

**UFRRJ**

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

**DISSERTAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE NEMATOIDES  
ENTOMOPATOGÉNICOS EXPOSTOS À DIFERENTES  
TEMPERATURAS DE VINHOTO NO CONTROLE DE *STOMOXYS*  
*CALCITRANS* (LINNAEUS, 1758) (DIPTERA: MUSCIDAE)**

**GRAZIELE CALIXTO SOUZA**

**2020**



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

**Avaliação da eficiência de nematoides entomopatogênicos expostos à diferentes temperaturas de vinhoto no controle de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae)**

**GRAZIELE CALIXTO SOUZA**

*Sob a Orientação do Professor  
Avelino José Bittencourt*

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

Seropédica, RJ  
Março de 2020

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

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

S719a Souza, Graziele Calixto, 1993- Avaliação da eficiência de nematoides entomopatogênicos expostos à diferentes temperaturas de vinhoto no controle de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) / Graziele Calixto Souza. - Rio de Janeiro, 2020. 44 f.

Orientador: Avelino José Bittencourt. Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 2020.

1. Controle biológico. 2. Mosca dos estábulos. 3. Nematoides entomopatogênicos. 4. Vinhoto. 5. Cana de açúcar. I. José Bittencourt, Avelino, 1961-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS III. Título.



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



ATA Nº 4448/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.052858/2024-68

Seropédica-RJ, 27 de setembro de 2024.

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

**GRAZIELE CALIXTO SOUZA**

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 13/03/2020

(Assinado digitalmente em 16/10/2024 11:47)

ABELINO JOSE BITTENCOURT  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)

Matrícula: ###818#1

(Assinado digitalmente em 07/10/2024 23:39)

MELISSA CARVALHO MACHADO DO  
COUTOCHAMBARELLI  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)

Matrícula: ###218#0

(Assinado digitalmente em 07/10/2024 17:32)

GISELA LARA DA COSTA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.867-##

**"Educação é uma descoberta progressiva de nossa própria ignorância"**

**Voltaire**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao orientador professor Avelino José Bittencourt, por toda a paciência, ensinamentos, conselhos e sempre disposto a me ajudar no âmbito profissional e pessoal. Sempre me incentivando e também a seus alunos e orientados a seguir em frente.

À professora Dra. Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt por todo o apoio e seus ensinamentos, também a toda sua equipe de pesquisa.

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

Agradeço aos queridos companheiros de laboratório e pesquisa Américo Monteiro, Luís Carlos Souza, Isadora Costa e Ana Caroline Souza, sem a ajuda e compreensão de vocês o caminho seria bem mais difícil.

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

À minha família, por sempre me apoiar nos momentos que precisei e aos valores familiares cultivados em minha formação e educação. Principalmente à minha querida avó Adelina por acreditar em meu potencial, quando pensei em desistir, me apoiou e me encorajou para continuar seguindo os meus sonhos.

Ao meu amigo, namorado e querido companheiro Igor Monteiro Senra de Oliveira pelo amor, paciência, carinho e ternura ao longo de toda a caminhada e nos últimos anos.

Agradeço a família do meu querido companheiro, por ter me acolhido de forma carinhosa e afetuosa.

Agradeço em especial ao amigo Douglas Mena do Couto, por me ajudar e aconselhar no quesito pessoal e profissional.

## RESUMO

SOUZA, Graziele Calixto. **Avaliação da eficiência de nematoides entomopatogênicos expostos à diferentes temperaturas de vinhoto no controle de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae)**. 2020. 31p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

A utilização da colheita mecanizada e o processamento da cana de açúcar nos dias atuais, geram subprodutos que ajudam na proliferação de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758), que acomete várias espécies de animais domésticos e o homem, provocando prejuízos econômicos devido à ocorrência de surtos. Com o uso constante de produtos químicos para o controle da mosca dos estábulos, observa-se a resistência aos mesmos e isso levou ao aprofundamento dos estudos em controle biológico, onde os nematoides entomopatogênicos (NEPs) aparecem como organismos com potencial uso para o controle biológico. O objetivo do presente estudo foi verificar a eficiência de *Heterorhabditis bacteriophora* – HP88 e *H. baujardi* – LPP7, mantidos em diferentes temperaturas de vinhoto sobre larvas de *S. calcitrans* em laboratório. Cada unidade experimental foi constituída de dez larvas de terceiro instar colocados em potes plásticos contendo quatro mililitros da solução de vinhoto a 50%. Em cada tratamento foram adicionados 300 juvenis infectantes de *H. bacteriophora* – HP88 ou *H. baujardi* – LPP7 por larva na solução de vinhoto acima descrita, aquecidos durante dez minutos nas temperaturas de 25, 28, 31, 34, 37 e 40°C, os grupos tratados e os grupos controles do experimento foram mantidos em câmara climatizada tipo BOD a 25±1°C e 70±10% UR. Ao todo foram realizadas seis repetições para cada tratamento, sendo observado a mortalidade diariamente por um período de 15 dias. Os resultados foram avaliados após os testes de normalidade por Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov, e utilizou-se o procedimento GLIMMIX a 5% de probabilidade no software SAS/STAT® 13.1, verificou-se que não houve diferença estatística entre os grupos tratados, grupos controles e temperaturas para taxa de mortalidade de larval ( $P=0,8573$ ), percentual de pupas mortas ( $P=0,1782$ ) e emergência de adultos ( $P=0,4386$ ). Quando avaliados apenas os grupos com presença e ausência de NEPs, foram observadas as taxas de mortalidade larval de 30% e 14,17% para *H. bacteriophora* – HP88 e *H. baujardi* – LPP7 respectivamente, enquanto que os grupos controles apresentaram 3,89% no *H. bacteriophora* – HP88 e 8,61% *H. baujardi* – LPP7. Na avaliação das temperaturas, foram observadas diferenças estatísticas significativas apenas nas temperaturas 37 e 40 °C do *H. baujardi* – LPP7 na taxa de mortalidade larval. Nas taxas de mortalidade pupal, o grupo com *H. bacteriophora* – HP88 apresentou médias de 32,5, 34,17 e 27,5% nas temperaturas de 25, 31 e 34 °C, respectivamente. No grupo com *H. baujardi* – LPP7 as temperaturas de 37 e 40 °C apresentaram 40% e 37,5% de mortalidade pupal. Na análise da taxa de emergência de adultos, houve uma menor emergência nas temperaturas de 25, 28, 31 e 34 °C no grupo com presença de *H. bacteriophora* – HP88 e o grupo com *H. baujardi* – LPP7 com as menores taxas de emergência de adultos nas temperaturas de 37 e 40 °C. Os resultados do

estudo mostram que houve uma diminuição da mortalidade dos estágios imaturos de *S. calcitrans* causada pelos NEPs mantidos em diferentes temperaturas de vinhoto, quando comparado a outros estudos sem o aquecimento do mesmo. Existe a necessidade de mais estudos para adequar o uso dos NEPs juntamente com vinhoto, aquecido ou não.

Palavras chave: cana de açúcar; mosca dos estábulos; juvenis infectantes.

## ABSTRACT

SOUZA, Graziele Calixto. **Efficacy evaluation of entomopathogenic nematodes exposed to different temperatures of vinasse in the control of larvae of *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae).** 2020. 31p. Thesis (Master of Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Institute of Veterinary Medicine, Departamento of Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

The use of mechanized harvesting and processing of sugarcane today generates byproducts that contribute to the proliferation of *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758), which attacks several species of domestic animals and humans, causing economic losses due to outbreaks. With the constant use of chemical products to control stable flies, resistance to them has been observed, which has led to in-depth studies on biological control, where entomopathogenic nematodes (EPNs) appear as organisms with potential use for biological control. The objective of this study was to verify the efficiency of *Heterorhabditis bacteriophora* – HP88 and *H. baujardi* – LPP7, kept at different vinasse temperatures on *S. calcitrans* larvae in the laboratory. Each experimental unit consisted of ten third-instar larvae placed in plastic pots containing four milliliters of 50% vinasse solution. In each treatment, 300 infective juveniles of *H. bacteriophora* – HP88 or *H. baujardi* – LPP7 per larva were added to the vinasse solution described above and heated for ten minutes at temperatures of 25, 28, 31, 34, 37 and 40°C. The treated groups and control groups of the experiment were kept in a BOD-type air-conditioned chamber at  $25\pm1^\circ\text{C}$  and  $70\pm10\%$  RH. In total, six replicates were performed for each treatment, and mortality was observed daily for a period of 15 days. The results were evaluated after normality tests by Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov, and the GLIMMIX procedure was used at 5% probability in the SAS/STAT® 13.1 software. It was verified that there was no statistical difference between the treated groups, control groups and temperatures for larval mortality rate ( $P=0.8573$ ), percentage of dead pupae ( $P=0.1782$ ) and adult emergence ( $P=0.4386$ ). When only the groups with presence and absence of EPNs were evaluated, larval mortality rates of 30% and 14.17% were observed for *H. bacteriophora* – HP88 and *H. baujardi* – LPP7 respectively, while the control groups presented 3.89% in *H. bacteriophora* – HP88 and 8.61% *H. baujardi* – LPP7. In the evaluation of temperatures, statistically significant differences were observed only at temperatures of 37 and 40 °C for *H. baujardi* – LPP7 in the larval mortality rate. In the pupal mortality rates, the group with *H. bacteriophora* – HP88 presented averages of 32.5, 34.17 and 27.5% at temperatures of 25, 31 and 34 °C, respectively. In the group with *H. baujardi* – LPP7, temperatures of 37 and 40 °C presented 40% and 37.5% of pupal mortality. In the analysis of the adult emergence rate, there was a lower emergence at temperatures of 25, 28, 31 and 34 °C in the group with the presence of *H. bacteriophora* – HP88 and the group with *H. baujardi* – LPP7 strain with the lowest adult emergence rates at temperatures of 37 and 40 °C. The results of the study show that there was a decrease in the mortality of immature stages of *S. calcitrans* caused by EPNs kept at different vinasse temperatures, when compared to other studies without heating the same.

There is a need for further studies to adapt the use of EPNs together with vinasse, heated or not.

Keywords: sugar cane; stable fly; infective juveniles

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Média geral de mortalidade larval e média geral de moscas <i>Stomoxys calcitrans</i> emergidas nos grupos com presença e ausência de nematoides <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> – HP88 e <i>H. baujardi</i> – LPP7 .....	14
<b>Tabela 2</b> – Efeito de nematoides entomopatogênicos, <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> – HP88 e <i>H. baujardii</i> – LPP7 sobre larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> , expostas a diferentes temperaturas de vinho, mantidos em câmara climatizada (B.O.D.) a $25\pm1^{\circ}\text{C}$ e 70-80% de umidade relativa .....	16

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Suspensão de nematoides entomopatogênicos em garrafa de cultivo celular.....	10
<b>Figura 2.</b> Unidades experimentais dentro de câmara climatizada tipo BOD a $25\pm1^\circ\text{C}$ e $70\pm10\%$ UR. .....	11
<b>Figura 3.</b> Armadilha de White adaptada, após exposição de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> aos nematoides entomopatogênicos utilizados nos bioensaios. .....	12
<b>Figura 4.</b> Larva de <i>Stomoxys calcitrans</i> parasitada com <i>Heterorhabdus bacteriophora</i> -HP88, em armadilha de WHITE adaptada, após a exposição da solução de vinhoto à $34^\circ\text{C}$ .....	17

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Biologia de <i>Stomoxys calcitrans</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Prejuízos Econômicos Causados Pela Ação de <i>Stomoxys calcitrans</i> .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3 Nematoides Entomopatogênicos.....</b>	<b>5</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Localização do Experimento.....</b>	<b>9</b>
<b>3.2 Manutenção da Colônia de <i>Stomoxys calcitrans</i> Para Obtenção de Larvas....</b>	<b>9</b>
<b>3.3 Manutenção da Colônia de Nematoides Entomopatogênicos.....</b>	<b>10</b>
<b>3.4 Quantificação das Suspensões Com Nematoides .....</b>	<b>10</b>
<b>3.5 Exposição de Estágios Imaturos de <i>Stomoxys calcitrans</i> aos Nematoides ....</b>	<b>11</b>
<b>3.6 Análise Estatística.....</b>	<b>12</b>
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>13</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>22</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>23</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>24</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A crescente produção de cana-de-açúcar no país tem gerado subprodutos pela indústria sucroalcooleira, tais como a palha e bagaço da cana, torta de filtro, cinzas e vinhoto, que possibilitam a proliferação da mosca *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758), conhecida como “mosca dos estábulos”, um díptero hematófago parasita de várias espécies de animais (BISHOPP, 1913), incluindo também humanos (KING; LENERT, 1936; HANSENS, 1951; BITTENCOURT, 2012 e DOMINGHETTI et al., 2015). Tem ampla distribuição geográfica (PATRA et al., 2018), sendo os meses mais quentes do ano o período de maior aumento populacional (BITTENCOURT, 1998).

A mosca dos estábulos causa estresse nos animais em consequência de sua picada dolorosa, uma vez que na tentativa de repelir a mesma, os animais se movimentam de forma constante, favorecendo uma alimentação inadequada (CAMPBELL et al., 1987), causando prejuízos na pecuária, já que estas reações podem gerar perdas de 28,5 a 71,5% no ganho de peso em bovinos (WIEMAN et al., 1992). Por ser um inseto hematófago, os machos e as fêmeas de *S. calcitrans* podem causar espoliação sanguínea (STORK, 1979) e atuar como vetor de diversos patógenos (GREENBERG, 1973; MOYA BORJA, 1982; PRULLAGE et al., 1993; WEIBLEN, 1998; SCHOFIELD e TORR, 2002; CASTRO et al., 2008; CASTRO et al., 2013). Em um estudo realizado por Taylor (2012), demonstra que a mosca dos estábulos causou prejuízo econômico nos Estados Unidos e de 335,5 milhões de dólares no Brasil (GRISI et al., 2014).

Com a expansão da agricultura e na busca por uma produção mais eficiente e devido à resistência de pragas a pesticidas químicos, busca-se alternativas de controle de parasitas com importância econômica, através de pesquisas relacionadas ao controle biológico e/ou controle integrado (manejo de subprodutos, controle químico e biológico) (DAVIDSON; SWEENEY, 1983). Dessa forma, diversos agentes aparecem como alternativas para o uso no controle biológico de pragas, dentre eles estão bactérias, fungos, vírus e nematoides entomopatogênicos (NEPs). Os NEPs possuem alta virulência e especificidade por artrópodes; são móveis, são facilmente cultivados *in vitro* e apresentam grande potencial reprodutivo. Essas características são favoráveis para indicar os NEPs, como agentes de controle de pragas que possuem estádios de desenvolvimento no solo, tendo em vista que este é o local onde estes nematoides ocorrem naturalmente (KAYA; GAUGLER, 1993; GAUGLER et al., 1989). O presente estudo objetivou avaliar o efeito

de nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis bacteriophora* – HP88 e *H. baujardi* – LPP7 expostos a diferentes temperaturas de vinhoto no controle de larvas de *S. calcitrans*, bem como na mortalidade de pupas e emergência de adultos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Biologia de *Stomoxys calcitrans*

O ciclo de vida de *S. calcitrans* varia de 12 a 60 dias, é diretamente relacionado às características climáticas da região, sendo o ideal em torno de 27 °C e umidade relativa de 70-80%. O período de postura varia entre três e 17 dias, produzindo de três a 151 ovos (MELO; GARCIA, 1983); o período de eclosão das larvas varia de um a quatro dias, e pode se prolongar em ambientes de baixa temperatura ou reduzir em locais de temperatura mais alta (URQUHART et al., 1996). As larvas se alimentam de matéria orgânica e amadurecem de seis a 30 dias (GUIMARÃES, 1983).

Em termos de sobrevivência, o estágio larval é o período mais crítico, pois após a eclosão, as larvas se protegem do excesso de luz, umidade, ressecamento, e ainda, dos inimigos naturais, se aprofundando no substrato (GUIMARÃES, 1983) e podem ser encontradas a cinco centímetros de profundidade na matéria orgânica, já em profundidade superior a dez centímetros se torna mais difícil a emergência de adultos (NEVES; FARIA, 1988). O período pupal é considerado de maior segurança para o inseto (MELLO, 1989), podendo durar de seis a 10 dias. As moscas podem viver por um mês e neste período, as fêmeas de *S. calcitrans* se alimentam de sangue para que ocorra o amadurecimento de seus ovários (MELLO, 1989), a fase de acasalamento ocorre de três a cinco dias após a emergência dos adultos. Por esta razão a postura se inicia após o nono dia de emergência (SOULSBY, 1987). Para que a postura total seja alcançada, as fêmeas necessitam de repasto sanguíneo para estimular a oogênese, (FOIL; HOGSETTE, 1994), já os machos necessitam da hematofagia para que ocorra a maturação da glândula acessória, que é a responsável pela inoculação do esperma na fêmea (ANDERSON, 1978). Machos e fêmeas conseguem ingerir o volume de sangue de até três vezes a sua massa corporal (PARR, 1962).

Para o desenvolvimento dos estágios imaturos de *S. calcitrans*, diversos materiais podem ser utilizados, desde que possuam matéria orgânica com umidade adequada e gradiente de fermentação (MACEDO, 2001). A mosca dos estábulos possui preferência em realizar a postura de seus ovos em locais ricos de microrganismos (LAM et al., 2007), com destaque para as fezes de diversos animais (GUIMARÃES, 1983; BRUNO et al., 1993), principalmente quando associadas a restos de alimentação, como capim, silagem ou palha de arroz (SKODA et al., 1991). Outros materiais também foram citados, como

algas (SIMMONS, 1944), restos culturais de abacaxi e mamão (HERRERO et al., 1989), casca e palha de café (BITTENCOURT, 1998).

Segundo Sutherland (1978) as larvas de *S. calcitrans* raramente se desenvolvem em fezes puras de aves, normalmente ocorre sempre quando associado as fezes com a matéria orgânica vegetal conhecida como “cama de frango”, gerando um microclima ideal para o desenvolvimento do inseto. Esse díptero consegue se desenvolver em várias fontes de matéria orgânica, como por exemplo: farelos, alfafa ou grãos nos cochos dos currais, esterco bovino acumulado nos arredores dos currais, subprodutos da indústria sucroalcooleira (GUIMARÃES, 1983; MORAES et al., 2004; CORRÊA et al., 2013).

A mosca dos estábulos é encontrada ao redor e nas instalações pecuárias, podendo ser observada pousada descansando em paredes, muros, cordoalhas, fio de cerca que possuam sombra (MATOS-JUNIOR, 1986 HERRERO et al., 1989; CARRERA, 1991;).

Para evitar o estresse térmico, a mosca preferencialmente parasita seus hospedeiros na parte da manhã (antes das dez horas) e ao entardecer. (CARRERA, 1991; HERRERO et al., 1989).

Recentemente, os surtos de *S. calcitrans* tem ocorrido, inclusive nos períodos mais frios do ano, com aumento do díptero entre os meses de abril e maio, que coincidem com o período de colheita de cana de açúcar (até dezembro). As fases imaturas são favorecidas pela grande quantidade de subprodutos gerados por usinas sucroalcooleiras, mostrando que as variações climáticas interferem menos do que a safra da cana-de-açúcar na ocorrência de surtos (DOMINGHETTI, 2017).

## **2.2 Prejuízos Econômicos Causados Pela Ação de *Stomoxys calcitrans***

A ação da mosca dos estábulos leva a perdas econômicas consideráveis, sendo estas estimadas em 2,221 bilhões de dólares (TAYLOR, 2012) nos Estados Unidos, e de 335,5 milhões de dólares ao ano no Brasil (GRISI et al., 2014), entretanto, estes valores excluem o impacto dos recentes surtos que foram relatados em algumas regiões do Brasil (BARROS et al., 2010).

De acordo com Bruce e Decker (1958), as perdas na produtividade animal podem alcançar até 20%, os bovinos toleram o parasitismo de no máximo duas moscas por membro torácico ou seis moscas espalhadas por todo o corpo, sem prejuízos na conversão

alimentar e no ganho de peso, não sendo necessário gastos com pesticidas químicos (CAMPBELL et al., 1987).

Segundo Bittencourt (1998), os animais parasitados pela mosca dos estábulos apresentaram comportamento atípico de balançar constantemente a cabeça e orelhas, com movimentação cutânea constante e quando a infestação por *S. calcitrans* era intensa, os animais se aglomeravam na tentativa de se proteger das picadas do inseto. Este comportamento gera estresse e resulta em pastejo ineficiente, levando a perdas significativas no ganho de peso dos bovinos, afetando também a produção leiteira do rebanho.

Na década de 80, já se sabia que o vinhoto contribuía para o desenvolvimento de *S. calcitrans*, devido a liberação de amônia na sua fermentação, que causaria um efeito atrativo e estimularia a postura deste díptero (GUIMARÃES, 1983; BURALLI et al., 1987). Em 2010, Barros et al., relataram surto da mosca dos estábulos no estado do Mato Grosso do Sul, onde os autores associaram a grande quantidade de moscas à irrigação dos canaviais com vinhoto.

As usinas sucroalcooleiras realizam o controle da mosca dos estábulos com pesticidas químicos e manejo de seus subprodutos; sendo ainda ineficientes. De acordo com as estimativas da BIOSUL (2014) (Associação dos Produtores de Bioenergia de Mato Grosso do Sul) os investimentos anuais destinados ao controle de *S. calcitrans* em regiões com histórico de surtos variam de 30 a 160 mil dólares por usina, podendo chegar a 480 mil dólares se forem considerados os custos de outros estados afetados por esta praga (DOMINGHETTI, 2017).

### **2.3 Nematoides Entomopatogênicos**

Com a presente resistência aos produtos químicos, diferentes microrganismos têm sido pesquisados no decorrer dos anos, com intuito de verificar seu potencial patogênico sobre os diferentes parasitos de importância econômica (DAVIDSON; SWEENEY, 1983) e sua viabilidade para o aprimoramento do controle biológico ou aplicação no controle integrado (químico e biológico). Outro fator importante é a crescente conscientização sobre a preservação do meio ambiente e os efeitos negativos resultantes da utilização desregrada destes produtos, pois estes resíduos químicos têm sido verificados nos produtos derivados de animais de produção e no próprio ambiente (ALVES, 1998).

Na busca pelo controle integrado de artrópodes de importância médica-veterinária, os agentes biológicos podem ser associados aos produtos químicos, visando o equilíbrio e menor uso destes produtos. Nesse caso, os nematoides entomopatogênicos ("NEPs") se apresentam como potenciais agentes, pois atuam como parasitas obrigatórios de insetos que possuem pelo menos uma fase de seu ciclo no solo, apresentando distribuição global, a exceção dos polos e regiões desérticas (KAYA; GAUGLER, 1993).

Os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, possuem em seu intestino bactérias gram-negativas (KAYA; GAUGLER, 1993), do gênero *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, respectivamente, as quais são simbióticas e essenciais para que os NEPs completem seu ciclo biológico. A patogenicidade dos NEPs resulta da ação destas bactérias que estão presentes no tubo digestivo dos juvenis infectantes, as quais serão liberadas na hemocele do hospedeiro. Os NEPs são agentes de controle biológico ideais para a supressão de pragas de insetos que possuem fases de vida no solo, visto que este é o local onde são encontrados na natureza e a exemplo de outros patógenos, são altamente virulentos, facilmente cultivados *in vitro*, possuem grande abrangência de hospedeiros, são específicos para artrópodes, são móveis e têm alto potencial reprodutivo (GAUGLER et al., 1989; KAYA; GAUGLER, 1993). Os NEPs e seus hospedeiros são incapazes de desenvolver uma relação hospedeiro-parasita bem adaptada devido à rápida morte do hospedeiro após infecção; esta morte rápida permite aos NEPs explorarem uma diversidade de hospedeiros que inclui praticamente todas as ordens de insetos (KAYA; GAUGLER, 1993). Os NEPs podem superar a maioria dos fungos entomopatogênicos em eficácia, pois durante períodos de condições adversas, vários NEPs têm a capacidade de realizar muda, para uma forma de resistência de longa duração, a qual ele não se alimenta (DOLAN et al., 2002).

O ciclo de vida dos NEP possui as fases de ovo, juvenil (J1, J2, J3 e J4) e machos e fêmeas adultos; existindo também uma geração de hermafroditas em NEP do gênero *Heterorhabditis* (FERRAZ, 1998; DOLINSKI, 2006; DOLINSKI; MOINO JR., 2006). A fase infectante é a J3, denominada de juvenil infectante (JI), nesta fase o NEP consegue penetrar no hospedeiro; o JI pode adentrar no artrópode alvo pelas aberturas naturais (boca, ânus, espiráculos respiratórios e/ou cutícula (STILWELL, 2018) de acordo com a espécie). O JI de *Heterorhabditis* sp., conseguem penetrar ativamente no artrópode através do tegumento, pois possuem uma estrutura adaptada denominada "dente quitinoso", encontrada na extremidade anterior do NEPs (KAYA; GAUGLER, 1993;

DOLINSKI; MOINO JR., 2006). Após penetrar no inseto/artrópode, ocorre a liberação das bactérias simbiontes na hemocele do artrópode hospedeiro, estas bactérias começam a se reproduzir, e ocorre a produção de toxinas letais para o artrópode parasitado, levando a septicemia de forma rápida e morte do hospedeiro (FERRAZ, 1998; HAZIR et al., 2003). Além da produção das toxinas, as bactérias também liberam substâncias que são capazes de inibir o crescimento de microrganismos indesejados no hospedeiro parasitado (KAYA; GAUGLER, 1993). Após a morte do hospedeiro, os JI se alimentam dos restos de tecidos lisados do inseto, deste modo, reabsorvendo as bactérias simbiontes, neste período ocorre a formação dos primeiros adultos que estarão aptos a reproduzir. Nos NEPs do gênero *Steinernema*, a primeira geração de adultos é constituída por machos e fêmeas; já nos NEP do gênero *Heterorhabditis*, a primeira geração é formada exclusivamente por indivíduos hermafroditas com morfologia feminina; a partir da segunda geração, haverá a distinção entre machos e fêmeas, formando-se adultos com sexos distintos somente a partir da segunda geração. Os adultos da primeira geração possuem uma alta capacidade reprodutiva, logo, a multiplicação dos NEPs será rápida, em pouco tempo o cadáver do inseto estará colonizado por milhares de nematoides, podendo completar duas ou três gerações dentro do mesmo hospedeiro, que vai depender do tamanho do artrópode e dos recursos disponíveis para os NEPs. Quando ocorre o fim dos nutrientes no inseto cadáver, os JI (J3) retém as bactérias em seus intestinos, além de reter a cutícula do segundo estádio (J2), assim, o JI abandona o cadáver após o rompimento do mesmo e passa a buscar um novo hospedeiro, estes JI de vida livre não se alimentam e são capazes de suportar as adversidades ambientais (FERRAZ, 1998; GREWAL et al., 2003; DOLINSKI, 2006).

A pesquisa envolvendo NEPs no controle biológico de pragas no Brasil são do início do século XXI (GREWAL et al., 2001) e buscam entender melhor a ação destes organismos frente as pragas que importantes para o setor agropecuário nacional (LEITE et al., 2003; PHAN et al., 2003; MACHADO et al., 2005; BUSSOLA et al., 2004; ALVES et al., 2005; DEL VALLE et al., 2005; COSTA et al., 2007).

As características que tornam os NEP organismos com potencial para o controle de pragas são: produção com baixo custo em insetos hospedeiros ou em meios artificiais; são armazenados por longos períodos (TAYLOR et al., 1998); são facilmente aplicados no campo por meio de sistemas de irrigação ou pulverizados; possuem habilidade de buscar o hospedeiro (GREWAL et al., 2001); são compatíveis com diversos pesticidas

(KOPPENHÖFER e GREWAL, 2005); são seguros a maioria dos invertebrados e vertebrados; são bem específicos e não causam mortalidade indiscriminada; ambos os gêneros possuem uma boa ação em uma faixa de temperatura que varia entre 18 e 34 °C, podendo haver ação dos NEPs em temperaturas extremas (NEVES et al., 1999; DOLINSKI e MOINO JR, 2006).

Como a relação NEPs-hospedeiro não é bem adaptada, os indivíduos parasitados morrem rapidamente após a infecção sem tempo suficiente para o desenvolvimento de resistência a curto prazo. Isto abre uma gama de possibilidades para o uso destes nematoides nas mais variadas ordens de artrópodes (KAYA; GAUGLER, 1993).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Localização do Experimento**

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Pesquisa de Dípteros Hematófagos, localizado na Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde foram mantidas as colônias das moscas, nematoides e outros materiais necessários para o desenvolvimento do estudo.

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

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

As moscas foram capturadas no campus da UFRRJ, com o auxílio de rede entomológica, armazenadas em gaiolas plásticas para transporte (15x15x20cm), levadas ao laboratório e identificadas segundo Furman e Catts (1982). Os dípteros foram mantidos em gaiolas plásticas (teladas com Nylon®) de maiores dimensões (60x40x50cm), na parte superior dessas gaiolas, era colocado diariamente um absorvente feminino de algodão (sem gel e neutralizador de odores) contendo sangue bovino citratado a 0,38%, na temperatura de 38 °C, oferecido uma vez ao dia. Esse sangue era obtido em frigorífico da região, para a alimentação das moscas adultas, possibilitando a fertilização e postura (MOURA, 2015). Ao lado do absorvente era colocado um pano de algodão preto umedecido (contendo em seu interior algodão hidrófilo), assim as moscas se alimentavam e realizavam a postura dos ovos.

Após a postura os ovos foram coletados diretamente do tecido de algodão preto umedecido, do absorvente ou no fundo da gaiola que é telado e forrado com papel pardo (MORAES, 2007), os ovos foram recuperados através de peneira granulométrica – 180 µm de abertura, após o enxague do pano de algodão preto e absorvente, em seguida os mesmos foram transferidos para a uma dieta de desenvolvimento larval estéril (BARROS et al., 2014) composta por cana-de-açúcar triturada (330 g), farelo de trigo (125 g), farinha de carne (40 g), bicarbonato de sódio (5 g) e água destilada (125 ml), para a obtenção de larvas. Todo o desenvolvimento da colônia das moscas foi realizado em ambiente climatizado com temperatura de 27±1° C e umidade relativa de 70-80% UR.

### **3.3 Manutenção da Colônia de Nematoides Entomopatogênicos**

Os nematoides utilizados foram cedidos pelo banco de NEP do Laboratório de Controle Microbiano da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Sua manutenção e multiplicação foi realizada através da multiplicação *in vivo* em *Galleria mellonella* e/ou *Tenebrio molitor* (LINDEGREN et al., 1993; KAYA; STOCK, 1997) no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes da UFRRJ.

### **3.4 Quantificação das Suspensões Com Nematoides**

Os nematoides foram quantificados através da contagem de 12 alíquotas de 10 $\mu$ L, obtidas a partir de suspensão aquosa de NEP, armazenada em garrafa de cultivo celular de 40mL (Figura 1) por período inferior a 30 dias em câmara climatizada a 16±1°C. Após a contagem dos NEP nas 12 alíquotas, descartou-se a maior e a menor quantidade de NEP/alíquota, fazendo assim uma média de juvenis infectantes (JIs) nas 10 alíquotas restantes, a partir desta média, a concentração das suspensões foi ajustada em JIs/mL (TAYLOR et al.,1998).



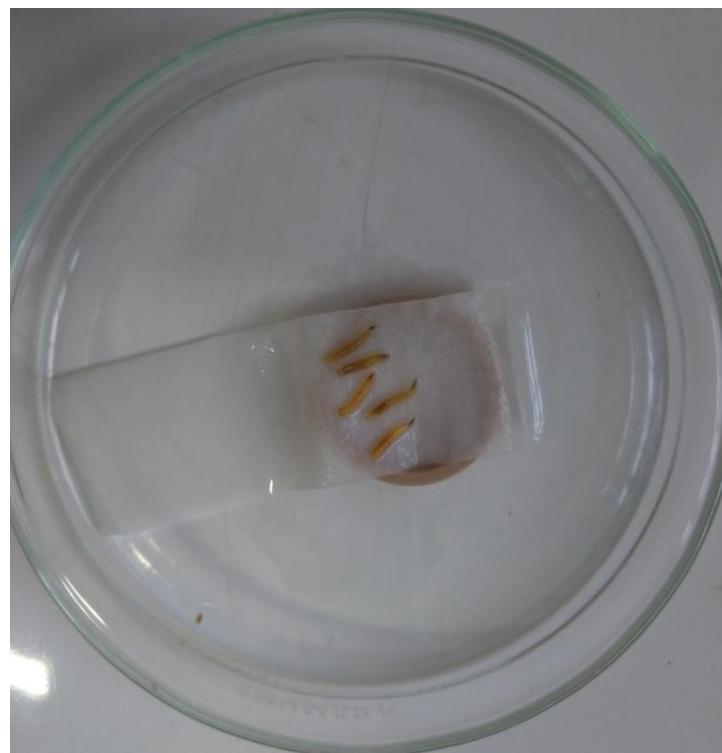
**Figura 1.** Suspensão de nematoides entomopatogênicos em garrafa de cultivo celular (50ml), observada em lupa, sem aumento, no laboratório, em temperatura de 27±1° C e 70±10% UR.

### **3.5 Exposição de Estágios Imaturos de *Stomoxys calcitrans* aos Nematoides**

Cada unidade experimental (Figura 2) foi constituída de 10 larvas de oito a 10 dias (terceiro instar) de idade, coletadas nos potes de dietas de crescimento larval, posteriormente foram acondicionadas em recipientes plásticos (7,5x7,5x4cm), contendo duas folhas de papel filtro, três gramas de dieta de desenvolvimento larval e quatro mililitros de solução de vinho a 50%. Preparou-se uma solução de 50% de vinho com água destilada contendo nematoides, permaneceram em aquecimento no banho maria, durante 10 minutos, nas temperaturas de 25, 28, 31, 34, 37 e 40 °C, as quais são aquelas observadas nas lagoas de estabilização, antes da fertirrigação. Em cada tratamento foram adicionados 300 JIs de *H. bacteriophora* – HP88 e de *H. baujardi* – LPP7 por larva, contidos na solução de vinho descrita acima. Os grupos controles de cada tratamento, receberam a mesma solução de vinho a 50% aquecidas em banho maria, durante 10 minutos nas temperaturas de 25, 28, 31, 34, 37 e 40 °C. Os grupos tratados e os grupos controles do experimento foram mantidos em câmara climatizada tipo BOD a  $25\pm1^\circ\text{C}$  e  $70\pm10\%$  UR, onde se observou diariamente a mortalidade larval, a formação de pupas e emergência de adultos, durante 15 dias consecutivos. Foram realizadas seis repetições para os bioensaios. Após a morte das larvas, estas eram colocadas de acordo com seus respectivos grupos em armadilhas de White (WHITE, 1927) adaptadas (Figura 3), para que houvesse a confirmação da infecção pelos NEPs, após a dissecção das larvas, era observada a saída de JIs, provando assim que o ciclo se completou dentro das larvas mortas de *S. calcitrans*, e que os NEPs foram os causadores da morte das larvas de *S. calcitrans*.



**Figura 2.** Unidades experimentais no interior da câmara climatizada tipo BOD a  $25\pm1^\circ\text{C}$  e  $70\pm10\%$  UR.



**Figura 3.** Armadilha de White adaptada, após exposição de larvas de *Stomoxys calcitrans* aos nematoides entomopatogênicos utilizados nos bioensaios.

### 3.6 Análise Estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 2x2x6 (com presença e ausência de nematoide, dois tipos de NEP – *H. bacteriophora* e *H. baujardi* e 6 temperaturas) com 6 repetições. Foram realizados testes de normalidade por Shapiro-Wilk e testes não paramétricos Kolmogorov-Smirnov. As taxas de mortalidade de larval, percentual de pupas mortas e a emergência de adultos foram calculados pelo procedimento GLIMMIX. As interações foram desdobradas a 5% de significância. Foi utilizado o nível de significância máximo de 5%, quando foram detectadas diferenças entre as médias. As análises foram realizadas com auxílio de programa estatístico SAS/STAT® 13.1.

## 4 RESULTADOS

Os resultados obtidos no estudo, mostraram que não houve interação entre os grupos tratados e os grupos controles, nematoídes entomopatogênicos e temperaturas para taxa de mortalidade de larval ( $P=0,8573$ ), percentual de pupas mortas ( $P=0,1782$ ) e emergência de adultos ( $P=0,4386$ ).

Como pode ser observado na Tabela 1, foram analisadas as interações estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) entre grupos com presença e ausência de nematoídes entomopatogênicos, para as taxas de mortalidade larval (%) e emergência de adultos (%). Houve diferença estatística significativa no grupo que utilizou o nematoide *H. bacteriophora*, sendo que a maior taxa de mortalidade larval foi observada no grupo com presença de NEP (30,00%), sendo 87,0% superior ao grupo com ausência de NEP (3,89%). Não houve diferença estatística significativa no grupo que utilizou *H. baujardi*, com média de 11,39%. Quando considerados os grupos, houve diferença estatística significativa, no grupo com presença de NEP, a maior taxa de mortalidade de larval foi observada no grupo que foi utilizado o *H. bacteriophora* (30,00%), sendo 52,8% superior ao *H. baujardi* (14,17%). A maior taxa de mortalidade larval no grupo com ausência de NEP, foi observado no grupo do *H. baujardi* (8,61%), sendo 54,8% superior ao *H. bacteriophora* (3,67%).

Na avaliação de emergência de adultos os grupos com presença de nematoide apresentaram diferença estatística significativa, sendo observado uma menor emergência de adultos, quando comparado com os grupos com ausência de NEP. O menor percentual observado no grupo com presença de NEP foi no grupo de *H. bacteriophora* (38,05%), já o grupo com *H. baujardi* apresentou (61,11%), sendo 37,7% superior ao *H. bacteriophora*. Ambos os grupos com ausência de NEP não mostraram diferença estatística significativa, sendo verificada uma taxa de emergência no grupo com *H. bacteriophora* (76,67%) e o grupo como *H. baujardi* (75%), com média de 75,83% de emergência de adultos.

**Tabela 1** – Média geral de mortalidade larval e média geral de moscas *Stomoxys calcitrans* emergidas nos grupos com presença e ausência de nematoides *Heterorhabditis bacteriophora* – HP88 e *Heterorhabditis baujardi* – LP77.

Grupo	NEP	<i>P</i>	
		HP88	LPP7
Mortalidade larval (%)			
Presença de NEP	30,00±3,47aA	14,17±2,56aB	<,0001
Ausência de NEP	3,89±0,82bA	8,61±2,68aA	
Emergência de adultos (%)			
Presença de NEP	38,05±3,18bB	61,11±5,05bA	<,0001
Ausência de NEP	76,67±2,58aA	75,00±4,55aA	

EPM = Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Glimmix; NEP = nematoides entomopatogênicos; *P* = probabilidade; HP88 = *Heterorhabditis bacteriophora*; LPP7= *Heterorhabditis baujardi*.

Foi observada interação estatística significativa entre nematoides entomopatogênicos e temperatura, onde na tabela 2 podem ser observadas as taxas de mortalidade larval (%), pupal (%) e emergência de adultos (%), em solução de vinhoto a 50% nas temperaturas de 25, 28, 31, 34, 37 e 40 °C, utilizando os nematoides entomopagénicos *H. bacteriophora* –HP88 e *H. baujardi* –LP77.

Não houve diferença estatística significativa no grupo com *H. bacteriophora* para taxa de mortalidade de larval, com média de 16,94%. Houve diferença estatística significativa no grupo *H. baujardi* para taxa de mortalidade de larval. A maior mortalidade foi observada nas temperaturas de 37 °C e 40 °C no grupo com *H. baujardi*, com média de 26,25%, sendo 84,9% superior as demais temperaturas testadas. Quando consideradas as temperaturas, as diferenças foram observadas nas temperaturas de 25, 28, 34 e 40 °C, sendo o percentual de mortalidade de larvas maiores no grupo com *H. baujardi* em relação ao *H. bacteriophora*.

Foram observadas diferenças estatísticas para mortalidade pupal nas duas linhagens contendo os nematoides avaliados. No grupo com *H. bacteriophora*, a maior

mortalidade pupal foi observada nas temperaturas de 25, 31 e 34 °C, com mortalidade média de 31,39%, não diferindo da temperatura de 37 °C a menor taxa observada (10,00%). No grupo com nematoide *H. baujardi*, as maiores taxas de mortalidade pupal, foram observadas nas temperaturas de 37 °C e 40 °C, com mortalidade média de 38,75%. Enquanto que nas menores nas temperaturas, a mortalidade de pupal foi observada nas temperaturas de 25, 28 e 31 °C, a mortalidade média foi de 8,61%.

Na avaliação de emergência de adultos, não foram observadas diferenças estatísticas significativas no grupo com o nematoide *H. bacteriophora*, com média de 57,36%. O grupo com nematoide *H. baujardi* apresentou diferença estatística significativa para percentual de emergência de adultos, sendo observado nas temperaturas de 25, 28, 31 e 34 °C, com média de 84,58%, sendo superior as temperaturas de 37°C e 40 °C com média de 35,00%. Quando consideradas as temperaturas, foram observadas diferenças estatísticas significativas nas temperaturas de 25, 28, 31 e 34 °C, no grupo com *H. baujardi*, com um maior percentual de emergência de adultos. As maiores taxas de emergência de adultos nas temperaturas de 37 e 40 °C foram observados no grupo com *H. bacteriophora*.

**Tabela 2** – Efeito de nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis bacteriophora* – HP88 e *Heterorhabditis baujardi* – LPP7 sobre larvas de *Stomoxys calcitrans*, expostas a diferentes temperaturas de vinhoto, mantidos em câmara climatizada (B.O.D.) a  $25\pm1^{\circ}\text{C}$  e 70-80% de umidade relativa.

Temperatura (°C)	NEP		<i>P</i>
	HP88	LP77	
Mortalidade larval (%)			
<b>25</b>	17,50±5,52aA	4,17±2,29bB	
<b>28</b>	15,83±5,29aA	0,83±0,83bB	
<b>31</b>	15,00±6,57aA	5,83±2,60bA	
<b>34</b>	22,50±7,40aA	5,00±2,61bB	<,0001
<b>37</b>	20,00±6,40aA	20,83±5,29aA	
<b>40</b>	10,83±3,13aA	31,67±4,58aB	
Mortalidade pupal (%)			
<b>25</b>	32,50±3,05aA	6,67±3,10cB	
<b>28</b>	25,00±3,79abA	10,00±3,01cB	
<b>31</b>	34,17±3,13aA	9,17±3,36cB	
<b>34</b>	27,50±3,28aA	20,00±5,22bcB	<,0001
<b>37</b>	10,00±5,36bB	40,00±5,50aA	
<b>40</b>	22,50±5,79abA	37,50±6,17abA	
Emergência de adultos (%)			
<b>25</b>	50,00±6,96aB	89,17±3,98aA	
<b>28</b>	59,17±5,96aB	89,17±3,13aA	
<b>31</b>	50,83±6,45aB	85,00±3,99aA	
<b>34</b>	50,00±7,88aB	75,00±6,34aA	<,0001
<b>37</b>	70,00±8,26aA	39,17±5,70bB	
<b>40</b>	64,17±8,57aA	30,83±6,33bB	

EPM = Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Glimmix; NEP = nematoides entomopatogênicos; *P* = probabilidade; HP88 = *Heterorhabditis bacteriophora*; LPP7= *Heterorhabditis baujardi*.

Os resultados obtidos na observação diária das larvas de *S. calcitrans* depositadas em armadilhas de White (WHITE, 1927) adaptadas, após a exposição de solução de vinhoto contendo nematoides entomopatogênicos, os cadáveres das larvas apresentaram uma mudança em sua coloração e pode ser observada a formação e emergência de juvenis infectantes e nematoides adultos (Figura 4), confirmando a infecção das larvas da “mosca dos estábulos” revelando o final do ciclo biológico dos nematoides.



**Figura 4.** Larva de *Stomoxys calcitrans* parasitada por *Heterorhabditis bacteriophora* – HP88, em armadilha de WHITE (WHITE, 1927) adaptada, após a exposição da solução de vinhoto à 34 °C.

## 5 DISCUSSÃO

Em estudo realizado Shapiro-Ilan et al., (2003) testando a virulência de *Heterorhabditis bacteriophora* – HP88 e fungos entomopatogênicos coletados de vários locais dos EUA, verificaram taxas semelhantes quando comparadas ao presente estudo, mostrando a ocorrência de 30% de mortalidade das larvas de besouros da família Curculionidae em plantações de pêssegos, através do controle biológico realizados por esses agentes. A taxa média de mortalidade de larvas de *S. calcitrans* observada no presente estudo, corrobora com a taxa obtida Shapiro-Ilan et al., (2003), a qual também foi de 30% no grupo com presença de nematoide *H. bacteriophora* – HP88, pois quando comparada com *Heterorhabditis baujardi* – LPP7, diferiu de forma estatística, mostrando que houve ação do nematoide em solução de vinhoto.

Após a morte das larvas de *S. calcitrans*, elas foram alocadas em armadilhas de White (WHITE, 1927) adaptadas, de acordo com cada grupo e temperatura, para a obtenção de juvenis infectantes de cada linhagem de NEP testada. Essas armadilhas foram observadas diariamente, com a finalidade de verificar a presença de JIs e adultos nas larvas, comprovando a mortalidade e infecção das larvas destas, pela presença de NEPs no interior das larvas, concluindo o ciclo dos NEPs. Todos os cadáveres de larvas de *S. calcitrans*, apresentaram uma leve mudança de cor, devido a septicemia causada pelas bactérias, ficando mais escuras, assim como descreveu Leal et al., (2017). As larvas mortas expostas ao *H. bacteriophora* e *H. baujardi* apresentaram em todas as temperaturas a formação e liberação de juvenis infectantes e NEPs adultos.

Ocorreu uma diminuição na emergência de adultos no grupo com a presença de *H. bacteriophora*, independente das temperaturas usadas no presente estudo, mostrando que houve ação dos NEPs, devido a diminuição na viabilidade da emergência de adultos, pois a taxa média de emergência nesse grupo foi de 57,36%, enquanto que no estudo realizado por Mendes et al. (2016), demonstrou uma viabilidade acima de 74% de emergência de moscas em todos os grupos do segundo experimento do estudo, nesse estudo foram avaliados larvas de terceiro instar, alocadas em dieta de crescimento larval contendo vinhoto e cinzas. Já o grupo com *H. baujardi* apresentou uma baixa emergência de adultos apenas nas temperaturas de 37 e 40 °C, com taxas de emergência de adultos de 39,17% e 30,83% respectivamente. Desta forma pode ser observado que estes NEPs causaram infecção das larvas a ponto de influenciar negativamente a emergência de

adultos, visto que as temperaturas 37 e 40 °C, são citadas por DOLINSKI e MOINO-JR, (2006) como aquelas em que estes NEPs apresentam maior virulência.

Não houve diferença estatística significativa na mortalidade larval nos grupos com *H. bacteriophora* entre as temperaturas, mesmo sendo observada maiores médias nos grupos com 34 e 37 °C, entretanto o grupo com *H. baujardi* aponta uma mortalidade larval maior em temperatura relativamente mais alta (37 e 40 °C), mostrando ser mais eficiente nestas temperaturas, diferindo dos resultados obtidos por Kaya (1990), onde as melhores temperaturas para ação dos NEPs no solo foram de 12 a 28 °C e sugere que altas temperaturas podem intensificar a movimentação de alguns isolados de NEPs, proporcionando maior gasto energético, o que pode resultar em menor patogenicidade. O mesmo foi verificado por Ferreira (2015) no estudo com cochonilha do abacaxizeiro, *Dysmicoccus brevipes*, em condições de laboratório, também foi observado no grupo com a temperatura de 34 °C. Por outro lado, Minas (2008), observaram uma maior mortalidade larval na temperatura de 28 °C com *H. baujardi* - LPP7 frente a mosca do mediterrâneo (*Ceratitis capitata*). Já de acordo com Grewal et al., (2001) cada nematoide tem uma temperatura ótima de desenvolvimento e infecção, e uma baixa temperatura pode afetar seu desempenho. Portanto, o estudo das temperaturas, ajuda a compreender e definir as melhores condições para os JIs atuarem, aumentando sua persistência no solo e favorecendo sua ação no campo em programas de controle biológico.

A ação de nematoides em pupas, é um pouco mais complexa, pois a infecção de pupas, ocorre ainda quando larva, já que para ocorrer a infecção direta na pupa seria necessário que o NEP seja do tipo cruser (KAYA; GAUGLER, 1993), o qual necessita de movimentação do seu hospedeiro para que ocorra a infecção, o que não ocorre com as pupas. De acordo com Leal et al., (2017), a mortalidade de pupas verificada, ocorreu devido a infecção ainda no período larval, acarretando a não formação dos adultos dentro da pupa após a mudança de fase, restando ao final do experimento, o pupario com conteúdo deteriorado em seu interior. Essa ação nas pupas também foi observada em ambos os grupos com presença de nematoides no presente estudo, assim como Minas, (2008) verificaram a mortalidade de pupas e diminuição da viabilidade de mosca do mediterrâneo (*Ceratitis capitata*) após exposição ao *H. baujardi* - LPP7, onde obteve uma mortalidade pupal acima de 90% em temperaturas 24 e 28 °C, essa mortalidade está

relacionada a concentração de juvenis infectantes, pois quanto mais alta foi a concentração de nematoides testada, maior foi a mortalidade obtida.

A temperatura é um fator ambiental determinante para o desenvolvimento de moscas (Lysyk, 1998), sendo importante ressaltar que *S. calcitrans* se desenvolve em substratos com temperaturas médias distintas (18,8 - 35,5 °C), no estudo se observou apenas uma redução da emergência de adultos nos grupos com presença de NEPs, pois no grupo com *H. bacteriophora* – HP88 essa redução foi observada em todas as temperaturas usadas no estudo (25,28, 31, 34, 37 e 40 °C), enquanto que o grupo com presença de *H. baujardi* – LPP7, essa diminuição na emergência de adultos foi observada apenas nas temperaturas 37 e 40 °C, mostrando que a ação dos NEPs ocorre após a infecção das larvas em função da temperatura e do vinhoto, reduzindo a viabilidade da mosca dos estábulos. De forma semelhante, Lysyk (1998) observou maior sobrevivência de imaturos de *S. calcitrans* em temperaturas de 20-23°C e Berry et al.; (1976) observaram o desenvolvimento de ovo a adulto em temperaturas superiores a 30°C em substratos com feno, demonstrando que por si só a temperatura não afetaria as larvas a ponto de causar mortalidade.

Mukuka et al.; (2010), analisaram populações naturais de *H. bacteriophora* expostos à altas temperaturas, e identificaram uma faixa de tolerância de 33,3 °C a 40,1 °C, destacando que temperaturas mais altas podem afetar o crescimento, a infectividade e a reprodução de nematoides, sendo possível verificar no presente estudo a diminuição da infectividade e reprodução dos nematoides em larvas no grupo com *H. bacteriophora* –HP88 expostas a 40°C, que obteve uma taxa de mortalidade larval de 10,83%. Enquanto, no grupo com presença do *H. baujardi* – LPP7, se observou as maiores taxas de mortalidade larval nas temperaturas de 37 e 40 °C, com 20,83% e 31,67% respectivamente, sendo essas taxas as maiores observadas entre as temperaturas testadas no estudo.

Em estudo realizado por Monteiro (2014), com fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, foram utilizadas diferentes concentrações de *H. bacteriophora* - LPP1/fêmea ingurgitada, em temperatura de laboratório de 27±1 °C e UR>80%, verificou-se que houve diminuição no período de sobrevivência das mesmas a partir da concentração de 300 JI/fêmea ingurgitada, causando competição do nematoide pelo substrato. Monteiro Sobrinho et al., (2016) demonstraram que conforme se elevam as concentrações de NEP/larva de *S. calcitrans* em torta de filtro, a mortalidade larval aumenta, pois os NEPs procuram rapidamente infectar seus hospedeiros para garantir seu

alimento. Nesse estudo foram utilizadas as concentrações de 0, 25, 50, 100, 150 e 200 NEP/ larva, de *Heterorhabditis bacteriophora* –HP88, com médias de mortalidade larval de 6,67, 38,33, 64,00 63,33, 76,67 e 83,30%, respectivamente, mostrando que não houve competição pelo hospedeiro. Entretanto em estudo utilizando *Steinernema feltiae* para controlar larvas de *S. calcitrans*, realizado por Mahmoud et al., (2007), apontou uma mortalidade larval de 100% em concentrações de 80 e 100 NEP/larva, sendo um resultado superior, ao resultado do estudo realizado por Monteiro Sobrinho et al., (2016), indicando que *S. feltiae* aparentemente seria mais eficiente para o controle de *S. calcitrans*, entretanto, a exemplo de outros autores, no estudo de Mahmoud et al., (2007) não havia o substrato torta de filtro, que também pode ter interferido sobre a ação dos NEP. Sendo assim o mesmo pode ter ocorrido no presente estudo, onde havia a presença de nematoide juntamente com vinhoto em altas temperaturas, diminuindo a eficiência do *H. bacteriophora*.

## **6 CONCLUSÕES**

De acordo com os resultados apresentados neste estudo, ocorre infecção nos estágios imaturos de *S. calcitrans*, pela ação dos nematoides entomopatogênicos, quando adicionados a solução vinhoto a 50%, em diferentes temperaturas, entretanto foi observado uma baixa mortalidade larval causada pela ação dos nematoides de acordo com a temperatura utilizada. Porém foi possível verificar uma diminuição na viabilidade de pupas e adultos de *S. calcitrans*, sugerindo a utilização de nematoides entomopagênicos para o controle biológico.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estudo fornece dados que podem ser utilizados e extrapolados para outras espécies de dípteros de importância médico-veterinária, entretanto, ainda são necessários, mais estudos para comprovar a eficiência do *H. bacteriophora* e *H. baujardi*, e verificar a influência de fatores ambientais e limitações para que os mesmos possam ser associados aos subprodutos gerados pela indústria sucroalcooleira e determinar a maneira adequada para seu uso no controle biológico.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, L. F.; ROHDE, A. C.; ALVES, V. S. Patogenicidade de *Steinernema glaseri* e *S. carpocapsae* (Nematoda: Rhabditida) contra o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical Entomology*, v.34, p.139-141, 2005.
- ALVES, S. B. Controle Microbiano de Insetos. 2a ed., São Paulo: FEALQ, 1998, 1163p, 1998.
- ANDERSON, J.R. Mating behavior of *Stomoxys calcitrans* / Effects of a blood meal on the mating drive of males and its necessity as a prerequisite for proper insemination of females. *J. Econ. Entomol.*, v.71 n.(2): p. 379-386, 1978.
- Associação dos Produtores de Bioenergia de Mato Grosso do Sul – BIOSUL. Bioenergia [online]. Campo Grande; 2014 [cited 2014 Dec 17]. Disponível em: <http://www.biosulms.com.br/bioenergia>.
- 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, n.11, p.945-952, 2010.
- BARROS, T. M. et al., 2014. Metodologia para bioensaios com imaturos de *Stomoxys calcitrans*. Embrapa Gado de Corte – Metodologia.
- BERRY I.L., FOERSTER K.W. e ILCKEN E.H. 1976. Predict on model for development time of stable flies. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* v.19, p.:123-127, 1976.
- BISHOPP, F.C. The stable fly (*Stomoxys calcitrans*: L.) an important live stock pest. *Jornal of Economic Entomology*, v.6, n.1, p.112-116, 1913.
- BITTENCOURT, A. J. Aspectos clínico-epidemiológicos de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) em bovinos e eqüinos em Espírito Santo do Pinhal - SP. 1998. 120f. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1998.
- BITTENCOURT, A. J. Outbreak of assessmentan and denvironmental control measures for *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) in southeast of Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, v. 34, n. Supl.1, p. 73-82, 2012.
- BRUCE, W. N.; DECKER, G. C. The relationship of stable fly abundance to milk production in dairy cattle. *Journal of Economic Entomology*, v.51, n.3, p.269-274, 1958.
- BRUNO, T. V.; GUIMARAES, J. H.; SANTOS, A. M. M. D. e TUCCI, E. C. Synantropic flies (Diptera) and their predators breeding in poultry manure in the state of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v.37, n.3, p.577-590, 1993.

BURALLI G.M., BORN R.H., GEROLA O. e PIMONT M.P. Soil disposal of residues and the proliferation of flies in the State of São Paulo. *Water Science and Technology*, 19: 121-125, 1987.

BUSSOLA, R. A.; TAVARES, F. M; GOULART, R. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; AMBROS, C. M. G. Avaliação do nematoide *Heterorhabditis* sp. em cultura de violetas contra larvas de *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.71, p.113-114, 2004.

CAMPBELL, J. B.; BERRY, I. L.; BOXLER, D. J.; DAVIS, R. L.; CLANTON, D. C.; DEUTSCHER, G. H.; Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) on weight gain and feed efficiency of feedlot cattle. *Journal of Economic Entomology*, v.80, n.1, p.117-119, 1987.

CARRERA, M. Insetos de interesse Médico Veterinário. Curitiba: Editora da UFPR, 1991, 228p.

CASTRO B.G., SOUZA M.M.S. e BITTENCOURT A.J. Microbiota bacteriana em segmentos de mosca do estábulo *S. calcitrans* no Brasil: primeiro relato de espécies. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 60:1029-1031, 2008.

CORRÊA, E.C., RIBAS A.C.A., CAMPOS, J. e BARROS A.T.M. Abundância de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em diferentes subprodutos canavieiros. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.33, p.:1303-1308, 2013.

COSTA, J.C.R.; DIAS, R. J. P.; MORENZ, M J F. Determining the adaptation potential of entomopathogenic nematode multiplication of *Heterorhabditis baujardi* and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) in larvae of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Parasitology Research*. v. 102, p. 139-144, 2007.

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

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

CASTRO, B.G. et al., Occurrence of shiga-toxigenic *Escherichia coli* in *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal*, v. 22, n. 2, p. 318-321, June 2013 . Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612013000200052>. Acesso em 16 de Agosto de 2019.

DEL VALLE, E. E. Avaliação de Metodologias de seleção para tolerância a elevadas temperaturas em *Heterorhabditis baujardi* (Nematoda: Rhabditida). *Nematologia Brasileira*, Piaracicaba, n. 29, n.2, p. 207-214, 2005.

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

DOLINSKI, C e A. MOINO JR. Utilização de nematoides entomopatogênicos Nativos ou Exóticos: O Perigo das Introduções. *Nematologia Brasileira*. v. 30, p. 139-149. 2006.

DOLINSKI, C. Uso de nematoides entomopatogênicos para o controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA JR., T. J.; PALLINI, A. (Org.). *Tecnologias Alternativas para o Controle Pragas e Doenças*, Viçosa, UFV, p.261-289, 2006.

DOLINSKI, C; MOINO JR. A utilização de nematoides entomopatogênicos nativos ou exóticos: O Perigo das Introduções. *Nematologia Brasileira*, v.30, p.139-149, 2006.

DOMINGHETTI, T. F. S. Dinâmica populacional e surtos de *Stomoxys calcitrans* em usina sucroalcooleira e propriedades pecuárias adjacentes. Ano 2017. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2017.

DOMINGHETTI, T. F. S.; BARROS, A. T. M.; SOARES, C.O.; CANÇADO, P. H. D. Surtos por *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) no Brasil: situação atual e perspectivas. *Rev. Bras. Parasitol. Vet. [online]*. 2015, vol.24, n.4, pp.387-395. ISSN 0103-846X. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015079>. Acesso em 24 de setembro de 2019.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides entomopatogenicos. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FAPESP e FEALQ. 1998. p.541-569, 1998.

FERREIRA, K. D. S. Avaliação da patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à cochonilha do abacaxizeiro *Dysmicoccus brevipes*, em condições de laboratório. Tese (Mestrado). Ano 2015. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ. Ano 2015.

FOIL, L. D.; HOGSETTE, J. A. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Revue Scientifique et Technique*, v.13, n.4, p.1125-1158, 1994.

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

GAUGLER, R.; CAMPBELL, J. F.; MCGUIRE, T. R. Selection for host-finding in *Steinernema feltiae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.54, p.363-372, 1989.

GREENBERG, B. Flies and diseases. Vol II: Biology and diseases transmission. Princeton: Princeton University Press, 1973. 447p.

GREWAL, P. S., GREWAL, S. K., TAN, L., e ADAMS, B. J. Parasitism of molluscs by nematodes: types of associations and evolutionary trends. *Journal of nematology*, v.35 n.(2), p.146–156, 2003.

GREWAL, P. S.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. *Neotropical Entomology*, v.30, p.191-205, 2001.

GRISI, L.; LEITE, R.C., MARTINS, J.R., BARROS, A.T.M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P.H.D. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2014; 23(2): 150-156. PMid:25054492. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014042>.

GUIMARAES, J. H. Moscas - Biologia, ecologia e controle. *Agroquímica Ciba-Geigy*, n.21, p. 20-26, 1983.

HANSENS, E. J. The stable fly and its effects on seashore recreational areas in New Jersey. *Journal of Economic Entomology*, v.44, n.4, p.482-487, 1951.

HAZIR, S.; KAYA, H.K.; STOCK, P.; KESKIN, N. Entomopathogenic nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) for biological control of soil pests. *Turkish Journal of Biology*, v.27, p.181-202, 2003.

HERRERO, M. V.; MONTES, L.; SANABRIA, C.; SANCHEZ, A.; HERNANDEZ, R. Estudio inicial sobre la mosca de los establos *Stomoxyx calcitrans* (Diptera: Muscidae), em laregiondel pacifico sur de Costa Rica. *Ciências Veterinárias*, v.XI, n.2 e 3, p.11- 14, 1989.

KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, v.38, p.181-206, 1993.

KAYA, H. K.; STOCK, P. Techniques in insect nematology. In: LACEY, L.A. (Ed.). *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic, CA., 1997., p. 281–324, 1997.

KAYA, H.K. Soil Ecology. In: Gaugler, R.; Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press: Boca Raton, p. 93-116, 1990.

KING, W. V.; LENERT, L. G. Outbreaks of *Stomoxyx calcitrans* L. ('dog flies') along Florida's north west coast. *Florida Entomologist*, v.19, n.3, p.33-39, 1936.

KOPPENNHOFER, A.M.; GREWAL, P.S. Compatibility and Interaction with agrochemicals and biocontrol agents. In: GREWAL, P.S.; EHILERS, R.U.; SHAPIRO, D.I. Nematodes as biocontrol agents. Cambridge: CABI: Publishing Cambridge. 2005. p.364-381, 2005.

LAM, K.; BABOR,D, D.; DUTHIE, B.; BABOR E.M.; MOORE, M; GRIES, G. Proliferating bacterial symbionts on house fly eggs affect oviposition behaviourbehavior of adult flies. *Animal Behavior*, v.74, n.1, p. 81-89, 2007.

LEAL, L. C. S. R.; MONTEIRO, C.M.O.; MENDONÇA, A.E.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; BITTENCOURT, A. J. Potential of entomopathogenic nematodes of the genus

*Heterorhabditis* for the control of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal , v. 26, n. 4, p. 451-456, Dec. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612017065>. Acesso em 05 de Agosto de 2019.

LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; AGUILHERA, M. M.; RODRIGUES, R. C. D.; NEGRISOLI JR. Patogenicidade de *Steinernema spp.* e *Heterorhabditis sp.* (NEMATODA: 90 RHABDITIDA) a ninhas da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar (*Mahanava fimbriolata*). *Revista de Agricultura*, v.78, p.139-148, 2003.

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

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

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

MACHADO. L. A.; HABIB, M.; LEITE, L. G.; CALEGARI, L. C.; GOULART, R. M.; TAVARES, R. M. Patogenicidade de nematoides entomopatogénicos a ovos e larvas de *Migdolusfryanus* (WESTWOOD, 1863) (COLEOPTERA:VESPERIDAE). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.72, p.221-226, 2005.

MAHMOUD, M. F.; MANDOUR, N. S.; POMAZKOV, I. Y. Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* Cross N 33 against larvae and pupae of four fly species in the laboratory. *Nematologia Mediterranea*, v.35, p.221-226, 2007.

MATTOS-JUNIOR, D. G. O impacto econômico causado pela ação das principais moscas que atacam o gado brasileiro. *A Hora Veterinária*, v.6, n.34, p.55-60, 1986.

MELLO R. P.; GARCIA, M. L. Effects of different blood diets on the reproductive activity of female *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). Arquivo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, v.6, n.1, p.75-80, 1983.

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.

MENDES, C. D. O. F., SILVA, A. C., LEAL, L. C. D. S. R., BARBOSA, C. G., e BITTENCOURT, A. J. Biologia de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em

subprodutos da indústria sucroalcooleira. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, v. 38 (Supl. 3), p.31-36, 2016.

MINAS, R.S. Potencial dos nematoides entomopatogenicos como agentes de controle biológico da mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wied.) (diptera: tephritidae). Ano 2008. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos de Goytacazes, RJ, 2008. Acesso em 13 de outubro de 2019. Disponível em: [http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=120135](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=120135)

MONTEIRO SOBRINHO, A.C.; MENDES, C. O. F.; LEAL, L. C. S. R.; BITTENCOURT, A. J. Virulência de *Heterorhabditis bacteriophora cepa HP88* (Rhabditida: Heterorhabdidae) sobre larvas de *Stomoxys calcitrans* (Diptera:Muscidae) em dieta de torta de filtro. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 38, p. 16-22, 2016.

MONTEIRO, C. M. O. Controle de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) com nematoides entomopatogenicos: aplicação em formulação inseto cadáver e compatibilidade com outros agentes de controle. 2014. 175p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

MORAES, A. P. R.; BADINI, P. V.; SOUZA, M. M. S.; BITTENCOURT, A J. Avaliação da capacidade de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) em carrear bactérias envolvidas nas etiologias das mastites de municípios do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.13, n.4, p.143-149, 2004.

MOURA, F. V.C. C., 2015. Desenvolvimento de substratos para criação de mosca-dos-estábulos *Stomoxys calcitrans* (diptera: muscidae) em laboratório [Tese]. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. 2015.

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

MUKUKA J, STRAUCH O, HOPPE C, EHLERS R-U. Improvement of heat and desiccation tolerance in *Heterorhabditis bacteriophora* through cross breeding of tolerant strains and successive genetic selection. *Biocontrol*. v.55 p. 511–521, 2010.

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

NEVES, J.M.; SIMOES, N.; MOTA, M. 1999. Nematoides Entomopatogenicos: Uso e novas perspectivas. *Boletim de Biotecnologia*. v. 64, p.23-29, 1999.

PARR, H. C. M. Studies on *Stomoxys calcitrans* (L.) in Uganda, East Africa. II. Notes on life – history and behavoir. *Bulletin De La Societe Entomologique D'Egite*, v.53, n.2, p.437-443, 1962.

PATRA G., BEHERA P., DAS S.K., SAIKIA B., GHOSH S., BISWAS P., KUMAR A., ALAM S.S., KAWLNIL., LALNUNPUIA C., LALCHHANDAMA C., BACHAM M., DEBBARMA A. *Stomoxys calcitrans* and its importance in livestock: a review. *International Journal of Advance Agricultural Research*, v.6, n.2, p.30-37, 2018.

PHAN LK, SUBBOTIN SA, NGUYEN CN, MOENS M 2003. *Heterorhabdits baujardi* sp. n. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Vietnam with morphometric data for *H. indica* populations. *Nematology*, v. 5, p. 367-382, 2003.

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

SCHOFIELD, S. e TORR S.J. A comparation of the feeding behavior of tse tse and stable flies. *Med. Vet. Entomol.*, 16:177- 185, 2002.

SHAPIRO-ILAN, D. I., GARDNER, W. A., FUXA, J. R., WOOD, B. W., NGUYEN, K. B., ADAMS, B. J., e HALL, M. J. (2003). Survey of entomopathogenic nematodes and fungi endemic to pecan orchards of the Southeastern United States and their virulence to the pecan weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 32(1), 187-195, 2003. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-32.1.187>

SIMMONS S.W. Observation son the biology of the stable fly in Florida. *Journal of Economic Entomology*, v. 35, p. 680-686, 1944.

STILWELL M.D., CAO M., GOODRICH-BLAIR H., WEIBEL D.B.. Studying the Symbiotic Bacterium *Xenorhabdus nematophila* in Individual, Living *Steinernema carpocapsae* Nematodes Using Microfluidic Systems. 2018. Acesso em 24 de agosto de 2024. Disponível em: 10.1128/mSphere.00530-17.

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

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

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

SUTHERLAND, B. The suit ability of various types of dung and vegetable matteras larval breeding media for *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae). On der stepoort *Journal of Veterinary Research*, v.45, p.241-243, 1978a.

TAYLOR, D. B.; MOON, R. D.; MARK, D. R. Economic impact of stable flies (Diptera: Muscidae) on dairy and beefcattle production. *Journal of Medical Entomology*, v.49, p.198-209, 2012.

TAYLOR, D. B.; SZALANSKI A. L.; ADAMS B. J.; PETERSON II R. D. Susceptibility of house fly (Diptera: Muscidae) larvae to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae). *Environmental Entomology* v.27, p.1514-1519, 1998.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. N.; JENNINGS, F. N. *Parasitologia Veterinária*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 273p. 1996.

WEIBLEN R. Doenças víricas, p.41-44. In: Riet-Correa F., Schild A.L. e Méndez M.D.C. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Eqüinos*, UFPel, 1998.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, v.66, p.302-303, 1927.

WIEMAN, G. A.; CAMPBELL, J. B.; DESHAZER, J. A.; BERRY, I. L. Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) and heat stress on weight gain and feed efficiency of feeder cattle. *Journal of Economic Entomology*, [S. l.], v. 85, 1 out. 1992. 5, p. 1835–1842.