



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**



IDENTIFICAÇÃO DO BACTERIOMA DE *Stomoxys calcitrans* E POTENCIAL IMPACTO ECONÔMICO À PECUÁRIA DOS SURTOS ASSOCIADOS AO SETOR SUCROENERGÉTICO

ERONIDES MARQUES DE SOUZA

**Campo Grande – MS
2022**

ERONIDES MARQUES DE SOUZA

IDENTIFICAÇÃO DO BACTERIOMA DE *Stomoxys calcitrans* E POTENCIAL IMPACTO ECONÔMICO À PECUÁRIA DOS SURTOS ASSOCIADOS AO SETOR SUCROENERGÉTICO

*Identification of *Stomoxys calcitrans* bacteriome and potential economic impact on livestock from outbreaks associated with the sugar-energy sector*

ERONIDES MARQUES DE SOUZA

Orientador: Dr. Flávio Ribeiro de Araújo

Coorientadores: Dra. Lenita Ramires dos Santos

Dr. Paulo Henrique Duarte Cançado

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Veterinárias

**Campo Grande – MS
2022**

Inserir Certificado de Aprovação em Comissão de Ética (não aplicável)

DEDICATÓRIA

Dedico a finalização desse trabalho aos meus pais:

Celso Marques de Souza (*in memoriam*) e Eronides Menezes de Souza

Exemplos de dedicação e amor

Dedico à minha filha Bárbara Heloíse Marques de Souza, minha inspiração

Amo vocês

NÃO COLOQUE LIMITES EM SEUS SONHOS...

COLOQUE FÉ...

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por minha saúde e por todas as oportunidades que tenho recebido. Gratidão Senhor!

Agradeço à minha família. Agradeço aos meus pais que sonharam grandes conquistas em minha vida pessoal e profissional e não mediram esforços em me dar estudos, proporcionando-me exemplos de caráter e dedicação infinitos. Agradeço à minha filha Bárbara Heloíse, pela paciência e compreensão e apoio nos estudos. Agradeço aos meus irmãos Celso, Everaldo e Erasmo; às minhas cunhadas Lourdes e Suélen por todo apoio incentivo que me deram nesta etapa e meus sobrinhos Bruna, Vinícius e Júlia Maria pelos momentos de descontração nos dias tensos.

Agradeço à eterna professora Dra. Ana Luiza Alves Rosa e Ana Carla Gomes, pelos primeiros incentivos nesta caminhada.

Agradeço ao Dr. Flávio Ribeiro de Araújo e aos meus coorientadores Dra. Lenita Ramires dos Santos e Dr. Paulo Henrique Duarte Cançado. Gratidão aos mestres pelos conhecimentos, confiança e paciência a mim dispensados. Grata por terem me aceitado como orientada. Recebam meu respeito e admiração.

Agradeço à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e toda equipe de coordenação, professores e em especial ao Fernando e Ricardo, pelo apoio da secretaria do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias.

Agradeço à EMBRAPA – CNPCG, funcionários e técnicos componentes do Laboratório de Entomologia Médica Veterinária, pela doação dos exemplares de moscas cultivadas no mesmo, os quais nos serviram como objetos de estudo; e o Laboratório de Engenharia Genética Animal, em especial à técnica Maria Goretti dos Santos pelo empenho e interesse incansáveis na execução dos procedimentos laboratoriais para desenvolvimento de nossa pesquisa.

Agradeço às colegas do LEGA (Embrapa – CNPGC), em especial à amiga Cynthia Mantovani pelo acolhimento inicial e pela valiosa amizade. Ao amigo Luiz Orcírio pela motivação e conselhos; ao Dr. Antônio Thadeu Medeiros de Barros pela contribuição do aperfeiçoamento e finalização da tese.

Agradeço à CAPES (agente financiador) e à BIOSUL (monitoramento dos surtos, informações, apoio a coletas).

Agradeço a todos os amigos, que direta ou indiretamente, me apoiaram nessa jornada. Vocês são inesquecíveis. Compartilho com vocês essa conquista.

RESUMO

Souza, E. M., Identificação do bacterioma de *Stomoxys calcitrans* e potencial impacto econômico à pecuária dos surtos associados ao setor sucroenergético. 2022. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022

Mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*) é um inseto que parasita diversos grupos de animais, incluindo os seres humanos. Nas últimas décadas, surtos desta mosca têm sido registrados em várias regiões do país, com destaque para municípios de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais e São Paulo. Estas áreas se caracterizam pela expansão do setor sucroenergético, o que pode justificar a presença dos surtos, uma vez que, com a proibição da queima pré-colheita a palhada da cana-de-açúcar passou a se acumular nas plantações e umedecida com vinhaça tornando-se um ambiente propício para o desenvolvimento larvar. Por ser um inseto hematófago e realizar picadas dolorosas, *S. calcitrans* causa perdas econômicas na bovinocultura interferindo na saúde do animal e, conseqüentemente, diminuindo sua produção. Algumas pesquisas indicam a importância de *S. calcitrans* como possível vetor mecânico e biológico de diversos agentes patogênicos, porém poucos estudos foram realizados envolvendo situações de campo, assim como, a identificação e o isolamento de microorganismos em moscas selvagens. Os objetivos do presente estudo foram estimar o impacto econômico provenientes dos surtos desta mosca na bovinocultura, como também os prejuízos anuais às usinas sucroenergéticas brasileiras; e paralelamente, com auxílio da metagenômica e bioinformática, identificar o bacterioma presente em DNA extraídos das mosca-dos-estábulo. O potencial impacto econômico anual dos surtos, associados às usinas sucroenergéticas estimado foi de R\$ 1,065 bilhões (US\$ 205,38 milhões) para a bovinocultura brasileira. Enquanto o potencial prejuízo estimado às indústrias sucroenergéticas acumularam valores de R\$ 43,743 milhões (US\$ 8,428 milhões) ao ano. O montante final dos prejuízos financeiros aos setores de bovinocultura e bioenergético brasileiro, foi de R\$ 1.109.667.348,27 (US\$ 213.808.737,62). Através das análises de metagenoma foi identificada vasta diversidade de bactérias, destacando quatro filos Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria. As bactérias do filo Proteobacteria foi o que apresentou maior frequência relativa nos três grupos de amostras de DNA de mosca-dos-estábulo, porém as amostras do Pátio II (Embrapa) foi o que apresentou maior variedade de filos de bactérias. Estudos futuros serão necessários para um melhor conhecimento da abrangência de bactérias carregadas por *S. calcitrans*, assim como a necessidade de uma maior compreensão a respeito da dinâmica relacionada com a dispersão dos patógenos de importância na bovinocultura. Antecipar cenários pode ser o ponto de partida para o desenvolvimento de processos preventivos ligados à mosca-dos-estábulo em toda estrutura que envolve as atividades sucroenergéticas e sistemas produtivos pecuários em suas proximidades.

Palavras-chave: Bioinformática, DNA, Metagenômica, Mosca-dos-estábulo, Prejuízos.

Abstract

Souza, E. M., Identification of *Stomoxys calcitrans* bacteriome and potential economic impact on livestock from outbreaks associated with the sugar-energy sector. 2022. Doctoral Thesis – Graduate Program in Veterinary Sciences. College of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

Stable fly (*Stomoxys calcitrans*) is an insect that parasitizes several groups of animals, including humans. In recent decades, outbreaks of this fly have been recorded in several regions of the country, especially in cities of Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais and São Paulo. These areas are characterized by the expansion of the sugar-alcohol industry, which may justify the presence of the outbreaks, since, with the prohibition of pre-harvest burning, the sugarcane straw started to accumulate in plantations and moistened with vinasse, making it an environment conducive to larval development. As it is a hematophagous insect and causes painful bites, *S. calcitrans* causes economic losses in cattle, interfering in the health of the animal and, consequently, reducing the production. Some researches indicate the importance of *S. calcitrans* as a possible mechanical and biological vector of several pathogens, but few studies have been carried out involving field situations, as well as the identification and isolation of microorganisms in wild flies. The objectives of the present study were to estimate the economic impact resulting from the outbreaks of this fly in cattle, as well as the annual losses to Brazilian sugar-energy industry; and at the same time, with the aid of metagenomics and bioinformatics, to identify the bacteriome present in DNA extracted from stable flies. The potential annual economic impact of the outbreaks, associated with the sugar-energy industry, was estimated at R\$ 1,065 billion (US\$ 205,38 million) for Brazilian cattle. While the estimated potential damage to the sugar-energy industries accumulated values of R\$ 43,743 million (US\$ 8,428 million) per year. The final amount of financial losses to the Brazilian cattle and bioenergy sectors was R\$ 1.109.667.348,27 (US\$ 213.808.737,62). Through metagenome analysis, a vast diversity of bacteria was identified, highlighting four phyla Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria. The bacteria of the Proteobacteria phylum showed the highest relative frequency in the three groups of stable fly DNA samples, but the samples from Patio II (Embrapa) showed the greatest variety of bacterial phyla. Future studies will be necessary for a better understanding of the range of bacteria carried by *S. calcitrans*, as well as the need for a better understanding of the dynamics related to the dispersion of the pathogens of importance in cattle farming. Anticipating scenarios can be the starting point for the development of preventive processes linked to the stable fly in the entire structure that involves sugar-energy activities and cattle raising systems in its vicinity.

Keywords: Bioinformatics, DNA, Losses, Metagenomics, Stable fly.

LISTA DE FIGURAS

 (I ARTIGO) POTENCIAL IMPACTO ECONÔMICO À PECUÁRIA DOS SURTOS POR *Stomoxys calcitrans* ASSOCIADOS AO SETOR SUCROENERGÉTICO

- Figura 1. Número de municípios, por estado, afetados por surtos da mosca-dos-estábulo associados às usinas bioenergéticas 32
- Figura 2. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bovinocultura de leite no Brasil 34
- Figura 3. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bovinocultura de corte no Brasil 35
- Figura 4. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bovinocultura no Brasil 37
- Figura 5. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo ao setor bioenergético no Brasil 38
- Figura 6. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bovinocultura e ao setor bioenergético no Brasil 39
- Figura 7. Distribuição espacial de salários mínimos potencialmente disponíveis pela equiparação dos prejuízos econômicos municipais por surtos de *Stomoxys calcitrans* associados às usinas bioenergéticas 41

 (II ARTIGO) IDENTIFICAÇÃO DO BACTERIOMA DE *Stomoxys calcitrans*

- Figura 1. Armadilha modelo Vavoua para captura de moscas *Stomoxys calcitrans* 54
- Figura 2. Armadilha modelo Nzi para captura de moscas *Stomoxys calcitrans* 55
- Figura 3. Eletroforese das amostras de DNA extraídos de moscas *Stomoxys calcitrans* (16S). Canaletas 0 Gel A e Gel B – Marcador molecular 1 Kb plus DNA leader (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA); Gel A: Canaleta 1 – Pátio I (colônia); Canaleta 2 – Pátio II (Embrapa); Gel B: Canaleta 3 – Pátio III (usina) 60
- Figura 4. Frequência relativa dos filos de bactérias encontrados nas amostras de

DNA extraído de *S. calcitrans* (16S), coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina) 61

Figura 5. Diversidade de filos de bactérias encontrados nas amostras de DNA extraídos de *S. calcitrans* (16S), coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina) 62

LISTA DE TABELAS

(I ARTIGO) POTENCIAL IMPACTO ECONÔMICO À PECUÁRIA DOS SURTOS POR *Stomoxys calcitrans* ASSOCIADOS AO SETOR SUCRONERGÉTICO

- Tabela 1. Potenciais prejuízos econômicos municipais decorrentes de surtos por *Stomoxys calcitrans* à pecuária bovina e às usinas bioenergéticas em 2020, equiparados em número de salários mínimos 40

(II ARTIGO) IDENTIFICAÇÃO DO BACTERIOMA DE *Stomoxys calcitrans*

- Tabela 1. Relação de amostras selecionadas de DNA extraídos de *S. calcitrans*, coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina) 58
- Tabela 2. Sequência dos oligonucleotídeos utilizados na amplificação da região 16S (V4) das amostras de DNA extraído de *Stomoxys calcitrans*, coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina) 59
- Tabela 3. Quantificação e pureza do DNA (ng/μL) extraído de *Stomoxys calcitrans* (16S), coletadas Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina) ... 60
- Tabela 4. Porcentagem da frequência de cada filo das bactérias encontradas nas amostras de DNA extraído de *S. calcitrans* (16S), coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina) 62

SUMÁRIO

RESUMO	VI
Abstract	VII
1.INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
4. (I ARTIGO) POTENCIAL IMPACTO ECONÔMICO À PECUÁRIA DOS SURTOS POR <i>Stomoxys calcitrans</i> ASSOCIADOS AO SETOR SUCRONERGÉTICO	23
5. (II ARTIGO) IDENTIFICAÇÃO DO BACTERIOMA DE <i>Stomoxys calcitrans</i>	48
6. CONSIDERAÇÕES/CONCLUSÃO (GERAL).....	70
7. IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E / OU INOVAÇÃO	72

1. INTRODUÇÃO GERAL

2 A cadeia produtiva da pecuária bovina e o setor sucroenergético têm
3 sido atingidos direta e indiretamente por surtos de *Stomoxys calcitrans*,
4 popularmente conhecida como “mosca-dos-estábulo” ou “mosca-da-vinhaça”.

5 A mosca-dos-estábulo é um inseto que pode parasitar bovinos,
6 equinos, suínos, aves e cães, dentre outros animais, inclusive os seres
7 humanos (BISHOPP, 1913; HANSENS, 1951; FOSBROOKE, 1963).

8 Nas últimas décadas, surtos desta mosca, associados a usinas
9 sucroenergéticas, têm causado sérios problemas a vários municípios
10 brasileiros.

11 A presença de substratos úmidos de cana-de-açúcar, originados do
12 beneficiamento da mesma, usados em fertirrigação por exemplo, propiciam a
13 permanência e multiplicação da mosca de forma exponencial (ARAÚJO *et al.*,
14 2018).

15 Por ser um inseto hematófago, realiza picadas dolorosas, tornando-as
16 de forma intermitentes, assim *S. calcitrans* alimenta-se do sangue de vários
17 hospedeiros em um único repasto. O estresse e o desconforto contínuo que
18 provoca nos animais, podem causar perdas econômicas, pois interfere na
19 saúde e bem estar do animal e, conseqüentemente, leva a uma diminuição na
20 sua produção (BALDACCHINO *et al.*, 2013). Nesta revisão, os autores
21 destacaram a importância de *S. calcitrans* como possível vetor mecânico e
22 biológico de diversos agentes patogênicos. Porém poucos estudos foram
23 realizados em condições de campo, tanto na identificação, como no isolamento
24 de microorganismos presentes nestas moscas.

25 Os objetivos deste estudo foi estimar o impacto econômico proveniente
26 dos surtos desta mosca na bovinocultura, como também os prejuízos anuais às
27 usinas sucroenergéticas brasileiras. Com os dados de registros da ocorrência
28 dos surtos no país até 2020, foram considerados vários parâmetros produtivos.
29 Dentre eles, o número total de animais sob risco nos municípios afetados,
30 correlacionando-os com os possíveis efeitos do parasitismo nos hospedeiros,

31 tais como perdas estimadas na produção de leite e na quantidade de animais
32 que deixaram de ser abatidos, ou seja, a quantidade de carne, convertida em
33 arroba (@) que deixou de ser produzida. A partir dos resultados encontrados,
34 estimou-se potenciais prejuízos econômicos referentes às cadeias produtivas
35 do leite, de carne e da cana-de-açúcar. Os valores monetários dos prejuízos
36 foram estimados e expressos em Real e também convertidos em Dólar.
37 Posteriormente, foi demonstrada a equivalência do valor do prejuízo
38 encontrado, em termos de salários mínimos.

39 Paralelamente, utilizando os recursos da metagenômica aliada à
40 bioinformática, objetivou-se identificar o bacterioma presente em DNAs
41 extraídos das populações de *S. calcitrans* obtidas de três nichos ecológicos
42 distintos. Assim, foi possível comparar a diversidade do bacterioma de moscas
43 presentes na usina sucroenergética e propriedades adjacentes a esta com
44 relação aos demais ambientes coletados. Parâmetros de diversidade e
45 abundância de ocorrência das bactérias foram expressos em frequência
46 relativa.

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60 2. REVISÃO DE LITERATURA

61 Conhecida popularmente como “mosca-dos-estábulo” ou “mosca-da-
62 vinhaça”, *Stomoxys calcitrans* vem despontando como uma das preocupações
63 constantes e crescentes na bovinocultura, bem como ao setor sucroenergético.
64 *S. calcitrans*, é um díptero hematófago e em sua fase adulta, apresenta
65 inespecificidade parasitária, podendo atacar diferentes espécies de animais,
66 como os bovinos, equinos, ovinos, caprinos, caninos, suínos, aves domésticas,
67 animais selvagens (BISHOPP, 1913) e inclusive seres humanos (HOGSETTE
68 *et al.*, 1987).

69 Nas últimas décadas, aumento exponencial da população desta mosca
70 tem sido observado em diversas localidades do país (KOLLER *et al.*, 2009;
71 BARROS *et al.*, 2010; KASSAB *et al.* 2012), caracterizando-se como surtos. A
72 associação da disponibilidade dos substratos vegetais em decomposição com
73 proibições do despejo da vinhaça em corpos d’água, bem como da queima pré
74 colheita da palha de cana-de-açúcar, favorecem o aparecimento dos surtos de
75 *S. calcitrans* nas usinas sucroenergéticas, acarretando sérios problemas à
76 pecuária no entorno dessas usinas (ARAÚJO *et al.*, 2018).

77

78 **Revisão de Literatura Impacto Econômico:**

79 As regiões Sudeste e Centro-oeste do Brasil apresentam registros de
80 surtos em vários municípios, contabilizando significativos prejuízos e
81 promovendo um impacto sócio-econômico negativo de grande expressão.
82 Atualmente, os estados brasileiros que se destacam com ocorrência de surtos
83 dessa mosca são Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso
84 do Sul (KOLLER *et al.*, 2009; GOMES, 2009; BARROS *et al.*, 2010; ODA &
85 ARANTES, 2010; BITTENCOURT, 2012; ALVES, 2012).

86 Este parasito realiza uma picada dolorosa e intermitente, promovendo
87 um incômodo direto ao seu hospedeiro. Os animais ao tentarem se defender
88 desses insetos, apresentam movimentos defensivos bruscos e exagerados da

89 cabeça, membros e cauda, além de marcante alteração no pastejo com
90 comportamento grupal de aglomeração (BERNARDES *et al.*, 2018).

91 Além do estresse contínuo causado pela infestação elevada de mosca-
92 dos-estábulo, somam-se aos prejuízos, as perdas de sangue e redução do
93 consumo de alimentos por estes animais (BITTENCOURT e MOYA, 2002).
94 Além de lesões no couro, a transmissão de agentes patogênicos pode estar
95 associada a esse parasitismo (DE LA FUENTE *et al.*, 2008), contribuindo com
96 perdas significativas na produtividade bovina.

97 Kunz *et al.* (1991), reportaram diminuição de 27 litros de leite por vaca
98 por ano quando infestadas por mosca-dos-estábulo. Guimarães *et al.*
99 (2001) registraram redução aproximada de 15% no ganho de peso dos animais
100 e de 60% na produção de leite. Bernardes *et al.* (2018), encontraram uma taxa
101 de mortalidade de 5,6% no lote maternidade e 21,74% de partos distócicos,
102 além do abandono materno de recém-nascidos.

103 Grisi *et al.* (2014), contabilizaram prejuízos anuais na bovinocultura
104 brasileira relacionados a infestações por *S. calcitrans*, no valor de US\$ 335
105 milhões de dólares. Entretanto, esta informação não estima os prejuízos
106 decorrentes em períodos de surtos ocorridos recentemente em diferentes
107 regiões do país (DOMINGHETTI *et al.*, 2015).

108 Prejuízos na bovinocultura de outros países americanos, relacionados
109 ao parasitismo por mosca-dos-estábulo, também foram estimados. Estudos
110 desenvolvidos nos EUA contabilizaram prejuízos em torno de US\$ 2,212
111 bilhões de dólares (TAYLOR *et al.*, 2012), e no México, Rodriguez-Vivas *et al.*
112 (2017) reportaram valores aproximados a US\$ 6,796 bilhões de dólares.

113 Os prejuízos para o setor das usinas de cana-de-açúcar englobam
114 custos com várias ações e medidas que as mesmas desenvolvem junto ao
115 produtor rural no tocante ao combate e/ou controle da mosca no ambiente de
116 criação dos animais. Segundo Gomes *et al.* (2018), as usinas gastam com
117 reuniões de sensibilização com produtores rurais, alimentação, transportes,

118 horas extras de seus funcionários e técnicos, médicos veterinários; além de
119 inseticidas, produtos químicos e empresas terceirizadas para combater as
120 moscas. Armadilhas, maquinários, veículos e combustíveis, dentre outros
121 gastos têm sido reportados. Neste estudo, os autores publicaram os gastos
122 médios da usina, somado aos prejuízos médios pecuários anuais de 90
123 propriedades vizinhas em um raio de 30 km de distância à usina. Os prejuízos
124 estimados foram de R\$ 3,5 milhões.

125

126 **Revisão de Literatura Bacterioma:**

127 Considerando o aumento populacional de *S. calcitrans* e consequente
128 perturbação/estresse de animais parasitados sejam os aspectos mais
129 importantes na produção animal, é preciso assinalar possível efeito indireto de
130 importância relacionado a insetos sugadores de sangue, como a mosca-dos-
131 estábulos, da capacidade de realizar transmissão de agentes patogênicos entre
132 indivíduos parasitados (BALDACCHINO *et al.*, 2013).

133 *Stomoxys calcitrans* tem o hábito de se alimentar intermitentemente
134 sendo que, sua alimentação pode ser interrompida em decorrência direta da
135 perturbação que ela causa ao animal. Consequentemente, diferentes animais
136 podem ser parasitados pela mesma mosca. Se há microrganismos no sangue
137 do hospedeiro, a mosca-dos-estábulo pode carregá-los em seu aparelho bucal
138 (ou em outras partes de seu corpo) sendo possível que patógenos
139 remanescentes sejam transferidos para um animal susceptível.

140 Em uma revisão, BALDACCHINO *et al.* (2013), revisaram a participação,
141 bem como a importância de *S. calcitrans* como vetor mecânico de diversos
142 agentes patogênicos. A associação entre os agentes das doenças estudadas e
143 *S. calcitrans* foi apresentada principalmente por transmissão experimental, em
144 condições laboratoriais diversas. Em um destes estudos, como exemplo, *S.*
145 *calcitrans* foram identificadas (por meio de PCR) como infectadas após
146 alimentação em bovinos em fase aguda de infecção. Alguns poucos estudos

147 foram capazes de associar *S. calcitrans* à transmissão natural (FOIL *et al.*,
148 1983; MRAMBA *et al.*, 2007).

149 Patógenos do gênero *Trypanosoma* spp também já foram identificados
150 em *S. calcitrans* e descritos como passíveis de transmissão por vias mecânicas
151 por esta mosca (MIHOK *et al.*, 1995; HADI e AL-AMERY, 2012). Atenção
152 especial deve ser dada à possível relação entre surtos de tripanossomíase por
153 *Trypanosoma vivax* em bovinos ocorridos na América Latina, inclusive nos
154 estados de São Paulo e Minas Gerais (OLIVEIRA *et al.*, 2009; CUGLOVICI *et*
155 *al.*, 2010; CADIOLI *et al.*, 2012). Os autores sugerem, por observações, o
156 envolvimento de *S. calcitrans* no aparecimento dos surtos de tripanossomíase
157 devido ao aumento na abundância desta mosca nas regiões afetadas, mas não
158 tinham por objetivo, tais estudos, o monitoramento da população de moscas
159 naquele período. Assim, estudos mais complexos que contemplem a análise de
160 dados em conjunto, podem trazer importante contribuição para o avanço do
161 conhecimento nesta área.

162 Conhecidos ectoparasitos de bovinos, a mosca-dos-estábulo e o
163 carrapato-do-boi estão associados a uma variedade de agentes patogênicos
164 (BALDACCHINO *et al.*, 2013; DE LA FUENTE *et. al.*, 2008). Poucos estudos
165 foram realizados com a mosca-dos-estábulo para avaliação da biodiversidade
166 de microrganismos presentes neste inseto. Estudos disponíveis, apresentam
167 certa limitação de informações, em função das metodologias adotadas,
168 envolvendo apenas cultura ou análise pontual por clonagem molecular
169 (FÖRSTER *et al.*, 2007; MRAMBA *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2007; CASTRO
170 *et al.*, 2010; CASTRO *et al.*, 2013; HADI e AMERY, 2012; OLAFSON *et al.*,
171 2019). Análises moleculares por sequenciamento de nova geração estão entre
172 as mais modernas técnicas utilizadas no estudo de vetores e têm sido
173 aplicadas para determinar a diversidade de microrganismos presentes em
174 artrópodes vetores, tanto de importância humana como veterinária (NG *et al.*,
175 2011; BELÁK *et al.*, 2013; MILLER *et al.*, 2013; VILLEGAS e PIMENTA, 2014).

176 A metagenômica é uma abordagem baseada na análise genômica de
177 uma população de microrganismos que permite identificar e avaliar
178 comunidades microbianas em diferentes ecossistemas, incluindo aqueles não-
179 cultiváveis (HANDELSMAN, 2004). Porém, mesmo com os avanços obtidos, a
180 complexidade para apresentar informações significativas a partir de milhões de
181 sequências de diferentes genomas, ainda era um grande desafio para a área
182 de bioinformática (WOOLEY *et al.*, 2010). Os progressos recentes
183 possibilitaram o desenvolvimento de métodos de sequenciamento de DNA,
184 denominados de sequenciamento de nova geração (New Generation
185 Sequencing – NGS) e de alto rendimento, somados à variedade de ferramentas
186 disponíveis em bioinformática, possibilitaram análises múltiplas de inúmeros
187 genomas. De qualquer forma, estes estudos demonstraram o papel da mosca
188 como carreador de vários agentes patogênicos, tanto para seres humanos
189 como para animais. Castro *et al.* (2013) apresentaram resultados de isolamento
190 bacteriano com grande prevalência de *Escherichia coli*.

191 Análises genômicas da mosca-dos-estábulo foram realizadas por meio
192 de metabarcoding, comparando as comunidades bacterianas (marcador 16S) e
193 eucarióticas (marcador 18S) em larvas de mosca e seus substratos de
194 desenvolvimento (SCULLY *et al.*, 2017). A partir desta análise, ficou
195 demonstrado que a comunidade microbiana das larvas (diferentes
196 habitats/substratos) é distinta daquelas encontradas nos substratos, e menos
197 diversificada, sugerindo que a fisiologia (mecanismos digestivos/enzimas) da
198 larva hospedeira pode desempenhar um papel seletivo em relação ao
199 enriquecimento e retenção dos microrganismos em *S. calcitrans*, como é
200 observado em outros insetos (TERRA *et al.*, 1988; LEMOS & TERRA, 1991,
201 MORAES *et al.*, 2010). Como discutido por SCULLY *et al.* (2017), uma
202 possibilidade que merece investigação é que produtos antibacterianos
203 secretados por bactérias que colonizam o intestino de *S. calcitrans* possam
204 prevenir competição/colonização por outras espécies bacterianas.

205 Considerando a atual situação de expansão de surtos de *S. calcitrans*,
206 ocorrendo não só em maior número, mas também em maior intensidade no
207 Brasil e em outras partes do mundo, e a pouca informação sobre a importância
208 vetorial deste inseto para bovinos, é de extrema relevância, além de avaliar o
209 impacto financeiro e social causado direta/indiretamente às propriedades
210 afetadas, bem como à economia brasileira, avaliar também o risco
211 epidemiológico existente entre a ocorrência de surtos de *S. calcitrans* e a
212 incidência/prevalência de doenças em bovinos na mesma região.

213 Utilizar a metodologia de análise metagenômica para gerar
214 conhecimentos acerca deste parasito e sua interação com microrganismos
215 diversos, paralelamente, com a facilidade na obtenção de material nucléico a
216 partir dos exemplares coletados, permitirá conhecer a diversidade microbiana
217 que pode ser encontrada nesta mosca. Ampliando protocolos por meio da
218 metagenômica em mosca-dos-estábulo, poderá ser estendido para os estudos
219 de outros vetores de importância veterinária, como também de importância
220 zoonótica.

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 235 ALVES, L., Surtos da mosca do estábulo já chegam à Goiás. **Revista Campo**,
236 v.199, p.18-19, 2012.
- 237 ARAÚJO, A.C.G; KOLLER, W.W.; BARROS, A.T.M. *et al.* Comportamento
238 populacional de *Stomoxys calcitrans* (diptera: muscidae) em área sem
239 influência de usina sucroenergética. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE
240 PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 20, 2018, Londrina. Anais XX Congresso
241 Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2018, p.194.
- 242 BALDACCHINO, F.; MUENWORN, V.; DESQUESNES, M. *et al.* Transmission
243 of pathogens by *Stomoxys* flies (Diptera, Muscidae): a review. **Parasite**, v.20
244 p.20-26, 2013.
- 245 BARROS, A. T. M.; KOLLER, W. W.; CATTO, J. B. *et al.* Surtos por *Stomoxys*
246 *calcitrans* em gado de corte no Mato Grosso do Sul. **Pesquisa**
247 **Veterinária Brasileira**, v.30, p. 945-952, 2010.
- 248 BELÁK, S.; KARLSSON, O. E.; BLOMSTROM, A. L. *et al.* New viruses in
249 veterinary medicine, detected by metagenomic approaches. **Veterinary**
250 **Microbiology**, v.165, p.95–101, 2013.
- 251 BERNARDES, J. C.; GONZALEZ, S. G.; MAC LEAN, P. B. *et al.* Efeito da
252 infestação de *Stomoxys calcitrans* em propriedades rurais situadas próximo à
253 usina sulcroatcooleira de Queiroz/SP. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE
254 PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 20, 2018, Londrina. Anais XX Congresso
255 Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2018, p.216.
- 256 BISHOPP, F. C. The stable fly (L.) an important live stock pest. *Stomoxys*
257 *calcitrans*. **Journal of Economic Entomology**, v.6, n.1, p.112-116, 1913.
- 258 BITTENCOURT, A. J.; MOYA BORJA, G. E. *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus,
259 1758) (Diptera: Muscidae): preferência por locais do corpo de bovinos para
260 alimentação. **Revista Brasileira Zootecias**, v. 4, n.1, p.75-83, 2002.
- 261 BITTENCOURT, A. J. Avaliação de surtos e medidas de controle ambiental de
262 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) na região sudeste do Brasil. **Revista**
263 **Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n.1, p.73-82, 2012.
- 264 CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z. *et al.* First report of
265 outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. *Trypanosoma vivax*. **Revista**
266 **Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.2, n.2, p.118-124, 2012.
- 267 CASTRO, B. G.; SOUZA, M. M. S.; RÉGUA-MANGIA A. H. *et al.*
268 Enterobacterial microbiota on *Stomoxys calcitrans* external surface.

- 269 Transboundary and Emerging diseases. **Transboundary and Emerging**
270 **Diseases**, v.57, p.22-24, 2010.
- 271 CASTRO, B. G.; SOUZA, M. M. S.; RÉGUA-MANGIA A. H. *et al.* Occurrence of
272 Shiga-toxicogenic *Escherichia coli* in *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae).
273 **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.22, n.2, p.318-321, 2013.
- 274 CUGLOVICI, D. A.; BARTHOLOMEU, D. C.; REIS-CUNHA, J. L. *et al.*
275 Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle
276 herd in Minas Gerais state. Brazil. **Vet. Parasitol**, v.169, n.3-4, p.320-326,
277 2010.
- 278 DE LA FUENTE, J.; ESTRADA-PENA, A.; VENZAL, J. M. *et al.* Overview: ticks
279 as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Front**
280 **Biosci**, v. 13, n. 13, p.6938-6946, 2008.
- 281 DOMINGHETTI, T. F. S.; BARROS, A. T. M.; SOARES, C. O. *et al.* Surtos por
282 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) no Brasil: situação atual e
283 perspectivas. **Revista Brasileira Parasitologia, Vet.**, v. 24, n. 4, p.387-395,
284 2015.
- 285 FOIL, L. D.; MEEK, C. L.; ADAMS, W. V. *et al.* Mechanical transmission of
286 equine infectious anemia virus by deer flies (*Chrysops flavidus*) and stable flies
287 (*Stomoxys calcitrans*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 44,
288 p.155-156, 1983.
- 289 FÖRSTER, M. K., S., MEHLHORN, H., SIEVERT, K. *et al.* Pilot study on
290 synanthropic flies (e.g. *Musca*, *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Fannia*, *Lucilia*,
291 *Stomoxys*) as vectors of pathogenic microorganisms. **Parasitology Research**,
292 v.101, p.243-246, 2007.
- 293 FOSBROOKE, H. The *Stomoxys* plague in Ngorongoro. 1962. **East African**
294 **Wildlife Journal**, v.1, p.124-126, 1963.p.155-156, 1983.
- 295 GOMES, R. A., Surtos de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em bovinos e
296 equinos na região Noroeste de São Paulo / Brasil devido ao desequilíbrio
297 ambiental. **Engormix.com, Artigos técnicos, Pecuária de corte**, 2009.
- 298 GOMES, R. A.; FREDERICO, M. A.; MEIRELES, A. C. *et al.* Gastos médios
299 financeiros e prejuízos com *stomoxys calcitrans* “mosca da vinhaça”. In: XX
300 CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 20, 2018,
301 Londrina. Anais XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2018,
302 p.240, 2018.
- 303 GRISI, L.; LEITE, R. C., MARTINS, J. R. S. *et al.* Reassessment of the
304 potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira**
305 **Parasitologia Veterinária**, v.23(2), p.150-156, 2014.

- 306 GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C., BARROS-BATTESTI D. M. Ectoparasitos de
307 importância veterinária. **São Paulo: Plêiade/FAPESP**, p.218, 2001.
- 308 HADI, A. M.; AL-AMERY, A. M. A. Isolation and identification of some blood
309 parasites from midgut of stable fly (*Stomoxys calcitrans*). **Al- Qadisiya Journal**
310 **of Veterinary Medicine Sciences**, v.11 (1), p.28-33, 2012.
- 311 HANDELSMAN, J. Metagenomics: application of genomics to uncultured
312 microorganisms. **Microbiology Molecular Biology Reviews**, v.68, n.4, p.669-
313 685, 2004.
- 314 HANSENS, E. J. The stable fly and its infects on seashore recreational areas in
315 New Jersey. **Journal of Economic Entomology**, v.44, n.4, p.482-487, 1951.
- 316 HOGSETTE, J. A., RUFF, J.P., JONES, C. J. Stable fly biology and control in
317 northwest Florida. **J. Agric. Entomol.**, v.4, n.1, p.1-11, 1987.
- 318
- 319 KASSAB, S.O.; GAONA, J.C.; LOUREIRO, E. DE S.; MOTA, T.A.; FONSECA,
320 P.R.B. DA; ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulo
321 no Mato Grosso do Sul: Medidas de controle e prevenção. *Revista Agrarian*,
322 v.5, n.15, p.84-88, 2012.
- 323
- 324 KOLLER, W. W.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. *et al.* Surtos da mosca-dos-
325 estábulos, *Stomoxys calcitrans*, em Mato Grosso dos Sul: novo problema para
326 as cadeias produtivas da carne e sucroenergético? **Embrapa Gado de Corte**,
327 Campo Grande, p.1-31, 2009.
- 328 KUNZ, S. E.; MURRELL, K. D.; LAMBERT, G. *et al.* Estimated losses of
329 livestock to pests. In: Pimentel D. Handbook of pest management in agriculture.
330 **Boca Raton: CRC Press**; v. 1p.69-98,1991.
- 331 LEMOS, F. J.; TERRA, W. R. Digestion of bacteria and the role of midgut
332 lysozyme in some insect larvae. Comparative biochemistry and physiology.
333 Party B, **Comparative Biochemistry**, v.100, n.2, p.265-268, 1991.
- 334 MIHOK, S.; MARAMBA, O.; MUNYOKI, E. *et al.* Mechanical transmission of
335 *Trypanosoma* spp. by African Stomoxyinae (Diptera: Muscidae). **Tropical**
336 **Medicine and Parasitology**, v.46, p.103-105, 1995.
- 337 MILLER, R. R.; MONTOYA, V.; GARDY, J. L. *et al.* Metagenomics for pathogen
338 detection in public health. **Genome Medicine**, v.5:, n.81, p. 1-14, 2013.
- 339 MORAES, A. P. R.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; BITTENCOURT, A. J.
340 Patogenicidade de *Beauveria bassiana* sobre estágios imaturos de *Stomoxys*
341 *calcitrans*. **Ciência Rural**, v.40, n.8, p.1802-1807, 2010.

- 342 MRAMBA, F.; BROCE, A. B.; ZUREK, L. Vector competence of stable flies,
343 *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae), for *Enterobacter sakazakii*.
344 **Journal Vector Ecology**, v.32, p.134-139, 2007.
- 345 NG, T. F. F.; WILLNER, D. L.; LIM, Y. W. *et al.* Broad surveys of DNA viral
346 diversity obtained through viral metagenomics of mosquitoes. **Plos One**, v.6,
347 n.6, p.1-10, 2011.
- 348 ODA, F. H.; ARANTES, C. A. **Surto populacional da mosca dos estábulos**
349 **Stomoxys** Agronegócios e Meio Ambiente, v. 3 (1), p. 145-159, 2010.
- 350 OLAFSON, P. U.; AKSOY, S.; ATTARDO, G. M. *et al.* **Functional genomics of**
351 **the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, reveals mechanisms underlying**
352 **reproduction, host interactions, and novel targets for pest control.**
353 BioRxiv, p. 623009, 2019.
- 354 OLIVEIRA, J. B.; HERNÁNDEZ-GAMBOA, J.; JIMÉNEZ-ALFARO, C. *et al.* First
355 report of *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle from Costa Rica.
356 **Veterinary Parasitology**, v.163 p.136-139, 2009.
- 357 Rodriguez-Vivas, R. I. Potential economic impact assessment for cattle
358 parasites in Mexico. Review. **Revista Mexicana de Ciencias Pecuaria**, v.8,
359 n.1, p.61-74, 2017.
- 360 SCULLY, E.; FRIESEN, K.; WIENHOLD, B. *et al.* Microbial communities
361 associated with stable fly (Diptera: Muscidae) larvae and their developmental
362 substrates. **Annals of the Entomological Society of America**, v.110, n.1,
363 p.61-72, 2017.
- 364 TAYLOR, D. B.; MOON, R. D.; MARK, D, R. Economic Impact of Stable Flies
365 (Diptera: Muscidae) on Dairy and Beef Cattle Production. **J. Med. Entomol.**
366 v.49, n.1, p.198-209, 2012.
- 367 TERRA, W. R.; ESPINOZA-FUENTES; F. P.; RIBEIRO, A. F. *et al.* The larval
368 midgut of the housefly (*Musca domestica*): ultrastructure, fluid fluxes and ion
369 secretion in relation to the organization of digestion. **Journal of Insect**
370 **Physiology**, v.34, n.6, p.463-472, 1988.
- 371 VILLEGAS, L. M.; PIMENTA, P. F. P. Metagenomics, paratransgenesis and the
372 *Anopheles microbiome*: a portrait of the geographical distribution of the
373 anopheline microbiota based on a meta-analysis of reported taxa.
374 **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v.109, n.5, p.672-684, 2014.
- 375 WOOLEY, J. C.; GODZIK, A.; FRIEDBERG, I. A primer on metagenomics.
376 **PLoS Computational Biology**, v.6, n.2, p. e1000667, 2010
- 377

378 **Potencial impacto econômico à pecuária dos surtos por *Stomoxys calcitrans***
379 **associados ao setor sucroenergético**
380 **Potential economic impact on livestock of *Stomoxys calcitrans* outbreaks associated**
381 **with the sugar-energy sector**

382 Souza¹, Eronides Marques; Barros², Antonio Thadeu Medeiros de; Santos², Lenita
383 Ramires dos; Malafaia², Guilherme Cunha; Caçado², Paulo Henrique Duarte; Araújo³,
384 Flávio Ribeiro de; Kuhn⁴, Joana Gasparotto

386 ¹Souza, E. M. Médica Veterinária, Tese de Doutorado, UFMS, MS, Brasil. 2022. -
387 Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

388 ²Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

389 ³ Professor, PPG Ciências Veterinárias, UFMS, MS, Brasil.

390 ⁴ Doutoranda em Zootecnia, PPG Zootecnia, UFRGS. Faculdade de Agronomia, RS,
391 Brasil.

392

393 **Resumo:** A mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*) é um parasito de diversas
394 espécies animais, incluindo seres humanos. Por ser hematófaga e ter uma picada
395 dolorosa, *S. calcitrans* causa expressivas perdas econômicas à bovinocultura,
396 interferindo na saúde e na produção do rebanho. Nas últimas décadas, surtos desta
397 mosca, associados a usinas sucroenergéticas, têm causado sérios problemas a vários
398 municípios brasileiros. O objetivo do presente estudo foi calcular o potencial impacto
399 econômico destes surtos à bovinocultura nacional e os potenciais prejuízos às usinas
400 sucroenergéticas. A partir de registros sobre a ocorrência de surtos no país até o ano de
401 2020, foram analisados parâmetros produtivos referentes ao número total de animais em
402 risco nos municípios afetados, a partir dos quais, foram estimadas perdas econômicas
403 referentes às cadeias produtivas do leite, da carne e da cana-de-açúcar. O potencial
404 impacto econômico anual dos surtos, associados às usinas sucroenergéticas foi de R\$
405 1,065 bilhões (US\$ 205,38 milhões) para a bovinocultura brasileira. Enquanto o
406 potencial prejuízo estimado às indústrias sucroenergéticas acumularam valores de R\$
407 43,743 milhões ou (US\$ 8,428 milhões) ao ano. O montante final dos prejuízos
408 financeiros aos setores de bovinocultura e bioenergético brasileiro, foi de R\$
409 1.109.667.348,27 (UUS\$ 213.808.737,62). As estimativas apresentadas pelo presente

410 estudos, demonstram a importância deste parasito à pecuária nacional e a necessidade
411 de maior compreensão a respeito da dinâmica dos surtos, contribuindo para o
412 desenvolvimento de estratégias de combate e controle integrados desta mosca.
413 Antecipar cenários pode ser o ponto de partida para o desenvolvimento de processos
414 preventivos ligados à mosca-dos-estábulo em toda estrutura que envolve as atividades
415 sucroenergéticas e sistemas produtivos pecuários em suas proximidades.

416 **Palavras-chave:** Bovinocultura, Cana-de-açúcar, Estimativa, Mosca-dos-estábulo,
417 Usina Sucroalcooleira.

418

419 **Abstract:** The stable fly (*Stomoxys calcitrans*) is a parasite of several animal species,
420 including humans. As it is hematophagous and has a painful bite, *S. calcitrans* causes
421 significant economic losses to cattle, interfering with the health and production of the
422 herd. In the last decades, outbreaks of this fly, associated with sugar and alcohol
423 industry, have caused serious problems in several Brazilian cities. The objective of the
424 present study was to calculate the potential economic impact of these outbreaks on
425 national cattle raising and the potential damage to sugar-energy industry. From records
426 on the occurrence of outbreaks in the country until the year 2020, production parameters
427 were analyzed regarding the total number of animals at risk in the affected cities, from
428 which economic losses were estimated regarding the production chains of milk, beef
429 and sugarcane. The potential annual economic impact of the outbreaks associated with
430 the sugar-energy plants was R\$ 1.065 billion (US\$ 205.38 million) for Brazilian cattle.
431 While the estimated potential damage to the sugar and alcohol industries accumulated
432 values of R\$ 43.743 million (US\$ 8.428 million) per year. The final number of financial
433 losses to the Brazilian cattle and bioenergy sectors was R\$ 1,109,667,348.27 (US\$
434 213,808,737.62). The estimates presented by the present study demonstrate the
435 importance of this parasite to national livestock and the need for greater understanding
436 of the dynamics of outbreaks, contributing to the development of integrated strategies to
437 combat and control this fly. Anticipating scenarios can be the starting point for the

438 development of preventive processes linked to the stable fly in the entire structure that
439 involves sugar-energy activities and cattle raising systems in its vicinity.

440 **Keywords:** Cattle farming, Sugarcane, Estimation, Stable fly, Sugarcane Industry.

441

442 **Introdução**

443 Conhecida popularmente como “mosca-dos-estábulo” ou “mosca-da-vinhaça”
444 *Stomoxys calcitrans* tem se destacado no cenário nacional como uma das crescentes
445 preocupações aos criadores de bovinos, bem como ao setor sucroenergético. *S.*
446 *calcitrans* é um díptero hematófago que apresenta inespecificidade parasitária, podendo
447 atacar diferentes espécies animais, como bovinos, caprinos, equinos, ovinos, suínos,
448 cães, gatos e frangos (Bishopp, 1913), como também seres humanos (Hogsette *et al.*
449 (1987).

450 Explosões populacionais dessa mosca, têm sido frequentes em algumas regiões
451 do Brasil nas últimas décadas (Koller *et al.*, 2009; Barros *et al.*, 2010; Kassab *et al.*
452 2012), caracterizando-se como surtos. A geração de resíduos e subprodutos de origem
453 orgânica em larga escala nas usinas sucroenergéticas favorecem o desenvolvimento das
454 larvas da mosca-dos-estábulo (Corrêa *et al.*, 2013; Dominghetti *et al.*, 2015). A
455 associação entre a vinhaça aplicada durante a fertirrigação e a palhada resultante da
456 colheita mecanizada, após a proibição da queima pré-colheita da palha da cana,
457 aumentou consideravelmente a disponibilidade de locais e substratos para a proliferação
458 e manutenção das formas larvais deste parasito (Gomes *et al.*, 2018).

459 As regiões Sudeste e Centro-Oeste apresentam registros de surtos em vários
460 municípios, contabilizando significativos prejuízos e promovendo um expressivo
461 impacto socioeconômico negativo. Surtos da mosca-dos-estábulo associados a usinas
462 sucroenergéticas têm ocorrido em cinco estados brasileiros: Goiás, Mato Grosso, Mato
463 Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (Koller *et al.*, 2009; Gomes, 2009; Barros *et*
464 *al.*, 2010; Oda e Arantes, 2010; Bittencourt, 2012; Alves, 2012).

465 Na tentativa de se defender desses insetos, os animais apresentam marcante
466 alteração no pastejo com comportamento grupal de aglomeração. Realizam movimentos
467 defensivos bruscos e exagerados de cabeça, membros e cauda, (Bernardes *et al.*, 2018).

468 Guimarães *et al.* (2001), reportaram prejuízos de 15 % no ganho de peso de
469 animais infestados por mosca-dos-estábulo. Taylor *et al.* (2012), registraram redução
470 de 6% de peso em bezerros mamando, 26 quilos em animais criados a pasto e 9 quilos
471 em animais em confinamento, estimando valores aproximados de US\$ 2,211 bilhões
472 anuais nos EUA em prejuízos relacionados à infestação por mosca-dos-estábulo. Grisi
473 *et al.* (2014), publicaram valores relacionados a prejuízos destas infestações,
474 aproximados em de US\$ 335 milhões anuais para bovinocultura. No México,
475 Rodriguez-Vivas *et al.* (2017), estimaram prejuízos em torno de US\$ 6,79 bilhões.

476 Os prejuízos causados por esta mosca ao setor sucroenergético englobam custos
477 com várias ações de manejo e medidas desenvolvidas junto a produtores rurais no
478 tocante à prevenção de surtos e controle da mosca nas fazendas. Incluindo despesas com
479 visitas e reuniões técnicas com produtores rurais, alimentação, transporte, salários e
480 horas extras de seus funcionários e técnicos, médico veterinário, aplicação de produtos
481 inseticidas, operações de manejo (compostagem de torta de filtro e cinzas), armadilhas,
482 manutenção de equipamentos e veículos, combustíveis e empresas terceirizadas para
483 combater as moscas, dentre outros gastos (Gomes *et al.*, 2018). Neste estudo, os autores
484 estimaram prejuízos de R\$ 3,5 milhões entre gastos médios anuais com medidas de
485 controle e combate à *S. calcitrans* pela usina, somados aos prejuízos médios anuais de
486 90 propriedades circunvizinhas a um raio de 30 km à mesma.

487 Considerando o aumento dos surtos de *S. calcitrans* no Brasil, objetivou-se no
488 presente trabalho, avaliar o potencial impacto econômico que afeta a bovinocultura e o
489 setor sucroenergético, refletindo de forma negativa na economia nacional.

490

491 **Material e Métodos**

492 **Levantamento dos dados de pecuários e sucroenergéticos**

493 **Identificação dos surtos nos municípios**

494 A Embrapa Gado de Corte possui uma base de dados com registros da
495 ocorrência de surtos de *S. calcitrans* no Brasil realizada e atualizada desde 2009.

496 Para identificação das localidades com ocorrência de surtos foram consideradas
497 notícias veiculadas na mídia digital, televisão e rádio; registros científicos; comunicados
498 de produtores rurais e usinas afetadas; levantamento realizado pela Casa de Agricultura
499 do Estado de São Paulo (CATI – Secretaria de Agricultura e Abastecimento, SP);
500 comunicações feitas por representantes de classe e registros da própria equipe feitos *in*
501 *loco*.

502 No presente estudo foram considerados apenas os municípios onde os surtos
503 ocorridos tiveram relação com a produção e/ou processamento industrial da cana-de-
504 açúcar. Para cada registro encontrado, foi verificada a presença de usinas na região
505 (próprio município e/ou municípios vizinhos). Quando não havia clareza da ocorrência
506 de surto, da presença de usina na localidade e da associação entre ambos, a informação
507 foi descartada.

508 Os dados de produção e rebanho (dados secundários) foram obtidos junto ao
509 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – SIDRA - Sistema IBGE de
510 Recuperação Automática (2020) e AnualPec 2020/2021 a partir dos quais foram
511 identificadas as populações bovinas de leite e corte nos municípios afetados. Em
512 algumas situações específicas, onde alguma informação de produção ou características
513 de rebanho de um determinado município não estavam disponíveis nestas bases de
514 dados, o município foi excluído da análise em questão, sendo mantido em análises mais
515 genéricas.

516

517 **Variáveis Econômicas**

518 As variáveis relativas à produção da pecuária, incluídas para avaliar o
519 potencial impacto econômico decorrente dos surtos por mosca-dos-estábulo foram
520 “produção leiteira” (litros/dia) e “taxa de abate” (@/ano).

521 Os dados foram organizados em planilhas do programa Microsoft Excel, versão
522 2016.

523 As variáveis econômicas foram baseadas nas cotações dos valores comerciais do
524 litro do leite e arroba do boi praticados pelas indústrias em cada município ou região.
525 Os valores das moedas foram expressos em Real e Dólar Americano e o câmbio oficial
526 aplicado foi de R\$ 5,19, referente a 31/12/2020, conforme divulgado pelo BCB – Banco
527 Central do Brasil.

528 A quantidade de usinas nos municípios afetados e em municípios vizinhos a
529 estes, foram obtidos a partir de informações da revista digital Novacana, referência no
530 setor de usinas sucroalcooleiras. Para avaliação do potencial econômico dos surtos de *S.*
531 *calcitrans* na indústria da cana-de-açúcar foi considerado o volume médio de recurso
532 despendido relativo à produção de cana-de-açúcar (milhões de toneladas anual). Esse
533 impacto foi calculado com base em um valor fixo informado pela Associação de
534 Produtores de Bioenergia de Mato Grosso do Sul – BIOSUL (2019), estimado a partir
535 dos gastos tangíveis mantidos pelas usinas, com ações de mobilização, manejo e
536 controle visando o combate aos surtos.

537 Paralelamente, dados territoriais de cada município afetado pelos surtos foram
538 compilados do banco de dados IBGE, tanto para estimativas da pecuária, como das
539 usinas. Para melhor interpretação dos resultados, foram construídos gráficos de barras,
540 tabelas e mapas de calor com os resultados finais das análises.

541

542 **Cálculo da população bovina potencialmente afetada por surtos (bovinos sob risco)** 543 **em cada município estudado.**

544 As variáveis “produção leiteira” e “taxa de abate” em 2020 foram estimados
545 para cada município afetado a partir do “número de vacas ordenhadas” e “rebanho
546 efetivo”, respectivamente, extraídos banco de dados IBGE – SIDRA (2020). Devido à
547 indisponibilidade de informações sobre o número de animais abatidos para determinado
548 estado ou município na base de dados do IBGE, tal informação foi obtida junto ao
549 AnualPec 2020. Deste modo, foi possível calcular a taxa de abate, utilizando a relação
550 entre “número de animais abatidos” (AnualPec, 2020) e o “rebanho efetivo” (IBGE –

551 SIDRA, 2020). Com esta proporção calculada para cada estado, estimou-se o número de
552 animais abatidos em cada município.

553 Mesmo sendo possível estabelecer para cada município, onde já ocorreu pelo
554 menos um registro de surto de *S. calcitrans*, o “número de vacas ordenhadas” e a “taxa
555 de abate estimada”, entende-se que nem todos os animais do município encontram-se
556 próximos das usinas para serem afetados pelos surtos. Assim, foi considerado que cada
557 usina possui uma área de influência de 30 km de raio a partir do parque industrial onde
558 a cana-de-açúcar é processada (Gomes *et al.* 2018). Ao aplicar o raio de 30 km na
559 fórmula da área da circunferência, o resultado é uma área uniformizada de 2.827km², a
560 qual foi empregada e padronizada para os municípios, cujas áreas territoriais são
561 inferiores ou iguais a 2.827km². Para os municípios que possuem área territorial maior
562 que à referida medida, a área de influência considerada foi a área do município em
563 questão, conforme dados compilados do IBGE.

564 Em seguida, calculou-se número de “animais sob riscos” (leite e corte) nos
565 municípios com surtos por *S. calcitrans*, utilizando a fórmula:

$$566 \text{BoR} = \text{BA e/ou VO} * (2827 / \Delta)$$

567 Onde: BoR é o número de “Bovinos sob Risco”; BA é o número estimado de “Bovinos
568 Abatidos” no município; VO é o número de “vacas ordenhadas” no município; Δ é a
569 área do município.

570 Foi considerado um período médio de surto de 100 dias de duração por ano,
571 conforme Dominghetti *et al.* (2015).

572

573 **Cálculos da perda e prejuízo na produção de leite**

574 Para determinar o prejuízo da atividade leiteira, no período de surto, foram
575 relacionadas perdas na produção média de litros de leite e os valores médios pagos aos
576 produtores de cada estado ou região acometido pelos surtos.

577 Considerando o período de 305 dias de lactação (Ferreira e Miranda, 2007)
578 determinou-se a média anual de produção (litros de leite/vaca ordenhada/dia) por
579 estado. O número obtido foi multiplicado por 100 (dias de período de surto),

580 encontrando volume de leite produzido por vaca neste período. A perda na produção do
581 leite durante o surto foi estimada utilizando uma taxa média de 45% de redução na
582 produção. Este valor foi determinado considerando diversas publicações, entrevistas,
583 palestras e levantamentos que estimam prejuízos entre 30% e 60% de redução na
584 produção durante surtos de *S. calcitrans* (Guimarães et al, 2001; Taylor et al, 2012;
585 Grisi et al, 2014; Gomes et al, 2018). Dessa forma, obteve-se o volume final de perda da
586 produção de leite pelas “vacas ordenhadas em risco” nos municípios. A produção de
587 leite foi convertida em valores monetários, expressos em Real e Dólar.

588 A produção de leite por vaca ordenhada em períodos sem surtos, também foi
589 calculada. Neste caso, o período considerado foi de 205 dias, o que corresponde ao
590 período total de lactação (305 dias) menos o período de produção afetada pelo surto
591 (100 dias). Utilizando dados de Kunz *et al.* (1991), que reportaram uma diminuição na
592 produção de 27 litros de leite ao ano quando os animais foram submetidos a surtos por
593 *S. calcitrans*. Assim, o volume de leite perdido seria de aproximadamente de 72% de
594 litros neste período por vaca ordenhada, ou seja, 19,5 litros de leite em períodos sem
595 surto.

596 A fonte de referência utilizada para obtenção de valores pagos aos produtores no
597 litro de leite (ano de 2020) para os estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais
598 e São Paulo, foi utilizado dados AnualPec (2020). Para o Estado de Mato Grosso foi
599 utilizado como fonte de referência, o Instituto Mato-Grossense de Economia
600 Agropecuária (IMEA).

601

602 **Cálculos da perda e prejuízo na produção de carne**

603 Para calcular o prejuízo na produção de carne foram considerados dados
604 experimentais ainda não publicados de um estudo sobre ganho de peso conduzido pela
605 Embrapa Gado de Corte, em sistema extensivo, onde em um dos tratamentos
606 experimentais os animais sofreram ataque da mosca-dos-estábulo por 100 dias,
607 resultando em 1 (uma) arroba (@) de diferença se comparado ao grupo que não sofreu

608 ataques. No restante do ano, não houve influência das infestações no ganho de peso dos
609 animais (*Comunicação pessoal* Rodrigo Gomes, Embrapa, 2019).

610 Considerando o número de “Bovinos sob Risco” (BoR) calculado e a perda de
611 1@ no peso da carcaça obteve-se o volume final de perda da produção de carne por
612 município no período de surto. A quantificação dessa diminuição na produção, foi
613 convertida em valores monetários expressos em Real e Dólar.

614 Para obtenção de valores pagos aos produtores na arroba do boi gordo, foi
615 considerado valores extraídos do Anualpec (2020) de cada estados.

616

617 **Cálculos dos prejuízos no setor sucroenergético**

618 Dados da produção de cana-de-açúcar por município foram extraídos do SIDRA
619 (IBGE – 2020). Para facilitar o cálculo, os dados de volume de produção de cana, foram
620 convertidos em milhões de toneladas.

621 Estimativas fornecidas pela Associação de Produtores de Bioenergia de Mato
622 Grosso do Sul – BIOSUL, em relação aos gastos médios do setor sucroenergético em
623 ações contra mosca-dos-estábulo foram de R\$ 150.000,00 por milhão de tonelada de
624 cana produzida. Esta informação refere-se apenas aos gastos e perdas médias para o
625 estado de Mato Grosso do Sul. Entretanto, devido a ausência destas informações para
626 outros estados, esta média foi utilizada para todas as usinas que sofrem com este
627 problema no País. Com base na quantidade de cana produzida, foi estimando o prejuízo
628 anual sobre o setor industrial relacionado à presença de *S. calcitrans* em cada estado.

629

630 **Equivalência socioeconômica do potencial impacto dos surtos da mosca-dos-** 631 **estábulo**

632 O resultado da soma dos valores totais dos prejuízos nas atividades pecuárias
633 (leite e corte) e usineiras foi equiparado e quantificado em salários mínimos. No ano de
634 2020, o salário mínimo vigente era de R\$ 1.045,00 tarifado pelo Ministério da
635 Economia.

636

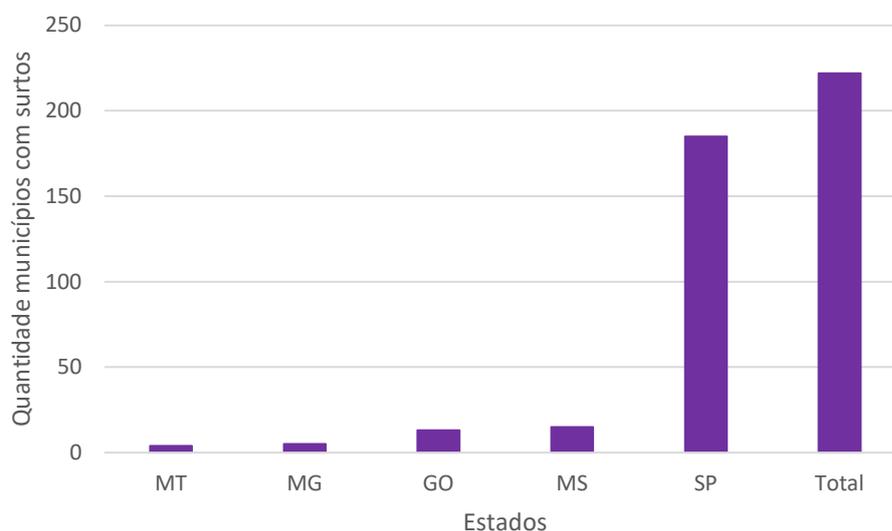
637 Resultados e Discussão

638 Análise de surtos de *S. calcitrans* associados a usinas em municípios brasileiros

639 Surtos da mosca *Stomoxys calcitrans* associados à presença de usinas
640 sucroenergéticas tem sido registrados em duas regiões brasileiras: Centro-Oeste (Goiás,
641 Mato Grosso e Mato Grosso do Sul) e Sudeste (Minas Gerais e São Paulo), totalizando
642 221 municípios afetados.

643 Porém, no levantamento dos dados dos municípios afetados pelos surtos foi
644 necessário descartar nove municípios por falta de dados públicos. Para os cálculos de
645 levantamento dos prejuízos acarretados à bovinocultura descartou-se o município de
646 Hortolândia/SP; já para os cálculos dos prejuízos acarretados às usinas, foram
647 descartados os municípios de Cabeceiras/GO, Planalto da Serra/MT, Águas do Prata,
648 Alfredo Marcondes, Divinolândia, Hortolândia, Piquete, Santo Antônio do Jardim e
649 Vargem, estes últimos localizados no estado de São Paulo. Mesmo tendo usinas no
650 município, como é o caso de Vargem, não foram encontrados dados oficiais de
651 produção de cana-de-açúcar nos mesmos, inviabilizando o cálculo para essa atividade
652 neste município.

653



654

655 Figura 1. Número de municípios, por estado, afetados por surtos da mosca-dos-estábulo associados às
656 usinas bioenergéticas

657 Os surtos de *S. calcitrans* estão distribuídos em 4 municípios no estado do Mato
658 Grosso, 5 municípios do estado de Minas Gerais, 13 municípios no estado de Goiás, 15
659 municípios no estado de Mato Grosso do Sul e 184 municípios no estado de São Paulo.
660 A área territorial total dos municípios afetados foi de 645.657 km².

661

662 **Análise do impacto econômico causado por surtos de *S. calcitrans* na pecuária** 663 **leiteira**

664 Através dos cálculos realizados obteve-se uma população de 654.606 vacas
665 ordenhadas nos municípios afetados pelos surtos. Destas, foram consideradas apenas as
666 “vacas ordenhadas em risco” de cada município, ou seja, 612.942 vacas. O volume total
667 de leite perdido no período de surto foi estimado 204.879.933 L, ou seja, média de 334
668 litros a menos por vaca no período de surto. Segundo IBGE, 2020, a produção anual de
669 leite no Brasil foi de 25.641.262.000 L. O volume de leite perdido nos municípios
670 afetados pelos surtos (100 dias), relacionados às usinas sucroalcooleiras representa 0,8%
671 da produção nacional em 2020.

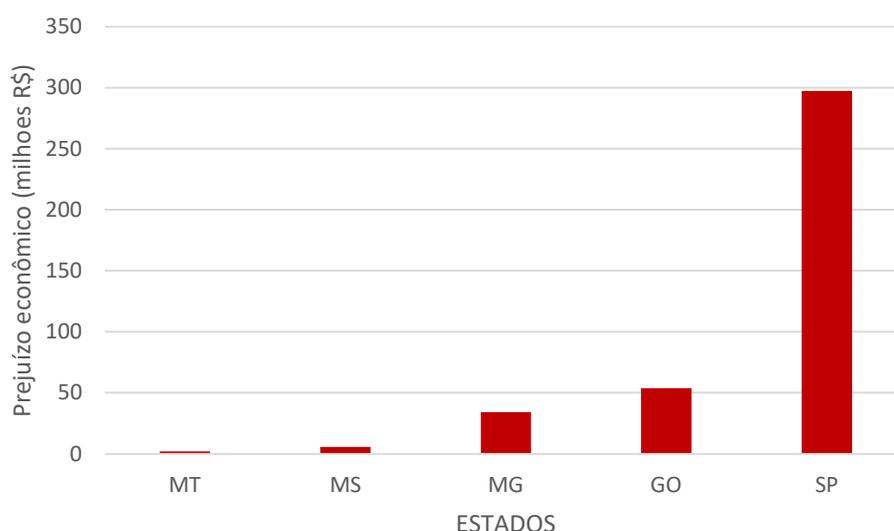
672 A quantidade reduzida de litros de leite por vaca encontrada neste estudo foi de
673 684,7 L/lactação ou 2,25 L leite ao dia. Este resultado foi o dobro do resultado relatado
674 por Barré, 1981; que verificou diminuição anual acumulada de 0,5 a 1 litro de leite por
675 vaca por dia, ou de 342 L/lactação em propriedades que apresentaram alta infestação
676 por *S. calcitrans*. Por outro lado, os resultados do presente estudo apresentaram-se bem
677 maiores aos encontrados por Kunz *et al.* (1991), que estimaram uma diminuição de 27
678 kg na produção de leite por vaca por ano e Taylor *et al.* (2012), citaram uma redução de
679 139 quilos de leite por vaca por ano.

680 Com o volume estimado de leite perdido no período de surtos, calculou-se o
681 prejuízo à atividade leiteira nos estados analisados em R\$ 392.955.281,80 (US\$
682 75.713.927,13); Fig. 2.

683 Grisi *et al.* (2014), registraram valores em US\$ 275,97 milhões de prejuízos
684 anuais para atividade leiteira. Porém, nesta publicação não foi considerado período de
685 surtos como apresentado no presente estudo.

686 Dentre os cinco estados analisados no período de surtos da mosca-dos-estábulo,
 687 São Paulo foi o que apresentou maior prejuízo na atividade leiteira, com valores de R\$
 688 297.220.305,58 (US\$ 57.267.881,62).

689 Mato Grosso do Sul foi o segundo estado que somou maior área territorial dentre
 690 os estados com municípios afetados pelos surtos, apresentando 57.966 km² de área. E
 691 também foi o segundo estado com maior quantidade de municípios afetados. Porém,



692
 693 Figura 2. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bvinocultura de leite no
 694 Brasil

695
 696 quando comparado dentre os cinco estados analisados, foi o que apresentou segundo
 697 menor volume na redução da produção de leite nos municípios afetados, representando
 698 apenas 1,3% na redução da produção leiteira em função dos surtos. Tal situação pode
 699 ser explicada pela aptidão do estado, voltada à pecuária de corte (SEMAGRO - MS).
 700 Assim, o estado não sofreu impacto significativo com a redução de receita proveniente
 701 dessa atividade.

702

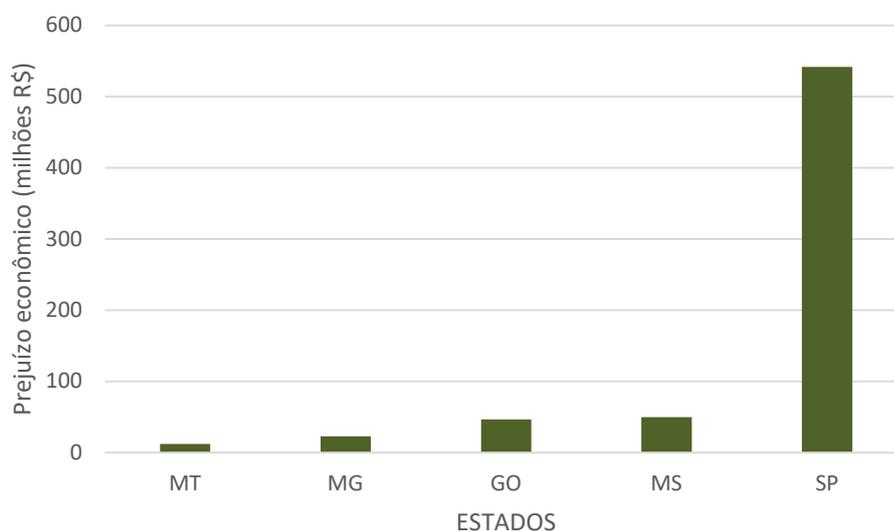
703 **Análise do impacto econômico causado por surtos de *S. calcitrans* na bovinocultura**
 704 **de corte**

705 Para determinar o prejuízo do período de surtos na pecuária de corte, foi
706 considerada a quantidade de animais que deixaram de ser abatidos, ou seja, quantidade
707 de carne convertida em arroba (@) que deixou de ser produzida. O peso padronizado no
708 Brasil de uma arroba (15 kg) é relativamente próximo ao peso que Kunz *et al.* (1991)
709 estimaram com as perdas de 100 g por animal por dia em confinamentos, ou seja, em
710 100 dias 10 kg.

711 Com os cálculos realizados resultou um total de 3.163.205 animais abatidos nos
712 municípios afetados pelos surtos. Destes, 3.013.693 animais foram considerados
713 “animais abatidos sob risco”. Considerar que um “animal abatido sob risco” equivale a
714 uma arroba de boi, o prejuízo acumulado na pecuária de corte foi R\$ 672.968.913,91
715 (US\$ 129.666.457,40). O valor encontrado no período de surto é 2,2 vezes maior que
716 encontrados por Grisi *et al.*, 2014, que registraram valores em US\$ 59,49 milhões de
717 prejuízos anuais para pecuária de corte.

718 Semelhante ao que foi observado com relação à produção leiteira, São Paulo
719 também apresentou o maior prejuízo no período de surtos na pecuária de corte com
720 valor de R\$ 541.665.036,70 (US\$ 104.367.059,09), Fig. 3.

721



722

723 Figura 3. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bovinocultura de corte
724 no Brasil

725 Apesar de ser o maior produtor de carne bovina (Anualpec 2020/2021), o estado
726 de Mato Grosso foi o que apresentou o menor prejuízo na análise em questão. A medida
727 da extensão territorial considerada para os municípios afetados pelos surtos neste
728 estado, foi de 11.308 km² (o equivalente a 130.800 ha). A medida territorial considerada,
729 o colocou na ordem crescente, dentre estados analisados, como o estado que apresentou
730 menor quantidade total de áreas destinadas para este cultivo. Coerente com os dados
731 divulgados pelo IBGE (2020), que divulgou área total no cultivo de cana de 265.149 ha
732 para o estado de Mato Grosso e para o estado de São Paulo, foi destinado para esse
733 cultivo em 2020, uma área total de 5.515.801 ha.

734

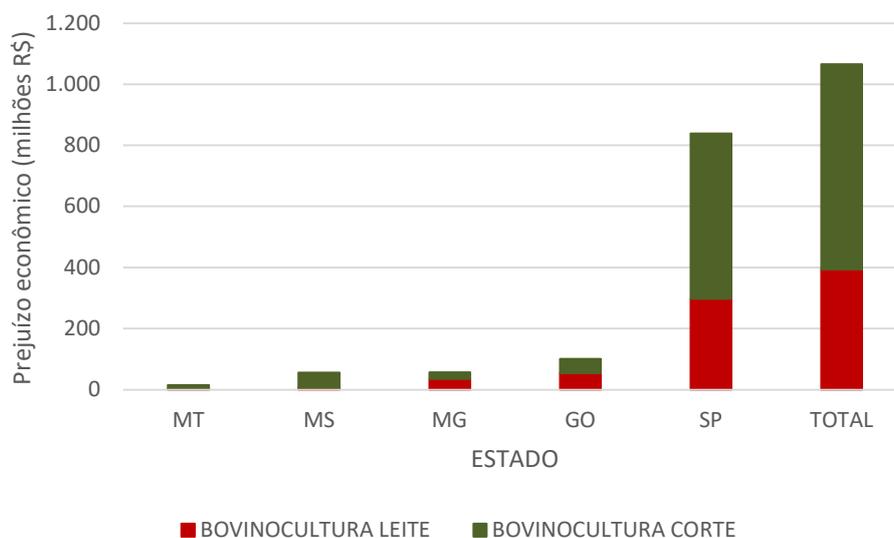
735 **Análise do impacto econômico sobre à bovinocultura brasileira em função de**
736 **surtos de mosca-dos-estábulo relacionados às usinas de cana-de-açúcar.**

737 Analisando apenas os surtos por *S. calcitrans* em proximidades de usinas, a
738 bovinocultura brasileira sofre reflexo direto, apresentando um significativo impacto
739 econômico (Figura 4), computando uma estimativa que ultrapassa a um bilhão de reais,
740 ou seja, R\$ 1.065.924.195,72 (US\$ 205.380.384,53).

741 Conforme a Fig. 4, o estado de São Paulo apresenta o maior prejuízo dentre os
742 estados afetados por surtos, com cerca de R\$ 838.885.342,28 (US\$ 161.634.940,71)
743 (78,7%) de prejuízos anuais na produção de leite e carne. São José do Rio Preto foi o
744 município que se destacou a nível estadual e nacional, com prejuízos em torno de R\$
745 129.520.320,97 (US\$ 24.955.745,85).

746 O segundo estado com maior potencial para prejuízo econômico foi Goiás
747 (9,4%), com prejuízos estimados em R\$ 100.477.288,27 (US\$ 19.359.785,79). Neste
748 Estado, o município com maior prejuízo foi Morrinhos, com 20.511.109,17 (US\$
749 3.952.044,16). Minas Gerais (5,33%) contabilizou prejuízos em torno de R\$
750 56.858.929,09 (US\$ 10.955.477,67) com destaque para o município de Frutal com
751 prejuízos alcançando R\$ 17.569.594,56 (US\$ 3.385.278,34).

752



753

754 Figura 4. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bovinocultura no Brasil

755

756 Prejuízos econômicos estimados para o Estado de Mato Grosso do Sul (5,2%)
 757 foi de R\$ 55.281.147,86 (US\$ 10.651.473,58), destacando-se o município de Nova
 758 Andradina com prejuízos estimados em R\$ 9.039.000,59 (US\$ 1.741,618,61).

759 O Estado de Mato Grosso (1,35%) computou prejuízos da ordem de R\$
 760 14.421.488,22 (US\$ 2.778.706,79), tendo sido maiores no município de Mirassol
 761 d'Oeste com R\$ 7.084.013,89 (US\$ 1.364.935,14).

762 Os resultados de prejuízos encontrados no presente estudo foram inferiores dos
 763 publicados por Taylor *et al.* (2012) e Rodriguez-Vivas *et al.* (2017), que apresentaram,
 764 respectivamente, prejuízos de US\$ 2,211 bilhões e US\$ 6,79 bilhões.

765

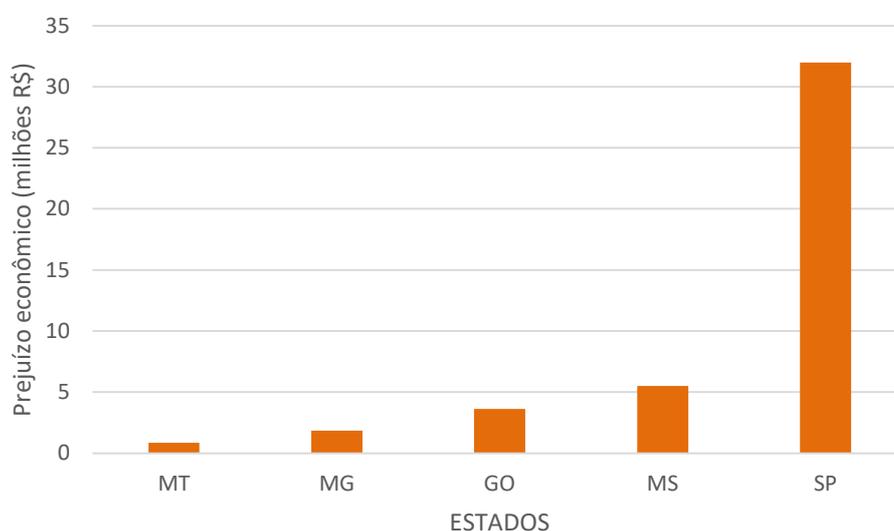
766 **Análise do impacto econômico causado por surtos de *S. calcitrans* nas indústrias** 767 **sucroenergéticas**

768 Dos 221 municípios afetados, apenas 128 possuem indústrias sucroenergéticas
 769 dentro em seu território, com números variados entre um e quatro usinas. Municípios
 770 sem usinas em seu território eram vizinhos de outros com usinas sucroenergéticas,
 771 chegando a 11 unidades em suas imediações. Essa constatação, pode explicar a presença
 772 de surtos de mosca-dos-estábulo relacionados à atividade industrial da cana-de-açúcar

773 nos municípios que não possuem usinas em seu território, mas que sofrem influências
774 direta de usinas presentes no(s) seu(s) município(s) vizinho(s).

775 A quantidade total de cana produzida nos municípios afetados pelos surtos de
776 mosca-dos-estábulo foi de 291.621.017 toneladas no ano de 2020. O prejuízo estimado
777 para o setor sucroenergético foi estimado em R\$ 43.743.152,55, equivalente a US\$
778 8.428.353,09 ao ano.

779 Os estados com maiores prejuízos ao setor sucroenergético, em ordem
780 decrescente, foram São Paulo, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e Mato
781 Grosso, ilustrado Fig. 5.



782
783 Figura 5. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo ao setor
784 bioenergético no Brasil

785
786 Conforme dados divulgados pelo IBGE, no ano de 2020, o estado de São Paulo
787 produziu o total de 352,3 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, sendo
788 responsável por 52% da produção nacional ou seja, 677,9 milhões de tonelada.

789 No presente estudo, os municípios afetados pelos surtos no estado de São Paulo
790 foram os maiores produtores de cana, com 213,3 milhões de toneladas, representando
791 73.14% da produção total dos demais estados analisados.

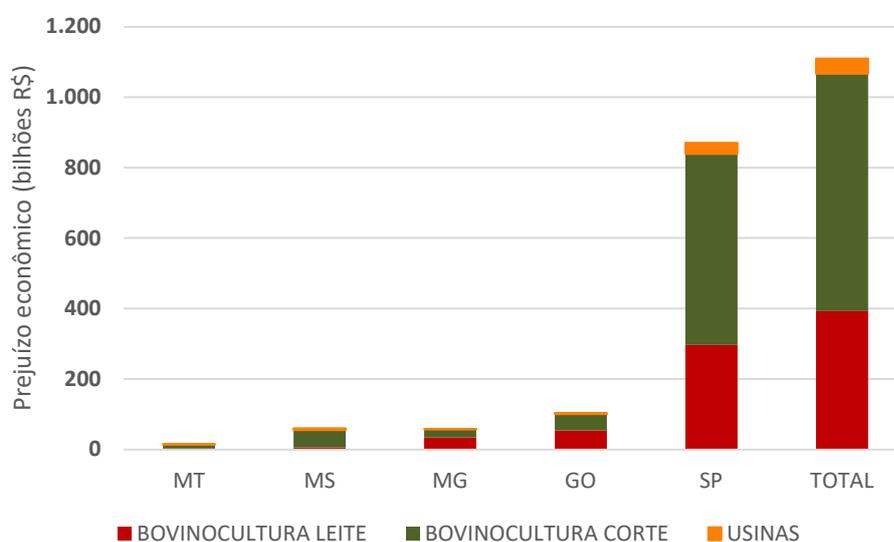
792

793 **Análise do impacto econômico causado por surtos de *S. calcitrans* na bovinocultura**
 794 **e indústrias sucroenergéticas brasileira**

795 O potencial prejuízo econômico para a pecuária bovina no Brasil, em
 796 decorrência de surtos de *S. calcitrans* relacionados às usinas de cana-de-açúcar, foi
 797 estimado em R\$ 1,065 bilhões (US\$ 205,3 milhões).

798 O potencial prejuízo econômico anual estimado neste estudo, para as indústrias
 799 sucroenergéticas nos estados analisado, foi de R\$ 43,7 milhões (US\$ 8,4 milhões).

800



801

802 Figura 6. Estimativas do impacto econômico de surtos da mosca-dos-estábulo à bovinocultura e ao setor
 803 bioenergético no Brasil

804 O montante final dos prejuízos financeiros aos setores de bovinocultura e
 805 bioenergético brasileiro, foi de R\$ 1.109.667.348,27 (UU\$ 213.808.737,62), Fig. 6.

806 **Análise da equivalência socioeconômica do impacto potencial causado por surtos**
 807 **de *S. calcitrans***

808 O impacto econômico negativo dos surtos da mosca-dos-estábulo à
 809 bovinocultura e às indústrias sucroenergéticas brasileira foi equiparado ao parâmetro
 810 financeiro salário mínimo, remuneração oficial do trabalhador brasileiro.

811 Os prejuízos causados por surtos de *S. calcitrans* à pecuária equivalem à
 812 quantidade de 1.020.023 salários mínimos (valor vigente de R\$ 1.045,00) ao ano. Se

813 incluída 13^o parcela, o montante representa 78.463 salário mínimos. Para o setor
 814 bioenergético, o prejuízo equivale a 41.857 salários mínimos. Quando somados os
 815 prejuízos da pecuária bovina com os das usinas, finaliza com uma quantidade
 816 expressiva de 1.061.878 salários mínimos, Tab. 1.

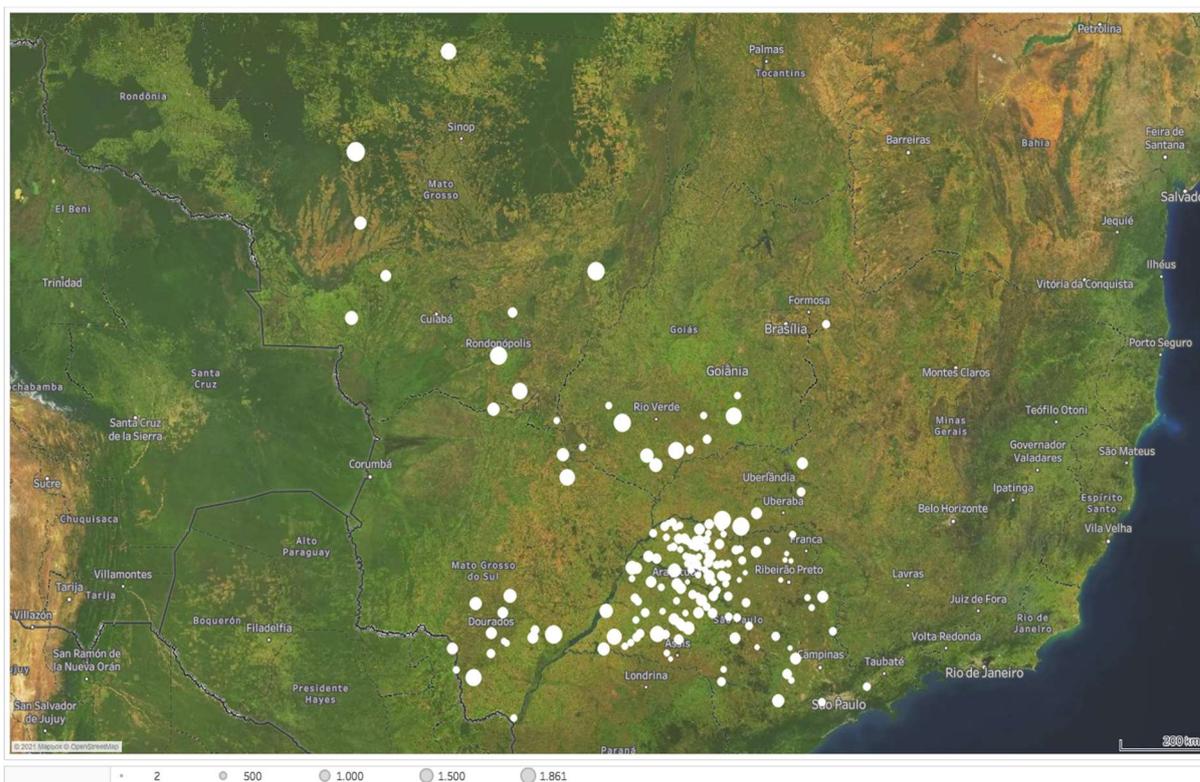
817

818 Tabela 1. Potenciais prejuízos econômicos municipais decorrentes de surtos por *Stomoxys calcitrans* à
 819 pecuária bovina e às usinas bioenergéticas em 2020, equiparados em número de salários mínimos

Estado	Salário Mínimo* (Quantidade)		
	Pecuária Bovina	Usinas Bioenergéticas	Total
SP	802.761	30.618	833.379
MS	52.900	5.258	58.158
MG	54.410	1.743	56.153
GO	96.150	3.446	99.596
MT	13.800	792	14.592
Total	1.020.021	41.857	1.061.878

820 * R\$ 1.045,00 (Banco do Brasil, 2020)

821 Ao analisar a Fig. 6, percebe-se a distribuição espacial de “salários mínimos
 822 equivalentes” aos prejuízos por mosca-dos-estábulo, visualiza-se maior foco de
 823 concentração no noroeste do estado de São Paulo, sul de Minas Gerais, Goiás, Mato
 824 Grosso do Sul e Mato Grosso na sequência. Esta figura ilustra claramente os locais de
 825 incidência dos surtos.



826

827

828 Figura 7. Distribuição espacial de salários mínimos potencialmente disponíveis pela equiparação dos
 829 prejuízos econômicos municipais por surtos de *Stomoxys calcitrans* associados às usinas bioenergéticas

829

830 Conclusões

831

832 O potencial prejuízo econômico para o Brasil em decorrência de surtos se *S.*
 833 *calcitrans* relacionados a usinas de cana-de-açúcar chegam a valores superiores a 1,066
 834 bilhões de reais (US\$ 205,5 milhões de dólares dólar). O estado de SP possui o maior
 835 impacto potencial para os surtos de *S. cacitrans* com valores totais que podem
 836 ultrapassar 838,8 milhões de reais (US\$ 161,6 dólares), representando 78,6% do
 837 prejuízo ao Brasil

837

838 O prejuízo estimado para o setor sucroenergético foi estimado em R\$
 839 43.743.152,55, equivalente a US\$ 8.428.353,09 ao ano.

839

840 O montante final dos prejuízos financeiros aos setores de bovinocultura e
 bioenergético brasileiro, foi de R\$ 1.109.667.348,27 (UUS\$ 213.808.737,62).

841 Apesar do esforço dispendido, trata-se de uma estimativa preliminar, construída
842 a partir das informações disponíveis, as quais nem sempre possuíam o refinamento e a
843 precisão desejados. Mais estudos do impacto de surtos na produção animal são
844 necessários. No presente estudo ficaram evidenciados pela escassez de dados científicos
845 robustos e detalhados para subsidiar as análises necessárias.

846

847 **Agradecimentos**

848 Embrapa Gado de Corte – Campo Grande, MS (realização das atividades experimentais
849 e orientação)

850 Biosul – Campo Grande – MS (dados relacionados a ocorrência dos surtos)

851 CAPES - Agente financiador doutoranda.

852

853 **Referências**

854

855 ALVES, L., Surtos da mosca do estábulo já chegam à Goiás. Revista Campo., v.199,
856 p.1819, 2012.

857

858 ANUAL DA PECUÁRIA BRASILEIRA. ANUALPEC. [Home Page]. Disponível em:
859 <www.anualpec.com.br>. Acesso em 25 de maio de 2022.

860

861 B C B - BANCO CENTRAL DO BRASIL. Consulta de cotações e boletins.
862 Disponíveis em: <<https://www.bcb.gov.br/estabilidadefinanceira/historicocotacoes>>.
863 Acesso em 09 de maio de 2022.

864

865 BARRÉ, N., Les stomoxes ou" mouches bouf" à la Réunion. Pouvoir pathogène,
866 écologie, moyens de lutte. Maisons-Alfort: GERDAT-IEMVT. p. 96, 1981.

867

- 868 BARROS, A. T. M.; KOLLER, W. W.; CATTO, J. B. *et al.* Surtos por *Stomoxys*
869 *calcitrans* em gado de corte no Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira.*,
870 v.30, p. 945-952, 2010.
- 871
- 872 BERNARDES, J. C.; GONZALEZ, S. G.; MAC LEAN, P. B. *et al.* Efeito da infestação
873 de *Stomoxys calcitrans* em propriedades rurais situadas próximo à usina sucroenergética
874 de Queiroz/SP. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA
875 VETERINÁRIA, 20., 2018, Londrina. Anais XX Congresso Brasileiro de Parasitologia
876 Veterinária, 2018, p.216.
- 877
- 878 BISHOPP, F. C. The stable fly (L.) an important live stock pest. *Stomoxys calcitrans.*
879 *Journal of Economic Entomology.*, v.6, n.1, p.112-116, 1913.
- 880
- 881 BITTENCOURT, A. J. Avaliação de surtos e medidas de controle ambiental de
882 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) na região sudeste do Brasil. *Revista Brasileira*
883 *de Medicina Veterinária.*, v. 34, n.1, p.7382, 2012.
- 884
- 885 CORRÊA, E. C.; RIBAS, A. C. A.; GAONA, J. C.; BARROS, A. T. M. Abundância de
886 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em diferentes subprodutos canavieiros. *Pesq.*
887 *Vet. Bras.*, v.33, n.11, p.1303-1308, 2013.
- 888
- 889 DOMINGHETTI, T. F. S.; BARROS, A. T. M.; SOARES, C. O. *et al.* Surtos por
890 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) no Brasil: situação atual e perspectivas.
891 *Revista Brasileira Parasitologia., Vet.*, v. 24, n. 4, p.387-395, 2015.
- 892
- 893 FERREIRA, A. M.; MIRANDA, J. E.C. Medidas de eficiência da atividade leiteira:
894 índices zootécnicos para bovinos leiteiros. EMBRAPA-CNPGL. Juiz de Fora, MG,
895 2007, 8p. Comunicado Interno 54. [Home Page]. Disponíveis em:

- 896 <[https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/65441/1/COT-54-Medidas-de-](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/65441/1/COT-54-Medidas-de-eficiencia.pdf)
897 [eficiencia.pdf](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/65441/1/COT-54-Medidas-de-eficiencia.pdf)>. Acesso em 02 de agosto de 2022.
- 898
- 899 GOMES, R. A., Surtos de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em bovinos e
900 equinos na região Noroeste de São Paulo / Brasil devido ao desequilíbrio ambiental.
901 Engormix.com, Artigos técnicos, Pecuária de corte., 2009.
- 902
- 903 GOMES, R. A.; FREDERICO, M. A.; MEIRELES, A. C. *et al.* Gastos médios
904 financeiros e prejuízos com *Stomoxys calcitrans* “mosca da vinhaça”.In: XX
905 CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 20, 2018,
906 Londrina. Anais XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2018, p.240,
907 2018.
- 908
- 909 GRISI, L.; LEITE, R. C., MARTINS, J. R .S. *et al.* Reassessment of the potential
910 economic impact of cattle parasites in Brazil. Revista Brasileira Parasitologia
911 Veterinária., v.23(2), p.150-156, 2014.
- 912
- 913 GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C., BARROS-BATTESTI, D. M. Ectoparasitos de
914 importância veterinária. São Paulo: Plêiade/FAPESP., p.218, 2001.
- 915
- 916 HOGSETTE, J. A., RUFF, J.P., JONES, C. J. Stable fly biology and control in
917 northwest Florida. J. Agric. Entomol., 4(1): 1-11, 1987.
- 918
- 919 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. SIDRA –
920 Sistema IBGE De Recuperação Automática. Pesquisa Pecuária Municipal – PPM.
921 <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/tabelas/brasil/2020>>. Acesso em 02 de abril de
922 2022.
- 923

- 924 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento
925 sistemático da produção agrícola. Estatística da produção agrícola. Dezembro de 2020.
926 Disponível <[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2020_dez.](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2020_dez.pdf)
927 [pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2020_dez.pdf)>. Acesso em 11 de agosto de 2022
928
- 929 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE
930 de Recuperação Automática – SIDRA. Tabela 74 - Produção de origem animal, por tipo
931 de produto 2020. Disponíveis em <<https://www.ibge.gov.br>> Acesso em 03 de abril de
932 2022.
933
- 934 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE
935 de Recuperação Automática – SIDRA. Tabela 94 – Vacas Ordenhadas. 2020.
936 Disponíveis em <<https://sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 07 de abril de 2022.
937
- 938 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE
939 de Recuperação Automática – SIDRA. Tabela 1086 - Quantidade de leite cru adquirido
940 e industrializado e variação. 2020. Disponíveis em <<https://sidra.ibge.gov.br>> Acesso
941 em 30 de março de 2022.
942
- 943 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE
944 de Recuperação Automática – SIDRA. Tabela 1092 - Número de informantes,
945 Quantidade e Peso total das carcaças dos bovinos abatidos, no mês e no trimestre, por
946 tipo de rebanho e tipo de inspeção. 2020. Disponíveis em
947 <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1092>>. Acesso em 10 de abril de 2022.
948
- 949 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE
950 de Recuperação Automática – SIDRA. Tabela 1612 - Área plantada, área colhida,
951 quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção das lavouras temporárias.
952 2020. Disponíveis em <<https://sidra.ibge.gov.br>> Acesso em 13 de abril de 2022.

953 IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE
954 de Recuperação Automática – SIDRA. Tabela 3939 - Efetivo dos rebanhos, por tipo de
955 rebanho. 2020. Disponíveis em <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em 17 de abril de
956 2022.

957

958 IMEA – INSTITUTO MATO-GROSSENSE DE ECONOMIA AGROPECUÁRIA
959 <<https://imea.com.br/imea-site/relatorios-mercado-detalle>>. Acesso em 20 de maio de
960 2020.

961

962 KASSAB, S.O.; GAONA, J.C.; LOUREIRO, E. DE S.; MOTA, T.A.; FONSECA,
963 P.R.B. DA; ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulo no Mato
964 Grosso do Sul: Medidas de controle e prevenção. Revista Agrarian, v.5, n.15, p.84-88,
965 2012.

966

967 KOLLER, W. W.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. *et al.* Surtos da mosca-dos-estábulo,
968 *Stomoxys calcitrans*, em Mato Grosso dos Sul: novo problema para as cadeias
969 produtivas da carne e sucoenergética? Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, p. 1-
970 31, 2009.

971

972 KUNZ, S. E.; MURRELL, K. D.; LAMBERT, G. *et al.* Estimated losses of livestock to
973 pests. In: Pimentel D. Handbook of pest management in agriculture. Boca Raton: CRC
974 Press.; v. 1, p.69-98, 1991.

975

976 ME – MINISTÉRIO DA ECONOMIA. Disponível: < [https://www.gov.br/economia/pt-
977 br/assuntos/noticias/2020/](https://www.gov.br/economia/pt-br/assuntos/noticias/2020/)>. Acesso em 05 de maio de 2022.

978

979 NOVACANA. Disponível em <<https://www.novacana.com/>>. Acesso em 28 de março
980 de 2022

981

- 982 ODA, F. H.; ARANTES, C. A. Surto populacional da mosca dos estábulos *Stomoxys*.
983 Agronegócios e Meio Ambiente., v. 3 (1), p. 145-159, 2010.
984
- 985 RODRIGUEZ-VIVAZ, R. I. Potential economic impact assessment for cattle parasites
986 in Mexico.Review. Revista Mexicana de Ciencias Pecuaria., v.8, n.1, p.61-74, 2017.
987
- 988 SEMAGRO – MS – SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE,
989 DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, PRODUÇÃO E AGRICULTURA
990 FAMILIAR. Disponíveis em: <[https://www.semagro.ms.gov.br/mato-grosso-do-sul-e-
991 o-5o-entre-os-estados-que-mais-exportam-carne-bovina/](https://www.semagro.ms.gov.br/mato-grosso-do-sul-e-o-5o-entre-os-estados-que-mais-exportam-carne-bovina/)>. Acesso em: 01 de maio de
992 2022.
993
- 994 TAYLOR, D. B.; MOON, R. D.; MARK, D, R. Economic impact of stable flies
995 (Diptera: Muscidae) on dairy and beef cattle production. J. Med. Entomol., v.49, n.1,
996 p.198-209, 2012.

997 **Identificação do bacterioma de *Stomoxys calcitrans***998 **Identification of the *Stomoxys calcitrans* bacteriome**

999 Souza¹, Eronides Marques; Barros², Antonio Thadeu Medeiros de; Santos², Lenita
1000 Ramires dos; Cançado², Paulo Henrique Duarte; Araújo³, Flávio Ribeiro de

1001

1002 ¹Souza, E. M. Médica Veterinária, Tese de Doutorado, UFMS, MS, Brasil. 2022. -
1003 Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

1004 ²Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

1005 ³ Professor, PPG Ciências Veterinárias, UFMS, MS, Brasil.

1006

1007 **Resumo:** *Stomoxys calcitrans* (mosca-dos-estábulo) é um inseto que parasita diversos
1008 grupos de animais, incluindo os seres humanos. Nas últimas décadas, surtos desta
1009 mosca têm sido registrados em várias regiões do Brasil. Por ser um inseto hematófago,
1010 alimentam-se de vários hospedeiros em um único repasto, interferindo na saúde e
1011 produção animal e, conseqüentemente levando a prejuízos econômicos. Algumas
1012 pesquisas indicam a importância de *S. calcitrans* como possível vetor mecânico e
1013 biológico de diversos agentes patogênicos, porém poucos estudos foram realizados
1014 envolvendo situações de campo, identificação e o isolamento de microorganismos em
1015 moscas selvagens. O objetivo deste estudo foi comparar o bacterioma identificado em
1016 DNA extraídos de populações de *S. calcitrans* obtidas de três nichos ecológicos
1017 distintos e comparar a diversidade do bacterioma presente em DNA extraídos de mosca-
1018 dos-estábulo presentes na usina sucroalcooleira, com as criadas em laboratório
1019 (colônia) e moscas coletadas externamente às instalações da Embrapa-CNPGC. Para o
1020 estudo foi utilizado a metodologia de metagenômica e bioinformática. Através das
1021 análises de metagenoma foi identificada vasta diversidade de bactérias, destacando
1022 quatro filos Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria. As bactérias do
1023 filo Proteobacteria foi o que apresentou maior frequência relativa nos três grupos de
1024 amostras de DNA extraído de mosca-dos-estábulo. Porém, as amostras das
1025 dependências externas da Embrapa foi o que apresentou maior variedade de filos de
1026 bactérias,

1027 **Palavras-chave:** Bioinformática, Bactérias, DNA, Metagenômica, Mosca-dos-
1028 estábulo.

1029 **Abstract:** *Stomoxys calcitrans* (stable fly) is an insect that parasitizes several groups of
1030 animals, including humans. In recent decades, outbreaks of this fly have been recorded
1031 in several regions of Brazil. As a hematophagous insect, they feed on several hosts in a
1032 single meal, interfering with animal health and production and, consequently, leading to
1033 economic losses. Some researches indicate the importance of *S. calcitrans* as a possible
1034 mechanical and biological vector of several pathogenic agents, however few studies
1035 have been carried out involving field situations, identification and isolation of
1036 microorganisms in wild flies. The objective of this study was to compare the bacteriome
1037 identified in DNA extracted from populations of *S. calcitrans* obtained from three
1038 different ecological niches and to compare the diversity of the bacteriome present in
1039 DNA extracted from stable flies present in the sugar and alcohol plant, with those
1040 created in the laboratory (colony) and flies collected outside the Embrapa-CNPQC
1041 facilities. For the study, the methodology of metagenomics and bioinformatics was
1042 used. Through metagenome analysis, a vast diversity of bacteria was identified,
1043 highlighting four phyla Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria.
1044 Bacteria of the phylum Proteobacteria showed the highest relative frequency in the three
1045 groups of samples of DNA extracted from stable flies. However, samples from
1046 Embrapa's external facilities showed the greatest variety of bacterial phyla,

1047 **Keywords:** Bioinformatics, Bacteria, DNA, Metagenomics, Stable fly.

1048

1049 **Introdução**

1050 Conhecida popularmente como “mosca-dos-estábulo” ou “mosca-da-vinhaça”,
1051 *Stomoxys calcitrans* vem despontando como uma das preocupações constantes e
1052 crescentes a criadores de bovinos, bem como ao setor sucroenergético. *S. calcitrans* é
1053 um díptero hematófago e, em sua fase adulta, apresenta inespecificidade parasitária,
1054 podendo atacar diferentes espécies animais, como bovinos, equinos, ovinos, caprinos,
1055 caninos, suínos, aves (Bishopp, 1913) e inclusive seres humanos (Hogsette *et al.*, 1987).

1056 Nas últimas décadas, explosões populacionais dessa mosca têm sido frequentes
1057 em algumas regiões do Brasil (Koller *et al.*, 2009; Barros *et al.*, 2010; Kassab *et al.*

1058 2012), caracterizando-se como surtos. A geração de resíduos e subprodutos de origem
1059 orgânica em larga escala nas usinas sucroenergéticas favorecem o desenvolvimento das
1060 larvas da mosca-dos-estábulo (Corrêa *et al.*, 2013; Dominghetti *et al.*, 2015). A
1061 associação entre a vinhaça aplicada durante a fertirrigação e a palhada resultante da
1062 colheita mecanizada, após a proibição da queima pré-colheita da palha da cana,
1063 aumentou consideravelmente a disponibilidade de locais e substratos para a proliferação
1064 e manutenção das formas larvais deste parasito (Gomes *et al.*, 2018).

1065 As regiões sudeste e centro-oeste do país apresentam registros de surtos em
1066 vários municípios, contabilizando significativos prejuízos e promovendo um impacto
1067 sócio-econômico negativo de grande expressão. Atualmente, cinco estados brasileiros se
1068 destacam com surtos dessa mosca, Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Mato Grosso e
1069 Mato Grosso do Sul (Gomes, 2009; Koller *et al.*, 2009; Barros *et al.*, 2010; Oda e
1070 Arantes, 2010; Alves, 2012; Bittencourt, 2012).

1071 Além do estresse contínuo causado pela infestação elevada da mosca-dos-
1072 estábulo, somam-se aos prejuízos, as perdas de sangue e redução do consumo de
1073 alimentos por estes animais (Bittencourt e Moya, 2002), além de lesões no couro e
1074 transmissão de agentes patogênicos que também podem estar associadas a esse
1075 parasitismo (De La Fuente *et al.*, 2008).

1076 Embora a questão do aumento populacional de *S. calcitrans* e consequente
1077 perturbação/estresse de animais parasitados sejam importantes, é preciso considerar um
1078 possível efeito indireto relacionado a insetos sugadores de sangue, como é a mosca-
1079 dos-estábulo, o da capacidade de realizar transmissão de agentes patogênicos entre
1080 indivíduos parasitados (Fosster *et al.*, 2007).

1081 Patógenos foram identificados em *S. calcitrans* e descritos como passíveis de
1082 transmissão por vias mecânicas por esta mosca (Hadi e Amery 2012). Na revisão de
1083 Baldacchino *et al.* (2013), os autores descreveram o fato deste parasito realizar picadas
1084 dolorosas que se tornam intermitentes, ou seja, ocorrem interrupções da sua
1085 alimentação, justamente pelo incômodo direto que provoca ao seu hospedeiro.
1086 Conseqüentemente, diferentes animais podem ser parasitados pela mesma mosca. Se

1087 existem microrganismos no sangue do hospedeiro, a mosca-dos-estábulo pode carregá-
1088 los em seu aparelho bucal (ou em outras partes de seu corpo) sendo possível que
1089 patógenos remanescentes sejam transferidos para um animal susceptível. Nesta revisão,
1090 os autores citaram diversas publicações as quais demonstram a transmissão por *S.*
1091 *calcitrans* de diversas bactérias, vírus, rickettsias, protozoários e helmintos. Assim,
1092 mosca-dos-estábulo podem ser hospedeiros intermediários dos nematóides *Habronema*
1093 *microstoma* (agente da habronemose gástrica e/ou cutânea dos equinos); possível
1094 transmissor do vírus da anemia infecciosa equina; vetor mecânico na transmissão de
1095 *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*, dentre outros patógenos.

1096 Atenção especial deve ser dada à possível relação entre surtos de
1097 tripanossomíase em bovinos ocorridos na América Latina, inclusive nos estados de São
1098 Paulo e Minas Gerais, no Brasil (Oliveira *et al.*, 2009; Cuglovici *et al.*, 2010; Cadiolli *et*
1099 *al.*, 2012). De modo geral, o envolvimento de *S. calcitrans* no aparecimento dos surtos
1100 de tripanossomíase tem sido baseado em observações empíricas, devido ao aumento na
1101 abundância desta mosca nas regiões afetadas, contudo tais interferências foram
1102 realizadas sem o monitoramento populacional da mosca. Assim, estudos mais
1103 completos, que contemplem a análise de dados em conjunto, podem trazer importante
1104 contribuição para o avanço do conhecimento nesta área.

1105 Poucos estudos foram realizados a partir de mosca-dos-estábulo para avaliação
1106 da biodiversidade de microrganismos e, os disponíveis, apresentam certa limitação da
1107 informação obtida pelas metodologias, envolvendo apenas cultura ou análise pontual
1108 por clonagem molecular (Foster *et al.*, 2007; Mramba *et al.*, 2007; Castro *et al.*, 2007;
1109 Castro *et al.*, 2010; Castro *et al.*, 2013; Olafson *et al.*, 2019). Análises moleculares por
1110 sequenciamento de nova geração estão entre as mais modernas técnicas utilizadas no
1111 estudo de vetores e têm sido aplicadas para determinar a diversidade de microrganismos
1112 presentes em artrópodes vetores, tanto de importância humana como veterinária (Ng *et*
1113 *al.*, 2011; Belak *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2013; Villegas e Pimenta, 2014). A
1114 metagenômica é uma abordagem baseada na análise genômica de uma população de
1115 microrganismos que permite identificar e avaliar comunidades microbianas em

1116 diferentes ecossistemas, incluindo aqueles não-cultiváveis (Handelsman, 2004). Porém,
1117 mesmo com os avanços obtidos, a complexidade para apresentar informações
1118 significativas a partir de milhões de sequências de diferentes genomas, ainda era um
1119 grande desafio para a área de bioinformática (Wooley *et al.*, 2010).

1120 Os progressos recentes observados no desenvolvimento de métodos de
1121 sequenciamento de DNA, denominados de sequenciamento de nova geração (New
1122 Generation Sequencing – NGS) e de alto rendimento, somados à variedade de
1123 ferramentas disponíveis em bioinformática, possibilitaram análises múltiplas de
1124 inúmeros genomas.

1125 Análises genômicas das moscas-dos-estábulo foram realizadas por meio de
1126 metabarcoding, comparando as comunidades microbianas bacterianas (marcador 16S) e
1127 eucarióticas (marcador 18S) em larvas de mosca e seus substratos de desenvolvimento
1128 (Scully *et al.*, 2017). A partir desta análise, ficou demonstrado que a comunidade
1129 microbiana das larvas (diferentes habitats/substratos) é distinta daquelas encontradas
1130 nos substratos, e menos diversificada. Sugerindo que a fisiologia da larva hospedeira
1131 pode desempenhar um papel seletivo em relação ao enriquecimento e retenção dos
1132 microrganismos em *S. calcitrans*, como é observado em outros insetos, possivelmente
1133 aos mecanismos digestivos relacionados a enzimas (Terra *et al.*, 1988; Lemos e Terra,
1134 1991, Moraes *et al.*, 2010). Refoçando a discussão de Scully *et al.* (2017), da
1135 possibilidade de que produtos antibacterianos secretados por bactérias que colonizam o
1136 intestino de *S. calcitrans* possam prevenir competição/colonização por outras espécies
1137 bacterianas.

1138 Diante desses fatores, objetivou-se com esse estudo utilizar metodologia
1139 metagenômica para gerar conhecimentos acerca deste parasito e sua interação com
1140 microrganismos diversos, sendo possível conhecer a diversidade microbiana que pode
1141 ser encontrada nesta mosca.

1142

1143 **Material e Métodos**

1144 **Aquisição de exemplares de *S. calcitrans*:**

1145 Foram realizadas diferentes coletas para aquisição de exemplares de *S.*
1146 *calcitrans*. Com a obtenção de amostras foram obtidas em três locais diferentes:

1147 Pátio I – Colônia EMBRAPA – CNPGC

1148 Pátio II – Dependências externas EMBRAPA – CNPGC

1149 Pátio III – Usina sucroenergética

1150

1151 **Pátio I - Colônia**

1152 Coleta de mosca-dos-estábulo do Laboratório de Parasitologia Veterinária
1153 Aplicada (PAVAP), EMBRAPA/CNPGC.

1154 As moscas *Stomoxys calcitrans* são oriundas de coletas de duas usinas distintas
1155 mantidas em caixas, identificadas por "colônias", permanecem sob temperatura,
1156 iluminação e umidade controladas.

1157 Como protocolo inicial e preparação para a coleta, a alimentação desses insetos
1158 foi suspensa por 3 dias antes da realização da coleta. Amostras dessas moscas foram
1159 coletadas colocando estrategicamente a caixa das colônias na bancada, voltando o fundo
1160 da mesma em direção a incidência luminosa. Com essa manobra, as moscas se reúnem
1161 ao fundo da caixa, liberando acesso à entrada e permitindo a abertura da mesma. Feito
1162 isso, acoplou-se na entrada da caixa, uma rede, servindo de armadilha entomológica. A
1163 caixa foi removida à outra bancada, expondo a abertura vedada com a armadilha para o
1164 lado com fonte luminosa, assim, as moscas se moveram espontaneamente em direção a
1165 mesma, facilitando a coleta.

1166 As moscas capturadas na armadilha foram cuidadosamente transferidas para
1167 tubos Falcon de 50 mL. Esses tubos foram identificados por meio de etiquetas e
1168 refrigerados à temperatura de - 20°C, emergidos em um recipiente de isopor contendo
1169 vapor de nitrogênio líquido, por um período de 5 minutos, temperatura e tempo
1170 necessários para moscas entrarem em estado de dormência. Logo após esse período, o
1171 material foi congelado abruptamente, mergulhando esses tubos em isopor contendo
1172 nitrogênio líquido. As amostras permaneceram congeladas em ultra-freezer com
1173 temperatura aproximada de - 80 °C, até o momento da extração do DNA.

1174

1175 **Pátio II - Embrapa**

1176 Coletas realizadas nas dependências externas da EMBRAPA/CNPGC, em pátio
1177 ao redor de baias destinadas à permanência de bovinos.

1178 A Embrapa Gado de Corte está localizada no município de Campo Grande (MS)
1179 e foi incluída nesta pesquisa, por se tratar de um sistema de produção de bovinos que
1180 não tem influência da presença de usinas sucroenergéticas.

1181 Amostras dessas moscas foram coletadas por meio de armadilhas modelos Nzi e
1182 Vavoua, esta última, ilustrada na Fig. 1.

1183



1184

1185 Figura 1. Armadilha modelo Vavoua para captura de moscas *Stomoxys calcitrans*

1186

1187 As moscas foram capturadas diretamente em coletores feitos de garrafas tipo
1188 PET (Polietileno Tereftalato), acopladas às armadilhas. Os coletores foram refrigerados
1189 sob temperatura de - 20 °C, facilitando assim, sua manipulação. Através desse
1190 procedimento, as moscas foram identificadas e apenas *S. calcitrans* foram transferidas a
1191 tubos Falcon de 50 mL. Logo após a transferência dos exemplares de moscas a esses
1192 tubos, já identificados com etiquetas, realizou-se o congelamento abrupto desse material
1193 em nitrogênio líquido e armazenados em ultra-freezer com temperatura aproximada de -
1194 80°C, conservando assim as amostras até o momento de extração do DNA.

1195

1196 **Pátio III – Usina**

1197 O objetivo dessa avaliação, foi detectar possíveis diferenças existentes na
1198 diversidade bacteriana em mosca-dos-estábulos capturadas próximas às propriedades
1199 de pecuária sob influência da usina em comparação às demais (Pátio I e Pátio II). Para
1200 coleta das amostras dessas moscas foram utilizadas armadilhas de modelo Nzi,
1201 conforme Fig. 2.

1202 Amostras de moscas foram coletadas nas dependências externas da usina
1203 sucroenergética (município de Rio Brillhante, MS). A coleta foi feita em torta de filtro
1204 (resíduo da filtragem da cana moída) em áreas próximas a fazendas vizinhas privadas,
1205 com atividade pecuária bovina de corte e/ou leite.



1206
1207 Figura 2. Armadilha modelo Nzi para captura de moscas *Stomoxys calcitrans*

1208 As moscas foram capturadas diretamente em coletores feitos com garrafas tipo
1209 PET, acopladas às armadilhas. Após a captura, as moscas coletadas foram transferidas
1210 diretamente aos tubos Falcon e congeladas abruptamente em nitrogênio líquido, sendo
1211 transportadas em seguida ao laboratório para identificação e separação dos exemplares
1212 de *S. calcitrans*. Em seguida, foram armazenadas em tubos identificados por meio de
1213 etiquetas, com quantidades variáveis de moscas. O material foi congelado e armazenado
1214 em ultra-freezer sob temperatura aproximada de - 80°C, conservando assim as
1215 amostras até o momento de extração do DNA.

1216

1217 Extração DNA genômico

1218 Todos os procedimentos para extração do DNA das amostras de mosca-dos-
1219 estábulos foram realizados no Laboratório de Engenharia Genética Animal (LEGA),
1220 EMBRAPA – CNPCG.

1221 DNA extraídos de exemplares de *S. calcitrans* coletados foram obtidos a partir
1222 de um “pool” de moscas selecionadas e classificadas, em coletas realizadas nos
1223 diferentes ambientes, como descrito anteriormente. Enumerados o “pool” de moscas,
1224 estas foram maceradas em um GRAL DE ÁGATA com PISTILO em porcelana, com
1225 auxílio de nitrogênio líquido. Utilizando ALÇA DE NUNC, o material foi pesado e
1226 separado, respeitando recomendações do fabricante Qiagen, DNeasy® Blood & Tissue
1227 Kit (nº 69504 e 69506). Foi adicionado a esse material, 180 µL de tampão ATL e 20 µL
1228 de proteinase K (concentração de 20 mg/mL), seguido de homogeneização manual, por
1229 movimentos de inversão. Essa mistura foi incubada em termomixer ou banho maria a
1230 56 °C, pelo tempo de 30 minutos. Neste período, a cada 10 minutos a incubação foi
1231 interrompida e adicionados ciclos de homogeneizações manuais por inversão,
1232 garantindo assim, a lise completa da amostra.

1233 Após a incubação, 200 µL de tampão AL foi adicionado ao tubo e
1234 imediatamente homogenizado manualmente em movimentos por inversão durante 15
1235 segundos e incubado pelo tempo de 10 minutos à temperatura de 56 °C. Etanol absoluto
1236 [96%] foi adicionado no volume de 200 µL e misturado em agitador orbital do tipo
1237 vórtex até completa homogeneização. A mistura líquida do tubo foi transferida, por
1238 meio de pipetagem, para tubo coletor de 2 mL acoplado à coluna DNeasy Mini com
1239 filtro, oferecidos pelo kit Qiagen. A mistura foi centrifugada logo em seguida (ciclo de 1
1240 minuto em rotação de $\geq 6.000 \text{ xg}$). Após descarte do tubo coletor, contendo o filtrado,
1241 dois ciclos de lavagem foram iniciados. As lavagens foram realizadas com a adaptação
1242 da coluna DNeasy Mini com filtro em um novo tubo coletor de 2 mL e adicionado 500
1243 µL do tampão AW1. O material foi centrifugado durante 2 minutos a $\geq 6.000 \text{ xg}$. O
1244 processo foi repetido e adicionado 500 µL do tampão AW2, levando em seguida à
1245 centrifugação durante 3 minutos a 14.000 xg . A coluna foi transferida para um tubo de

1246 1,5mL e adicionado 100 μ L de tampão AE para eluição, obtendo o DNA (E1). Após
1247 incubação por 1 minuto à temperatura ambiente (20 °C a 25 °C), foi centrifugado por 1
1248 minuto a $\geq 6.000 \text{ xg}$. Foi repetida a eluição anterior em outro tubo de 1,5 mL com 100
1249 μ L de tampão AE, centrifugando por 1 minuto a $\geq 6.000 \text{ xg}$ para recuperação máxima
1250 de DNA (E2).

1251 Os materiais obtidos foram identificados, por meio de etiquetas, conforme
1252 nomenclaturas padronizadas para cada nicho de moscas coletadas e armazenados em
1253 freezer em temperatura aproximada de -20 °C .

1254 **Controle de qualidade – Concentração, pureza e integridade do DNA**

1255 A avaliação da qualidade das amostras de DNA extraídas dos exemplares de
1256 mosca-dos-estábulo foi realizada por meio da determinação dos seguintes parâmetros:
1257 concentração, integridade e análise de pureza. Avaliou-se, se o mesmo apresentava
1258 padrões de qualidade suficientes e aceitáveis para a realização de PCR.

1259 **Avaliação da concentração e pureza do DNA**

1260 O método utilizado para medir a concentração e análise da pureza do DNA
1261 extraídos dos exemplares de mosca-dos-estábulo foi a quantificação por
1262 espectrofotometria, realizado no equipamento Nanodrop. A concentração do DNA foi
1263 expressa em $\text{ng}/\mu\text{L}$.

1264 **Análise de integridade do DNA**

1265 A integridade do DNA extraído dos exemplares de mosca-dos-estábulo foi
1266 avaliada por eletroforese em gel de agarose 1,0 %. A intensidade e a falta de definição
1267 das bandas apresentadas durante a corrida de eletroforese sinalizam possíveis
1268 degradações que podem ocorrer no processo de extração do DNA.

1269 Após a validação da qualidade do DNA, amostras foram selecionadas e
1270 ajustadas em soluções na concentração exigida no protocolo que foi utilizado, obtendo
1271 assim, uma adequada manutenção desse material. Em seguida, as amostras foram
1272 mantidas congeladas a -20 °C , sendo encaminhadas posteriormente ao sequenciamento
1273 do DNA e análise metagenômica 16S.

1274 **Análise metagenômica 16S (região v4)**

1275 **Sequenciamento NGS**

1276 Conforme resultados obtidos pós controle de qualidade das amostras de DNA
1277 extraídos (amostras aprovadas na quantificação da concentração, pureza e integridade
1278 do DNA extraído), uma amostra de cada nicho coletado foi selecionada e encaminhada
1279 para o Laboratório BPI Biotecnologia e Inovação, Botucatu – SP.

1280 As amostras de DNA extraídos das moscas de cada ambiente selecionadas foram
1281 identificadas para envio, conforme Tab. 1.

1282
1283 Tabela 1. Relação de amostras selecionadas de DNA extraídos de *S. calcitrans*, coletadas no Pátio I
1284 (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina)

Amostras	Identificação
Pátio I – Colônia	T2E1
Pátio II – Embrapa	P7E1
Pátio III – Usina	A5E2

1285

1286 **Amplificação da região 16S – Região V4 (Metabarcoding)**

1287 As reações de amplificação da região 16S foram feitas em triplicata de amostras,
1288 tendo volume final de 20 µL, contendo 10 µL de GoTaq® Colorless Master Mix 2x
1289 (Promega, USL), 0,3 µM de oligonucleotideo foward e 0,3 µM de oligonucleotideo
1290 reverse, 3 µL de DNA genômico e água ultrapura estéril suficiente para completar
1291 20uL. O protocolo de amplificação consistiu de desnaturação inicial a 94°C por 3
1292 minutos, seguida por 29 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a
1293 50°C por 60 segundos; extensão a 72°C por 90 segundos e uma extensão final a 72°C
1294 por 10 min.

1295 As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Veriti™
1296 Thermal Cycler (Applied Biosystems). Para amplificação foram utilizados os primers
1297 descritos na tab. 2. Após a reação de PCR, a amplificação de cada amostra foi
1298 comprovada através de eletroforese em gel agarose 2%, corado com Gel Red
1299 (Uniscience). Tamanho aproximado do Amplicon de 300 pares de base.

1300

1301 Tabela 2. Sequência dos oligonucleotídeos utilizados para a amplificação da região 16S (V4) das
 1302 amostras de DNA extraído de *Stomoxys calcitrans*, coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e
 1303 Pátio III (usina)

Amostras	Iniciador	Sequências
Universal	Foward ¹	5' – ATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTATGGTAAT TGTGTGCCAGCMGCCGCGGTAA - 3'
Pátio I COLÔNIA	R00	5' – CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATTCCCTTGTCTCC AGTCAGTCAGCCGGACTACHVGGGTWTCTAAT - 3'
Pátio II EMBRAPA	R11	5' – CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATAATTGTGTCCGA AGTCAGTCAGCCGGACTACHVGGGTWTCTAAT - 3'
Pátio III USINA	R02	5' – CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATGCTGTACGGATT AGTCAGTCAGCCGGACTACHVGGGTWTCTAAT - 3'

1304 *Fonte: Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ et al.
 1305 (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample.
 1306 ProcNatAcadSci USA 108(Supp¹): 4516–4522
 1307

1308 Purificação e Quantificação da Biblioteca

1309 As PCRs foram submetidas às etapas de purificação utilizando bead magnética
 1310 Agencourt AM Pure XP (Beckman Coulter) para remoção de fragmentos muito
 1311 pequenos da população total de moléculas e restos de primers e reação. Após essa etapa,
 1312 realizou-se a quantificação pela metodologia de PCR Tempo Real utilizando
 1313 termociclador Quant Studio 3 Real Time (AppliedBiosystems) e Kit KAPA-KK4824
 1314 (Library Quantification Kit - Illumina/Universal), todos de acordo com protocolo do
 1315 fabricante. Gerou-se um Pool equimolar de DNA através da normalização de todas as
 1316 amostras a 3nM para realização do sequenciamento, o qual foi conduzido utilizando-se
 1317 o sistema Illumina MiSeq de sequenciamento de nova geração (Illumina® Sequencing)
 1318 e kit MiSeqReagent Kit V2 Nano 300 ciclos – leitura de 2 x 150pb. As sequências
 1319 obtidas foram processadas utilizando bioinformática na plataforma Stingray Galaxy, em
 1320 colaboração com Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

1321

1322 Resultados e Discussão

1323 Quantificação do DNA

1324 As amostras extraídas apresentaram concentração e qualidade para
1325 sequenciamento de DNA. As concentrações obtidas estão apresentadas na Tab. 3.

1326

1327 Tabela 3. Quantificação e pureza do DNA (ng/μL) extraído de *Stomoxys calcitrans* (16S), coletadas Pátio
1328 I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina)

Local da coleta	Amostras	Leitura		
		ng/μL	260/280	260/230
Pátio I – COLÔNIA	T2E1	47,6	1,88	0,61
Pátio II – EMBRAPA	P7E1	25,0	1,94	0,78
Pátio III – USINA	A5E2	88,8	2,14	1,08

1329

1330

1331 Integridade do DNA

1332

1333

1334

1335

1336

1337

1338

1339

1340

1341

1342

1343

1344

1345

1346

1347

1348

1349

1350

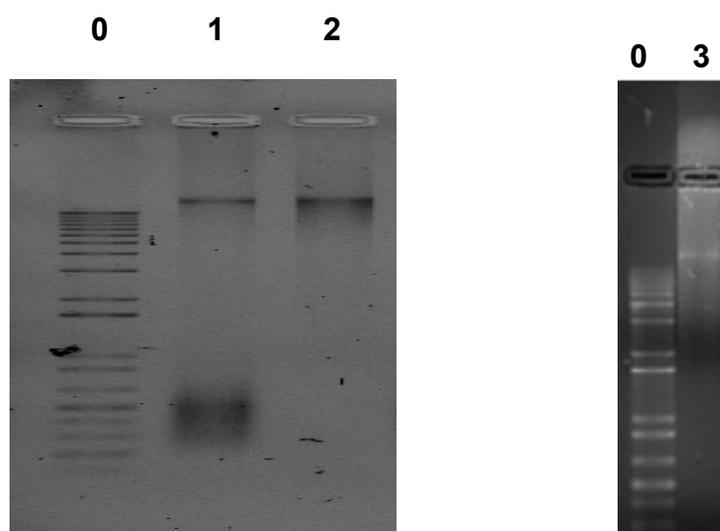
1351

1352

1353

1354

1355



1348 Figura 3. Eletroforese das amostras de DNA extraídos de moscas *Stomoxys calcitrans* (16S). Canaletas 0
1349 Gel A e Gel B – Marcador molecular 1 Kb plus DNA leader (Thermo Fisher Scientific, Waltham,
1350 Massachusetts, EUA); Gel A: Canaletas 1 – Pátio I (colônia); Canaletas 2 – Pátio II (Embrapa); Gel B:
1351 Canaletas 3 – Pátio III (usina)

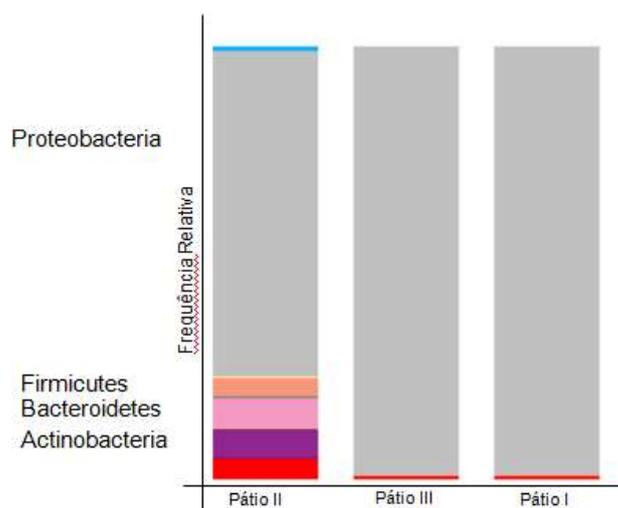
1353 Eletroforese das amostras de na análise demonstrou a integridade do DNA
1354 extraído, como demonstrado na Fig. 3.

1356 **Análise metagenômica**

1357 Após sequenciamento na plataforma Illumina obteve-se 221.337 sequências
 1358 provenientes das amostras Pátio I (colônia), 116.596 sequências da amostra Pátio II
 1359 (Embrapa) e 193.712 sequências da amostra Pátio III (usina). Após processamento das
 1360 amostras, totalizaram-se 531.645 sequências.

1361 Com aproximadamente 50 mil *reads* sequenciados por amostra, obteve-se
 1362 94.013 OTU (Operational Taxonomic Units), demonstrando a riqueza da diversidade de
 1363 espécies encontradas em cada amostra.

1364 O índice Shannon qualificou a diversidade de espécies das amostras analisadas.
 1365 Os pátios I e III apresentaram 0,99 e o pátio II apresentou 4,57; confirmando assim sua
 1366 maior diversidade bacteriana entre as demais amostras.



1367
 1368 Figura 4. Frequência relativa dos filos de bactérias encontrados nas amostras de DNA extraído de *S.*
 1369 *calcitrans* (16S), coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina)

1370
 1371 A Fig. 4, ilustra os quatro filos de bactérias com maiores frequências relativas
 1372 encontradas nas três amostras analisadas (Pátio I, Pátio II e Pátio III).

1373 Como descrito anteriormente, o filo das bactérias com maior frequência relativa
 1374 nas três amostras foi o Proteobacteria. Neste filo destacam-se duas famílias de bactérias
 1375 observadas nas amostras, a Enterobacteriaceae e Brucellaceae, como ilustrada na Fig. 5.

1376 A família Enterobacteraceae apresentou frequência relativa nas amostras com
 1377 18.1% no Pátio I (colônia), 39.6% no Pátio II (Embrapa) e 17.4% no Pátio III (usina).

1378 Dentre bactérias dessa família destacaram-se as *Providencia* spp., com 4.1% (Pátio I,
1379 colônia) e 4.3% (Pátio III, usina) e *Serratia* spp. com 67.8% ((Pátio I, colônia), 11.7%
1380 (Pátio II, Embrapa) e 70.3% (Pátio III, usina).

1381 Bactérias da família Brucellaceae foram detectadas na amostra do Pátio II
1382 (Embrapa) com frequência relativa de 7.4%.

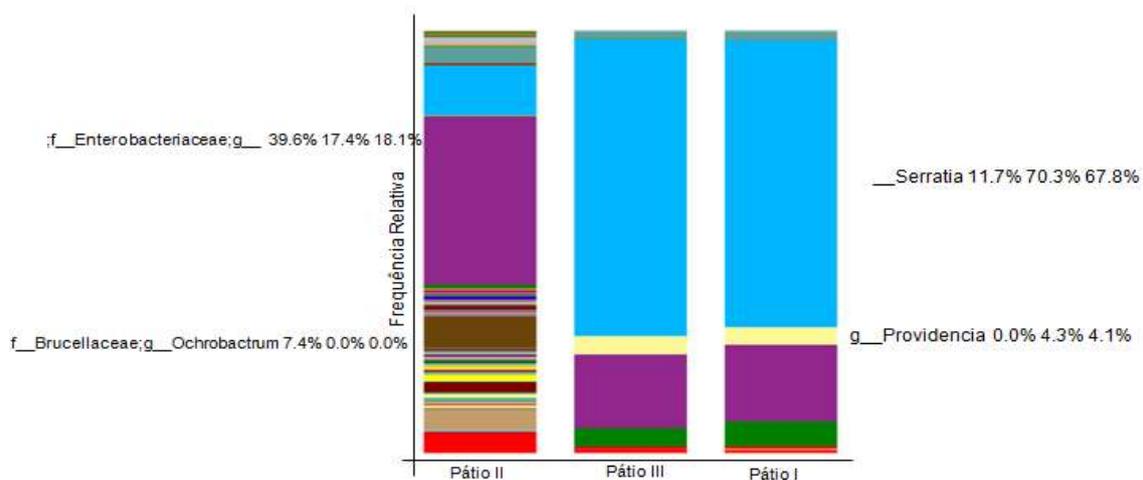
1383

1384 Tabela 4. Porcentagem da frequência de cada filo das bactérias encontradas nas amostras de DNA
1385 extraído de *S. calcitrans* (16S), coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina)

Filos	Pátio I	Pátio II	Pátio III
Proteobacteria (91%)	99,4	75,2	99,1
Bacteroidetes (2,3%)	0,0	6,9	0,0
Actinobacteria (2,2%)	0,0	0	6,7
Firmicutes (1,5%)	0,2	0,2	4,2

1386

1387 O segundo grupo de filios em destaque de maior frequência, foram as bactérias
1388 pertencentes ao filo Bacteroidetes, seguido dos filios Actinobacteria e Firmicutes, tab. 4.



1389

1390 Figura 5. Diversidade de filios de bactérias encontrados nas amostras de DNA extraídos de *S. calcitrans*
1391 (16S), coletadas no Pátio I (colônia), Pátio II (Embrapa) e Pátio III (usina)

1392

1393 Além das bactérias citadas anteriormente, as análises por metagenômica
1394 identificou vasta quantidade e variedade de DNA de bactérias extraídos nos exemplares

1395 de *S. calcitrans*. Foram identificadas, embora em menores frequências, várias bactérias
1396 de importância para doenças de ocorrência em bovinos, como as bactérias Clostrídias.
1397 Apesar de não ter sido identificado o gênero dessa bactéria, sabe-se da importância da
1398 ocorrência das clostridioses em bovinos. Foram detectados também bactérias de gêneros
1399 variados, como *Enterococcus* spp., bactéria de sistema entérico, *Staphylococcus* spp. e
1400 *Streptococcus* spp., bactérias de sistema respiratório. Todas pertencentes ao filo
1401 Firmicutes.

1402 Outra bactéria que a detecção de sua presença nestas análises merece atenção
1403 foi *Mycobacterium* spp. e, apesar de não identificado o gênero, sabe-se da importância e
1404 preocupação zoonótica dessas bactérias relacionadas a casos de tuberculose em bovinos
1405 e humanos. *Corynebacterium* spp. também foi identificada, comumente encontrada em
1406 feridas e abscessos de bovinos. Estas pertencentes ao filo Actinobacterium.

1407 Detectou-se também bactérias do gênero *Anaplasma* spp., agente causador da
1408 anaplasmoze bovina, doença de grande prevalência nos rebanhos. Ocorrência maior
1409 entre animais jovens, Tristeza Parasitária bovina é muito comum e podem estar
1410 associadas ou não a tripanosomoses. Hadi e Amery 2012, comprovaram a transmissão
1411 mecânica de *Trypanosoma* sp por *S. calcitrans* entre animais susceptíveis. A
1412 identificação de *Anaplasma* spp. nas análises de DNA realizadas pelo presente estudo,
1413 pode reforçar evidências da capacidade da mosca-dos-estábulos participar na
1414 transmissão desse agente patogênico entre bovinos (Baldacchino et al, 2013).

1415

1416 **Conclusões**

1417 Considerando a facilidade de obtenção de material microbiano nucléico a partir
1418 dos exemplares coletados das moscas, a metodologia metagenômica utilizada permitiu
1419 avançar no conhecimento sobre a diversidade microbiana encontrada nesta mosca e a
1420 interação deste parasito com diversos microrganismos.

1421 O uso de metagenômica em mosca-dos-estábulos demonstra seu potencial uso
1422 em estudos de outros vetores de importância veterinária, como também de importância
1423 zoonótica.

1424 Com o maior conhecimento sobre a diversidade bacteriana observada, anseia-se
1425 por avanços em tecnologias com relação a produtos, bem como em relação controle
1426 biológico deste e outros parasitos.

1427 Trabalhos futuros são necessários para um melhor conhecimento da abrangência
1428 de bactérias carregadas por moscas *S.calcitrans*, assim como a necessidade de uma maior
1429 compreensão a respeito da dinâmica relacionada com a dispersão dos patógenos de
1430 importância na bovinocultura.

1431

1432 **Agradecimentos**

1433 Embrapa Gado de Corte CNPGC Campo Grande , MS (realização das atividades
1434 experimentais e orientação)

1435 Biosul – Campo Grande – MS (apoio realização de trabalhos de coleta de amostras de
1436 mosca-dos-estábulos, dados relacionados a ocorrência dos surtos)

1437 CAPES - Agente financiador doutoranda.

1438

1439 **Referências**

1440

1441 ALVES, L., Surto da mosca do estábulo já chegam à Goiás. Revista Campo., v.199,
1442 p.18-19, 2012.

1443

1444 BALDACCHINO, F.; MUENWORN, V.; DESQUESNES, M. *et al.* Transmission of
1445 pathogens by *Stomoxys* flies (Diptera, Muscidae): a review. Parasite, v.20 p.20-26,
1446 2013.

1447

1448 BARROS, A. T. M.; KOLLER, W. W.; CATTO, J. B. *et al.* Surto por *Stomoxys*
1449 *calcitrans* em gado de corte no Mato Grosso do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira.,
1450 v.30, p. 945-952, 2010.

1451

- 1452 BELÁK, S.; KARLSSON, O. E.; BLOMSTROM, A. L. *et al.* New viruses in veterinary
1453 medicine, detected by metagenomic approaches. *Veterinary Microbiology.*, v.165, p.95–
1454 101, 2013.
- 1455
- 1456 BISHOPP, F. C. The stable fly (L.) an important live stock pest. *Stomoxys calcitrans*.
1457 *Journal of Economic Entomology.*, v.6, n.1, p.112-116, 1913.
- 1458
- 1459 BITTENCOURT, A. J. MOYA BORJA, G. E.; *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758)
1460 (Diptera: Muscidae): preferência por locais do corpo de bovinos para alimentação.
1461 *Revista Brasileira Zootecias.*, v. 4, n.1, p.75-83, 2002.
- 1462
- 1463 BITTENCOURT, A. J. Avaliação de surtos e medidas de controle ambiental de
1464 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) na região sudeste do Brasil. *Revista Brasileira*
1465 *de Medicina Veterinária*, v. 34, n.1, p.73-82, 2012.
- 1466
- 1467 CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z. *et al.* First report of outbreak
1468 in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. *Trypanosoma vivax*. *Revista Brasileira*
1469 *Parasitologia Veterinária.*, v.2, n.2, p.118-124, 2012.
- 1470
- 1471 CASTRO, B. G.; SOUZA, M. M. S.; RÉGUA-MANGIA A. H. *et al.* Occurrence of
1472 Shiga-toxigenic *Escherichia coli* in *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Revista*
1473 *Brasileira de Parasitologia Veterinária.*, v.22, n.2, p.318-321, 2013.
- 1474
- 1475 CORRÊA, E. C.; RIBAS, A. C. A.; GAONA, J. C.; BARROS, A. T. M. Abundância de
1476 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em diferentes subprodutos canavieiros. *Pesq.*
1477 *Vet. Bras.*, v.33, n.11, p.1303-1308, 2013.
- 1478

- 1479 CUGLOVICI, D. A.; BARTHOLOMEU, D. C.; REIS-CUNHA, J. L. *et al.*
1480 Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in
1481 Minas Gerais state. *Brazil Veterinary Parasitology*, v.169, n.3-4, p.320-326, 2010.
1482
- 1483 DE LA FUENTE, J.; ESTRADA-PENA, A.; VENZAL, J. M. *et al.* Overview: ticks as
1484 vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front Biosci.*, v. 13, n.
1485 13, p.6938-6946, 2008.
1486
- 1487 DOMINGHETTI, T. F. S.; BARROS, A. T. M.; SOARES, C. O. *et al.* Surtos por
1488 *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) no Brasil: situação atual e perspectivas.
1489 *Revista Brasileira Parasitologia., Vet.*, v. 24, n. 4, p.387-395, 2015.
1490
- 1491 FOIL, L. D.; MEEK, C. L.; ADAMS, W. V. *et al.* Mechanical transmission of equine
1492 infectious anemia virus by deer flies (*Chrysops flavidus*) and stable flies (*Stomoxys*
1493 *calcitrans*). *American Journal of Veterinary Research.*, v. 44, p.155-156, 1983.
1494
- 1495 FÖRSTER, M. K., S., MEHLHORN, H., SIEVERT, K. *et al.* Pilot study on
1496 synanthropic flies (e.g. *Musca*, *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Fannia*, *Lucilia*, *Stomoxys*) as
1497 vectors of pathogenic microorganisms. *Parasitology Research.*, v.101, p.243-246, 2007.
1498
- 1499 GOMES, R. A., Surtos de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em bovinos e
1500 equinos na região Noroeste de São Paulo / Brasil devido ao desequilíbrio ambiental.
1501 *Engormix.com, Artigos técnicos, Pecuária de corte*, 2009.
1502
- 1503 GOMES, R. A.; FREDERICO, M. A.; MEIRELES, A. C. *et al.* Gastos médios
1504 financeiros e prejuízos com *Stomoxys calcitrans* “mosca da vinhaça”. In: XX
1505 CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 20, 2018,
1506 Londrina. *Anais XX Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 2018, p.240,
1507 2018.

- 1508 HADI, A. M.; AL-AMERY, A. M. A. Isolation and identification of some blood
1509 parasites from midgut of stable fly (*Stomoxys calcitrans*). Al- Qadisiya Journal of
1510 Veterinary Medicine Sciences, v.11 (1), p.28-33, 2012.
1511
- 1512 HANDELSMAN, J. Metagenomics: application of genomics to uncultured
1513 microorganisms. Microbiology Molecular Biology Reviews, v.68, n.4, p.669-685, 2004.
1514
- 1515 HOGSETTE, J.,A., RUFF, J.P., JONES, C.J. Stable fly biology and control in
1516 northwest Florida. J. Agric. Entomol., 4(1): 1-11, 1987.
1517
- 1518 KASSAB, S.O.; GAONA, J.C.; LOUREIRO, E. DE S.; MOTA, T.A.; FONSECA,
1519 P.R.B. DA; ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulo no Mato
1520 Grosso do Sul: Medidas de controle e prevenção. Revista Agrarian, v.5, n.15, p.84-88,
1521 2012.
1522
- 1523 KOLLER, W. W.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. *et al.* Surtos da mosca-dos-estábulo,
1524 *Stomoxys calcitrans*, em Mato Grosso dos Sul: novo problema para as cadeias
1525 produtivas da carne e sucoenergétic? Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, p.1-31,
1526 2009.
1527
- 1528 LEMOS, F. J.; TERRA, W. R. Digestion of bacteria and the role of midgut lysozyme in
1529 some insect larvae. Comparative biochemistry and physiology. Party B, Comparative
1530 Biochemistry., v.100, n.2, p.265-268, 1991.
1531
- 1532 MIHOK, S.; MARAMBA, O.; MUNYOKI, E. *et al.* Mechanical transmission of
1533 *Trypanosoma* spp. by African Stomoxyinae (Diptera: Muscidae). Tropical Medicine and
1534 Parasitology., v.46, p.103-105, 1995.
1535

- 1536 MILLER, R. R.; MONTOYA, V.; GARDY, J. L. *et al.* Metagenomics for pathogen
1537 detection in publichealth. *Genome Medicine.*, v.5:, n.81, p. 1-14,2013.
- 1538
- 1539 MORAES, A. P. R.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; BITTENCOURT, A. J.
1540 Patogenicidade de *Beauveria bassiana* sobre estágios imaturos de *Stomoxys calcitrans*.
1541 *Ciência Rural.*, v.40, n.8, p.1802-1807, 2010.
- 1542
- 1543 MRAMBA, F.; BROCE, A. B.; ZUREK, L. Vector competence of stable flies,
1544 *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae), for *Enterobacter sakazakii*. *Journal*
1545 *Vector Ecology*, v.32, p.134-139, 2007.
- 1546
- 1547 NG, T. F. F.; WILLNER, D. L.; LIM, Y. W. *et al.* Broad surveys of DNA viral diversity
1548 obtained through viral metagenomics of mosquitoes. *PlosOne.*, v.6, n.6, p.1-10, 2011.
- 1549
- 1550 ODA, F. H.; ARANTES, C. A. Surto populacional da mosca dos estábulos *Stomoxys*
1551 *calcitrans* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) no município de Planalto, SP. *Revista*
1552 *Agronegócios e Meio Ambiente.*, v. 3 (1), p. 145-159, 2010.
- 1553
- 1554 OLAFSON, P. U.; AKSOY, S.; ATTARDO, G. M. *et al.* Functional genomics of the
1555 stable fly, *Stomoxys calcitrans*, reveals mechanisms underlying reproduction, host
1556 interactions, and novel targets for pest control. *Bio Rxiv.*, p. 623009, 2019.
- 1557
- 1558 OLIVEIRA, J. B.; HERNÁNDEZ-GAMBOA, J.; JIMÉNEZ-ALFARO, C. *et al.* First
1559 report of *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle from Costa Rica. *Veterinary*
1560 *Parasitology.*, v.163 p.136-139, 2009.
- 1561
- 1562 SCULLY, E.; FRIESEN, K.; WIENHOLD, B. *et al.* Microbial communities associated
1563 with stable fly (Diptera: Muscidae) larvae and their developmental substrates. *Annals of*
1564 *the Entomological Society of America.*, v.110, n.1, p.61-72, 2017.

- 1565 TERRA, W. R.; ESPINOZA-FUENTES; F. P.; RIBEIRO, A. F. *et al.* The larval midgut
1566 of the housefly (*Musca domestica*): ultrastructure, fluid fluxes and ion secretion in
1567 relation to the organization of digestion. *Journal of Insect Physiology.*, v.34, n.6, p.463-
1568 472, 1988.
- 1569
- 1570 VILLEGAS, L. M.; PIMENTA, P. F. P. Metagenomics, paratransgenesis and the
1571 *Anopheles microbiome*: a portrait of the geographical distribution of the anopheline
1572 microbiota based on a meta-analysis of reported taxa. *Memórias Instituto Oswaldo*
1573 *Cruz.*, v.109, n.5, p.672-684, 2014.
- 1574
- 1575 WOOLEY, J. C.; GODZIK, A.; FRIEDBERG, I. A primer on metagenomics. *PLoS*
1576 *Computational Biology.*, v.6, n.2, p. e1000667, 2010.

1577 **6. CONSIDERAÇÕES / CONCLUSÃO (GERAL)**

1578 O potencial prejuízo econômico para a pecuária bovina no Brasil, em
1579 decorrência de surtos de *S. calcitrans* relacionados às usinas de cana-de-
1580 açúcar, foi estimado em R\$ 1,065 bilhões (US\$ 205,3 milhões).

1581 O potencial prejuízo econômico anual estimado neste estudo, para as
1582 indústrias sucroenergéticas nos estados analisado, foi de R\$ 43,7 milhões
1583 (US\$ 8,4 milhões). Além dos gastos diretos para combate a este parasito,
1584 existem custos indiretos e de difícil estimativa ao setor das indústrias
1585 bioenergéticas, como o marketing negativo sobre à sua imagem.

1586 O montante final dos prejuízos financeiros aos setores de bovinocultura
1587 e bioenergético brasileiro, foi de R\$ 1.109.667.348,27 (UU\$ 213.808.737,62).

1588 O estado de São Paulo apresentou maior impacto potencial de prejuízo
1589 para os surtos de *S. cacitrans* em ambas atividades. Os valores ultrapassaram
1590 R\$ 870 milhões (US\$ 167 milhões), correspondendo a 78,4% do prejuízo
1591 estimado no Brasil no presente estudo. O estado de Mato Grosso apresentou
1592 menor impacto potencial com estimativa em R\$ 15,2 milhões (UU\$ 2,9
1593 milhões), representando 1,3% do prejuízo nacional apresentado neste estudo.

1594 O presente estudo, através do esforço despendido, trata-se de uma
1595 estimativa preliminar, que foi construída a partir das informações disponíveis,
1596 às quais nem sempre possuíam o refinamento e a precisão desejados, pela
1597 escassez de dados científicos robustos e detalhados para subsidiar as análises
1598 necessárias.

1599 Considerando a facilidade de obtenção de material microbiano nucléico
1600 a partir dos exemplares coletados das moscas, a metodologia metagenômica
1601 utilizada, permitiu um pouco mais de conhecimentos da diversidade microbiana
1602 que pode ser encontrada nesta mosca e a interação deste parasito com
1603 diversos microrganismos. Com o uso de metagenômica em mosca-dos-
1604 estábulos poderá ser ampliado o seu protocolo para os estudos de outros
1605 vetores de importância veterinária, como também de importância zoonótica.

1606 Com a diversidade bacteriana observada, anseia-se por avanços em
1607 tecnologias com relação a produtos, bem como ao controle biológico destes
1608 parasitas.

1609 São necessários mais estudos sobre o impacto econômicos dos surtos
1610 por mosca-dos-estábulos à produção animal. Como também um melhor
1611 conhecimento da abrangência de bactérias carregadas por moscas *S. calcitrans*,
1612 assim como a necessidade de uma maior compreensão a respeito da dinâmica
1613 relacionada com a dispersão dos patógenos de importância na bovinocultura.

1614

1615

1616

1617

1618

1619

1620

1621

1622

1623

1624

1625

1626

1627

1628

1629

1630

1631

1632

1633

1634

1635 **7. IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU**
1636 **INOVAÇÃO**

1637

1638 A ocorrência de surtos de mosca-dos-estábulo é reconhecidamente um
1639 problema econômico e social, que hoje atinge regiões específicas no país,
1640 estando fortemente associada à produção sucroenergética. No entanto, o
1641 aumento da frequência, intensidade e duração da ocorrência de *S. calcitrans* é
1642 possível e esperada, caso não seja estabelecido um sistema de controle eficaz
1643 nos próximos anos.

1644 A incriminação da mosca-dos-estábulo como potencial vetor em um
1645 conjunto de doenças de importância veterinária (disponível na literatura
1646 científica e amplamente divulgada pela mídia) torna necessário antecipar
1647 aspectos do conhecimento que estejam relacionados a este tema. A inovação
1648 aconteceu na utilização de metodologia atual (análise metagenômica) gerando
1649 conhecimentos acerca deste parasito e sua interação com microrganismos
1650 diversos. Assim, como inovação/impacto fundamental para esta proposta de
1651 estudo, está o fato de que estas foram as primeiras análises realizadas com
1652 este propósito, pelo uso de moscas a campo e a interação com seus
1653 hospedeiros próximos.

1654 Antecipar cenários pode ser o ponto de partida para o desenvolvimento
1655 de processos preventivos ligados à mosca-dos-estábulo em toda estrutura
1656 que envolve as atividades sucroenergéticas e sistemas produtivos pecuários
1657 em suas proximidades.

1658 Estudos futuros serão necessários para um melhor conhecimento da
1659 abrangência de bactérias carregadas por moscas *S. calcitrans*, assim como a
1660 necessidade de uma maior compreensão a respeito da dinâmica relacionada
1661 com a dispersão dos patógenos de importância à bovinocultura.