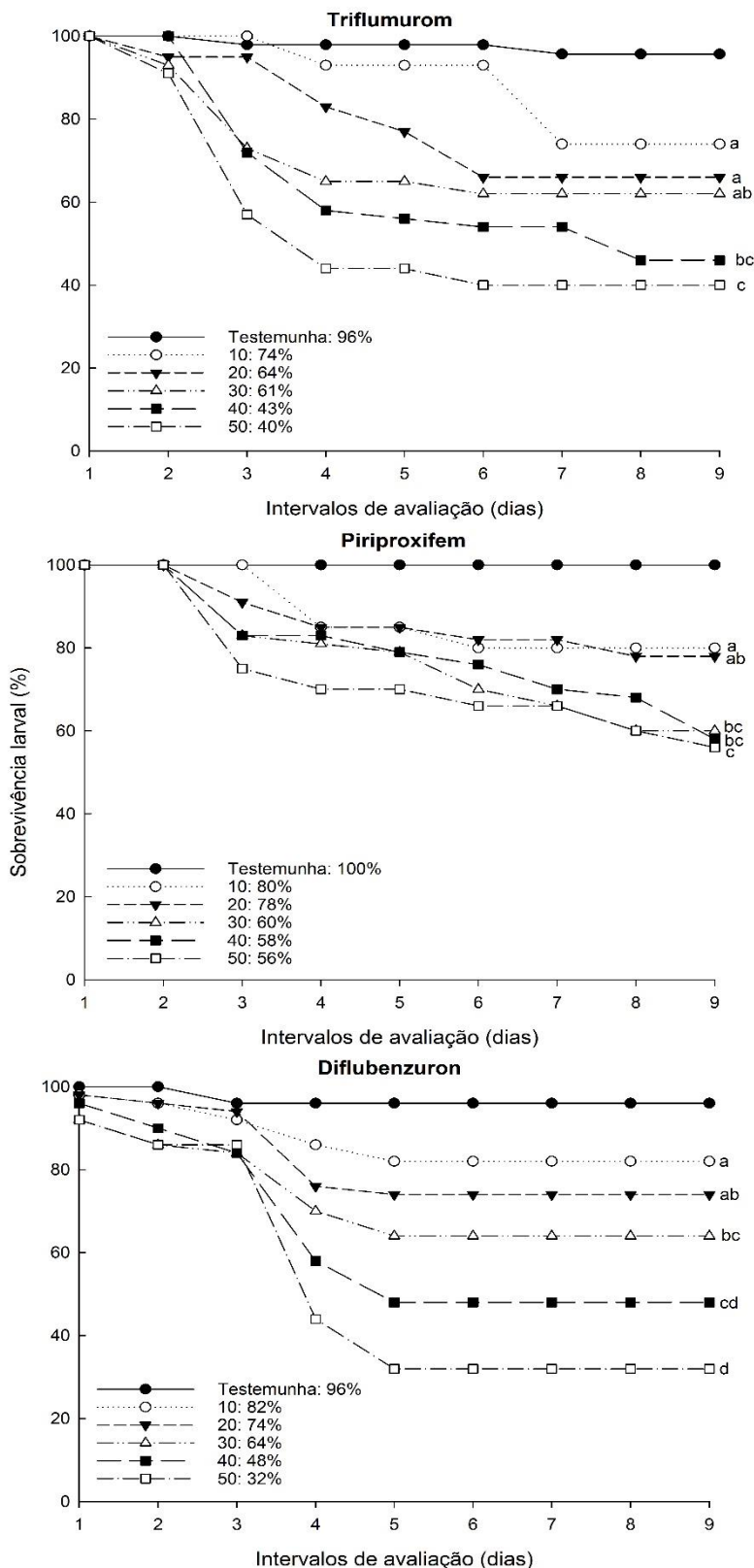


Figura 1. Curvas de sobrevivência larval de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) expostas a diferentes concentrações (g de i.a./100L de calda) dos inseticidas reguladores de crescimento triflumuro, piriproxifem e diflubenzuron. Nota: Valores (%) representam a sobrevivência média de larvas ao empuparem e curvas seguidas com diferentes letras diferem por pares de comparações pelo teste de Log-Rank ($P < 0,05$).

A mortalidade (média \pm EP) de larvas variou de $26 \pm 6,0\%$ a $60 \pm 3,1\%$, nos tratamentos de 10 a 50 g de i.a. de triflumurom ($F_{4, 20} = 8,96$; $P = 0,0003$) (Figura 2A). Contudo, não foi observada variação para a mortalidade de pupas formadas ($H = 1,5$; $GL = 4$; $P = 0,81$), a (média \pm IC 95%) foi de $16 \pm 14,10\%$ a $22 \pm 13,60\%$ (Figura 2B). Para a mortalidade acumulada foi observada diferença entre as concentrações de triflumurom ($F_{4, 20} = 17,30$; $P < 0,0001$). A mortalidade acumulada nos tratamentos com 10 a 50g de triflumurom variou de $42 \pm 5,09\%$ a $82 \pm 3,74\%$, respectivamente (Figura 2C).

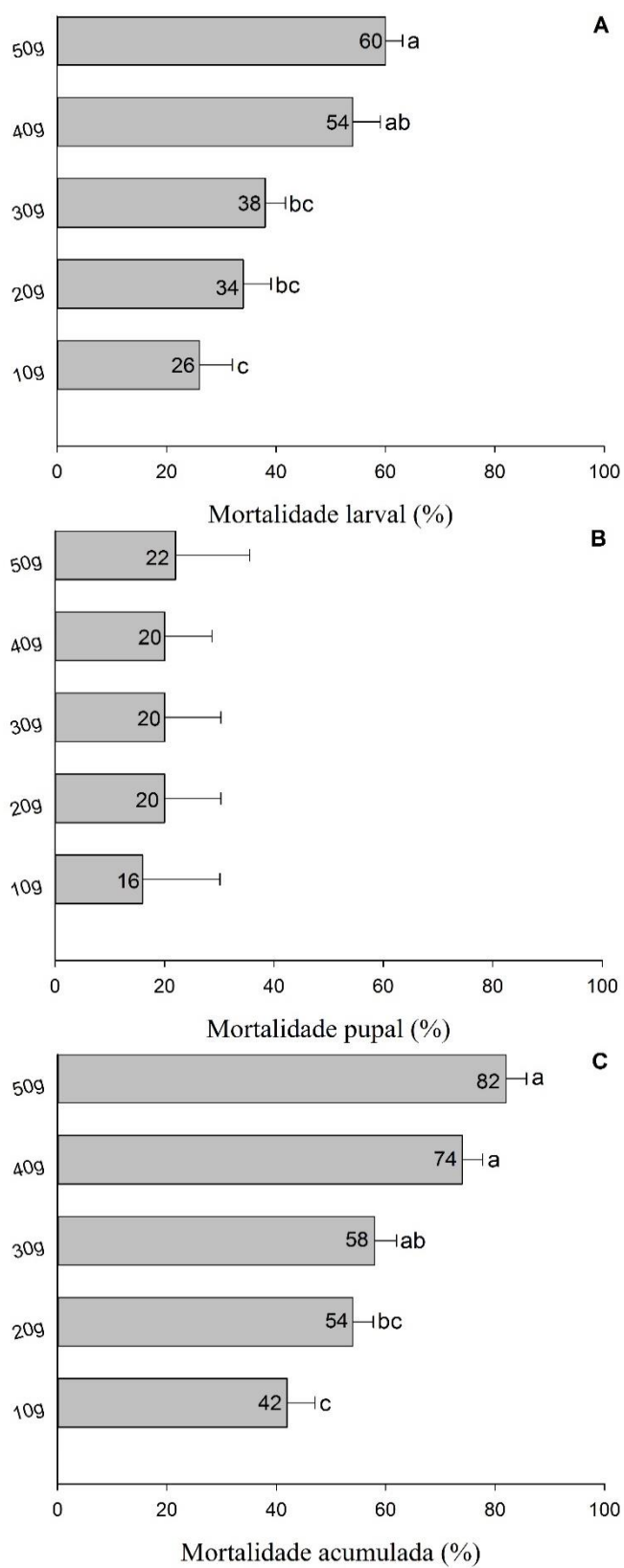


Figura 2. (A) Mortalidade larval (% , + EP), (B) mortalidade pupal (% , + IC 95%) e (C) mortalidade acumulada (% , + EP) para *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) expostas a diferentes concentrações de trifluorom. Valores nas barras representam a mortalidade média e as letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

Larvas expostas a dieta contendo o inseticida piriproxifem apresentaram diferente mortalidade a depender da concentração variando (média \pm EP) de $20 \pm 3,16\%$ a $44 \pm 2,44\%$ nas concentrações de 10 a 50g de i.a./100L de calda, respectivamente ($F_{4, 20} = 8,02$; $P = 0,0005$) (Figura 3A). Porém, não foi observada diferença estatística para a mortalidade de pupas ($H = 5,6$; $GL = 4$; $P = 0,23$), a média \pm (IC 95%) variou de $28 \pm 10,30\%$ a $44 \pm 6,80\%$ nos tratamentos de 10 a 50g, respectivamente (Figura 3B). Contudo, a mortalidade acumulada para a fase imatura apresentou diferença entre as concentrações de piriproxifem ($H = 19,31$; $GL = 4$; $P = 0,0007$), com (médias \pm IC 95%) variando de $48 \pm 10,30\%$ a $88 \pm 5,50\%$ nos tratamentos com 10 a 50g de i.a./100L de calda, respectivamente (Figura 3C).

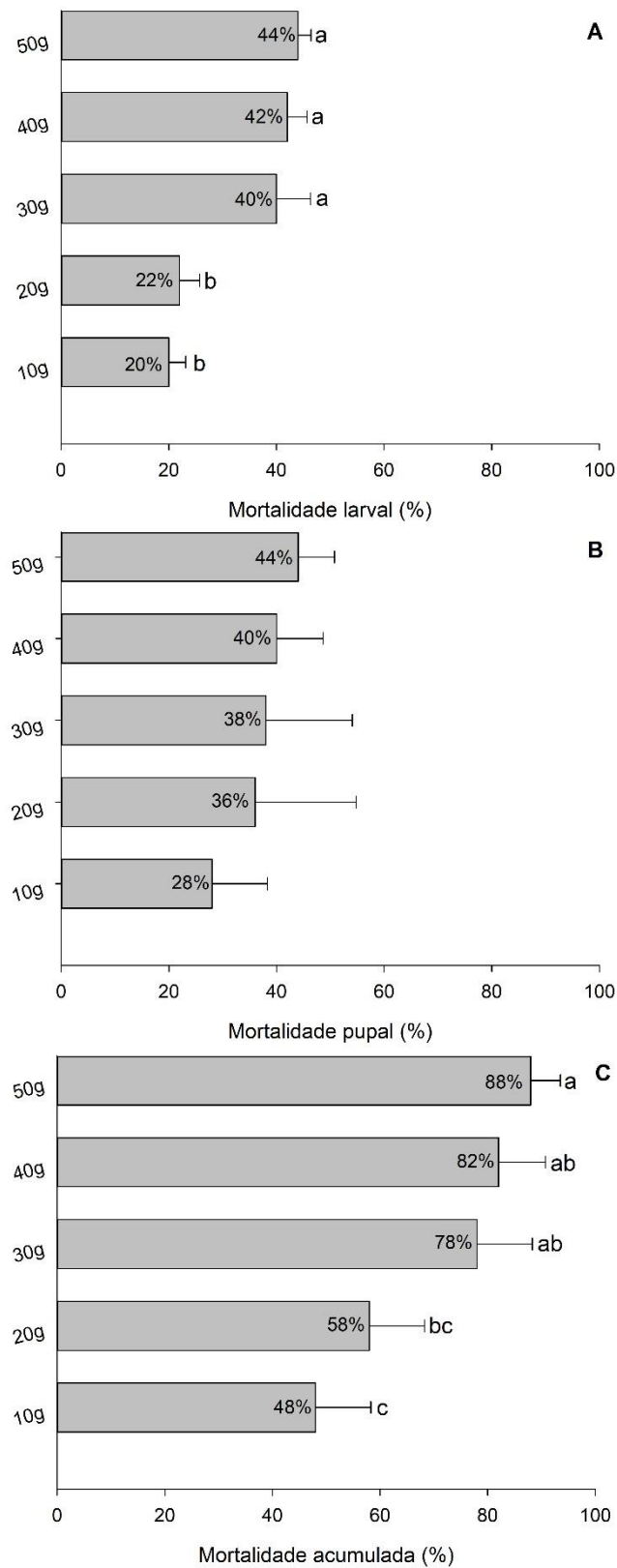


Figura 3. (A) Mortalidade larval (% , + EP), (B) mortalidade pupal e (C) mortalidade acumulada (% , + IC 95%) de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) expostas a diferentes concentrações de piriproxifem. Valores nas barras representam a mortalidade média e as letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

O diflubenzurom ocasionou mortalidade significativa para larvas com (médias \pm IC 95%) variando de $18 \pm 5,5\%$ a $68 \pm 13,6\%$ nos tratamentos de 10 a 50g de i.a./100L de calda, respectivamente ($F_{4, 20} = 26,89$; $P < 0,0001$) (Figura 4A). A mortalidade de pupas não foi significativa ($H = 1,27$; $GL = 4$; $P = 0,86$), variando média \pm IC (95%) de $20 \pm 8,77\%$ a 10 g e $24 \pm 18,80\%$ a 50g de i.a./L de calda (Figura 4B). Contudo, a mortalidade acumulada foi significativa ($F_{4, 20} = 48,88$; $P < 0,0001$), com mortalidade de larvas + pupas variando de (média \pm IC 95%) de $38 \pm 2,0\%$ a $92 \pm 3,74\%$ quando expostas a 10 e 50g de i.a./100 L de calda, respectivamente (Figura 4C).

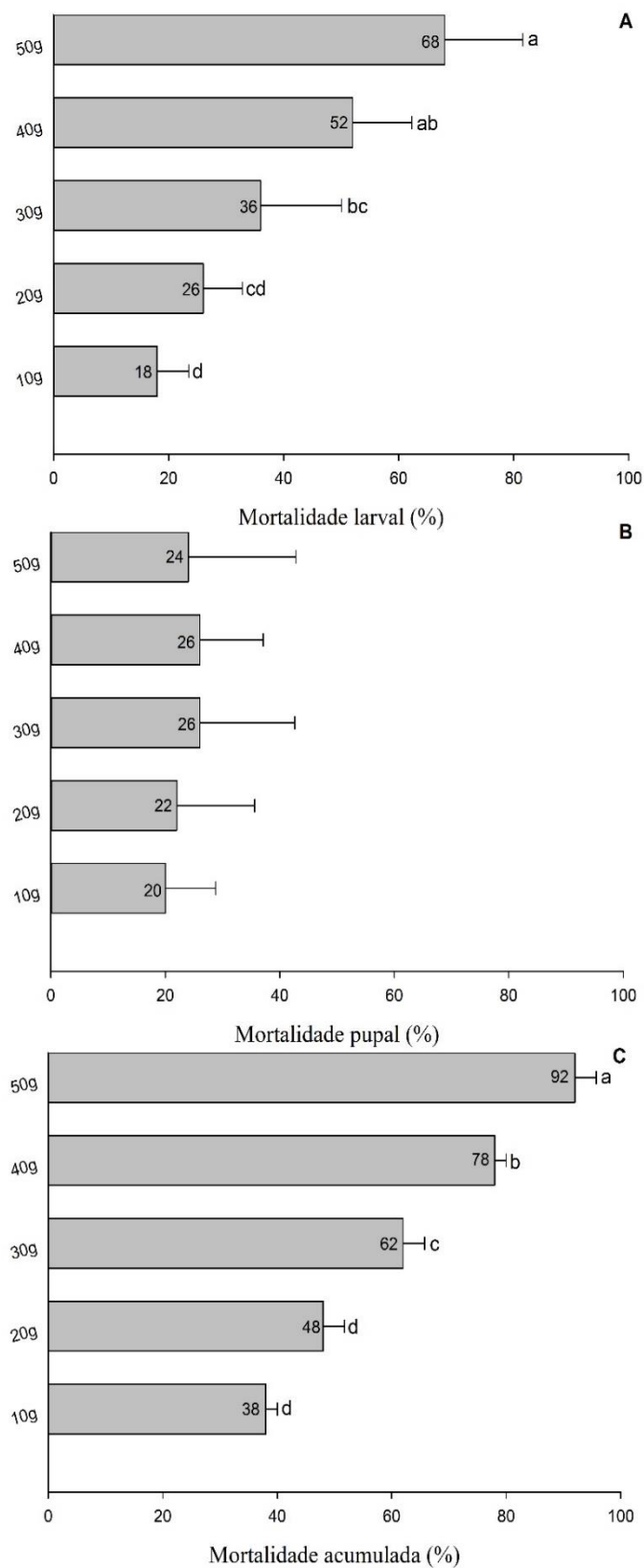


Figura 4. (A) Mortalidade larval (% , + IC 95%), (B) mortalidade pupal (% , + IC 95%) e mortalidade acumulada (% , + EP) para *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) expostas às diferentes concentrações de diflubenzuron. Valores nas barras representam a mortalidade média e as letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

5. Discussão

Embora inseticidas reguladores de crescimento de inseto (IGRs) tenham sido estudados como quimioesterilizantes em mosca-das-frutas (MARTINEZ & MORENO, 1991; MOYA et al., 2010; SANCHEZ-RAMOS et al., 2012) esta é a primeira tentativa de laboratório de usar alguns reguladores de crescimento de inseto direcionado a larvas de *S. calcitrans*. Neste estudo, IGRs com diferentes modos de ação foram escolhidos, dentre eles, o mimic do hormônio juvenil (piriproxifem) e os ecdisteroides (triflumuron e diflubenzuron). Além disso, os IGRs têm-se apresentado como opção viável para o controle de populações de insetos pragas por impedir o desenvolvimento das fases imaturas (PENER & DHADILALA, 2012), bem como inviabilizar a reprodução de adultos (SMAGGHE et al., 2019). Os resultados nos permitem evidenciar que os IGRs selecionados causam mortalidades significativas em larvas de *S. calcitrans*.

Os ecdisteroides triflumuron e diflubenzuron inativam a biossíntese de quitina, principal componente do exoesqueleto do inseto e, portanto, vale ressaltar que esses ingredientes ativos não têm como mecanismo primário a morte do inseto, mas atua ao longo do seu processo de desenvolvimento, neste caso, a metamorfose ocorre de forma anormal em relação à deposição de quitina (BELINATO, 2007). Além disso, algumas larvas morreram com uma projeção na região anterior do corpo que se assemelhava com uma “bolha” (anormalidade larval). Esse fato pode ser explicado por conta de o inseto desenvolver parcialmente a cutícula, ou seja, fato que dificulta a sustentação dos músculos durante o processo de muda e por consequência a exúvia não é liberada e, posteriormente, larvas podem morrer por inanição ou ruptura da nova cutícula malformada (GROSSCURT et al., 1988).

No que se refere à formação da cutícula larval, pode ter ocorrido interferência dos IGRs avaliados, especificamente, para os (i.a.) triflumuron e diflubenzuron. Dessa forma, a fixação dos músculos na parede corporal das larvas foi comprometida, pois as tonofibrilas que são estruturas proteicas que sustentam a ligação do músculo a cutícula possivelmente foram danificadas e, conseqüentemente, causou a inviabilidade da fase seguinte de desenvolvimento, a pupa. Resultados semelhantes foram apresentados por Awad & Mulla (1984) com *Musca domestica* e confirmado por meio de avaliações histológicas o rompimento das tonofibrilas após as larvas serem expostas ao IGR (ciromazina), assim, conseqüentemente, ocorreu a malformações de pupas e sua inviabilidade. Além disso, Sulaiman et al., (2008) obtiveram resultados semelhantes em estudos conduzidos com *M. domestica*, demonstrando o efeito residual dos IGRs

(triflumuron e piriproxifem) que inibiram a emergência de adultos quando aplicados nas fases imaturas. Da mesma forma, Alzahrani (2021), também verificou anormalidades nas pupas de *M. domestica* tratadas com diflubenzurom e triflumuron, o que reforça a eficiência desses (i.a.). Vale destacar, que o efeito dos produtos diflubenzurom e triflumuron pode afetar outros parâmetros biológicos dos insetos, tais como fecundidade e viabilidade de ovos, não foi avaliado nesse estudo. Metoxifenoazida, por exemplo, afetou *Platynota idaeusalis* (Lepidoptera: Tortricidae) quanto a sua fecundidade em 50% (MYERS & HULL, 2003).

O piriproxifem, análogo ao hormônio juvenil, pertence ao grupo químico éter piridiloxipropílico, a base de piridina e atua como análogo ao hormônio juvenil (IRAC, 2018). Como característica, age no sistema endócrino, onde observa-se a manutenção do estágio imaturo do inseto, devido à contínua exposição e ligação molecular deste IGR aos receptores de hormônio juvenil no inseto e, portanto, inibe a ação do ecdisona (SULLIVAN & GOH, 2008).

A mortalidade larval, baseada em nossos resultados, pode ser explicada no sentido de que o piriproxifem imitou a ação do hormônio juvenil no estágio larval. Assim, é possível sugerir que essa prolongação da fase imatura resultou na mortalidade larval, uma vez que não há desenvolvimento dos órgãos, além de induzir a mortalidade celular do intestino larval como verificado por Fiaz et al., (2019) danos celulares na parede interna do intestino médio de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) quando tratadas com piriproxifem resultando em morte larval. A inviabilidade pupal para o piriproxifem pode ser explicada pelo fato de que este IGR inibiu a ecdisona (hormônio da muda) durante o processo de ecdise, especialmente, na transição do estágio L3 para pupa e, portanto, como consequência impediu a transformação dos tecidos larvais em tecidos adultos no interior da pupa SARWAR (2020).

Resultados semelhantes foram verificados por Liu et al., (2012), onde verificaram efeitos do piriproxifem não só nas fases imaturas, mas também redução significativa de adultos.

Assim, esses resultados podem servir de base para o desenvolvimento de um programa de manejo integrado de pragas de proteção contra moscas. Pois, além dos canaviais, vale ressaltar que nas áreas destinadas a criação de animais (bovinos, equinos, ovinos, caprinos e outros) existe a possibilidade de formação de ambiente de multiplicação de muscídeos, devido ao acúmulo de restos alimentares, bem como estrumes (ODA & ARANTES 2010). E, portanto, há uma carência de ações conjuntas

entre usina e pecuaristas para minimizar os ambientes de proliferação desse inseto. Além disso, o monitoramento com avaliação de suscetibilidade periódica deve ser considerado para determinar o nível de resistência a estes IGRs. Pois, estudos desenvolvidos por Alzahrani (2021) demonstram que mosca doméstica se mostrou suscetível ao piriproxifem e resistente ao triflumuron, resistência que resultou devido ao seu uso intensivo na Arábia Saudita em campanhas para controle de vetores. Segundo Donahue et al., (2017) o incentivo a pesquisas com novos grupos químicos com o objetivo de rotacionar os diferentes modos de ação visando o controle de mosca-dos-estábulo devem ser considerados para que se possa minimizar a possibilidade de resistência dessa espécie a esses princípios ativos. As formulações testadas apresentam versatilidade de aplicação, devido a sua rápida biodegradação e baixa toxicidade.

Os ingredientes ativos (i.a) triflumuron, piriproxifem e diflubenzuron apontam para a possibilidade de serem utilizados no manejo e no controle de larva e pupa de *S. calcitrans*, pois a mortalidade combinada de larva e pupa, considerando a dosagem de 50 g de i.a./100L de calda é eficaz em pelo menos 80%, independente do inseticida, em condições de laboratório. Sabendo-se que a distribuição de *S. calcitrans* é agregada, sugere-se o monitoramento de imaturo de *S. calcitrans* e quando constatadas proliferações, aplicar o produto desejado de forma inundativa no local. Novos estudos considerando condições de campo devem ser desenvolvidos.

6. Conclusão

Conclui-se que os IGRs triflumuron, piriproxifem e diflubenzuron apresentam elevada eficácia sobre *S. calcitrans* em laboratório, com elevado potencial de redução populacional dessa espécie em campo.

Referências bibliográficas

AWAD, T.I.; MULLA.; M.S. Morphogenetic and histopathological effects induced by the insect growth regulator cyromazine in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Journal of medical entomology**, v. 21, p. 419-426, 1984.

ALZHRANI, S.M. Evaluation of triflumuron and pyriproxyfen as alternative candidates to control house fly, *Musca domestica* L (Diptera: Muscidae), in Riyadh city, Saudi Arabia. **PloS one**, v. 16, p. e0249496, 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.

BELINATO, T.A. **Efeito de triflumuron - um inibidor da síntese de quitina – sobre o desenvolvimento e a reprodução de culicídeos vetores de doenças**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2007.

BURALLI, G.M.; GUIMARÃES, J.H. Controle de *Musca domestica* Linnaeus (Diptera, Muscidae) em área de manejo de vinhaça (Macatuba, São Paulo, Brasil). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.3, p.1-6, 1985.

FAOSTAT – **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2020. Disponível em <https://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acessado em 12/set/2020.

DONAHUE, W.A.; SHOWLER, A.T.; DONAHUE, M.W.; VINSON, B.E.; OSBRINK, W.L. Lethal effects of the insect growth regulator Cyromazine against three species of filth flies, *Musca domestica*, *Stomoxys calcitrans*, and *Fannia canicularis* (Diptera: Muscidae) in cattle, swine, and chicken manure. **Journal of Economic Entomology**, v.110, p.776-782, 2017.

FIAZ, M.; MARTÍNEZ, L. C.; PLATA-RUEDA, A.; GONÇALVES, W. G.; SOUZA, D. L. L.; COSSOLIN, J. F. S.; SERRÃO, J. E. Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog,

damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. **PeerJ**, 7, e7489, 2019.

FRIESEN, K.; BERKEBILE, D.R.; ZHU, J.J.; TAYLOR, D.B. Laboratory rearing of stable flies and other muscoid Diptera. **Journal of Visualized Experiments**, p. e57341, 2018. DOI 10.3791/57341.

GRISI, L.; LEITE, R.C.; MARTINS, J.R.S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LÉON, A.A.P.; PEREIRA, J.B.; VILLELA, H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, p.150-156, 2014.

GROSSCURT, A.C.; HAAR, M.T.; JONGSMA, B.; STOKER, A. PH 70-23: A new acaricide and insecticide interfering with chitin deposition. **Pesticide Science**, v.22, p.51-59, 1988.

HURNIK, J. F. Behaviour (Chapter 13). In: PHILLIPS, C.; PIGGINS, D. (Eds.). **Farm animals and the environment**. Wallingford: CAB International p.235-244, 1992.

KASSAB, S.O.; GAONA, J.C.; LOUREIRO, E.S.; MOTA, T. A.; FONSECA, P.R.B.; ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulo no Mato Grosso do Sul: medidas de controle e prevenção. **Revista Agrarian**, v. 5, p. 84-88, 2012.

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

LIU, S. S.; LI, A. Y.; LOHMEYER, K. H.; PÉREZ DE LEÓN, A. A. Effects of pyriproxyfen and buprofezin on immature development and reproduction in the stable fly. **Medical and Veterinary Entomology**, v.26, p.379–385, 2012.

MARTINEZ, A. J.; MORENO, D. S. Effect of cyromazine on the oviposition of Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) in the laboratory. **Journal of Economic Entomology**, v.5, p.1540-1543, 1991.

MIRANDA, L.; CARVALHO, J. M.; THOMÉ, K. M. Bem-estar animal na produção de carne bovina brasileira. **Informações econômicas**, São Paulo, v. 43, p.46-56, 2013.

MYERS, C. T.; HULL, L. A. Insect growth regulator impact on fecundity and fertility of adult tufted apple bud moth, *Platynota idaeusalis* Walker. **Journal of Entomological Science**, v. 38, p.420-430, 2003.

MOYA, P.; FLORES, S.; AYALA, I.; SANCHIS, J.; MONTOYA, P.; PRIMO, J. Evaluation of lufenuron as a chemosterilant against fruit flies of the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v.6, p.657-663, 2010.

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

ODA, F. H.; ARANTES, C. A. Surto Populacional da Mosca dos Estábulos *Stomoxys calcitrans*, Linnaeus, 1758 (DIPTERA: MUSCIDAE) no Município de Planalto, SP. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.3, p.145-159, 2010.

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, p. 437-443, 1962.

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

PENER, M.P.; DHADIALLA, T.S. An overview of insect growth disruptors; applied aspects. **Advances in Insect Physiology**, v. 43, p. 1-162, 2012.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; FERNÁNDEZ, C. E.; GONZÁLEZ-NÚÑEZ, M.; PASCUAL, S. Laboratory tests of insect growth regulators as bait sprays for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). **Pest management science**, v.4, p.520-526, 2013.

SARWAR, M. Experimental induction of insect growth regulators in controls of insect vectors as well as crops and stored products pests. **Specialty Journal of Agricultural Sciences**, v. 6, p. 32-41, 2020.

SULAIMAN, S.; SYED, M.S.; JEFFERY, J. Effect of triflumuron and pyriproxyfen on *Musca domestica* L. Larval stages in the laboratory. **Journal of Arthropod Borne Diseases**, 2008.

SULLIVAN, J.J.; GOH, K.S. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. **Journal of Pesticide Science**, v. 33, p. 339-350, 2008.

SMAGGHE, G.; ZOTTI, M.; RETNAKARAN, A. Targeting female reproduction in insects with biorational insecticides for pest management: a critical review with suggestions for future research. **Current Opinion in Insect Science**, v. 31, p. 65-69, 2019.

TANACA, E. K. T.; PEREIRA, J. A. Z.; PIGATTO, G. **Substituição da pecuária de corte e expansão da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo: o impacto nas regiões oeste e noroeste do estado**, 2008.

CAPÍTULO II

Artigo 02

Thermal requirements and estimation of the number of generations of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae)

Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae)

Augusto Rodrigues¹, Samir Oliveira Kassab², Fabricio Fagundes Pereira¹

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Legado Pesquisa e Consultoria Agronômica, 79.823-290, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Autor de correspondência: augustorodriguesbio@gmail.com

Resumo: A mosca-dos-estábulos *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) é uma das principais pragas que atacam bovinos em todo o mundo. Os adultos são hematófagos, o que causa incômodo aos animais levando a redução significativa na produção de leite e carne. Neste estudo, temperaturas específicas foram estudadas como o principal fator ambiental no desenvolvimento de *S. calcitrans*, objetivando determinar seus requisitos térmicos, bem como o número de gerações estimado por ano para localidades do Estado de Mato Grosso do Sul. Para determinar a duração e a viabilidade de cada fase de desenvolvimento de *S. calcitrans*, criaram-se os insetos em dieta artificial, em temperaturas variando de 17-33°C, UR 60 ± 10% e fotofase de 12h. O período de desenvolvimento de todas as fases de desenvolvimento da mosca-dos-estábulos foi influenciado pela temperatura, tendo sido menor nas temperaturas elevadas e a sobrevivência maior em uma faixa térmica entre 20 e 30°C. O limite térmico inferior de desenvolvimento (T_b) e a constante térmica (K) para *S. calcitrans* de ovo adulto foi de 14,1°C e 153,4 GD respectivamente. Constatou-se ainda, que para as temperaturas médias verificadas na região Centro-Oeste brasileira, *S. calcitrans* é capaz de completar 22 gerações anualmente. Portanto, a previsão da flutuação populacional de *S. calcitrans* baseada em suas exigências térmicas pode ser utilizada nas tomadas de decisão referentes ao seu manejo de prevenção e controle.

Palavras-chave: Limiar térmico, desenvolvimento, mosca-dos-estábulos, temperatura.

Abstract: The stable fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) is one of the main pests that attack cattle worldwide. The adults are hematophagous, which causes discomfort to the animals, leading to a significant reduction in the production of milk and meat. In this study, specific temperatures were studied as the main environmental factor in the development of *S. calcitrans*, aiming to determine its thermal requirements, as well as its estimated number of generations per year for a region of the State of Mato Grosso Sul. To determine the duration and viability of each developmental phase of *S. calcitrans*, insects were reared on an artificial diet, at temperatures ranging from 17-33°C, RH 60 ± 10% and 12h photophase. The development time of all stages of development of the stable fly was influenced by temperature, being shorter at elevated temperatures and survival greater in a thermal range between 20 and 30°C. The lower thermal limit of development (T_b) and the thermal constant (K) for *S. calcitrans* from the egg-adult was 14.1°C and 153.4 GD respectively. It was also found that for the average temperatures verified in the Brazilian midwest region, *S. calcitrans* is capable of completing 22 generations annually. Therefore, the prediction of population fluctuation of *S. calcitrans* based on its thermal requirements can be used in decision-making regarding its management of prevention and control.

Keywords: Thermal threshold, development, stable fly, temperature.

1. Introdução

A mosca-dos-estábulos, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae), pertence ao gênero *Stomoxys* que é composto por 18 espécies, onde 17 apresentam distribuição tropical e *S. calcitrans* possui distribuição mundial (ZUMPT 1973; FOIL & HOGSETTE, 1994). *Stomoxys calcitrans* é um inseto sugador de sangue e, por essa razão, é associado em todo o mundo à vida selvagem e doméstica (KHALIFA et al., 2022). O aparelho bucal de *S. calcitrans* é uma estrutura rígida quitinizada (probóscide) utilizada para perfurar os animais no momento do repasto sanguíneo provocando inquietações, irritações e lesões cutâneas dependendo da infestação local (GONZÁLEZ et al., 2022). *Stomoxys calcitrans* pode se alimentar de muitos hospedeiros como bovinos, equinos, aves e cães (SHOWLER & WESTE 2015). Além disso, a mosca-dos-estábulos é considerada mecanicamente um vetor biológico de patógenos para humano e outros animais (VERGNE et al., 2021; MAKHAHLELA et al., 2022).

A mosca-dos-estábulos se prolifera em uma ampla variedade de ambientes ricos em material orgânico incluindo vegetação em decomposição, são exemplos, feno, palhas, hortaliças como restos de brássicas e alface, pois tornam-se locais adequados para o desenvolvimento de sua fase imatura (COOK et al., 2017; PATRA et al., 2018). No Brasil, *S. calcitrans* se desenvolve na pecuária, principalmente, em estábulos, confinamentos e locais com acúmulo de ração, além de usinas sucroalcooleiras devido aos restos culturais como palha, colmos e ponteiros que permanecem em campo na pós colheita. Portanto, nas usinas de cana-de-açúcar, práticas agrícolas de manejo de seus subprodutos, como vinhaça e torta de filtro favorecem a proliferação de moscas, pois são incorporadas em suas áreas e, assim, podem gerar ambientes adequados a proliferação de muscídeos, como *S. calcitrans* (KOLLER et al., 2009; BARROS et al., 2010; KASSAB et al., 2012).

Vários métodos de controle são relatados para *S. calcitrans* como controle químico por meio de repelentes a base de permetrina, controle cultural por meio da eliminação dos ambientes com potencial para sua proliferação, controle mecânico utilizando armadilhas com iscas atrativas para adultos, controle biológicos com a utilização vespas parasitoides e também pelo Manejo Integrado de Pragas (MIP) utilizando de forma rotacionada todos os métodos disponíveis de controle para a praga (SKOVGARD & STEENBERG, 2002; ANTHONY, 2005; MURALEEDHARAN et al 2005; HOGSETTE & OSE, 2017 apud PATRA et al., 2018). No entanto, esses métodos

ainda apresentam muitas limitações visando reduzir custo e ter eficácia de controle, sendo, portanto, as melhores alternativas o MIP e o controle cultural (ANTHONY, 2005).

Vale salientar que quando altas incidências populacionais de mosca-dos-estábulo estão próximas a residências ou instalações de pecuária, constantemente, são aplicadas penalidades judiciais aos responsáveis devido aos incômodos causados, portanto, no Estado de São Paulo criou-se a (Resolução SAA – 38, de 03/07/2017), a qual estabelece medidas de controle e prevenção dessa espécie. Portanto, acredita-se que no Brasil os prejuízos possam ultrapassar os 335 milhões de dólares, anualmente, impactando diretamente na produção de leite e carne de bovinos (GRISI et al., 2014).

Estudos que envolvam o desenvolvimento de *S. calcitrans* em temperaturas variadas são raros, bem como os que visam determinar suas exigências térmicas. Nesse sentido, o conhecimento de suas exigências térmicas como a quantidade de calor necessária para o desenvolvimento do embrião, da larva e da pupa são elementos importantes para efetuar o monitoramento e controle, pois permite determinar o número de gerações anuais e a época de maior densidade populacional em campo. Portanto, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da temperatura sobre *S. calcitrans* a fim de determinar seus requisitos térmicos, bem como o seu número de gerações por ano em três localidades do Estado de Mato Grosso do Sul.

2. Material e Métodos

2.2 Coleta e multiplicação de *S. calcitrans*. Adultos foram coletados por meio de armadilhas interceptadoras de voo em áreas canavieiras com histórico de incidência dessa espécie no Estado de Mato Grosso do Sul. Portanto, os adultos foram transferidos para o laboratório nas condições de $25 \pm 1,5$ °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12h. Os adultos foram mantidos em caixa plástica telada ($40 \times 30 \times 30$ cm de comp \times L \times A) e alimentados diariamente com sangue bovino disposto em placa de Petri ($5,0 \times 2,5$ cm de diam \times A) contendo gaze, a qual era umedecida com sangue (MELLO, 1989). Adicionalmente, em outra placa de Petri de mesmas dimensões foi fornecido gaze umedecido como fonte de água. O substrato para oviposição, constituiu-se de uma mistura de solo (60 g) e triturado de palha e colmo de cana (60 g) umedecidos com vinhaça. Após a oviposição, as larvas eclodiram e se desenvolveram até o segundo instar, quando então foram transferidas para a dieta de criação larval composta na proporção de farelo de trigo (250 g), cana-de-açúcar seca triturada (100 g), farinha de peixe (10 g) e água (500 mL). A metodologia de Friesen et al., (2018) foi utilizada com algumas adaptações para a multiplicação de mosca-dos-estábulo em laboratório. Os adultos foram identificados de acordo com as características morfológicas e metodologia proposta por Makhahlela et al., (2022).

2.3 Efeito da temperatura no desenvolvimento de *S. calcitrans*

Distintas temperaturas (17, 20, 25, 30 e 33°C) foram estudadas em relação as diferentes fases de desenvolvimento de *S. calcitrans* em câmara climatizada do tipo B.O.D com umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. Em cada temperatura foi considerada 10 repetições composta por 10 ovos ($n = 100$ ovos observados). Em cada uma das cinco temperaturas foi avaliada as variáveis biológicas: duração da fase de ovo, da fase larval, da fase pupal e do período ovo-adulto. Além disso, em cada temperatura foram separados vinte adultos recém emergidos para a avaliação da sobrevivência, os quais foram alimentados diariamente com sangue bovino e água. A sobrevivência dos adultos foi monitorada até o tempo necessário de desenvolvimento do ovo a adulto na respectiva temperatura, após esse período o experimento foi encerrado e os dados das mortalidades foram usados para a construção das curvas de mortalidade ao longo dos dias, sendo os sobreviventes usados para a estimativa de sobreposição de geração. A avaliação do tempo de incubação dos ovos foi feita de 12 em 12 horas e das fases de larva e pupa foi diariamente. Os ovos foram dispostos em dieta artificial seguindo a metodologia de

criação larval (adaptada) de Friesen et al., (2018), composta de farelo de trigo (250 g), cana-de-açúcar seca triturada (100 g), farinha de peixe (10 g) e água (500 mL). Para cada repetição foram considerados 10g do substrato, os quais foram umedecidos diariamente para evitar o ressecamento dos ovos e inanição larval.

3. Análise estatística

A duração e a sobrevivência das fases de ovo, larva, pupa e ovo-adulto, bem como a sobrevivência dos adultos foram avaliadas em cada temperatura. Os dados foram submetidos à análise de regressão, empregando a duração de cada fase e suas respectivas porcentagens de sobrevivência como variáveis dependentes em função das temperaturas estudadas (variáveis independentes), utilizando-se o programa estatístico (SAS INSTITUTE, 2001). A seleção do modelo de melhor ajuste foi feita mediante coeficientes significativos com 5% de probabilidade, bem como maior coeficiente de determinação e representatividade biológica seguindo o princípio da parcimônia.

4. Determinação das exigências térmicas e estimativas do número de gerações de *Stomoxys calcitrans*

Equações lineares de regressão $y_i = a_i + b_i t$ foram estimadas entre o inverso do desenvolvimento (1/Duração em dias) das fases biológicas como variável resposta (y) em função das temperaturas estudadas, variável independente (x), segundo (CAMPBELL et al., 1974; GARCIA & PARRA 2022), bem como estimados os respectivos erros-padrão da temperatura base inferior (T_b) e da constante térmica (K).

Com base no tempo de desenvolvimento ovo-adulto de *S. calcitrans* obtido nas temperaturas de (17, 20, 25, 30 e 33°C) foram determinados os limites térmicos inferiores de desenvolvimento (T_b) e as constantes térmicas (K). A T_b e a K foram estimadas por meio da relação do intercepto com o coeficiente linear da equação ($T_b = - a_i/b_i$) proveniente da estimativa de desenvolvimento zero na equação ($0 = a_i + b_i t$). A constante térmica (K) foi calculada por meio do inverso do coeficiente linear ($K = 1/ b_i$). As exigências térmicas T_b e a K obtidas nesta pesquisa e as temperaturas médias mensais e anuais serviram para estimar o número de gerações mensal e anual de *S. calcitrans* utilizando a equação: $NG = [T*(T_m - T_b)/K]$, onde NG = número de geração, T = o tempo considerado em mês ou ano, T_m = a temperatura média para cada localidade estudada e os parâmetros T_b e K já definidos. Os dados climáticos (temperaturas médias) referentes

ao período entre junho de 2019 a junho de 2022 foram fornecidos pela Estação Meteorológica da Embrapa para as localidades de Dourados, Ivinhema e Rio Brillhante, MS.

Para o cálculo do número de gerações mensais e anuais de *S. calcitrans* não foi considerado o seu período de pré-oviposição. Assim, considerou-se apenas a quantidade de calor suficiente para a espécie completar cada fase do seu desenvolvimento ao longo do ano em três cidades do Centro-Oeste brasileiro.

5. Resultados

5.1 Ciclo de vida de *Stomoxys calcitrans* em cinco temperaturas constantes

As durações médias das diferentes fases de desenvolvimento de *S. calcitrans* variaram em função das temperaturas estudadas (Fig 1). Houve diminuição significativa da duração da fase de ovo ($F_{1,48} = 1209,65$; $P < 0,0001$) com variação entre $3,2 \pm 0,08$ dias a $0,74 \pm 0,03$ dias nas temperaturas de 17°C a 33°C , respectivamente (Fig 1a).

A duração da fase larval diminuiu de forma significativa com o aumento da temperatura ($F_{1,48} = 679,31$; $P < 0,0001$) com médias de $17,7 \pm 0,41$ dias a $4,9 \pm 0,23$ dias nas temperaturas de 17°C a 33°C , respectivamente (Fig 1c).

A duração da fase pupal foi inversamente proporcional à elevação da temperatura ($F_{1,48} = 2263,78$; $P < 0,0001$), apresentando variação entre $10,18 \pm 0,17$ dias a $1,58 \pm 0,18$ dias entre as temperaturas de 17°C a 33°C , respectivamente (Fig 1e).

A duração total do ciclo ovo-adulto de *Stomoxys calcitrans* diferiu entre as temperaturas estudadas ($F_{1,48} = 1716,73$; $P < 0,0001$), variando de $31,1 \pm 0,44$ dias a $7,22 \pm 0,35$ dias nas temperaturas entre 17 e 33°C , respectivamente (Fig 2a).

A viabilidade/sobrevivência dos ovos de *S. calcitrans* foi diferente nas temperaturas estudadas ($F_{2,47} = 46,62$; $P < 0,0001$), onde nas temperaturas médias de ($20, 25$ e 30°C) variou de 73% a 93%. No entanto, a viabilidade nas temperaturas extremas (17°C e 33°C) foram semelhantes com 53% (Fig1b).

A sobrevivência da fase larval também foi influenciada pela temperatura ($F_{2,47} = 12,41$; $P < 0,0001$), onde nas temperaturas intermediárias de ($20, 25$ e 30°C) a sobrevivência larval foi superior a 87%, enquanto que nas temperaturas extremas (17°C e 33°C) foi inferior a 67%. (Fig 1d).

Da mesma forma, a sobrevivência pupal também foi influenciada pela temperatura ($F_{2,47} = 13,60$; $P < 0,0001$), onde nas temperaturas extremas 17 e 33°C apresentaram sobrevivência de 72% e 57% respectivamente e as temperaturas intermediárias (20°C, 25°C e 30°C) apresentaram sobrevivência variando de 82% a 96% (Fig 1f).

Houve uma resposta curvilínea significativa quanto à sobrevivência do período ovo-adulto de *S. calcitrans* nas temperaturas estudadas ($F_{2,47} = 88,67$; $P < 0,0001$), onde nas temperaturas extremas (17°C e 33°C) foi ~20%, enquanto que 25°C foi de 84% (Fig 2b).

A sobrevivência dos adultos (%) diferiu nas temperaturas testadas (17, 20, 25, 30 e 33°C) ($X^2 = 96,02$; $GL = 4$; $P < 0,0001$). Portanto, os resultados evidenciam que a temperatura afeta de forma diferente a sobrevivência dos adultos, onde em temperaturas como 17, 20 e 25°C a probabilidade de sobreposição de geração é 20%, 40% e 70% respectivamente. No entanto, em temperaturas de 30 e 33°C não foi verificado a possibilidade de sobreposição, visto que todos os adultos morreram antes do tempo equivalente ao desenvolvimento do ovo a adulto nessas temperaturas (Fig 03).

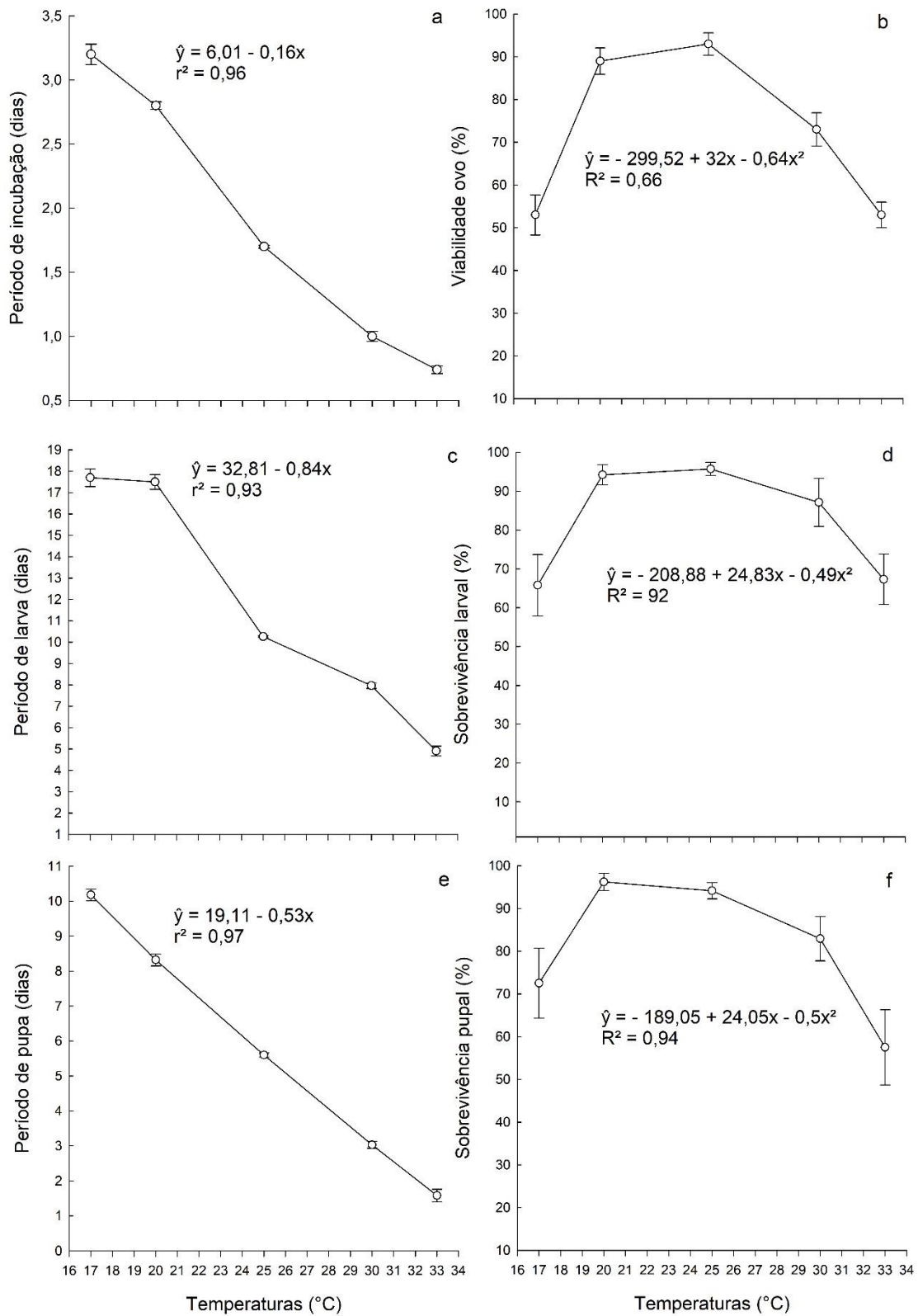


Figura 01 Duração e sobrevivência média (\pm EP) das fases de ovo, larva e pupa de *Stomoxys calcitrans* em função das temperaturas entre 17°C e 33°C.

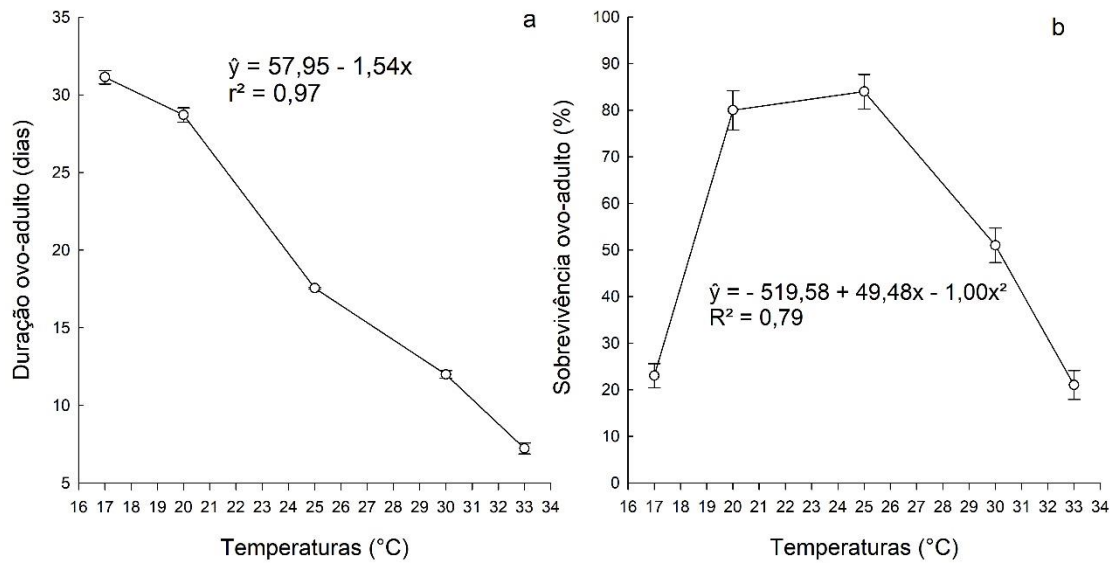


Figura 02 Duração e sobrevivência média (\pm EP) do período de ovo-adulto de *Stomoxys calcitrans* em função das temperaturas entre 17°C e 33°C.

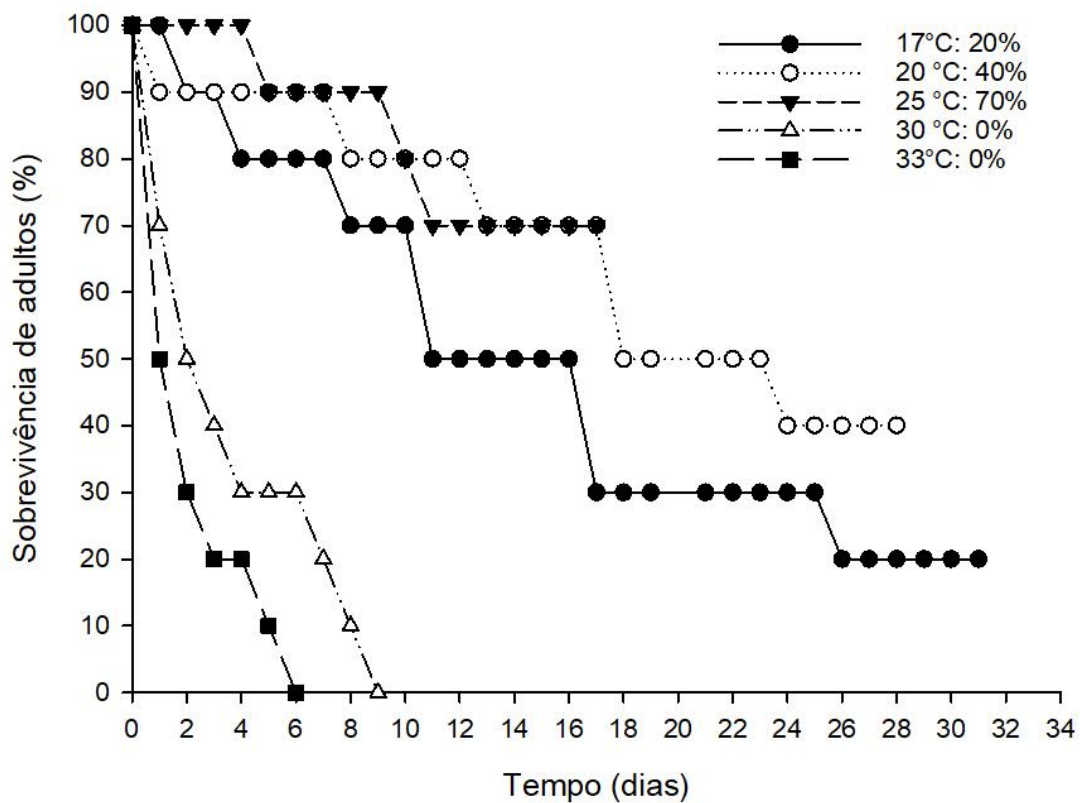


Figura 03 Sobrevivência média de adultos de *Stomoxys calcitrans* e suas respectivas probabilidades de sobreposições de gerações com base no tempo ovo-adulto em função das temperaturas entre 17°C a 33°C.

5.2 Determinação das exigências térmicas e estimativas do número de gerações de *Stomoxys calcitrans*

4) As variáveis dependentes do inverso do desenvolvimento (1/D) das fases de ovo, larva, pupa e ovo-adulto de *S. calcitrans* quando criadas nas temperaturas de 17, 20, 25, 30 33°C ajustaram-se aos modelos lineares em função das temperaturas estudadas e, portanto, possibilitou as estimativas de Tb e K (Tabela 1).

Tabela 1 Equações do inverso do desenvolvimento (1/D) em função da temperatura e respectivos coeficientes de determinação (R²), e estimativas da temperatura base (Tb) e constante térmica (K) para os estágios de desenvolvimento de *Stomoxys calcitrans* criada a 17, 20, 25, 30 e 33°C e foto período de 12h.

Estágio	Equação de desenvolvimento	R ²	Tb (°C)	K (GD)
Ovo	$\hat{y} = -0,92577 + 0,06608\text{temp}$	0,87	14,0 ± 0,68	15,1 ± 0,68
Larva	$\hat{y} = -0,11349 + 0,00892\text{temp}$	0,83	12,5 ± 0,92	113,7 ± 7,60
Pupa	$\hat{y} = -0,37288 + 0,02496\text{temp}$	0,68	14,9 ± 1,14	40,0 ± 3,91
Ovo-adulto	$\hat{y} = -0,09188 + 0,00648\text{temp}$	0,81	14,1 ± 0,83	154,3 ± 10,46

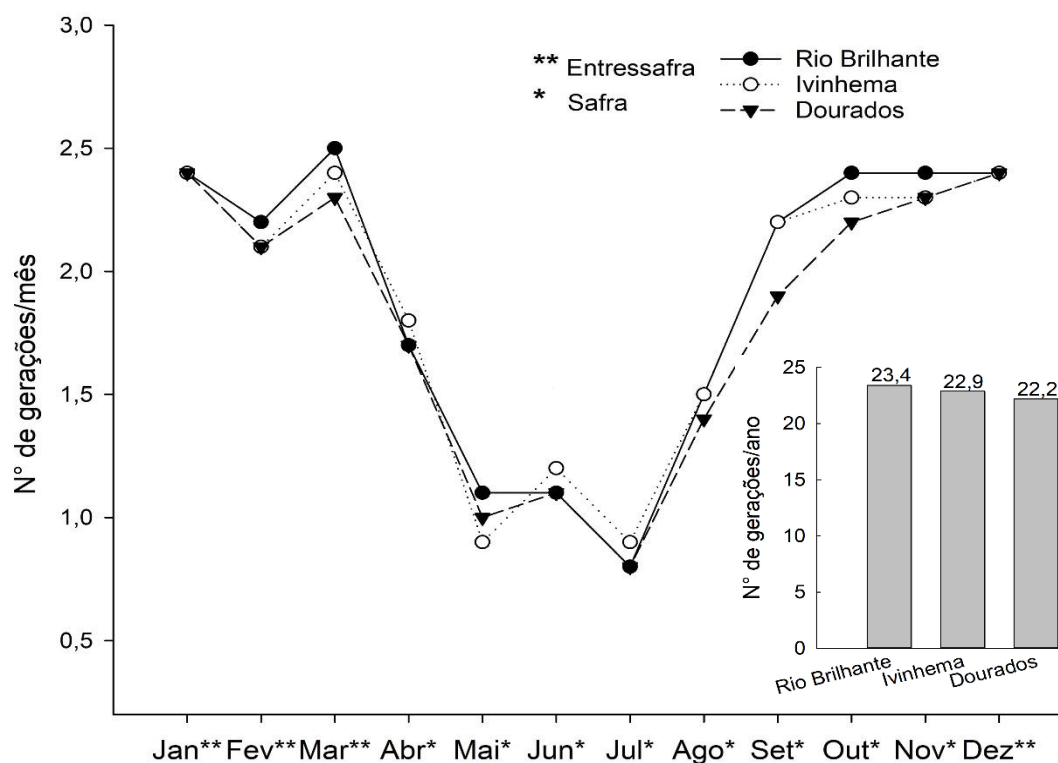


Figura 04 Estimativa do número de gerações de *Stomoxys calcitrans* com base nas suas exigências térmicas em três localidades produtoras de cana/gado em Mato Grosso do Sul. ** Entressafra de cana-de-açúcar, * Safra de cana-de-açúcar.

6. Discussão

Dentre os vários fatores abióticos que influenciam a velocidade de desenvolvimento dos insetos, destaca-se a ação da temperatura por reduzir ou acelerar suas taxas metabólicas (gasto energético) (REYNOLDS & NOTTINGHAM, 1985).

O desenvolvimento de *S. calcitrans* variou em função das temperaturas, onde verificou-se que o tempo de desenvolvimento do ovo, da larva e da pupa foi menor nas temperaturas superiores e maior nas temperaturas inferiores. Nesse sentido, sabe-se que há uma correlação positiva entre o gasto de energia e o desenvolvimento do inseto e, portanto, essa característica faz parte de um conjunto de adaptações dos insetos às mudanças climáticas na natureza, como o efeito sazonal das estações do ano, onde no inverno tem-se um alongamento do período do seu ciclo biológico e um encurtamento no verão (GULLAN et al., 2017; SILVEIRA 2022). Portanto, isso explica a variação significativa da duração de desenvolvimento do ciclo de *S. calcitrans* em função da temperatura, pois o tempo de cada estágio de desenvolvimento é inversamente proporcional a sua taxa metabólica, que por sua vez é influenciada pela temperatura.

Vale destacar que um efeito de redução da taxa de desenvolvimento é evidenciado quando os insetos são criados entre a temperatura ótima e a temperatura letal de desenvolvimento (TORRES et al., 2002; AGHDAM et al., 2009). Esse efeito é mencionado na vasta literatura, por exemplo, estudos desenvolvidos com mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em diferentes temperaturas constantes, também, apresentaram variação significativa na duração do desenvolvimento quando o inseto está entre as temperaturas ótimas e letais para o desenvolvimento com período ovo-adulto de 67 e 22 dias nas temperaturas de 15 e 30°C respectivamente (GALVÃO-SILVA 2020).

As viabilidades das fases de *S. calcitrans* foram afetadas pela temperatura, sendo acentuadas nas temperaturas extremas. O platô das viabilidades foi a 25°C, diferentemente das temperaturas extremas (17 e 33°C). As menores viabilidades verificadas a 17°C, provavelmente, se dá por razão da menor atividade metabólica, o que reduz a eficiência da conversão de nutrientes em energia e a 33°C pode ser devido ao aumento na taxa de respiração e/ou perda de água (desidratação), o que leva a inviabilidade do estágio (REYNOLDS & NOTTINGHAM, 1985; MILANO et al., 2008; MASTRANGELO et al., 2014).

Os insetos quando estão na faixa ótima de desenvolvimento apresentam uma atividade circulatória e respiratória mais eficiente fazendo com que tenham maior aproveitamento possível dos recursos alimentares, o que leva a um menor índice de mortalidade e maior desempenho reprodutivo e, portanto, aumentam-se suas populações (CARVALHO, 1996, BALE et al., 2002; SENTIS et al., 2013).

A temperatura ótima de desenvolvimento para *S. calcitrans*, verificada neste estudo, quanto à viabilidade da fase imatura está na faixa térmica entre 20 e 30°C, apresentando sobrevivência do período ovo-adulto acima de 50% e, especificamente, em 25°C, acima de 80%. Resultado semelhante foi evidenciado por Issimov et al., (2020), demonstrando que na faixa térmica próxima a 25°C obtêm-se maior sobrevivência das fases imaturas de *S. calcitrans* e emergência dos adultos. Da mesma forma, corrobora com os resultados de Sutherland (1979) ao observar que em temperaturas extremas de 15 e 35°C, *S. calcitrans* não apresentou reprodução e teve menor longevidade, concluindo que a faixa térmica ideal para reprodução e maior expectativa de vida adulta de mosca-dos-estábulo está entre 20 e 30°C.

Stomoxys calcitrans apresentou requerimento térmico quanto a sua temperatura inferior de desenvolvimento (Tb) de $14,1 \pm 0,83^\circ\text{C}$, esse resultado está de acordo com o descrito na literatura para a maioria das espécies de insetos que vivem em regiões tropicais, onde possuem Tb média de $13,7^\circ\text{C}$, sendo maior do que as dos insetos que vivem em regiões subtropicais ($10,5^\circ\text{C}$) ou temperadas ($7,9^\circ\text{C}$) (HONEK, 1996).

Com base nos resultados de desenvolvimento e exigências térmicas de *S. calcitrans*, entende-se que esta espécie ocorrerá durante o ano todo no Estado de Mato Grosso do Sul. Mas, durante o inverno o seu desenvolvimento imaturo será alongado, no entanto, os adultos ocorrerão normalmente no ambiente, pois espera-se pouca influência da temperatura em relação à mortalidade nessa fase de desenvolvimento de *S. calcitrans* durante os meses de inverno.

7. Conclusão

A temperatura base (Tb) do ovo a adulto de *S. calcitrans* é $14,1^\circ\text{C}$ enquanto que a sua constante térmica (K) é 154,3 GD. Desconsiderando o período de pré-oviposição, *S. calcitrans* tem energia (calor) suficiente para completar aproximadamente 22 gerações anualmente nas cidades de Rio Brilhante, Ivinhema e Dourados MS.

Referências bibliográficas

ANTHONY, C. **Confined Livestock Feeding Facilities: Control of Stable Flies and House Flies**. 2005.

AGHDAM, H.R.; FATHIPOUR, Y.; RADJABI, G.; REZAPANAH M. Temperature-dependent development and temperature threshold of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in Iran. **Environ Entomol** 38: 885-895, 2009.

BALE, J. S.; MASTERS, G. J.; HODKINSON, I. D.; AWMACK, C.; BEZEMER, T. M., BROWN, V. K.; WHITTAKER, J. B. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. **Global change biology**, v.8, p.1-16, 2002.

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.

CAMPBELL, A.; FRAZER, B. D.; GILBERT, N. G. A. P.; GUTIERREZ, A. P.; MACKAUER, M. Temperature requirements of some aphids and their parasites. **Journal of applied ecology**, v.11, p.431-438, 1974.

CARVALHO, J.P. **Introdução à Entomologia Agrícola Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian**, p.361, 1996.

COOK, D. F.; TELFER, D. V.; LINDSEY, J. B.; DEYL, R. A. Substrates across horticultural and livestock industries that support the development of stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **Austral Entomology**, v.57, p.344-348, 2017.

FOIL, L.D.; HOGSETTE, J.A. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Revue Scientifique et technique*. **Office International des Epizooties**, v.13, p.1125-1158, 1994.

FRIESEN, K.; BERKEBILE, D. R.; ZHU, J. J.; TAYLOR, D. B. Laboratory rearing of stable flies and other muscoid Diptera. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, p.e57341, 2018.

GALVÃO-SILVA, F. L. **Efeito da temperatura nos estágios imaturos de *Anastrepha fraterculus* e *Anastrepha obliqua*** (Diptera: Tephritidae). Dissertação, Universidade Federal da Bahia, 2020.

GARCIA, A. G & PARRA, J. R. P. **Métodos de determinação de limites térmicos e constante térmica para insetos**, 2022.

GRISI, L.; LEITE, R.C.; MARTINS, J.R.S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LÉON, A.A.P.; PEREIRA, J.B.; VILLELA, H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, p.150-156, 2014.

GULLAN, P.J & CRANSTON PS. **Insetos: fundamentos da entomologia**. 5rd edn. Roca, Rio de Janeiro, 2017.

HONÉK A. Geographical variation in thermal requirements for insect development. **European Journal of Entomology**, v. 93, p.303-312, 1996.

KASSAB, S. O.; GAONA, J. C.; SOUZA, L. E., MOTA, T. A.; FONSECA, P. R. B.; ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulo no Mato Grosso do Sul: medidas de controle e prevenção. **Agrarian**, v.5, p.84-88, 2012.

KHALIFA, A.; NASR, Z.; ERROUISSI, F. First data on the daily and seasonal activity patterns of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under Mediterranean semiarid climate in a dairy cattle farm in Tunisia. **International Journal of Tropical Insect Science**, v.42, p.1437–1447, 2022.

KOLLER, W.W.; CATTO, J.B.; BIANCHIN, I.; SOARES, C.O.; PAIVA, F.; TAVARES, L.E.R.; GRACIOLLI, G. **Surtos da mosca-dos-estábulo, *Stomoxys***

***calcitrans*, em Mato Grosso do Sul: novo problema para as cadeias produtivas da carne e sucroalcooleira?** 2009.

MASTRANGELO, T., BEZERRA, F.; FERNANDES, T. Determinação da temperatura base para o desenvolvimento embrionário da mosca-da-bicheira. **Ciência Rural**, v.44, p.346-351, 2014.

MILANO, P.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R.; CÔNSOLI, F. L. Influência da temperatura na frequência de cópula de *Anticarsia gemmatilis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v.37, p.528-535, 2008.

PATRA, G.; BEHERA, P.; KUMAR, D.S.; SAIKIA, B.; GHOSH. S.; BISWAS, P.; KUMAR, A.; ALAM, S.S.; KAWLNI, L.; LALNUNPUIA, C.; LALCHHANDAMA C.; BACHAN, M.; DEBBARMA, A. *Stomoxys calcitrans* and its importance in livestock: a review. **Advanced Journal of Agricultural Research**, v.6 p.30–37, 2018.

REYNOLDS, S. E & NOTTINGHAM, S. F. Effects of temperature on growth and efficiency of food utilization in fifth-instar caterpillars of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. **Journal of Insect Physiology**, v.31, p.129-134, 1985.

RODRIGUES, W.C. Fatores que influenciam no Desenvolvimento dos Insetos. **Info Insetos**, v. 1, p. 1-4, 2004.

SHOWLER, A.T & OSBRINK, L.A.W. Stable Fly, *Stomoxys calcitrans* (L.), Dispersal and Governing Factors. **International Journal of Insect Science**, v.7 p.19–25, 2015.

SENTIS, A.; HEMPTINNE, J.-L.; BRODEUR, J. Effects of simulated heat waves on an experimental plant–herbivore–predator food chain. **Global Change Biology**, v.19, p. 833-842, 2013.

SILVEIRA, L. C. A. D. ANÁLISE FAUNÍSTICA E SAZONAL DA COMUNIDADE DE INSETOS PRESENTE EM ÁREA DE CONSERVAÇÃO “ex situ” DE BARU (*Dipteryx alata*), 2022.

SUTHERLAND, B. **Some effects of temperature on the adults, eggs and pupae of *Stomoxys calcitrans* Linnaeus (Diptera: Muscidae), 1979.**

TORRES J B, MUSOLIN, D, ZANUNCIO, J C. Thermal requirements and parasitism capacity of *Trissolcus brochymenae* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) under constant and fluctuating temperatures. **Biocontrol Science and Technology**, v.12 p.583-593, 2002.

VERGNE, T.; ANDRAUD, M.; BONNET, S.; DE REGGE, N.; DESQUESNES, M.; FITE, J.; BOUHSIRA, E. Mechanical transmission of African swine fever virus by *Stomoxys calcitrans*: Insights from a mechanistic model. **Doenças transfronteiriças e emergentes**, v.68, p.1541-1549, 2021.

ZUMPT, F. **The Stomoxyine Biting Flies of the World.** Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 1973.

Capítulo III

Artigo 03

Avaliação *in vitro* da eficácia de larvicidas biológicos no controle de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae)

Augusto Rodrigues¹, Samir Oliveira Kassab², Fabricio Fagundes Pereira¹

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Legado Pesquisa e Consultoria Agronômica, 79.823-290, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Autor de correspondência: augustorodriguesbio@gmail.com

Resumo: A mosca-dos-estábulo *Stomoxys calcitrans* é um inseto hematófago e responsável por significativos impactos à bovinocultura e a usinas sucroalcooleiras. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de bioinseticidas sobre larvas de *S. calcitrans* em condições de laboratório. Para isto, larvas de *S. calcitrans* de terceiro ínstar foram expostas em dieta artificial tratada ou não (controle) com produtos comerciais a base de *Beauveria bassiana* e *Bacillus thuringiensis israelensis* nas concentrações de 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} (conídios viáveis) e 9×10^6 , $1,2 \times 10^7$, $1,4 \times 10^7$, $1,6 \times 10^7$ e $1,8 \times 10^7$ (Unidades Tóxicas Internacionais) respectivamente. A eficácia de *B. bassiana* e *B. thuringiensis israelensis* foi de 86% e 46% considerando as maiores concentrações testadas, respectivamente. Com base na metodologia utilizada e nos resultados obtidos, o fungo *B. bassiana* indicou resultados satisfatórios em laboratório no controle de *S. calcitrans*.

Palavras-chave: Bioinseticidas, fungo, bactéria, controle de mosca-dos-estábulo

Abstract: The stable fly *Stomoxys calcitrans* is a hematophagous insect responsible for significant impacts on cattle and sugar and alcohol plants. The objective of this work was to evaluate the effectiveness of bioinsecticides on *S. calcitrans* larvae under laboratory conditions. For this, *S. calcitrans* larvae of third instar were exposed to an artificial diet treated or not (control) with commercial products based on *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis israelensis* at concentrations of (1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} viable conidia) and (9×10^6 , $1,2 \times 10^7$, $1,4 \times 10^7$, $1,6 \times 10^7$ e $1,8 \times 10^7$ International Toxic Units) respectively. The efficacy of *B. bassiana* and *B. thuringiensis israelensis* was 86% and 46% considering the highest concentrations tested, respectively. Based on the methodology used and the results obtained, the fungus *B. bassiana* showed satisfactory results in the laboratory for the control of *S. calcitrans*.

Keywords: Bioinsecticides, fungus, bacteria, stable fly control

1. Introdução

Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) destaca-se mundialmente como um dos principais parasitos de bovinos e equinos, pois se trata de uma espécie hematófaga durante sua fase adulta (GONZÁLEZ et al., 2022), alimentando-se preferencialmente destes animais.

O desenvolvimento imaturo de *S. calcitrans* ocorre em meio onde há o acúmulo de matéria orgânica em decomposição (KALIPHA et al., 2022). Especificamente, no Brasil, a proliferação da mosca-dos-estábulo ocorre em áreas canavieiras e de pecuária, pois são locais que fornecem ambientes adequados ao seu desenvolvimento. Usinas sucroalcooleiras durante o processo de fabricação de álcool e açúcar produzem subprodutos como palha, bagaço, cinza, palha, vinhaça e torta de filtro (CORRÊA, 2012), assim, geralmente, esses materiais são manejados nas áreas da própria usina, porém, especificamente, a vinhaça e/ou a torta de filtro, quando em contato com a palhada pode formar o ambiente de desenvolvimento de imaturos da mosca-dos-estábulo, caracterizando-se como local úmido e rico em matéria orgânica em decomposição (BARROS et al., 2010; DOMINGHETTI 2015). Na pecuária devido ao acúmulo de fezes, ração animal e urina e a mistura desse material pode ocorrer o desenvolvimento imaturo da mosca-dos-estábulo (KASSAB et al., 2012).

Os impactos econômicos gerados por *S. calcitrans* estão associados, principalmente, a bovinos, onde podem reduzir o ganho de peso em 20% e a produção de leite em 50% (CAMPBELL et al., 1993; KOLLER et al., 2009). Portanto, os efeitos impactam em aproximadamente 335 milhões de dólares anualmente no Brasil (GRISI et al., 2014). Além disso, a mosca-dos-estábulo pode transmitir patógenos que causam enfermidades, por exemplo, anemia infecciosa equina e anaplasmose bovina (MAKHAHLELA et al., 2022).

Medidas sanitárias que visam a prevenção do desenvolvimento de imaturos (ovo, larva e pupa) de *S. calcitrans* são eficientes no seu controle, por exemplo, eliminar os ambientes com potencial risco de sua proliferação, higienização de locais de manejo de gado ou qualquer outra criação a fim de evitar o acúmulo residual (KASSAB et al., 2012). No entanto, em algumas situações, devido à dificuldade logística para eliminar todos os focos de proliferação de mosca-dos-estábulo, por exemplo, em produções industriais quando resíduos são gerados em grandes escalas e as medidas preventivas de *S. calcitrans* não acompanham tal crescimento, ocorrem surtos populacionais de mosca-dos-estábulo. Nesse contexto, são necessárias pesquisas com

inseticidas biológicos visando o controle de *S. calcitrans* e com menos impactos ao ambiente, além de maior segurança operacional. Portanto, este estudo tem como objetivo testar a atividade de bioinseticidas sobre larvas de *S. calcitrans* visando determinar sua eficácia em condições de laboratório.

2. Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Legado Pesquisa e Consultoria Agrônômica localizado no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

2.2 Inseticidas biológicos testados

Beauveria bassiana (Boveril[®] isolado PL 63, Koppert do Brasil Holding LTDA) e *Bacillus thuringiensis israelenses* (Aedes Control[®] Simbiose Agrotecnologia Biológica).

2.3 Multiplicação de *Stomoxys calcitrans*

A criação de *S. calcitrans* foi baseada nas metodologias de Moraes (2007) e Friesen et al (2018). As larvas foram coletadas em áreas destinadas ao cultivo de cana-de-açúcar localizadas nos municípios de Caarapó e Rio Brillhante, MS. No laboratório, as larvas foram mantidas em dieta artificial nas condições de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de 70-80% e fotoperíodo de 12:12h (L: E). A criação foi realizada com as larvas mantidas em bandejas plásticas (30 × 20 × 5 cm de comp. × L × A) contendo a dieta artificial composta de farelo de trigo (250 g), cana-de-açúcar seca triturada (100 g), farinha de peixe (10 g) e água (500 mL). Um total de 100 pupas de *S. calcitrans*, sem distinção de sexo, foram coletadas do meio de criação e transferidas para uma caixa plástica telada (40 × 30 × 30 cm de comp × L × A) até a emergência dos adultos. Os adultos foram alimentados com sangue bovino fornecido pelo Abatedouro São Luiz, Dourados, MS, Brasil. O sangue foi tratado com citrato de amônio para inibir a coagulação na dose de 3,5g/L de sangue. Após tratado, o sangue foi armazenado à -6°C . Os adultos foram alimentados diariamente utilizando uma placa de Petri (5,0 × 2,5 cm de diam × A) contendo gaze, a qual foi umedecida com sangue (MELLO, 1989). Adicionalmente, em outra placa de Petri de mesmas dimensões foi fornecida gaze umedecida como fonte de água. No oitavo dia após a emergência dos insetos foi oferecido substrato para oviposição, o qual consistiu de uma mistura de solo (60 g) e triturado de palha e colmo de cana (60 g) umedecidos com vinhaça autoclavada. Após a oviposição, as larvas eclodiram e se desenvolveram até o segundo instar, quando então foram transferidas para a dieta de criação de larva proposta por Friesen et al. (2018). Os adultos foram identificados de acordo com as características morfológicas descritas por ROCHON et al. (2021) e MAKHAHLELA et al. (2022).

2.4 Delineamento experimental

As larvas de *S. calcitrans* foram expostas ao Boveril[®] nas respectivas concentrações de 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 e 1×10^{10} conídios viáveis (C.V) que correspondem, respectivamente, a 0,01g, 0,1g, 1g, 10g e 100g do produto comercial. Para a avaliação do Aedes Control[®], as larvas de *S. calcitrans* foram expostas nas respectivas concentrações de 9×10^6 , $1,2 \times 10^7$, $1,4 \times 10^7$, $1,6 \times 10^7$ e $1,8 \times 10^7$ Unidades Tóxicas Internacionais (U.T.I), correspondentes a 7,5 mL, 9,375 mL, 11,25 mL, 13,125 mL e 15 mL respectivamente do produto comercial, ambos os produtos padronizados para o volume de calda de 100 L por hectare.

O substrato utilizado para a exposição das larvas de *S. calcitrans* aos biológicos foi composto de cana-de-açúcar seca e triturada (60 g), farelo de trigo (120 g), farinha de peixe (10 g) e 120 g de solo fertirrigado com vinhaça (3L/m²). Portanto, o substrato foi submergido por um período de 5 minutos na calda inseticida nas concentrações de 0,01g, 0,1g, 1g, 10g e 100g de Boveril[®] e de 7,5 mL, 9,375 mL, 11,25 mL, 13,125 mL e 15 mL para Aedes Control[®]. O substrato permaneceu por 5 min imerso nas caldas para umedecer de forma homogênea e semelhante ao que se utiliza para a criação das larvas. Em seguida foi retirado o excesso de calda por meio de papel filtro e aguardou-se 2 horas para adicionar as larvas. Em cada repetição foi considerado 20g do substrato e, diariamente, o material foi umedecido com 5 mL de água esterilizada, até o término das avaliações.

Os experimentos foram realizados com larvas de terceiro instar de *S. calcitrans* (48 a 72 h). Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com cada inseticida separadamente e sua respectiva testemunha. Cada experimento foi constituído de seis tratamentos (testemunha e cinco concentrações do respectivo bioinseticida) com cinco repetições cada. Cada repetição foi representada por um grupo de 10 larvas, totalizando 50 larvas por tratamento em condições controladas em câmara climatizada do tipo B.O.D programa a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa. O instar foi determinado por meio do tempo médio (dias após a eclosão: DAE) de acordo com o método proposto por Parr (1962).

O efeito patogênico das diferentes concentrações fúngicas e bacterianas testadas na fase de larva de *S. calcitrans* foi avaliado pela análise de mortalidade larval e pupal.

3. Análise estatística

As variáveis mortalidade larval e mortalidade acumulada no bioensaio com Boveril[®] assumiram os pressupostos de uma análise paramétrica e, portanto, foram submetidas à análise de variância pelo Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0.05$). No entanto, a variável mortalidade pupal do bioensaio com Boveril[®] não atendeu tais pressupostos e foi submetida à análise não paramétrica por meio do teste de Kruskal-Wallis pelo Proc NPAR1WAY do SAS (SAS Institute 2001), e comparada pelo Intervalo de Confiança a 95% de probabilidade.

As variáveis mortalidade larval, mortalidade pupal e mortalidade acumulada nos testes com Aedes Control[®] assumiram os pressupostos de uma análise paramétrica e, portanto, foram submetidas à análise de variância pelo Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0.05$).

Não se utilizou de correção de mortalidade natural, visto que nos tratamentos controle a mortalidade não foi significativa e, portanto, não foi incluída para comparações nas análises.

4. Resultados

4.1 Boveril[®] (*Beauveria bassiana*)

No presente estudo foi verificado que a mortalidade larval de *S. calcitrans* foi influenciada pelas diferentes concentrações de *B. bassiana* ($F_{4,20} = 27,19$; $P < 0,0001$) e obteve variação entre os tratamentos de $6,0 \pm 6,8\%$ a $72 \pm 10,3\%$ nas concentrações de 0,01g e 100g do produto comercial (pc), respectivamente (Figura 1). Da mesma forma, a mortalidade das pupas foi influenciada pelas diferentes concentrações ($H = 14,68$; $P = 0,0054$) com valores médios variando de $4,0 \pm 6,8\%$, $8 \pm 10,3\%$ e $14 \pm 6,8\%$ para as concentrações de 1g, 10g e 100g, respectivamente. No entanto, as doses de 0,01 e 0,1g não indicaram resposta de mortalidade (Figura 1). Porém, quando se verificou a mortalidade acumulada (eficácia do produto) a variação foi significativa ($F_{4,20} = 27,19$; $P < 0,0001$) com valor entre $6,0 \pm 6,8\%$ e $86 \pm 14,1\%$ nas respectivas concentrações 0,01 e 100g do pc, respectivamente (Figura 1).

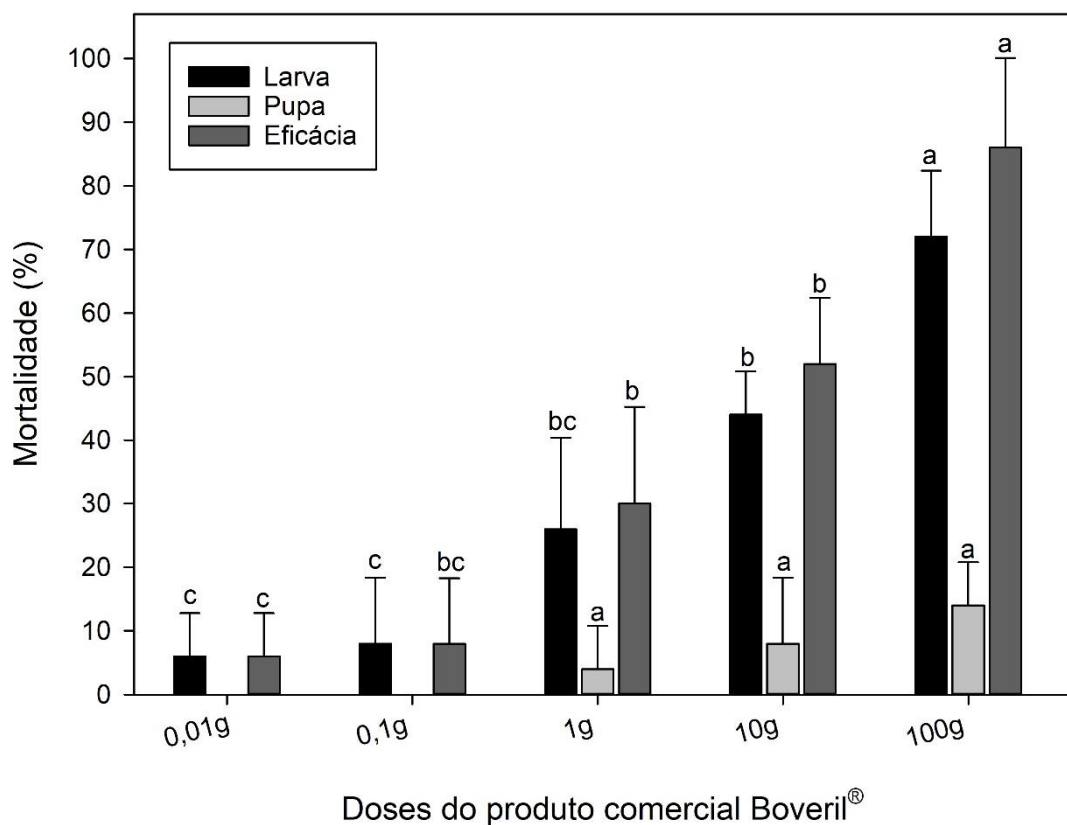


Figura 1. Mortalidade (+ IC 95 %) de larvas, pupas e mortalidade acumulada (larvas + pupas) de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) expostas a diferentes concentrações do produto Boveril®.

4.2 Aedes Control® (*Bacillus thuringiensis var. israelensis*)

A mortalidade larval de *S. calcitrans* não foi influenciada pelas diferentes concentrações de Aedes Control® ($F_{4,20} = 2,52$; $P = 0,073$) e variou de $10,4 \pm 4,4\%$ a $24,0 \pm 2,44\%$ nas concentrações de 9×10^6 e $1,8 \times 10^7$ (UTI), respectivamente (Figura 2). A mortalidade pupal também não foi significativa ($F_{4,20} = 2,35$; $P = 0,088$) e variou de $10,0 \pm 4,4\%$ a $22,0 \pm 3,70\%$ nas concentrações de 9×10^6 e $1,8 \times 10^7$ (UTI), respectivamente (Figura 2). No entanto, a mortalidade acumulada (eficácia do produto) variou significativamente ($F_{4,20} = 4,56$; $P = 0,008$) com valores de $20,0 \pm 5,47\%$ a $46 \pm 2,44\%$ nas respectivas concentrações de 9×10^6 e $1,8 \times 10^7$ (UTI) (Figura 2).

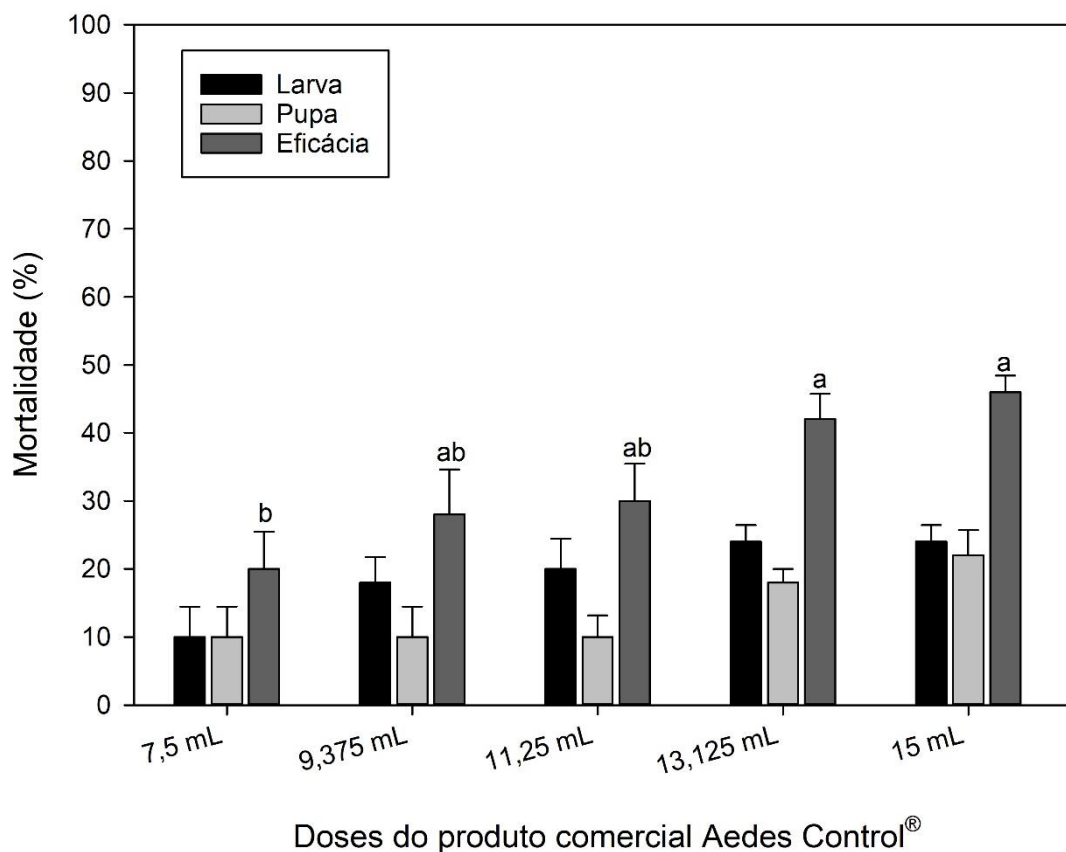


Figura 2. Mortalidade (+ EP) de larvas, pupas e mortalidade acumulada (larvas + pupas) de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) expostas a diferentes concentrações do produto Aedes Control®.

5. Discussão

Boveril® (*Beauveria bassiana*)

De acordo com Watson et al., (1995) *S. calcitrans* pode desenvolver algum método adaptativo para tolerar o parasitismo por microrganismos como fungos, no entanto, quando o ambiente está extremamente contaminado, os seus estágios imaturos dificilmente se desenvolverão, isso pode explicar a variação significativa em nossos resultados, onde na suspensão fúngica crescente de (0,01g a 100g de Boveril®), independente do estágio (larval ou pupal) de *S. calcitrans*, a mortalidade aumentou com a concentração de conídios.

Estudos sugerem que o sistema de defesa dos insetos pode se condicionar contra um patógeno e mitigar futuras infecções, mesmo ocorrendo o processo de metamorfose, porém o mecanismo ainda não está claro (THOMAS & RUDOLF 2010). Nesse aspecto, a larva torna-se mais suscetível (vulnerável) e tal fato pode explicar a mortalidade superior de larvas (86%), enquanto que em pupas foi (14%) considerando a maior concentração fúngica testada (1×10^{10} conídios viáveis). Além disso, pode ser que o

aspecto morfológico e comportamental contribuiu para elevada mortalidade, uma vez que a larva permanece entre ou abaixo da dieta e com intensa ingestão dos conídios, enquanto que a maioria das pupas permanecem na superfície da dieta e não se alimentam. Vale salientar que o mecanismo de ação para que aconteça a infecção por fungos entomopatogênicos inicia-se com a adesão da estrutura fúngica (conídio) na superfície do hospedeiro, seguida pela germinação, penetração e colonização interna, reprodução e disseminação (FONTES & VALADARES-INGLIS, 2020).

Baixa virulência de *B. bassiana* sobre larvas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) foram obtidas, mesmo considerando altas concentrações de conídios, nos testes realizados por Fernandes et al., (2013) e Gomes (2017). Contudo, há estudos comprovando a eficácia de *B. bassiana* sobre a fase larval de *M. domestica* (MISHRA & MALIK, 2012; FAROOQ & FREED, 2016). Dessa forma, acredita-se que a grande variabilidade genética presente nos isolados de *B. bassiana* ocasiona variação na virulência (GOMES, 2017). Ou ainda, o mesmo isolado fúngico pode apresentar variação na virulência dependendo da população alvo; estudos conduzidos com populações de carrapatos *Rhipicephalus microplus* demonstraram diferentes graus de suscetibilidade à infecção considerando um mesmo isolado fúngico.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com MOCHI (2010) onde não se verificou efeito de mortalidade sobre os adultos de *S. calcitrans* provenientes das larvas testadas nas concentrações fúngicas de *Beauveria bassiana*.

Aedes Control[®] (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

A suscetibilidade de larvas de moscas a *Bacillus thuringiensis* foi observada por autores como Lonc et al. (1997), Johnson et al. (1998) e Gough et al. (2002). Além disso, Zimmer et al. (2013) verificou que a mortalidade larval de *M. domestica* foi proporcional ao aumento da concentração bacteriana. No entanto, nos resultados deste estudo independentemente da concentração bacteriana, a mortalidade larval e pupal não foi significativa. Segundo Costa et al. (2010) a infecção por *Bacillus thuringiensis* pode apresentar resultados distintos, uma vez que diferentes linhagens ou isolados produzem toxinas específicas, com variável ação sobre os insetos. Por exemplo, em alguns estudos, a proteína Cry11Aa tem demonstrado superioridade na toxicidade em *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* e *Culex pipiens*, enquanto a proteína Cyt1Aa é pouco tóxica a essas espécies (GOULD, 1998; PROMDONKOY & ELLAR, 2000; FERNÁNDEZ et al., 2006). Dessa forma, pode ser que a espécie *S. calcitrans* seja parcialmente tolerante às toxinas produzidas por *B. thuringiensis*

israelensis. Vale destacar que a atividade entomopatogênica de *B. thuringiensis* deve-se a inclusões cristalinas denominadas de proteínas Cry e várias outras como α -exotoxina, β -exotoxina e Proteínas Inseticidas Vegetativas (VIPs). As proteínas Cry apresentam-se como pro-toxinas e são ativadas por proteases no intestino médio do inseto, onde basicamente seguem as etapas de solubilização, processamento das toxinas, ligação ao receptor das microvilosidades intestinais, inserção na membrana e citólise, que tem início assim que o inseto ingere o cristal ou o esporo. A solubilização ocorre por meio do pH alcalino e após a ligação intestinal, as proteínas se inserem na membrana formando poros que desestabilizam o gradiente osmótico e ocasiona mortalidade dos insetos suscetíveis (SCHNEPF et al.,1998).

O fungo *Beauveria bassiana* e a bactéria *Bacillus thuringiensis israelensis* compõem um grupo entomopatogênico diversificado e importante de inimigos naturais de inseto. Neste estudo, especificamente, o fungo *B. bassiana* indicou resultados promissores em condições de laboratório para o controle de mosca-dos-estábulo. Contudo, são necessários estudos que envolvam tal microrganismo em condições ambientais externas.

6. Conclusão

O fungo *Beauveria bassiana* apresentou elevada eficácia em testes realizados *in vitro*, sendo um potencial candidato para o uso no controle de *S. calcitrans* no campo.

A bactéria *Bacillus thuringiensis israelenses* apesar de apresentar efeito larvicida, indicou baixa eficácia nos testes com larvas de *S. calcitrans* em laboratório.

Referências bibliográficas

- 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.
- CAMPBELL, J. B.; CATANGUI, M. A.; THOMAS, G. D.; BOXLER D. J.; DAVIS, R. Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) and heat stress on weight gain and feed conversion of feeder cattle. **Jornal Agrícola de Entomologia**, v.10, p.155-161, 1993.
- COSTA, J. R.; ROSSI, J. R.; MARUCCI, S. C.; ALVES, E. C. D. C.; VOLPE, H. X.; FERRAUDO, A. S.; DESIDÉRIO, J. A. Atividade tóxica de isolados de *Bacillus thuringiensis* a larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v.39, p.757-766, 2010.
- CORRÊA, E. C. **Prevalência da mosca-dos-estábulo**, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: muscidae), **em diferentes subprodutos de usina sucroalcooleira**, 2012.
- DOMINGHETTI, T.F.S.; BARROS, A.T.M.; SOARES, C.O.; CANÇADO, P.H.D. *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) outbreaks: current situation and future outlook with emphasis on Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 387-395, 2015.
- FAROOQ, M & FREED, S. Infectivity of housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to different entomopathogenic fungi. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.47, p.807-816, 2016.
- FERNÁNDEZ L E, AIMANOVA K G, GILL S S, BRAVO A, SOBERÓN M. A GPI-anchored alkaline phosphatases is a functional midgut receptor of Cry11Aa toxin in *Aedes aegypti* larvae. **Biochemical Journal**, v.394, p. 77-84, 2006.
- FERNANDES, E. G.; VALÉRIO, H. M.; BORGES, M. A. Z. Selection of fungi for the control of *Musca domestica* in aviaries. **Biocontrol Science and Technology**, v. 23, p. 1256–1266, 2013.

FRIESEN, K.; BERKEBILE, D.R.; ZHU, J.J.; TAYLOR, D.B. Laboratory Rearing of Stable Flies and Other Muscoid Diptera. **Journal of Visualized Experiments**, p. e57341, 2018.

FONTES, E.M.G.; VALADARES-INGLIS, M.C. **Controle biológico de pragas da agricultura**. Embrapa, Brasília, DF, p.207-210, 2020.

GRISI, L.; LEITE, R.C.; MARTINS, J.R.S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LÉON, A.A.P.; PEREIRA, J.B.; VILLELA, H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, p.150-156, 2014.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, v.43, p.701-726, 1998.

GOUGH, J.M.; AKHURST, R.J.; ELLAR, D.J.; KEMP, D.H.; WIJFFELS, G.L. Novos isolados de *Bacillus thuringiensis* para controle de ectoparasitas de rebanhos. **Controle Biológico**, v.23, p.179-189, 2002.

GONZÁLEZ, M. A.; BRAVO-BARRIGA, D.; FERNÁNDEZ, E. B.; FRONTERA, E.; RUIZ-ARRONDO, I. Severe skin lesions caused by persistent bites of the stable fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) in a Donkey Sanctuary of Western Spain. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.116, p.104056, 2022.

GOMES, M. D. F. **Atividade inseticida de fungos entomopatogênicos e do alcaloide matrine em larvas de *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae)**, 2017.

JOHNSON, C.; BISHOP, A.H.; TURNER, C.L. Isolamento e atividade de cepas de *Bacillus thuringiensis* tóxico para larvas de moscas domésticas (Diptera: Muscidae) e varejões tropicais (Diptera: Calliphoridae). **Jornal de Patologia de Invertebrados**, v.71, p.138-144, 1998.

KASSAB, S.O.; GAONA, J.C.; LOUREIRO, E.S.; MOTA, T. A.; FONSECA, P.R.B.; ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulo no Mato Grosso do Sul: medidas de controle e prevenção. **Revista Agrarian**, v. 5, p.84-88, 2012.

KHALIFA, A.; NASR, Z.; ERROUISSI, F. First data on the daily and seasonal activity patterns of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under Mediterranean semiarid climate in a dairy cattle farm in Tunisia. **International Journal of Tropical Insect Science** v.42, p.1437–1447, 2022.

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

LONC, E.; LECADET, M.M.; LACHOWICZ, T.M.; PANEK, E. Descrição de *Bacillus thuringiensis* islaviensis (H-47), um novo sorotipo originário de Wrocław (Polônia), e outros isolados de solo da mesma área. **Cartas em Microbiologia Aplicada**, v.24, p.467-473, 1997.

MAKHAHLELA, N. B.; LIEBENBERG, D.; VAN HAMBURG, H.; TAI OE, M. O.; ONYICHE, T.; RAMATLA, T.; THEKISOE, O. M. Detection of pathogens of veterinary importance harboured by *Stomoxys calcitrans* in South African feedlots. **Scientific African**, v.15, e01112, 2022.

MELLO, R. P. D. **Estudo de alguns aspectos do desenvolvimento biológico e do comportamento, em laboratório**, de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae), 1989.

MISHRA, S & MALIK, A. Comparative evaluation of five *Beauveria* isolates for housefly (*Musca domestica* L.) control and growth optimization of selected strain. **Parasitology Research**, v. 111, p. 1937–1945, 2012.

MOCHI, D.A.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, A.C.R.; YOSHIDA, L. Entomopathogenic fungal activity against pupae and adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Veterinary Parasitology**, v. 1, p. 105-110, 2010.

PROMDONKOY, B & ELLAR, D.J. Membrane pore architecture of a cytotoxic toxin from *Bacillus thuringiensis*. **Biochemical Journal**, v.350, p.275-282, 2000.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; DEAN, D. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, p.775-806, 1998.

THOMAS, A. M.; RUDOLF, V. W. Challenges of metamorphosis in invertebrate hosts: maintaining parasite resistance across life-history stages. **Ecological Entomology**, v.35, p. 200-205, 2010.

WATSON, D. W.; GEDEN, C. J.; LONG, S. J.; RUTZ, D. A. Efficacy of *Beauveria bassiana* for controlling the house fly and stable fly (Diptera: Muscidae). **Biological Control**, v. 5 p. 405-411, 1995.

ZIMMER, C. R.; CASTRO, L. L. D.; PIRES, S. M.; MENEZES, A. M. D.; RIBEIRO, P. B.; LEITE, F. P. L. Efficacy of entomopathogenic bacteria for control of *Musca domestica*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.114, p.241-244, 2013.

CONCLUSÕES GERAIS

Os ingredientes ativos (i.a) triflumuron, piriproxifem e diflubenzuron afetam negativamente o desenvolvimento de *S. calcitrans*, a concentração de 50g/100L de calda apresenta eficácia de 82%, 88% e 92%, respectivamente, nos estudos de laboratório.

A temperatura base (Tb) do período ovo-adulto de *S. calcitrans* é 14,1°C enquanto que a sua constante térmica (K) é 154,3 GD.

O fungo *Beauveria bassiana* na concentração de 1×10^{10} conídios viáveis/100L calda é eficiente em 86%, enquanto que a bactéria *B. thuringiensis israelensis* na concentração de $1,8 \times 10^7$ Unidades Tóxicas Internacionais foi de 46% para o mesmo volume da calda.

Portanto, os IGRs e o fungo *B. bassiana* apresentam potenciais para uso em estratégias de controle da mosca-dos-estábulo devido a elevada eficácia desses produtos em testes iniciais de laboratório.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese contribui para o conhecimento acerca da mosca-dos-estábulo, apresentando resultados inéditos com larvicidas biológicos e IGRs que, de modo geral, se mostraram eficazes em estudos laboratoriais com essa espécie. Além disso, foram determinadas as exigências térmicas e estimativas do número de gerações de *S. calcitrans* para três municípios produtores de gado e de cana no Centro-Oeste brasileiro.

A tendência é desenvolver e/ou colaborar para a implementação de um programa de manejo de mosca-dos-estábulo, uma vez que *S. calcitrans* tem grande destaque no cenário pecuário nacional. Assim, esta tese fornece opções de alguns larvicidas, bem como suas concentrações mais eficientes para uso contra *S. calcitrans*, além de fornecer subsídios (Tb) e (K) para estimar o número de gerações dessa espécie mensal ou anual para determinada região de interesse e, assim, apresentar graficamente o período do ano em que a população da mosca-dos-estábulo atinge seus maiores picos. Contudo, novos estudos devem ser conduzidos a fim de verificar a eficiência dos larvicidas testados, neste trabalho, em condições de campo.

O aumento populacional de *S. calcitrans* está intimamente ligado ao fornecimento de ambiente para o desenvolvimento de suas formas imaturas, o que ocorre durante o período de safra de cana-de-açúcar nas usinas. Portanto, reforça-se a necessidade de um monitoramento de *S. calcitrans* constante tanto em áreas canavieiras como de pecuária. Por fim, quando no monitoramento for constatada a presença de imaturos ou maior abundância de adultos de *S. calcitrans* em áreas de usinas é interessante direcionar aplicação localizada do larvicida.

Assim, conhecendo a biologia da mosca-dos-estábulo, larvicidas eficientes para essa espécie e o período do ano mais provável de picos populacionais, torna-se mais eficiente o manejo de mosca-dos-estábulo, pois são conhecimentos que possibilitam o controle ainda na fase imatura de *S. calcitrans* e, portanto, evitam a emergência de adultos que ocasionam estresse e até a morte de animais.

ANEXOS

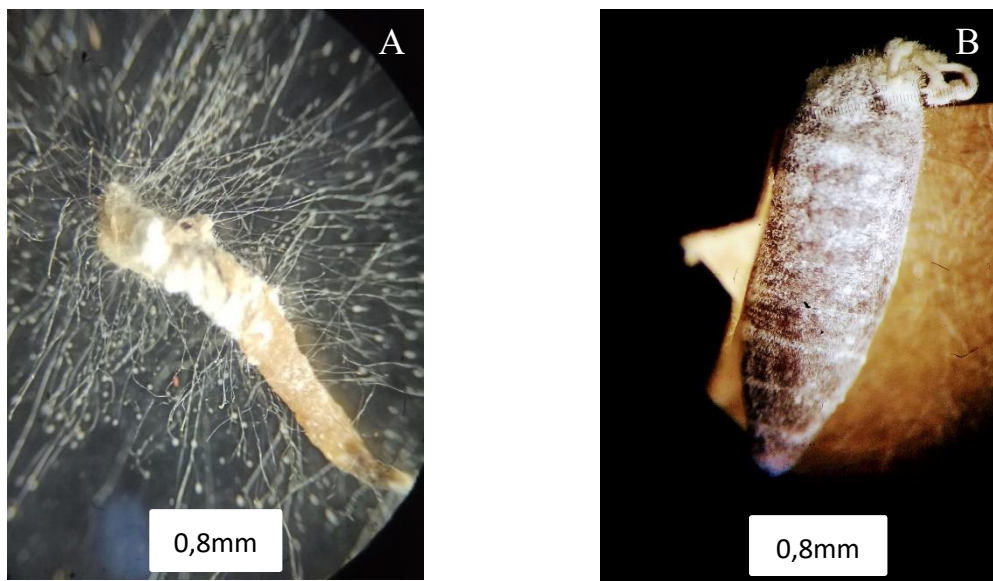


Figura 01. Larva (A) e pupa (B) de *Stomoxys calcitrans* infectadas pelo fungo *Beauveria bassiana*.

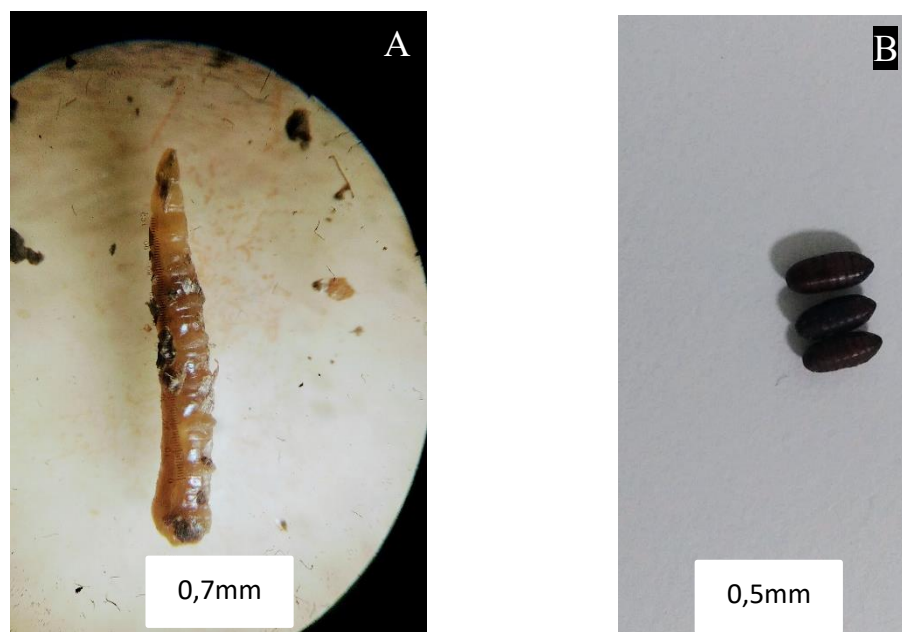


Figura 02. Larva (A) e pupa (B) de *Stomoxys calcitrans* infectadas pela bactéria *Bacillus thuringiensis israelensis*.

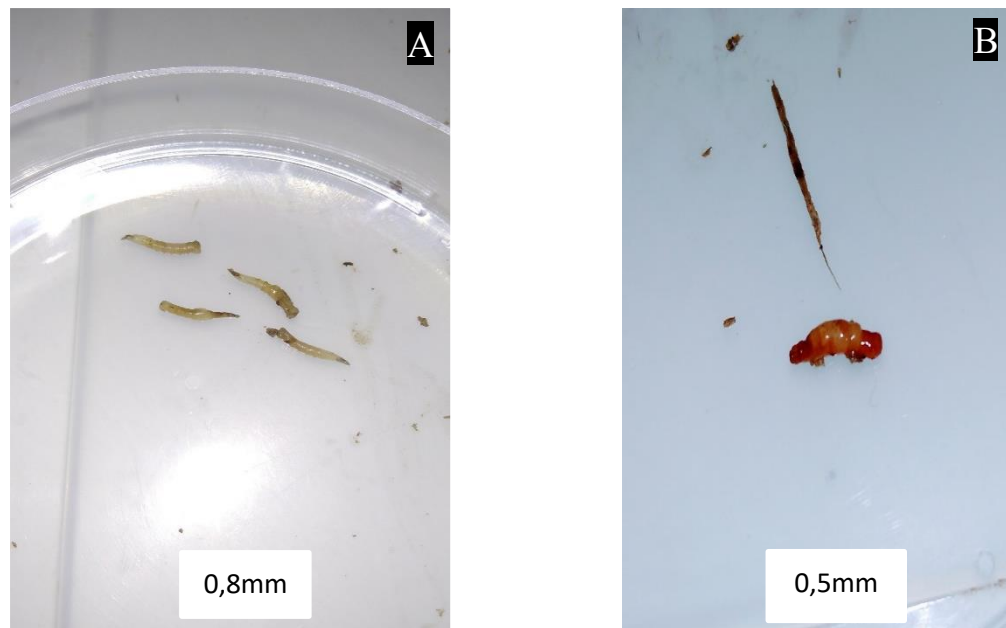


Figura 03. Larvas (A) e pupa (B) de *Stomoxys calcitrans* contaminadas pelo (IGR) triflumurom.



Figura 04. Armadilha de monitoramento de adultos de *Stomoxys calcitrans* (A) e refil entomológico (B).