

NEUZA MARIA FERRAZ DE MELLO GONÇALVES

PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE *Stomoxys calcitrans* (L.) (DIPTERA,
MUSCIDAE) CAPTURADAS EM AVIÁRIOS, VERIFICADO PELO TESTE DE
PRECIPITINA. ARAUCÁRIA - PR.

Tese apresentada à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação, em Ciên-
cias Biológicas, Área de Concen-
tração de Entomologia, da Univer-
sidade Federal do Paraná, para
obtenção do título de Doutor em
Ciências.

CURITIBA

1984

Ao **Feliciano**, querido amigo e companheiro, pela grande compreensão, auxílio e estímulo profissional, às inúmeras horas de ausência do lar para à realização deste trabalho.

À **Neliza** e **Eduardo**; os quais muitas vezes ficaram relegados ao segundo plano; com todo o amor e ternura do meu coração. Ao **Roberto** que conheceu o brilho do sol, já na etapa final desta redação, o meu perdão por perturbá-lo com o meu estado emocional, à sua vida intra-uterina.

À amiga **Adelaide**, que embalava os meus filhos enquanto eu trabalhava nesta tese, minha eterna gratidão, com profundo respeito e amor (minha mãe).

AGRADECIMENTOS

Expressamos os nossos profundos agradecimentos:

Ao Dr. Ênnio Luz, do Departamento de Patologia Básica da UFPr., pela orientação prestada na execução desta tese.

Ao Dr. Luiz Alberto Veiga, do Departamento de Bioqu^ímica da UFPr., pela atenção, sugestões e críticas quanto à redação, no sentido de melhorar o nível deste trabalho na obtenção de melhores conclusões.

Ao Dr. José Henrique Guimarães, do Departamento de Zoologia da UFSP., pelo incentivo e apoio na revisão deste trabalho.

Ao Prof. Antonio Borba, do Departamento de Patologia Básica da UFPr., pela atenção e incentivo na revisão desta tese.

À Dra. Daria Repka, do Departamento de Microbiologia e Imunologia de Campinas - SP. (UNICAMP), pelas sugestões críticas quanto aos ensaios imunológicos.

Ao Prof. Nei Ferreira de Camargo Neto, do Departamento de Imunologia da UFPr., pela atenção e sugestões técnicas quanto aos ensaios imunológicos.

Ao Prof. Angelo Molfi, pelo auxílio e dedicação, na obtenção das fotografias.

Ao Eng^o Agr^o Irineu Lorini, pela revisão da análise estatística.

Ao Prof. Yasuyoshi Hayashi e José Maria de Lima do Instituto de Tecnologia do Paraná, pelo auxílio à obtenção extração de soros de alguns mamíferos.

Ao Prof. Natal Jatayde Camargo e sua equipe, da Secretaria de Saúde Pública, pelo inestimável auxílio quanto à obtenção e extração de soros de aves.

Aos Aviários, Granja Santa Helena (Wakano & Fuji Ltda.), Agro Avícola Higashi Ltda (Massataro Higashi) e Aviário Aleixo Krupa, pela permissão de pesquisa e captura de *Stomoxys calcitrans* (L.) para a realização do presente trabalho.

Ao Prof. Antonio Carlos Morozoski, pelo apoio e colaboração constantes quanto ao término desta tese.

Ao Industrial Henrique Rego Almeida, pelo incentivo e colaboração profissional.

À Diretoria do Instituto de Tecnologia do Paraná, na pessoa do Diretor-Presidente Edmundo Reichmann, pelo grande apoio e suporte profissional.

Ao Dr. Milton Miró Vernalha pela colaboração e apoio profissional.

Ao Prof. Fridolim Schlogel pelo apoio e auxílio prestados quanto ao término desta tese.

À Sra. Maria Helena B. Imaguki pelo apoio constante na revisão das referências bibliográficas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CÁPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Entomologia da UFPr., aos amigos do TECPAR e as pessoas e entidades que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Agradecimentos afetivos a minha irmã (Nelita) e aos familiares, pela sua compreensão, carinho e estímulo às horas de cansaço e desânimo, no período de execução deste trabalho.

SUMÁRIO

	PÁGINA
Lista de Figuras	<i>x</i>
Lista de Tabelas	<i>xiii</i>
Lista de Abreviaturas.....	<i>xv</i>
Resumo	<i>xvi</i>
Abstract.....	<i>xvii</i>
1. Introdução	1
2. Materiais e Métodos	8
2.1. Área de Pesquisa	8
2.2. Inseto	9
2.2.1. Captura dos insetos	9
2.2.2. Extração do sangue ingerido	11
2.3. Coleta de larvas	11
2.4. Análise estatística	12
2.5. Procedência dos animais utilizados para a ob tenção de antígenos	12
2.6. Procedência dos animais para a obtenção de an ticorpos	17

2.7.	Manutenção dos animais produtores de anticorpos	17
2.8.	Preparo dos soros de mamíferos, aves, anfíbios e répteis	17
2.9.	Dosagem de proteínas	18
2.10.	Reativos químicos	19
2.11.	Preparo da vidraria utilizada	19
2.12.	Determinação de anticorpos de reação cruzada ...	19
2.13.	Preparação das aves a serem inoculadas	20
2.14.	Alimentação dos animais	20
2.15.	Coleta do sangue e preparo do soro	21
2.16.	Reação de precipitação em meio líquido, pelo "Ring test"	21
2.17.	Anticorpos em galinhas	22
2.18.	Anticorpos em coelhos	22
2.19.	Adjuvantes utilizados	23
2.20.	Títulos de anticorpos	24
2.21.	Tampão veronal pH 8,6	25
2.22.	Preparo de agar gel para placas de eletroimunoprecipitação	26
2.23.	Sangue engorgitado por <i>Stomoxys calcitrans</i> (L).	26

2.24.	Reação de eletroimunoprecipitação	27
2.25.	Preparo de agar gel para placas de imunodifusão	28
2.26.	Imunodifusão dos soros de aves, anfíbios e répteis	28
2.27.	Preparo de agar gel para placas de imunoeletoforese	29
2.28.	Reação de imunoeletoforese	29
3.	Resultados	31
3.1.	Captura de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.)	31
3.2.	Análise estatística do número de insetos adultos de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.)	37
3.3.	Coleta das larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) .	40
3.4.	Análise estatística do número de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.)	45
3.5.	Reação de precipitação pelo "Ring test"	48
3.6.	Preparação de anticorpos em galinhas e coelhos	50
3.7.	Preferência alimentar da <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.), determinada pelas reações de eletroimunoprecipitação e imunodifusão	50

3.7.1.	Método de eletroimunoprecipitação	50
3.7.2.	Reações pelo método de imunodifusão	58
3.8.	Reação de Imunoeletroforese	61
4.	Discussão	65
5.	Conclusões	73
6.	Referências Bibliográficas	75
7.	Apêndices	88

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Localização dos aviários I, II e III. Araucária-Pr, 1980-1.	10
2	Vista parcial do aviário I, a 18,7 Km da BR 116.	13
3	Vista parcial do aviário I, galinhas de postura, em gaiolas de arame	13
4	Vista parcial do aviário II, a 14,7 Km da BR 116	14
5	Vista interna do aviário II, galinhas de postura, em gaiolas de madeira	14
6	Vista parcial do aviário III, a 16,0 Km da BR 116	15
7	Vista parcial do aviário III, galinhas de postura em gaiolas de madeira	15
8	Aviário II. Captura de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) com auxílio de sacos plásticos	16

FIGURA

PÁGINA

9	Aviário I. Vista da área de coleta de larvas....	16
10	Flutuação da população de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) em função da temperatura, capturadas no <u>a</u> viário I. Araucária-Pr., 1980-1.	33
11	Flutuação da população de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) em função da temperatura, capturadas no <u>a</u> viário II. Araucária-Pr., 1980-1.	34
12	Flutuação da população de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) em função da temperatura, capturadas no <u>a</u> viário III. Araucária-Pr., 1980-1.	35
13	Variação percentual de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) capturadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.	36
14	Flutuação da população de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) em função da temperatura, coletadas no aviário I. Araucária-Pr., 1980-1.	42
15	Flutuação da população de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) em função da temperatura, coletadas no aviário II. Araucária-Pr., 1980-1.	43
16	Flutuação da população de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) em função da temperatura, coletadas no aviário III. Araucária- Pr., 1980-1. ..	44

FIGURA	PÁGINA
17	Determinação de anticorpos de reação cruzada, pelo "Ring test" 48
18	Determinação de anticorpos de reação cruzada, pelo "Ring test" 49
19	Eletroimunoprecipitação em placa de gel a 2%, com tampão veronal 8,6, sob tensão 7,5 V/cm, du rante 30 minutos 56
20	Eletroimunoprecipitação em placa de gel a 2%, com tampão veronal 8,6, sob tensão 7,5 V/cm, du rante 30 minutos 57
21	Imunodifusão de Ouchterlony 59
22	Imunodifusão de Ouchterlony 60
23	Reação de imunoeletroforese 62

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Número mensal de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.), capturadas nos aviários I, II e III. Araucária - Pr., 1980-1.	32
2	Média por aviário do número de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.), capturadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.	38
3	Média mensal do número de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) capturadas nos aviários I, II e III. Araucária - Pr., 1980-1.	39
4	Número mensal de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.) coletadas, nos aviários I, II e III. Araucária - Pr., 1980-1.	41
5	Média por aviário, do número de larvas de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.), coletadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.	46
6	Média mensal do número de larvas de <i>Stomoxys</i>	

	<i>calcitrans</i> (L.), coletadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.	47
7	Títulos de soros precipitantes obtidos com os antígenos homólogos, determinados pela reação de DDG. Araucária-Pr., 1980-1.	53
8	Títulos homólogos de soros precipitantes, verificados após 1 ano e três meses em estado congelado (-20°C). Araucária-Pr., 1980-1.	54
9	Preferência alimentar da <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.), determinada pelo teste de precipitina. Araucária-Pr., 1980-1.	63

LISTA DE QUADROS

1	Determinação da eficiência do método de imunoeletroprecipitação, com o uso de soros específicos, que precipitam as proteínas de mamíferos em relação ao soros de mamíferos como antígeno. Araucária-Pr., 1980-1.	55
2	Especificidade da preferência alimentar de <i>Stomoxys calcitrans</i> (L.), Araucária-Pr., 1980-1. ...	64

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACF - Adjuvante completo de Freund.
- AC - Anticorpo.
- AIF - Adjuvante incompleto de Freund.
- Ag - Antígeno
- D.D.G.- Dupla difusão em agar gel.
- ♀ - Fêmea.
- IEF - Imunoeletroforese
- IM - Imunodifusão.
- mA - Miliampere.
- ml - Mililitro.
- ♂ - Macho.
- V - Volts.
- μl - microlitro.
- μg - micrograma.

RESUMO

Stomoxys calcitrans (L.), comumente conhecida como "mosca dos estábulos", foi capturada três vezes por semana em três aviários de galinhas de postura, no Município de Araucária-PR, 1980-81. As capturas sempre resultaram em maior número de fêmeas (60,5%). Nos meses quentes, o número deste díptero, cosmopolita em sua distribuição geográfica, foi bem mais alto principalmente em fevereiro, março e abril. As capturas realizadas no aviário I, com uma média de 126,08 foi significativamente superior às realizadas nos aviários II e III com médias de 59,83 e 40,25 respectivamente; que não diferiram significativamente entre si. Foi verificada pelo "Ring test" a ausência de anticorpos de reações cruzadas para os soros de galinhas e coelhos. O título máximo de anticorpos para soros de galinha foi atingido aos 30 dias e aos 29 para coelhos, determinados pela D.D.G.. As amostras de sangue extraídas de *Stomoxys calcitrans* (L.) foram submetidas às reações de precipitina (eletroimunoprecipitação e imunodifusão) para identificar a fonte de alimentação. A análise apresentou o seguinte resultado para as 1513 moscas capturadas no aviário I: 987 se alimentaram em sangue de vacas (65,23%), 827 em cavalos (54,66%), 718 em cães (47,45%), 493 em porcos (32,58%), 223 em gatos (14,74%), 113 em humanos (7,47%), 51 em cabras (3,37%), 29 em ovelhas (1,92%), 24 em cobaios (1,59%), 17 em ratos brancos (1,12%), 25 em marrecos (1,65%), 17 em patos (1,12%), 13 em gansos (0,86%), 9 em perus (0,6%), 3 em rãs (0,2%) e 2 em sapos (0,13%). Todas as amostras foram negativas para as reações com soros de galinhas e cobras.

Os resultados obtidos demonstram que *Stomoxys calcitrans* (L.) utiliza os aviários para reprodução, procurando em campo aberto se alimentar em outras espécies de animais, podendo sugar um mamífero, 6 mamíferos diferentes ou mamíferos e aves, em sua alimentação diária.

ABSTRACT

Stomoxys calcitrans (L.), usually known as "stable flies", were captured three times a week on poultry ranches of Araucária-Pr., during 12 months (1980-81). It was determined that on the hot months the number of captured flies was higher, mainly on February, March and April. It was observed that the number of insects captured on ranch I was significantly higher than that of ranches II and III.

The blood extracted from *S. calcitrans* captured on those ranches was submitted to precipitin test for the identification of the blood meal sources. The results obtained showed that from the 1513 flies captured on the ranch I, 987 have fed on cows (65.23%), 827 on horses (54.66%), 718 on dog (47.45%), 493 on pigs (32.58%), 223 on cats (14.74%), 113 on men (7.47%), 51 on goats (3.37%), 29 on sheep (1.92%), 24 on ginea pigs (1.59%), 17 on rats (1.12%), 25 on ducks (1.65%), 17 on Snakes (1.12%), 13 on geese (0.86%), 9 on turkeys (0.6%), 3 on frogs (0.2%) and 2 on toads (0.13%). Although all flies were caught on poultry ranches, none had fed on chickens. Small to large aggregations of mammals were present until 100 to 5.000 meters of all poultry ranches studied.

1. INTRODUÇÃO

Uma das causas responsáveis por prejuízos ocorrentes na pecuária brasileira é a *Stomoxys calcitrans* (L.), comumente conhecida como "mosca dos estábulos". Este díptero hematófago; cosmopolita em sua distribuição geográfica (BRUES, 1913, RICHARDSON, 1913), em sua fase adulta, suga os animais de sangue quente (eventualmente animais de sangue frio) hostilizando-os com sua picada dolorosa. O estado de irritação dos animais atacados pelo inseto pode provocar abaixamento da produção leiteira, redução no ganho de peso do gado de corte, diminuição na postura de ovos das aves, além de possível transmissão de graves enfermidades (ROUBAUD, 1911; BISHOPP, 1913; RICHARDSON, 1913; PINTO, 1930; ZUMPT, 1965; GREENBERG, 1970).

Infelizmente o Brasil é ainda carente de estatísticas sobre os prejuízos causados pelo ataque de *S. calcitrans*, o que não acontece na América do Norte onde ocorrem prejuízos anuais de mais de cem milhões de dólares, dos quais

50% em função da diminuição da produção de leite e redução no ganho de peso dos animais (GRANET & HANSENS, 1956; USD.A.; 1965; CHENG, 1958; CUTKOMP & HARVEY, 1958). O nível de controle nos U.S.A. foi calculado em torno de 25 insetos por animal/dia (STEELMANN, 1976).

Embora a *S. calcitrans* possa alimentar-se em qualquer animal de sangue quente, assim como desenvolver-se em estrume de cavalos, em capim, em vegetais em decomposição (nunca em estrume de gado vacum, PINTO, 1930; PESSOA, 1982), o substrato preferido para o desenvolvimento das larvas é o esterco de aves.

O desenvolvimento das técnicas modernas de criação de aves em confinamento, para produção de ovos e carne, tem originado condições favoráveis ao desenvolvimento de moscas sinantrópicas, como a *Musca doméstica* L. e a *S. calcitrans*, em virtude da enorme quantidade de esterco acumulado. Aparentemente este inseto não suga galinhas, em virtude da proteção natural das penas, que provavelmente torna mais difícil a picada do inseto.

Devido a criação em grande escala no esterco acumulado das granjas avícolas, a *S. calcitrans* é de especial importância, em função dos sérios problemas econômicos que pode causar à pecuária em geral.

Recentemente foi constatada grande incidência desta mosca em áreas próximas aos aviários (GUIMARÃES, 1984).

A biologia da *S. calcitrans* foi estudada por NEWSTEAD (1906); BRAIN, (1912); MITZMAIN, (1913); BISHOPP, (1913, 1939); PINTO, (1930); HAFEZ & GAMEL-EDDIN, (1959); PARR, (1962); GREENBERG, (1970); BAILEY et al (1975); RICHARDS et al (1977) e GUIMARÃES (1984), etc.

Para verificar o comportamento alimentar da *S. calcitrans*, foram utilizadas técnicas imunológicas baseadas na reação de precipitina, conhecida desde o século passado. É uma técnica de alta importância na identificação de sangue ingerido por inseto hematófagos, principalmente aqueles vetores de doenças ao homem e animais.

Várias técnicas, para utilização deste teste, foram descritas depois de cuidadosos e minuciosos estudos e modificações, tanto nos reagentes utilizados, na preparação de antisoro, como em vários outros fatores relativos à preparação do soro precipitante.

Reações de precipitina entre bactérias ou antígenos não bacterianos e os anti-soros correspondentes foram primeiramente descritos por KRAUS, (1897). UHLENHUTH, (1903), introduziu uma modificação importante na técnica original para reação de precipitina, nas quais os antígenos e anticorpos eram misturados diretamente em tubos. TCHISTOVICH, (1899) e BORDET, (1898), confirmaram as verificações de KRAUS e ampliaram os testes, mostrando que a precipitação sorológica é uma manifestação geral da reação antígeno - an

ticorpo. TCHISTOVICH, verificou que inoculando sangue de cavalo em coelho, o soro deste adquiria a propriedade positiva de precipitação, quando colocado em presença de sangue ou soro de cavalo e BORDET, fez idêntica verificação, injetando sangue de galinha em coelho.

Em 1904, NUTTAL determinou a importância das reações de precipitina para identificação de sangues desconhecidos.

FROUIN, (1907), foi o primeiro autor a observar que injetando um dado antígeno em um animal era possível obter anticorpos para outro antígeno aparentemente distinto do primeiro.

SUTHERLAND, (1913), foi o pioneiro no uso de aves domésticas na produção de precipitina em grande escala. Essas observações foram confirmadas por HEKTROEN (1914,1918), embora EWING & STRAUSS, (1903), tivessem sido os primeiros a descreverem a produção de precipitina em galinhas.

ROMANÁ (1939) e CORREIA e AGUIAR, (1952), mostraram a utilidade da reação de precipitina na identificação de sangue ingerido por triatomíneos. RIDDELL et al (1947), utilizaram a reação de precipitina para determinar os hábitos alimentares de *Aedes aegypti*. WOLFE & DILKS, (1946), estudando sete tipos de aves, verificaram que somente faisões e corujas se aproximavam das galinhas na capacidade de produzirem precipitinas.

Segundo ELIGHT, (1952) e WEST & ELIGHT, (1952), o

uso do teste de precipitina na identificação de sangue ingerido por artrópodes pode sofrer algumas interferências, devidas a vários fatores como a qualidade do soro precipitante, a quantidade do antígeno e o grau de digestão do sangue, que variam consideravelmente conforme a espécie do inseto e o tempo entre a ingestão e a captura.

WEITZ, (1956), utilizou a técnica de precipitina, apontando-a como superior as demais, desde que uma relativa especificidade seja adquirida utilizando soros precipitantes previamente absorvidos.

TEMPELIS & REEVES, (1961; 1962), verificaram a produção de anticorpos com títulos altos, quando injetavam soro de outros pássaros em galinhas. Os anti soros obtidos apresentavam pequena, ou nenhuma reação cruzada quando as aves eram de ordens diferentes; o contrário acontecia quando eram da mesma ordem.

HAFEZ & GAMEL-EDDIN, (1959), identificaram a alimentação de *S. calcitrans* em sangue de 10 diferentes mamíferos, porém não descreveram o método usado para identificar o sangue.

O teste de precipitina, de fato é um importante método para determinação da preferência alimentar de insetos hematófagos, transmissores de doenças. TEMPELIS & LOFY, (1963), estudaram hábitos alimentares de mosquitos do gênero *Aedes*, verificando que estes culicídeos se alimentavam ,

esporadicamente em aves. Entretanto, REEVES & HAMMON, (1944, 1962) estudando os hábitos alimentares de *Culex tarsalis*, usando teste de precipitina, verificaram que esta espécie, ao contrário de *Aedes*, se alimentava em grande variedade de aves. WEITZ, (1956, 1960), estudou a preferência alimentar de artrópodes em diferentes espécies de pássaros. Há vinte anos atrás, ainda não havia métodos eficazes para identificar os sangues ingeridos por insetos. DAVIES et al (1962), conseguiram produzir vários soros anti-aves e, por eliminação, tiveram condições de determinar com segurança, por ordem, as aves nas quais aqueles artrópodes haviam se alimentado.

TEMPELIS & REEVES (1962), conseguiram soro anti aves, usando galinhas para produzir anticorpos específicos, porém sem absorção. Verificaram que galinhas produziam anticorpos com títulos altos quando injetados com proteínas de soros de outras aves. Estes anti soros apresentavam pequena ou nenhuma reação cruzada. A absorção do anti soro obtido, com um soro de uma espécie muito próxima, removia grande parte dos anti-corpos homólogos, entretanto quando a absorção era feita com espécies distantes, tal fato não ocorria.

Várias são as técnicas utilizadas na reação de precipitina aplicada à identificação de sangues ingeridos por insetos hematófagos: BULL & KING , (1923), RICE & BARBER, (1934), WOLFE, (1935; 1942), CRUZ, (1945), PROOM, (1943), ARNOLD et

al. (1946), WOLFE & DILKS, (1946), HOLSTEIN, (1948), SCHUBERT & KELLEY, (1950), ELIGHT, (1952), WEITZ & BUXTON, (1953), SCHUBERT & HOLDEMAN, (1956), WEITZ, (1956), DOWNE, (1957), WOLFE et al. (1957), SIQUEIRA, (1960), DOWNE et al. (1963), REEVES et al. (1963), TEMPELIS & LOFY (1963), TEMPELIS et al. (1967), TEMPELIS et al. (1970), KNIERIN et al. (1976), ZOLTOWSKI et al. (1978).

O escopo do presente trabalho é o estudo das preferências alimentares da *S. Calcitrans*, em aviários da região de Araucária- Pr.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. ÁREA DE PESQUISA

A presente pesquisa foi realizada na região de Araucária, cuja folha geológica está situada no Primeiro Planalto Paranaense entre as latitudes $25^{\circ} 30'$ - $25^{\circ} 45'$ e as longitudes $49^{\circ} 15'$ - $49^{\circ} 30'$ W. Abrange uma área de aproximadamente 700 km^2 , compreendendo quase todo o município de Araucária e partes dos municípios de Curitiba, Mandirituba, Contenda e São José dos Pinhais. A cidade de Araucária, sede dos trabalhos de campo, está situada no Centro Noroeste da quadrícula e ligada à capital do Estado, da qual dista 20 Km, pela rodovia asfaltada, BR-116 e PR-5 (Rodovia do Xisto). A área mapeada apresenta um relevo relativamente suave. As altitudes variam entre 760 m, no ponto mais ocidental do rio Iguaçu e 980 m, (MARINI, 1967).

O presente estudo foi realizado em três aviários de galinha de postura:

Aviário I - Estrada Catanduva, nº 83, a 18,7 Km, da BR 116. (Figs. 2,3).

Aviário II - Rua Buenos Aires, nº 1082, a 14,7 Km, da BR 116. (Figs. 4,5).

Aviário III - Av. 1º de Maio, nº 664, a 16,0 Km, da BR 116. (Figs. 6 e 7).

2.2. INSETO

A *Stomoxys calcitrans* (L.), conhecida vulgarmente como "mosca dos estábulos", é um inseto da Ordem - Diptera ; sub-ordem Cyclorrhapha; família-Muscidae.

2.2.1. Captura dos Insetos

As capturas de *S. calcitrans* foram realizadas, três vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras), no período de março de 1980 à fevereiro de 1981. Os horários das capturas efetuadas nos aviários estudados foram: no aviário I das 11:30 às 13:10 h, no II das 8:30 às 10:30 h (fig. 8) e das 14:00 às 16:00 h no III.

Os insetos foram capturados manualmente com auxílio de redes (15 cm de diâmetro) de malha fina ou com sacos plásticos, conforme figura 8.

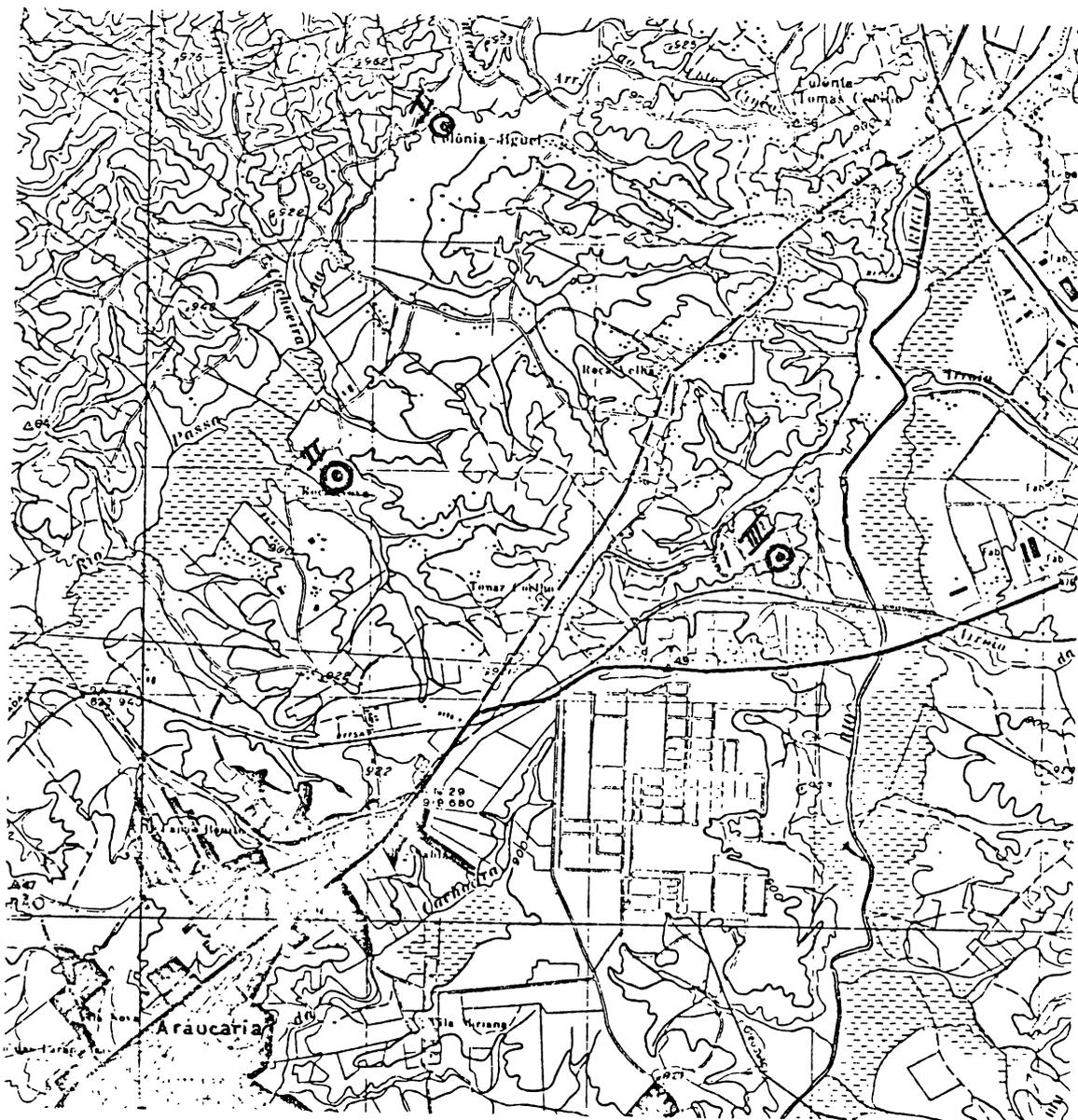


Figura 1 - Localização dos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.

2.2.2. Extração do sangue ingerido

Os insetos, capturados, conservados em sacos plásticos, etiquetados e anestesiados com clorofórmio, foram transportados para o laboratório onde foi extraído o sangue por compressão do abdome entre papéis de filtro Whatman nº 4. Estes papéis foram acondicionados em frascos de vidro, etiquetados e estocados em freezer a -20°C.

2.3. COLETA DE LARVAS

Foi escolhida aleatoriamente uma área de 1,50 X 0,75 m, sob as gaiolas das aves, de cada um dos aviários e leitos para a realização da pesquisa em pauta. Semanalmente, todo o volume de fezes na área estabelecida era examinado para verificação do número de larvas vivas (fig.9). Estas foram cuidadosamente separadas, nos próprios aviários, com auxílio de pinças entomológicas e uma concha improvisada. Depois de acondicionadas em recipientes de vidro de 500 ml, foram etiquetadas e transportadas para o laboratório para serem identificadas.

CRIAÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE *S. CALCITRANS* EM LABORATÓRIO.

Larvas de *S. Calcitrans* foram transferidas de seu habitat nos aviários, para uma sala com temperatura constante (37°C), do Inst. Tecnologia do Pr. Foram mantidas juntamente com seu substrato natural, em frascos de vidro fechados com tela de nylon.

Os adultos provenientes do experimento acima foram mantidos em gaiolas de tela de nylon (30x20x20).

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com auxílio dos testes de F e Tukey a 5% de significância.

O número de larvas coletadas e insetos adultos de *S. calcitrans* capturados foram agrupados mensalmente para a realização da análise estatística.

2.5. PROCEDÊNCIA DOS ANIMAIS UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DE ANTÍGENO

Foram utilizados soros de mamíferos, aves, anfíbios e répteis. Os mamíferos, não sensibilizados (cobaios, coelhos e ratos brancos) foram gentilmente cedidos pelo Instituto de Tecnologia ao Paraná, (TECPAR). O cão, o cavalo e os gatos, foram cedidos pelo Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. O boi, a cabra, o carneiro e o porco, pela Chácara Stª Maria, no Município de Araucária.

As aves utilizadas (gansos, galinhas, marrecos, patos e perus) foram obtidas no Mercado Municipal ou na Chácara Stª Vera, de Quatro Barras.

Os anfíbios e répteis (rãs, sapos e cobra) foram capturados na Barragem da Sanepar, Município de Piraquara.



Figura 2 - Vista parcial do aviário I, a 18,7 Km, da BR 116.



Figura 3 - Vista parcial do aviário I - galinhas de postura, em gaiolas de arame.



Figura 4 - Vista parcial do aviário II, a 14,7 Km, da BR 116.



Figura 5 - Vista interna do aviário II, galinhas de postura, em gaiolas de madeira.



Figura 6 - Vista parcial do aviário III, a 16,0 Km, da BR 116.



Figura 7 - Vista parcial do aviário III, galinhas de postura em gaiolas de madeira.



Figura 8 - Aviário II. Captura de *Stomoxys calcitrans* (L) com auxílio de sacos plásticos.



Figura 9 - Aviário I. Vista da área de coleta das larvas.

2.6. PROCEDÊNCIA DOS ANIMAIS PARA A OBTENÇÃO DE ANTICORPOS

Um lote de 30 frangos foi adquirido no Mercado Municipal e 12 coelhos, foram cedidos pela Granja Maria Luiza, do Instituto de Tecnologia do Paraná.

2.7. MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS PRODUTORES DE ANTICORPOS

GALINHAS - Foram acondicionadas em gaiolas individuais, de arame, medindo 60X50X43 cm. As aves foram alimentadas diariamente, com ração apropriada (Purina) e água.

COELHOS - Foram mantidos em gaiolas individuais, de arame, medindo 50X40X30 cm e alimentados com ração purina, verdura e água, diariamente.

2.8. PREPARO DOS SOROS DE MAMÍFEROS, AVES, ANFÍBIOS E RÉPTEIS

O sangue dos animais de grande porte foi obtido por punções venosas e os de menor porte por punções cardíacas após serem submetidos a uma dieta alimentar durante 24 horas. O sangue coletado foi incubado a 37°C por 30 minutos em estu

fa e o soro obtido foi separado do coágulo por decantação. Ambos foram conservados a 4°C e após 12 horas o coágulo sofreu nova retração e o soro assim obtido foi adicionado ao primeiro. Os soros resultantes foram centrifugados em centrífuga refrigerada às 12.000 r.p.m. por 20 minutos, para separação dos lipídios. (McFARLANE, 1942).

Aos soros límpidos e estéreis, distribuídos em alíquotas de 6 ml, em frascos de vidro, em condições assépticas, foram adicionados 0,05 ml de azida sódica a 0,1%. Este material foi estocado a -20°C.

2.9. DOSAGEM DE PROTEÍNAS

Proteínas foram determinadas pelo método de Lowry et al (1951) usando soro albumina bovina como padrão e pelo processo de Micro-Kjeldahl (1964), usando o fator de conversão de 6,25 para transformar nitrogênio protéico em proteína ($N_2 \times 6,25$).

As leituras para a análise de Lowry et al, foram realizadas em espectrofotômetro Coleman Júnior, Modelo 6.A.

2.10. REATIVOS QUÍMICOS

Os componentes químicos utilizados durante o desenvolvimento do presente trabalho foram todos produtos puros obtidos de fontes comerciais da mais alta confiança como: MERCK, CARLO ERBA e REAGEM. Alguns reagentes foram produtos pró-análise. As soluções foram sempre preparadas com água destilada e desionizada.

2.11. PREPARO DA VIDRARIA UTILIZADA

Todo o material utilizado na presente pesquisa foi lavado com sabão extran; água de torneira foi utilizada até a completa eliminação do sabão. Foi deixado "over night" em solução de ácido nítrico à 50%. Após a eliminação do ácido, com água de torneira, foi lavado com água destilada, secado em estufa e esterilizado a 120°C durante 20 minutos.

2.12. DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS DE REAÇÃO CRUZADA

Foi realizada a pesquisa de anticorpos de reação

cruzada, para afastar a possibilidade de interferência no trabalho. A determinação de anticorpos de reação cruzada foi realizada com 30 galinhas (3.200 a 4.100 g) com aproximadamente 5 meses de idade e em 12 coelhos (3.600 a 4.200 g) de ambos os sexos, com aproximadamente 8 meses de idade.

2.13. PREPARAÇÃO DAS AVES A SEREM INOCULADAS

O lote de galinhas recebeu tratamento a base de Neotibiotic - L (líquido), Upjohn, administrado da seguinte maneira: 3 ml de Neotibiotic para 1 litro de água no 1º dia e 2 ml para 1 litro no 2º dia. Este tratamento foi repetido nos 8º e 9º dias. Vinte dias após o início do tratamento, as aves apresentavam-se em condições de serem utilizadas na pesquisa.

2.14. ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS

As galinhas foram alimentadas com água e ração apropriada, da marca Purina. Os coelhos, com folhas de hortaliças, cenouras e ração apropriada (Purina). Cerca de 24 horas

antes do início da pesquisa os animais foram submetidos a uma dieta alimentar.

2.15. COLETA DO SANGUE E PREPARO DO SORO

O sangue dos animais de experimentação foi coletado por punção cardíaca, sendo retirados 5 a 7 ml de cada coelho e 7 a 10 ml de cada galinha.

O sangue coletado foi incubado a 37°C por 30 minutos e o soro obtido por centrifugação a 1.200 rpm durante 15 minutos.

2.16. REAÇÃO DE PRECIPITAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO, PELO "RING TEST"

A determinação de anticorpos de reação cruzada contra antígenos foi realizada em tubos de Duran. O antisoro (100 µg-500 µg/ml) foi adicionado lentamente com auxílio de pipetas Pasteur, de modo a se depositar no fundo do tubo. O antígeno (100 µg-500 µg/ml) diluído em concentrações de 1:2 a 1:16 em cloreto de sódio 0,15 M) foi cuidadosamente adicionado pelas paredes do tubo para formar um anel leitoso na

união dos dois líquidos, o que indicaria a positividade da reação.

As leituras foram realizadas, imediatamente após a adição do antígeno, a 15 minutos e a 2 horas. (PELCZAR et al, 1981).

A reação foi executada para cada elemento do grupo de mamíferos, aves, anfíbios e répteis. (Fig. 17 e 18).

2.17. ANTICORPOS EM GALINHAS

Os anticorpos em galinhas foram conseguidos por injeção intravenosa (veia axilar) para a 1ª inoculação de emulsão preparada com 100 $\mu\text{g/ml}$ de soro de mamíferos ($47 \cdot 10^3$ a $121 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/ml}$ de proteína), anfíbios e répteis ($56 \cdot 10^3$ a $38 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/ml}$ e $98 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/ml}$); As demais inoculações foram realizadas por meio de injeção intramuscular (coxa traseira) de emulsões preparadas com 80 $\mu\text{g/ml}$ de soro e 60 $\mu\text{g/ml}$ de adjuvante incompleto de Freund. Cada galinha recebeu 4 injeções com 10 dias de intervalo.

2.18. ANTICORPOS EM COELHOS

Anticorpos em coelhos foram conseguidos injetando nos nódulos linfáticos, emulsões preparadas com soro de aves

($42 \cdot 10^3$ a $71 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/ml}$ de proteína) e adjuvante de Freund. Cada coelho recebeu 4 injeções com 10 dias de intervalo; a primeira foi preparada com 70 $\mu\text{g/ml}$ de soro de aves e 50 $\mu\text{g/ml}$ de adjuvante incompleto de Freund. A segunda, terceira e quarta injeções foram preparadas com 60 $\mu\text{g/ml}$ de soro de aves e 40 $\mu\text{g/ml}$ de adjuvante completo de Freund.

2.19. ADJUVANTES UTILIZADOS

Os adjuvantes de Freund utilizados para as primeiras inoculações foram adquiridos da Difco Laboratories e para as inoculações posteriores foram preparadas em nosso laboratório.

Adjuvante completo de Freund:

Óleo mineral inerte (Nujol-Memphis)	85%
Substância tensioativa (Orquimisa)	15%
Bacilos da Tuberculose (mortos)	1 mg/ml

Adjuvante Incompleto de Freund

Mesma composição do adjuvante completo, porém, sem os bacilos da tuberculose.

As misturas foram homogeneizadas em homogeneizador

VIRTIS "45", distribuídas em frascos de vidro de 2,0 ml, fechados com tampa de borracha e lacrados com aro metálico. Os frascos foram autoclavados a 120°C durante 20 minutos e acondicionados a 4°C (NEWBOULD, 1965)

2.20. TÍTULOS DE ANTICORPOS

O título de anticorpos em galinhas e coelhos foi determinado semanalmente após a segunda injeção, pela técnica de D.D.G. de Ouchterlony (1958), empregando-se diluições dos extratos de soros de mamíferos, aves, anfíbios e répteis nas concentrações de 500 µg/ml e 1000 µg/ml. As galinhas foram puncionadas no coração, coletando-se 3 a 5 ml de sangue. O sangue dos coelhos foi coletado (2 a 3 ml) pela veia marginal da orelha. Após a coagulação e retração do coágulo, o soro foi separado e analisado. O título máximo em galinhas foi atingido 30 dias após a primeira injeção e em coelhos, 29 dias. Após 42 dias, a primeira injeção em galinhas, foi obtida a máxima quantidade possível de sangue por animal (90 a 100 ml) por meio de punção cardíaca. Para os coelhos, 41 dias após a primeira injeção, foi obtida a máxima quantidade possível de sangue por animal (80 a 90 ml) por meio de canulação da artéria carótida. O sangue retirado foi incubado a 37°C durante 30 minutos, o soro foi separado do coágulo

com auxílio de pipeta e mantido a 4°C. O coágulo foi mantido a 4°C durante 12 horas sofrendo nova retração. O soro obtido foi centrifugado a 5.000 r.p.m. durante 15 minutos e adicionado ao primeiro; os dois foram acondicionados em frascos de vidro e estocados a -20°C.

2.21. TAMPÃO VERONAL PH 8,6

Os tampões empregados possuem a composição proposta por HIRSCHFELD (1960), com algumas modificações.

Os tampões foram rigorosamente preparados, utilizando-se pesadas analíticas e pH a 8,6 verificado em potenciômetro.

O tampão adicionado às placas de vidro recebeu a denominação de Tampão I e o adicionado às cubas para eletroforese em placas, de Tampão II.

TAMPÃO I

Ácido barbitúrico	3,30g
Barbiturato de sódio	21,00g
Lactato de cálcio	3,05g
Água destilada para completar	2.000 ml

TAMPÃO II

Ácido barbitúrico	2,75g
-------------------------	-------

Barbiturato de sódio	17,50g
Lactato de cálcio	0,75g
Água destilada para completar	2.000 ml

2.22. PREPARO DE ÁGAR GEL PARA PLACAS DE ELETROIMUNOPRECIPITAÇÃO

Uma solução de agar (Difco Special agar noble) a 2% foi preparada em água destilada e autoclavada a 120°C durante 15 minutos. Após solidificação por esfriamento, o gel foi cortado em pequenos fragmentos de aproximadamente 2 cm² e lavados com agitação (agitador de rotação-Vagner) em água deionizada, durante 48 horas. Após várias trocas de água a solução foi ajustada a pH 7,0 e os fragmentos de agar foram secados em papel Whatman nº 4.

O agar a 2% purificado foi dissolvido a quente no mesmo volume de uma mistura composta de uma parte de água destilada e duas de tampão I, transferido para tubos estéreis e estocados a 4°C.

2.23. SANGUE ENGORGITADO POR *Stomoxys calcitrans* (L.)

No dia de se levar a efeito a reação propriamente di

ta, o papel de filtro, contendo o sangue das moscas (ítem 2.2.2., foi recortado, e colocado dentro de um tubo de ensaio com 1,0 ml de soro fisiológico, ali permanecendo até a completa homogeneização. Quando havia turvação, o material era centrifugado e o resíduo desprezado.

2.24. REAÇÃO DE ELETROIMUNOPRECIPITAÇÃO

Para as reações de eletroimunoprecipitação segundo método de MAREK et al (1964) foram utilizadas placas de vidro de 12,0 x 9,0 cm, sobre as quais foi adicionado um volume de 30 ml por unidade de agar gel, até a obtenção de uma camada de 2,5 a 3,0 mm de espessura. As placas foram deixadas "over night". No agar endurecido (placas) foram perfurados duas fileiras com 13 orifícios de 2,5 mm de diâmetro interno a 1 cm de intervalo um do outro (figs. 19 e 20).

Nos orifícios da fileira da esquerda foram adicionados 40 μ l de sangue de *S. calcitrans* (ítem 2.3.2) e nos orifícios da direita foram adicionados 40 μ l de antisoro de mamíferos conhecidos.

As placas preparadas foram colocadas em câmara de eletroforese contendo tampão II, e submetidas a uma intensidade de corrente elétrica de 7,5 V/cm por 30 minutos.

2.25. PREPARO DE AGAR GEL PARA PLACAS DE IMUNODIFUSÃO

Uma solução de agar (Difco Special Agar Noble) a 1,5% foi preparada em água destilada em ebulição. Alíquotas de 4,0 ml foram distribuídas em tubos de ensaio e autoclavadas por 20 minutos a 120°C. Em cada tubo foram adicionados 4,0 ml de cloreto de sódio a 0,15 M, transferidos para tubos estéreis e estocados a 4°C.

2.26. IMUNODIFUSÃO DOS SOROS DE AVES, ANFÍBIOS E RÉPTEIS

Para a imunodifusão de OUCHTERLONY & NILSSON (1978), foram utilizadas lâminas de vidro de 8,0 X 3,0 cm, sobre as quais foram transferidos volumes de 4 ml de agar, que após solidificação formou uma camada fina de agar gel. O molde para imunodifusão em agar foi aplicado duas vezes para cada placa (figs. 21 e 22).

No orifício central foi aplicado 100 µl de sangue de *S. calcitrans* e nos orifícios periféricos 100 µl de imunoseroro de ganso, galinha, marreco, pato e peru. As lâminas de imunodifusão foram colocadas em câmara úmida saturada com tolueno e mantidas a temperatura ambiente durante 48 horas. Lavadas com salina 0,15 M, com a finalidade de eliminar do

gel todas as proteínas em excesso que não precipitaram e finalmente, lavadas com água destilada durante 1 hora. Após secar as lâminas com secador de ar quente, as bandas de precipitinas foram coradas com comassie G-250 (BLAKESLEY & BCEZI, 1977).

2.27. PREPARO DE AGAR GEL PARA PLACAS DE IMUNOELETROFORESE

Uma solução de agar (Difco Special Agar Noble) a 1,0% foi preparada em água destilada e autoclavada a 120°C durante 15 minutos. Após solidificação por esfriamento o gel foi cortado em pequenos fragmentos de aproximadamente 2 cm² e lavadas com agitação em cloreto de sódio a 0,15 M durante 48 horas. Os fragmentos de agar gel foram separados por filtração em gaze, fundidos novamente e alíquotas de 15 ml foram transferidos para tubos estéreis e estocados a 4°C.

2.28. REAÇÃO DE IMUNOELETROFORESE

Para a reação de imunoeletroforese foram utilizadas placas de vidro de 12,0 X 9,0 cm sobre as quais foram adicio

nados 15 ml de agar gel, obtendo-se uma camada com espessura de aproximadamente 1,5 a 2,0 mm. No agar endurecido (placas) foram perfurados 5 pontos com intervalos de aproximadamente 0,5 cm entre eles. A lâmina foi colocada na cuba da eletroforese, adaptada a cada extremidade com auxílio de tiras de papel de filtro, que teriam função de ponte entre o tampão dos eletrodos e o agar. A solução tampão para o desenvolvimento da reação foi o tampão veronal 8,6. As placas de agar gel foram submetidas a uma intensidade de corrente elétrica igual a 6 V/cm, durante 1 hora. (O aparelho foi desligado após 5 minutos iniciais para a adição do antígeno). A eletroforese foi desenvolvida durante 1 hora. A placa foi retirada da cuba e, com auxílio de lâminas cortantes, foi preparada a canaleta, que em seguida foi selada com agar e preenchida com imunosoro de mamífero (30 µg). As placas permaneceram 24 horas em câmara úmida saturada a temperatura ambiente, para a difusão dos antígenos e anticorpos.

As lâminas foram lavadas com cloreto de sódio a 0,15 M e água destilada, secas com ar quente e coradas com comassie G-250 (GRABAR & BURTIER (1960)).

3. RESULTADOS

3.1. CAPTURA DE *Stomoxys calcitrans* (L.)

O número de *S. calcitrans* capturadas durante as 355 coletas realizadas, foi de 1513 para o aviário I, de 718 para o II e 483 para o III (Tabela I).

As figuras 10, 11 e 12 dão idéia da flutuação da população de *S. calcitrans* em relação à temperatura média/semana durante os 12 meses em que foram realizadas as pesquisas de campo. Foi observada uma incidência crescente do número de insetos durante os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março decrescendo nos meses de abril a agosto.

No mes de julho o número de insetos capturados foi nulo nos aviários II e III, ocorrência que se repetiu no mês de agosto para o aviário III. No mês de setembro o número de moscas capturadas aumentou, fenômeno inverso ocorreu no mês de outubro.

A percentagem relativa à ocorrência de machos e fêmeas nos locais de captura está mostrada na fig. 13.

TABELA 1 - Número mensal de *Stomoxys calcitrans* (L.), capturadas nos aviários I, II e III. Araucária - Pr., 1980-1.

MESES	AVIÁRIOS			
	I	II	III	sub-total
Março	344	100	98	542
Abril	186	88	54	328
Maiο	156	70	46	272
Junho	104	64	28	196
Julho	67	0	0	67
Agosto	17	11	0	28
Setembro	57	41	16	114
Outubro	19	19	10	48
Novembro	73	58	39	170
Dezembro	120	79	46	245
Janeiro	168	82	64	314
Fevereiro	202	106	82	390
Sub-Total	1513	718	483	Total 2714

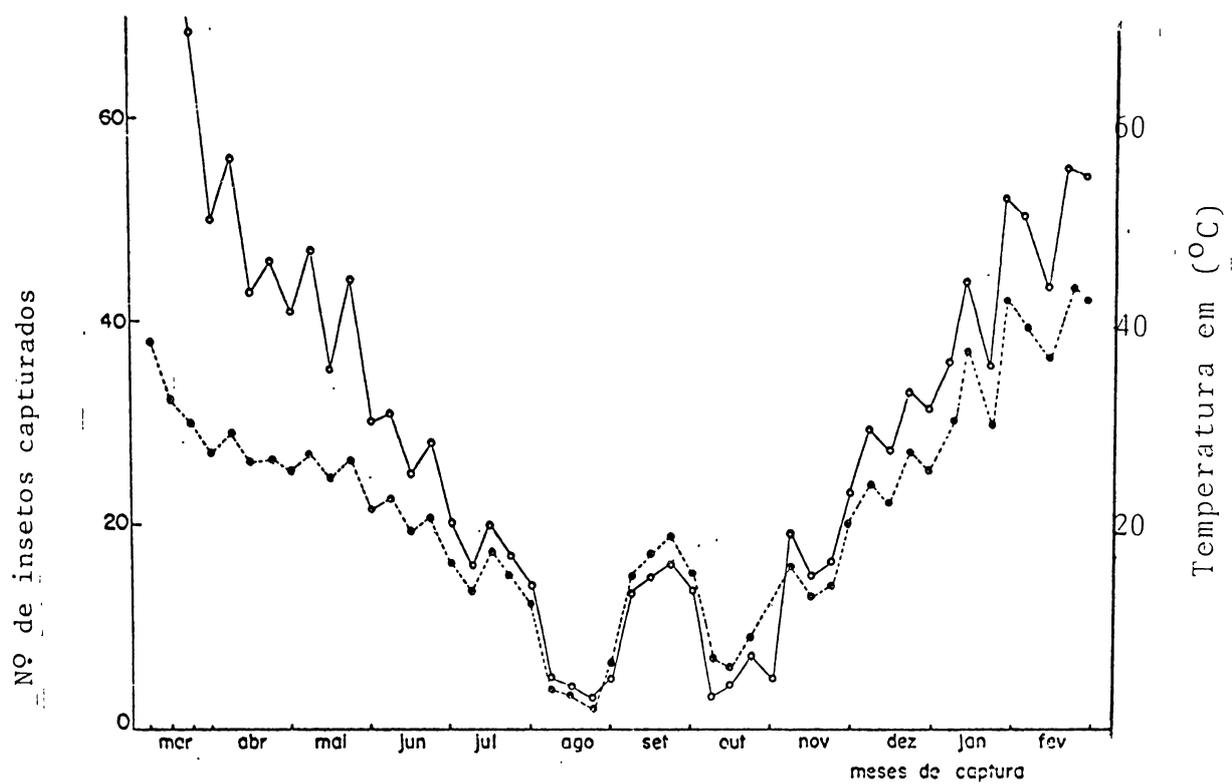


Figura 10 - Relação entre o nº de *Stomoxys calcitrans* (L.) capturadas e a temperatura ambiente durante / os meses de março a fevereiro no aviário I . Araucária- PR 1980- 1.

●...● Temperatura em (°C)

○—○ Número de insetos adultos capturados.

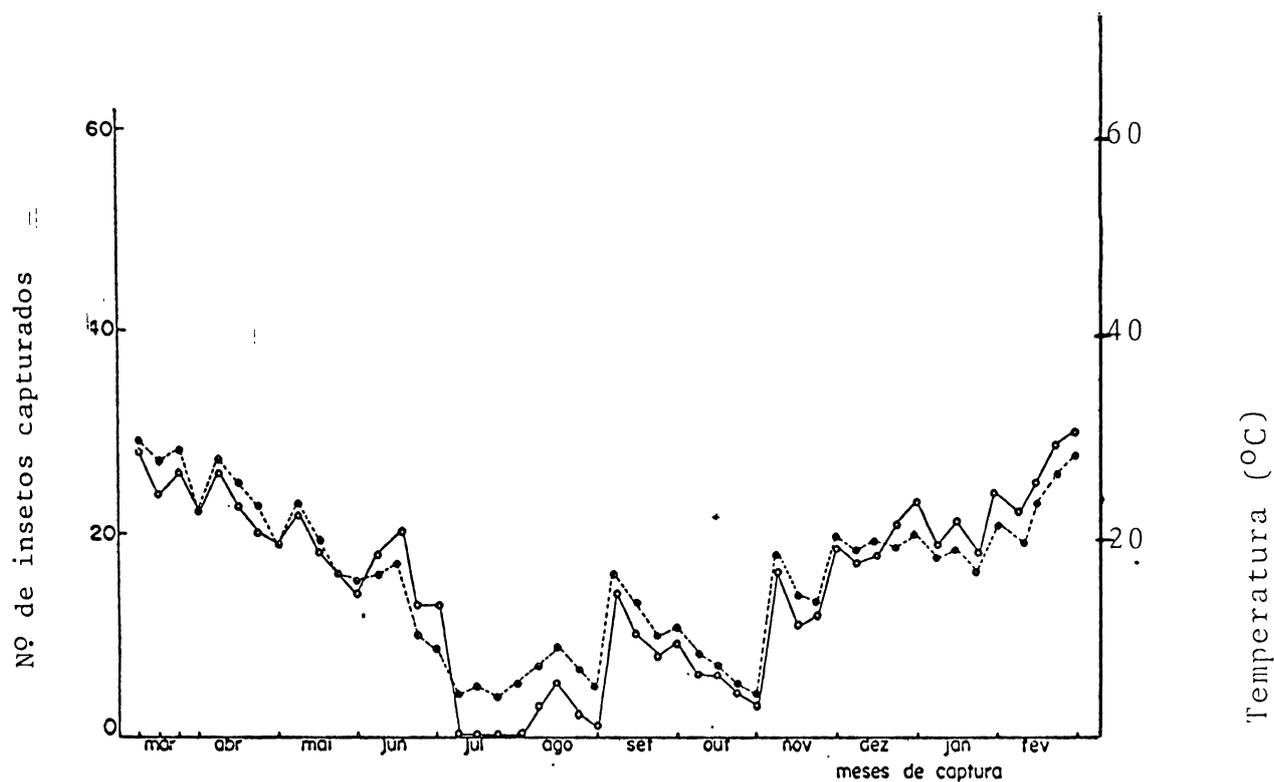


Figura 11 - Relação entre o nº de *Stomoxys calcitrans* (L.) capturadas e a temperatura ambiente durante / os meses de março a fevereiro no aviário II Araucária - PR 1980-I

●...● Temperatura em (°C)

○—○ Número de insetos adultos capturados.

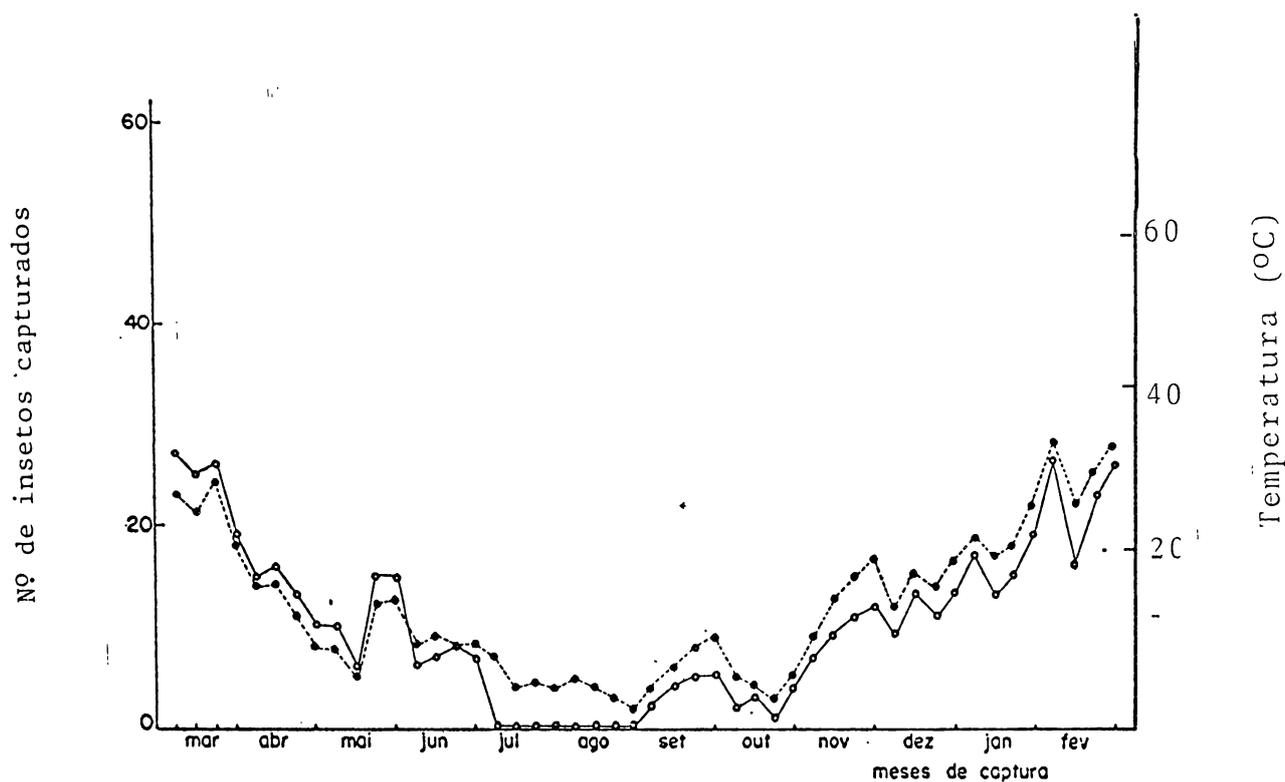


Figura 12 - Relação entre o nº de *Stomoxys calcitrans* (L.) capturadas e a temperatura ambiente durante os meses de março a fevereiro no aviário III.

Araucária-Pr., 1980-1.

●...● Temperatura em (°C).

○—○ Número de insetos adultos capturados.

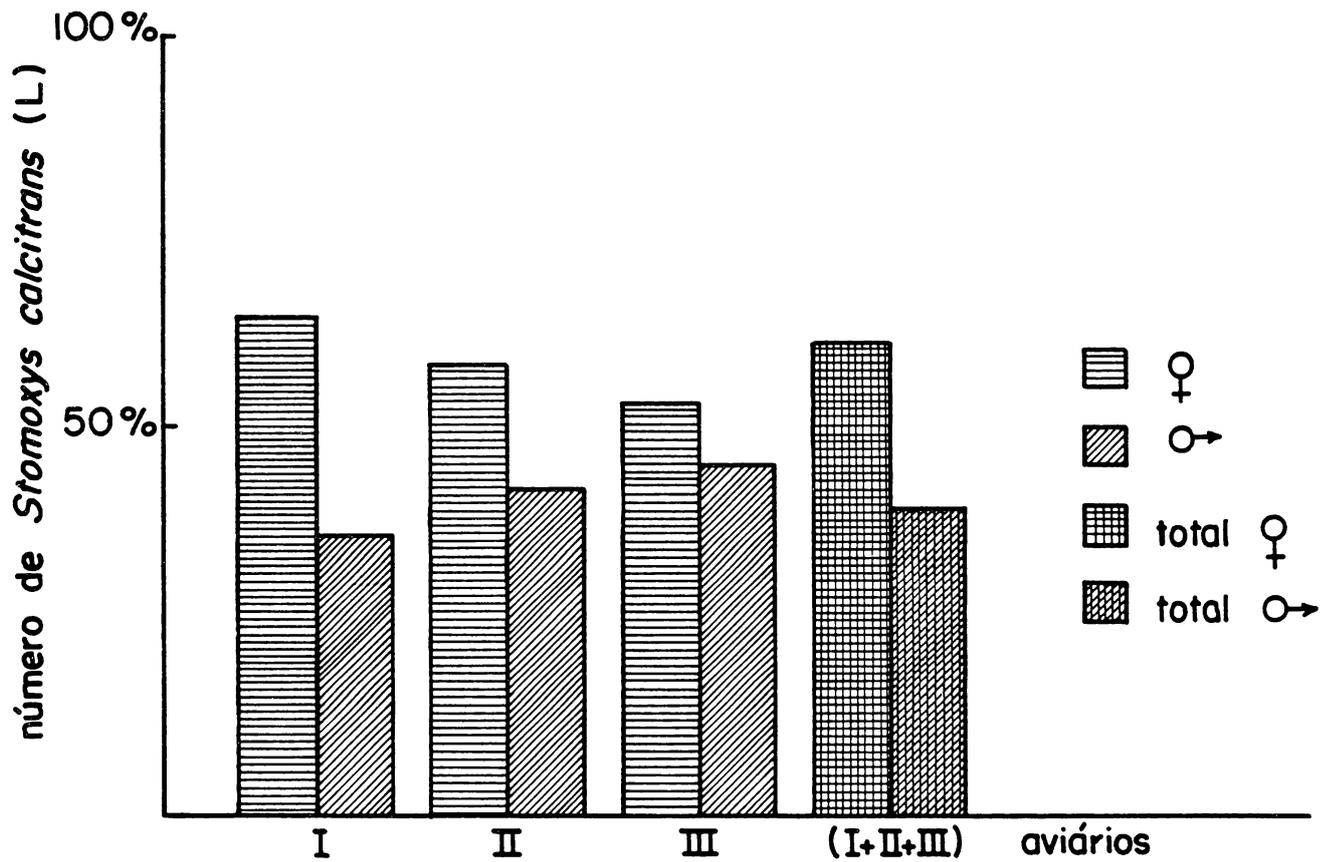


Figura 13 - Variação percentual de *Stomoxys calcitrans* (L.) capturadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.

3.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA DO NÚMERO DE INSETOS ADULTOS DE *Stomoxys calcitrans* (L.)

O Teste F com 95% de probabilidade apresentou uma diferença significativa no número de insetos adultos capturados entre os aviários e para os diferentes meses.

Pelo Teste de Tukey, a 95% de probabilidade, a captura de insetos no aviário I, com média de 126,08, foi significativamente superior aos aviários II e III, com médias de 59,83 e 40,25 respectivamente; os quais não diferiram significativamente entre si (tabela 2).

Os meses de março, fevereiro, abril, janeiro, maio e dezembro, embora apresentassem maiores média de moscas capturadas, (180,66; 130,00; 109,33; 104,66; 99,66 e 81,66, respectivamente), não diferiram significativamente entre si, porém diferiram significativamente dos meses de junho, novembro, setembro, julho, outubro e agosto, com médias de 65,33; 56,55; 38,00; 22,33; 16,00 e 9,33, respectivamente. Os meses de menor captura de moscas foram agosto e outubro, os quais não diferiram significativamente de julho, setembro, novembro, junho, dezembro, maio, janeiro e abril, porém diferiram significativamente dos meses de fevereiro e março. (Tabela 3).

TABELA 2 - Média por aviário, do número de *Stomoxys calcitrans* (L.), capturadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.

Aviários	Média de captura/aviário ^a
I	126,08 a
II	59,83 b
III	40,25 b

^aMédias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de significância.

TABELA 3 - Média mensal do número de *Stomoxys calcitrans* (L.), capturadas nos aviários I, II e III. Araucária - Pr., 1980-1.

Meses	Média de captura/mes ^a
Março	180,66 a
Abril	109,33 a b c
Maio	99,66 a b c
Junho	65,33 b c
Julho	22,33 b c
Agosto	9,33 c
Setembro	38,00 b c
Outubro	16,00 c
Novembro	56,66 b c
Dezembro	81,66 a b c
Janeiro	104,66 a b c
Fevereiro	130,00 a b

^aMédias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de significância.

3.3. COLETA DAS LARVAS DE *Stomoxys calcitrans* (L.)

Foram coletadas 2.047 larvas de *S. calcitrans* nos três aviários estudados, assim distribuídas: 1058 no aviário I, 557 no II e 432 no III. As variações observadas, com relação ao número de larvas coletadas durante os 12 meses relativos a pesquisa de campo, estão expressos na Tabela 4 e mostrados nas figs. 14, 15 e 16. Foi observada uma incidência crescente do número de larvas coletadas durante os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro; decrescente nos meses de abril a agosto. No mês de setembro o número de larvas diminuiu, aumentando no mês de outubro.

TABELA 4 - Número mensal de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.), coletadas, nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.

Coleta meses	I	II	III	Sub-total
Março	200	90	70	360
Abril	138	62	50	250
Maió	127	47	42	216
Junho	55	38	30	123
Julho	32	13	10	55
Agosto	15	9	7	31
Setembro	20	10	15	45
Outubro	35	15	20	70
Novembro	48	30	35	113
Dezembro	120	53	40	213
Janeiro	130	80	53	263
Fevereiro	138	110	60	308
Sub-total	1058	557	432	total 2047

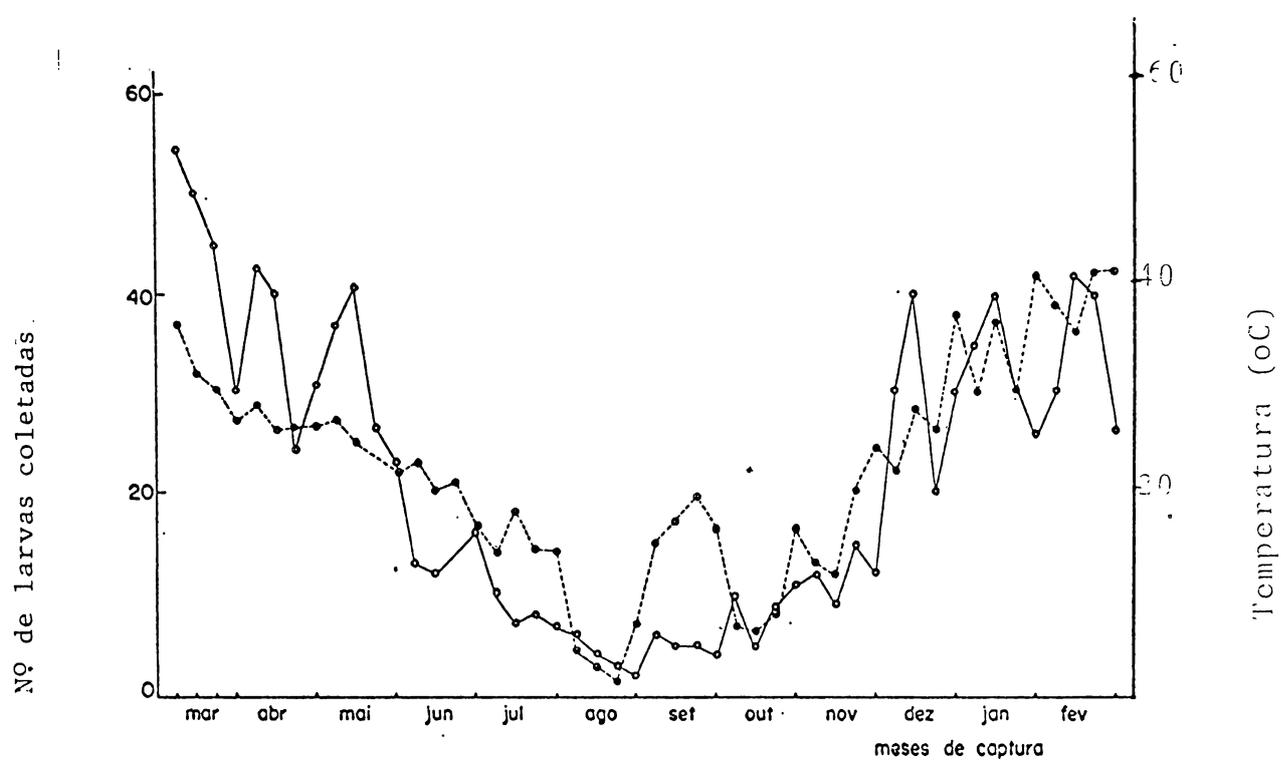


Figura 14 - Relação entre o nº de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.) coletadas e temperatura ambiente durante os meses de março a fevereiro no aviário I

●...● Temperatura em (°C).

○—○ Número de larvas coletadas.

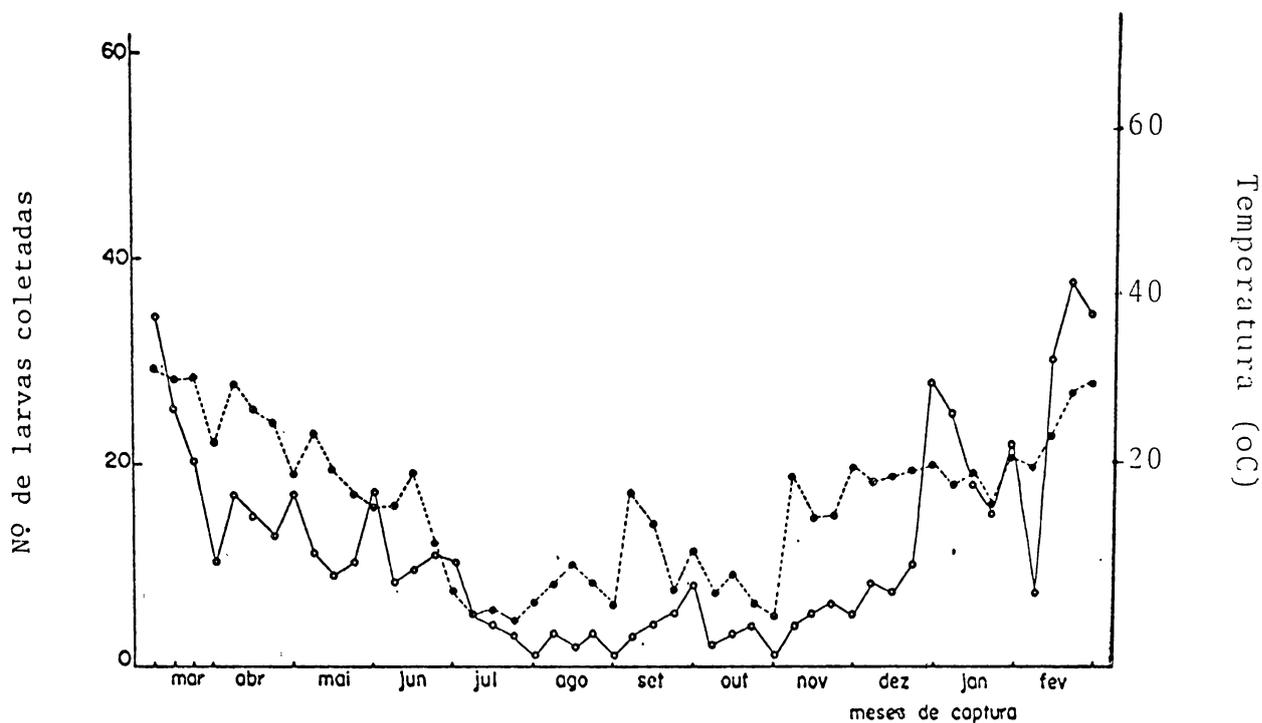


Figura 15 - Relação entre o nº de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.) coletadas e temperatura ambiente durante os meses de março a fevereiro no aviário II.

Araucário Pr- 1980.1

●...● Temperatura em (°C).

○—○ Número de larvas coletadas.

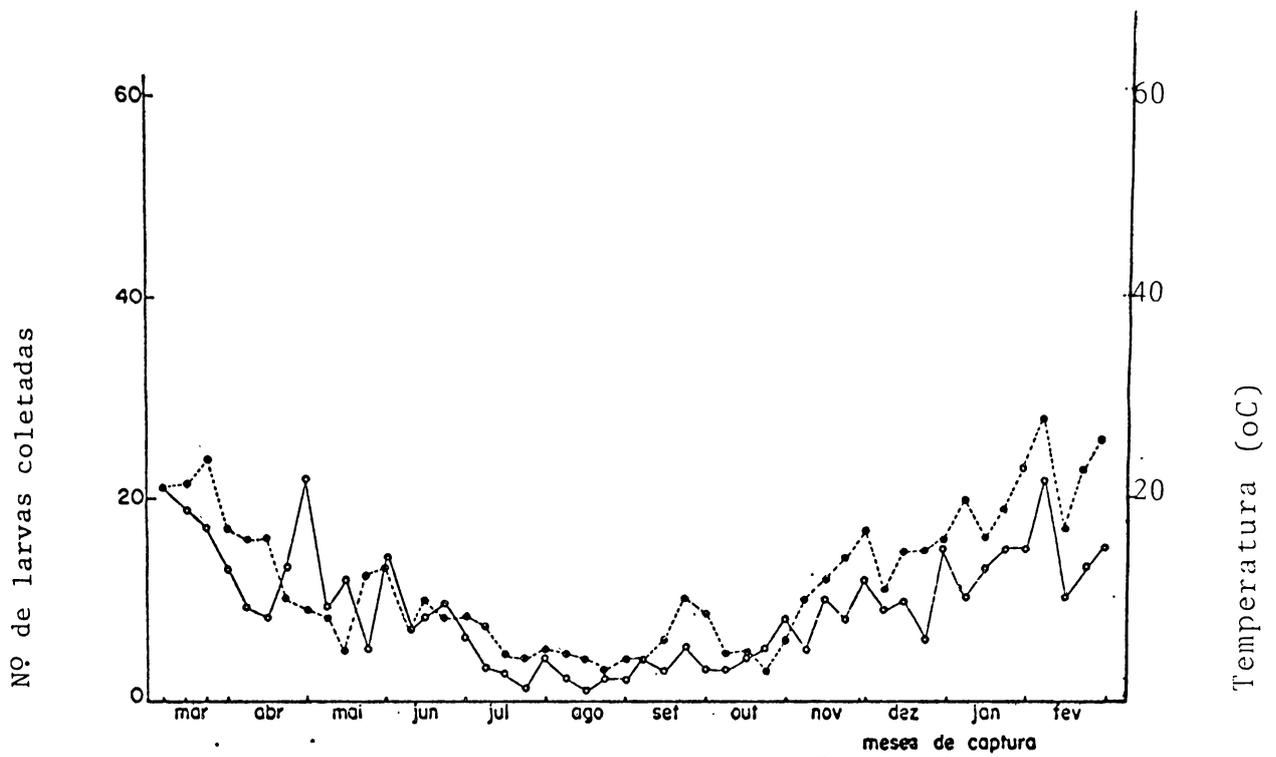


Figura 16 - Relação entre o nº de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.) coletadas e temperatura ambiente durante os meses de março a fevereiro no aviário III.

Araucária - Pr- 1980.1

●...● Temperatura em (°C).

○—○ Número de larvas coletadas.

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA DO NÚMERO DE LARVAS DE *Stomoxys calcitrans* (L.)

O teste F com 95% de probabilidade apresentou uma diferença significativa no número de larvas coletadas entre os aviários e para os diferentes meses.

Pelo teste de Tukey, a 95% de probabilidade, a coleta de larvas no aviário I, com média de 88,16 foi significativamente superior aos aviários II e III, com média de 46,42 e 36,00 respectivamente; os quais não diferiram significativamente entre si.

Os meses de março, fevereiro, janeiro, abril, maio e dezembro, embora apresentassem maiores médias de larvas coletadas, (120,00; 102,66; 87,66; 83,33; 72,00 e 71,00 , respectivamente) não diferiram significativamente entre si, porém diferiram significativamente dos meses de junho, novembro, outubro, julho, setembro e agosto, com médias de 41,00; 37,66; 23,33; 18,33; 15,00 e 10,33, respectivamente. Os meses de agosto e setembro foram os de menor coleta de larvas, os quais não diferiram significativamente de julho, outubro, novembro, junho, dezembro e maio; porém diferiram significativamente dos meses de abril, janeiro, fevereiro e março.

TABELA 5 - Média por aviário, do número de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.), coletadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.

Aviários	Média de coleta/aviários ^a
I	88,16 a
II	46,42 b
III	36,00 b

^aMédias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de significância.

TABELA 6.- Média mensal do número de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.), coletadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.

Meses	Média de coleta/mes ^a
Março	120,00 a
Abril	83,33 a b c d
Maio	72,00 a b c d e
Junho	41,00 b c d e
Julho	18,33 d e
Agosto	10,33 e
Setembro	15,00 e
Outubro	23,33 c d e
Novembro	37,66 b c d e
Dezembro	71,00 a b c d e
Janeiro	87,66 a b c
Fevereiro	102,66 a b

^aMédias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de significância.

3.5. REAÇÃO DE PRECIPITAÇÃO PELO "RING TEST"

O "Ring Test" foi aplicado em todos os soros dos animais (galinhas e coelhos), (item 2.16) para afastar uma possível interferência de reação cruzada. Não foram evidenciadas reações de precipitação.

As figuras 17 e 18 mostram dois resultados destas reações.

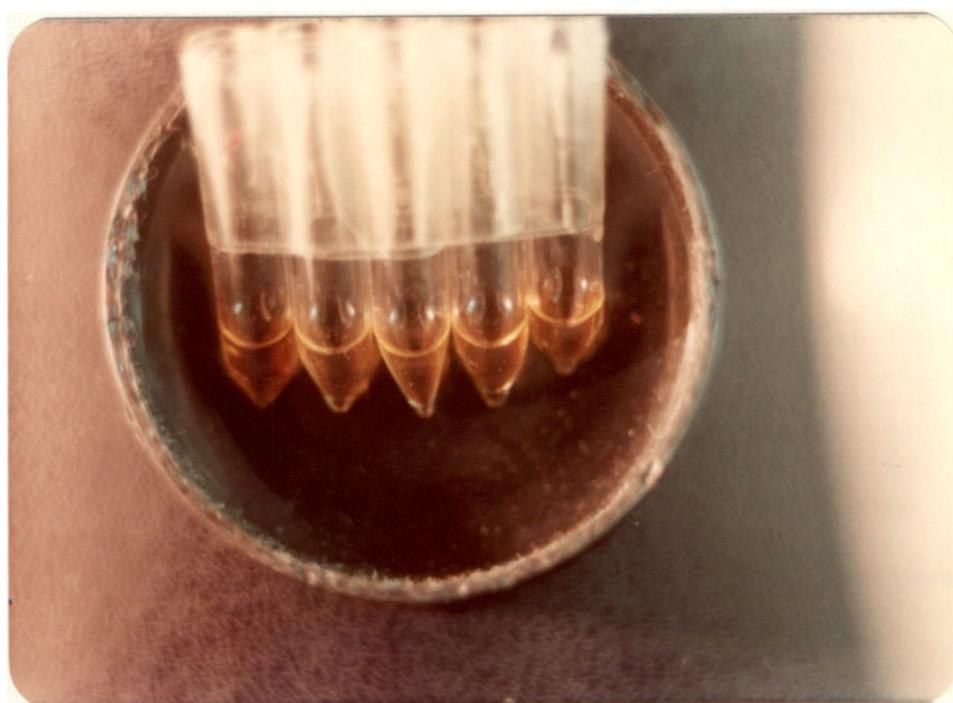


Figura 17 - Determinação de anticorpos de reação cruzada, pelo "Ring Test". No fundo do tubo de Duran o antígeno (aves/100 a 500 μg proteína/ml) e acima deste o antígeno (sangue de *Stomoxys calcitrans* (L.) 100 a 500 μg /proteína/ml), diluído em cloreto de sódio a 0.15 M. Como não foi observado anel de precipitação na interfase, a reação foi considerada negativa.

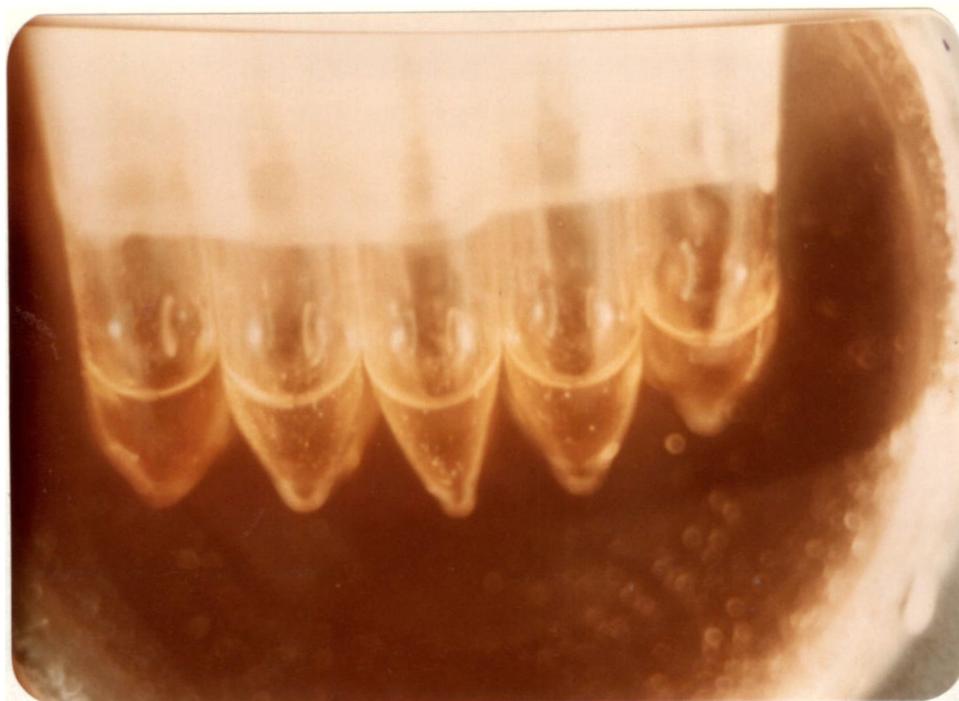


Figura 18 - Determinação de anticorpos de reação cruzada, pelo "Ring Test". No fundo do tubo de Duran, o antisoro (coelhos/100 a 500 μ g proteína/ml) e acima deste o antígeno (sangue de *S. calcitrans* (L.)/100 a 500 μ g proteína/ml). Como não foi observado anel de precipitação na interface a reação foi considerada negativa.

3.6. PREPARAÇÃO DE ANTICORPOS EM GALINHAS E COELHOS

A imunização das galinhas foi efetuada por meio de injeções intravenosa e intramusculares e os coelhos foram imunizados com injeções nos nódulos linfáticos, sem tratamento prévio do soro.

O título máximo dos anticorpos foi atingido após a 3ª inoculação, pela D.D.G. de Ouchterlony, 1958. Os resultados estão mostrados na tabela 7.

Foi verificado que a estocagem de soros precipitantes até 14 meses a -20°C , não alterou significativamente os títulos homólogos destes.

A tabela 8 mostra estes resultados.

3.7. PREFERÊNCIA ALIMENTAR DA *Stomoxys calcitrans* (L.); DE TERMINADA PELAS REAÇÕES DE ELETROIMUNOPRECIPITAÇÃO E IMUNODIFUSÃO

3.7.1. Método de eletroimunoprecipitação

A preferência alimentar da *S. calcitrans* por sangue

de mamíferos foi determinada por êste método, tendo em vista a sensibilidade e especificidade deste, nas determinações das concentrações ideais dos antígenos e anticorpos. Portanto a fim de padronizar o método utilizado nos testes desta reação em agar a 2%, os soros de mamíferos foram testados frente às diluições do antígeno e das de soros precipitantes (item 2.25). Os valores obtidos estão mostrados no Quadro 1.

As reações de eletroimunoprecipitação foram novamente executadas, tendo em vista as determinações das concentrações ideais dos de soros de mamíferos (Quadro 1), utilizando-se do sangue de *S. calceitans* como antígenos e soros precipitantes de mamíferos com títulos determinados pela Dupla Difusão de Ouchterlony (1958).

Os resultados foram lidos três vezes:

1º - Os halos de precipitação, quando apareciam logo após a interrupção da corrente elétrica, foram assinaladas com +++ (halos legíveis e largos).

2º - Quando apareciam após a permanência das placas em câmara úmida durante 10 minutos, os halos foram assinalados com ++.

3º - Quando apareciam após 30 minutos (fracos e não nitidamente delimitados, foram assinalados com +.

As figs. 19 e 20 mostram dois exemplos de reações executadas para a verificação da preferência alimentar das moscas capturadas nos aviários estudados. Os resultados desde

tas reações foram considerados positivos quando os halos de precipitação apareciam com rapidez e eram suficientemente legíveis.

Os resultados obtidos, que estão na tabela 9, retratam bem as preferências alimentares da *S. calcitrans* na região estudada, confirmando a frequência desta mosca aos aviários, na época de oviposição, que é feita nas fezes secas das galinhas, as quais se depositam em baixo das gaiolas (fig, 9), saindo em campo aberto a procura de alimento, principalmente em mamíferos. E o Quadro 2 mostra a diversificação de destas preferências, de acordo com as fontes de alimentação.

TABELA 7 - Títulos de soros precipitantes obtidos com os antígenos homólogos, determinados pela reação de DDG. Araucária-Pr., 1980-1.

Soros	Títulos
Anti-vaca	20.800
Anti-cavalo	13.500
Anti-cão	12.200
Anti-porco	17.600
Anti-gato	14.300
Anti-homem	18.200
Anti-cabra	10.800
Anti-ovelha	9.300
Anti-cobaio	12.000
Anti-rato branco	13.800
Anti-marreco	11.400
Anti-pato	10.300
Anti-ganso	10.500
Anti-peru	11.800
Anti-galinha	22.700
Anti-rã	8.000
Anti-sapo	7.600
Anti-cobra	7.400

TABELA 8 - Títulos homólogos de soros precipitantes, verificados após 1 ano e tres meses em estado congelado (-20°C). Araucária-Pr., 1980-1.

Soros precipitantes	Título anterior	Título posterior
Anti-homem	18.200	18.100
Anti-peru	11.800	10.500
Anti-rã	8.000	6.800

QUADRO 1 - Determinação da eficiência do método de imunoelectroprecipitação, com o uso de soros específicos, que precipitam as proteínas de mamíferos em relação ao soros de mamíferos como antígeno. Araucária-Pr., 1980-1.

Soros	Antígenos (Concentração)	Soro/precipitante (Concentração)	Halos de Precipitação	Tempo/ minuto
Vaca	1:100	0	+++	0
		1:1	++	10
		1:4	+	30
Cavalo	1:100	0	+++	0
		1:1	++	10
		1:8	++	30
Cão	1:100	0 a 1:1	+++	0
Porco	1:100	0 a 1:1	+++	0
Gato	1:100	0	+++	0
		0 a 1:1	+++	0
Homem	1:100 a 1:1000	1:2	++	10
		1:4	+	30
Cabra	1:100 a 1:1000	0	+++	0
		1:1	++	10
Ovelha	1:100 a 1:1000	0 a 1:1	+++	0
Cobaio	1:100 a 1:1000	0 a 1:1	+++	0
		1:2	++	10
Rato branco	1:100	0	+++	0

+++ = halos de precipitação nitidamente delimitados no tempo 0'.

++ = halos de precipitação nitidamente delimitados no tempo 10'.

+ = halos de precipitação nitidamente delimitados no tempo 30'.

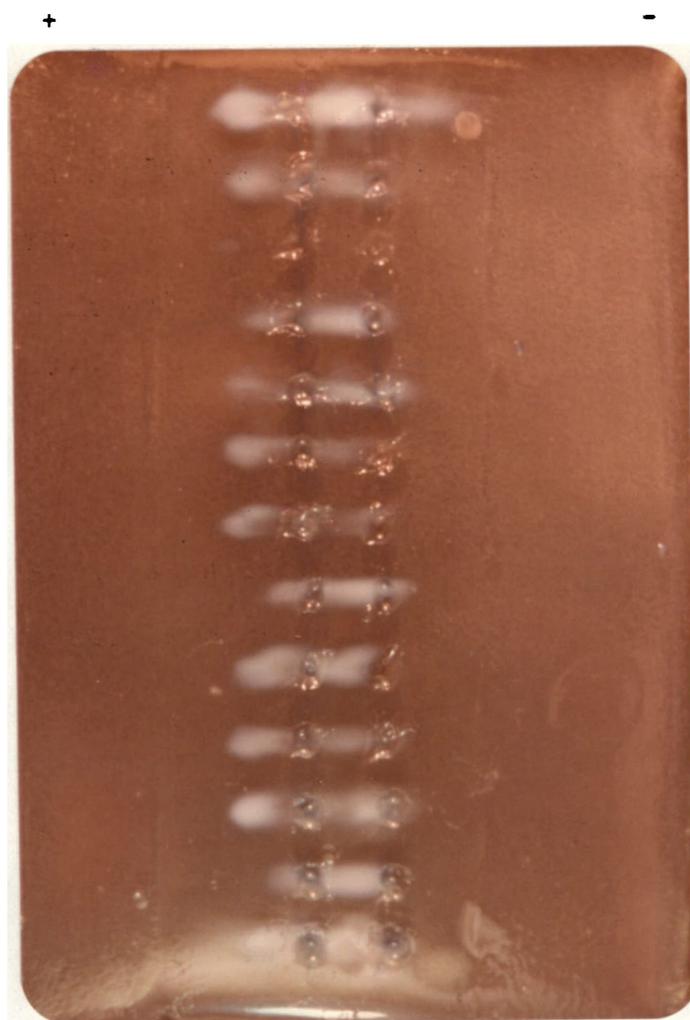


Figura 19 - Eletroimunoprecipitação, em placa de gel a 2%, com tampão Veronol 8,6 sob tensão 7,5 V/cm, durante 30 minutos. Os orifícios da esquerda continham 40 μ l de antígenos (representado por um único exemplar de *Stomoxys calcitrans* (L.) para os 12 primeiros orifícios. Os da direita continham 40 μ l de soros precipitantes (cabra, cavalo, cão, cobaio, gato, homem, ovelha, porco, rato branco e vaca). Os orifícios 11 e 12 são repetições dos 1 e 2. Os de número 13 são controle, representado por um antígeno conhecido, diluído (1:100) e o respectivo soro não diluído. Reações positivas para os orifícios de números 2,3,6,9,10 e 12.

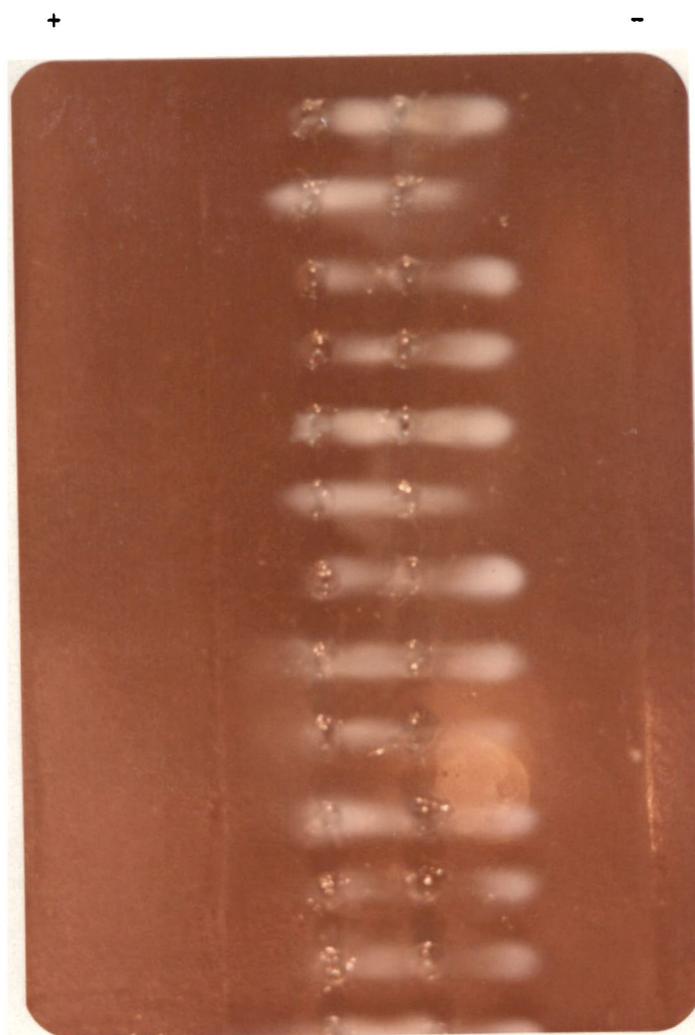


Figura 20 - Eletroimunoprecipitação em placa de gel a 2%, com tampão Veronal 8,6, sob tensão 7,5 V/cm, durante 30 minutos. Reações positivas para os orifícios de números 2, 5, 6, 8, 10 e 12.

3.7.2. Reações pelo método de imunodifusão

A determinação da preferência alimentar da *S. calcitrans* em extratos de soros de aves foi verificada pela reação de imunodifusão (ítem 2.26).

Todas as 2.714 exemplares de *S. calcitrans* capturados, apresentaram reações negativas para os imunosoros de galinha e de cobra (Tabela 9); também foram negativas para as 483 moscas capturadas no aviário III, frente aos imunosoros de anfíbios.

As reações foram positivas para os imunosoros das demais aves (faixa de 0,30 a 1,65) e para os demais anfíbios (0,13 a 0,28). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 9.

As figuras relacionadas abaixo representam um exemplo, de três dos resultados obtidos.

A fig. 21 mostra uma reação positiva de imunodifusão para um determinado exemplar de *S. calcitrans* frente os imunosoros de ganso, marreco, peru e pato e negativa para imunosoro de galinha (orifício 2).

A fig. 22 apresenta outro exemplo de reação em que há bandas de precipitinas para imunosoros de ganso, marreco e pato. Nesta reação o presente exemplar de *S. calcitrans* não apresentou bandas de precipitinas frente aos imunosoros de peru e galinha.



Figura 21 - Imunodifusão de Ouchterlony.

No orifício central continha 50 µl de soro de *Stomoxys calcitrans* (L.). Nos demais orifícios continham: 1º 50 µl de imunosoro de ganso ($50,10^3$ µg/ml de proteína), 2º 50 µl de imunosoro de galinha ($85,10^3$ µg/ml de proteína), 3º 50 µl de imunosoro de marreco ($71,10^3$ µg/ml de proteína), 4º 50 µl de imunosoro de pato ($42,10^3$ µg/ml de proteína) e 5º 50 µl de imunosoro de peru ($50,10^3$ µg/ml de proteína). As bandas de precipitinas foram coradas com Comassie G-250.

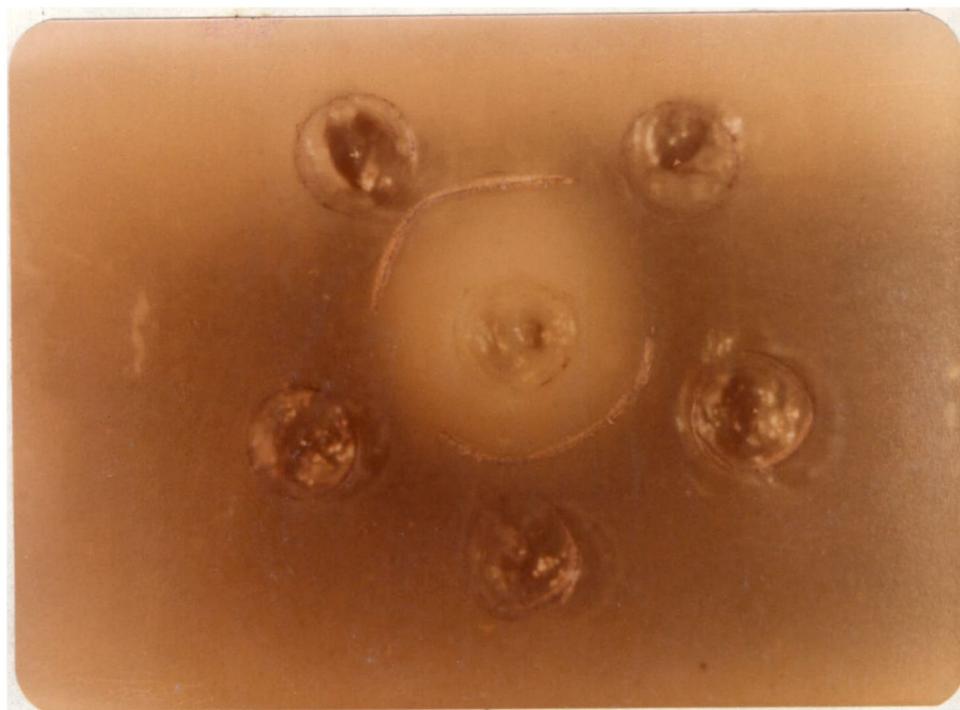


Figura 22 - Imunodifusão de Ouchterlony.

No orifício Central continha 50 $\mu\text{g/ml}$ de soro de *Stomoxys calcitrans* (L.). Nos demais orifícios continham: 1 $^{\circ}$ 50 $\mu\text{g/ml}$ de imunosoro de ganso ($50,10^3$ $\mu\text{g/ml}$ de proteína); 2 $^{\circ}$ 50 $\mu\text{l/mg}$ de imunosoro de galinha ($85,10^3$ $\mu\text{g/ml}$ de proteína); 3 $^{\circ}$ 50 $\mu\text{l/mg}$ de imunosoro de marreco ($71,10^3$ $\mu\text{g/ml}$ de proteína), 4 $^{\circ}$ 50 $\mu\text{g/ml}$ de imunosoro de peru ($42,10^3$ $\mu\text{g/ml}$ de proteína) e 5 $^{\circ}$ 50 $\mu\text{g/ml}$ de imunosoro de pato (50 $\mu\text{g/ml}$ de proteína). As bandas de precipitinas foram coradas com Comassie G-250.

3.8. REAÇÃO DE IMUNOELETROFORESE

A reação de IEF foi realizada de acordo com o item 2.28, com algumas modificações. Nos orifícios continha 30 μ g de antígenos diluídos de 1:2 a 1:32 de sangue de um único exemplar de *S. calcitrans*. Após retirar o agar da canaleta e selar com salina, esta foi preenchida com imunosoro de um único mamífero (30 μ g).

Foram realizadas reações de IEF para os diferentes imunosoros de mamíferos e exemplar de *S. calcitrans*.

As reações com os diferentes exemplares de *S. calcitrans* (L.) e os imunosoros de mamíferos apresentaram uma a duas bandas de precipitinas.

A figura 23 mostra a reação do IEF com imunosoro de vaca, apresentando uma banda para diluição de 1/2 e 1/32, para as demais diluições apresentaram duas bandas de precipitinas.

As reações de IM e IEF mostram o grau de pureza da preparação dos soros de mamíferos, aves, anfíbios e répteis utilizados para obtenção de Ac e especificidade das reações Ag-Ac.

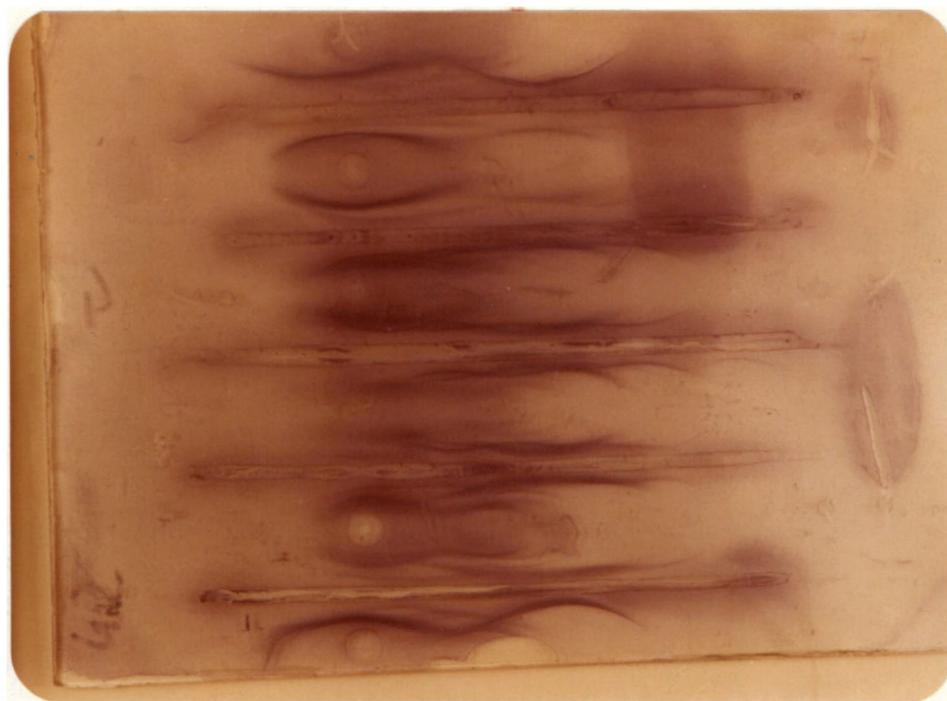


Figura 23 - Reação de Imunoeletroforese.

Reação de IEF em placa de agar a 1%, com tampão Veronol 8,6, sob tensão 6V/cm, durante 1 hora.

Nos orifícios continha 30 μ g de um único exemplar de *Stomoxys calcitrans* (L.), diluído de 1:2 a 1:32. Na canaleta continha 30 μ g de imunossoro de um único mamífero (vaca).

As bandas de precipitina foram coradas com Comasie G 250.

TABELA 9 - Preferência alimentar da *Stomoxys calcitrans* (L.), determinada pelo teste de precipitina. Araucária-Pr., 1980-1.

Fonte de Alimentação	AVIÁRIO I			AVIÁRIO II			AVIÁRIO III		
	Reações Positivas	Reações Positivas	Reações Positivas	nº	♀%	%t.	nº	♀%	%t.
Vaca	987 (42,30)	65,23	492 (45,23)	68,52	258 (28,40)	53,42			
Cavalo	827 (46,57)	54,66	413 (38,40)	57,52	195 (21,00)	40,37			
Cão	718 (29,45)	47,45	351 (29,06)	48,88	163 (17,92)	33,75			
Porco	493 (25,58)	32,58	254 (27,14)	35,37	129 (15,03)	26,71			
Gato	223 (8,55)	14,74	106 (8,05)	14,76	58 (6,70)	12,00			
Homem	113 (3,96)	7,47	59 (4,03)	8,22	27 (2,96)	5,60			
Cabra	51 (2,03)	3,37	23 (1,96)	3,20	13 (1,45)	2,69			
Ovelha	29 (1,10)	1,92	11 (1,04)	1,53	8 (0,89)	1,65			
Cobaio	24 (0,96)	1,59	10 (0,54)	1,39	5 (0,51)	1,03			
Rato branco	17 (0,72)	1,12	7 (0,49)	0,97	3 (0,34)	0,62			
Marreco	25 (0,96)	1,65	9 (0,84)	1,25	10 (1,28)	2,10			
Pato	17 (0,69)	1,12	5 (0,49)	0,70	6 (0,78)	1,24			
Ganso	13 (0,51)	0,86	3 (0,34)	0,42	4 (0,47)	0,83			
Peru	9 (0,38)	0,60	2 (0,18)	0,30	1 (0,12)	0,21			
Galinha	0 (0,00)	0,00	0 (0,00)	0,00	0 (0,00)	0,00			
Rã	3 (0,12)	0,20	2 (0,30)	0,28	0 (0,00)	0,00			
Sapo	2 (0,09)	0,13	2 (0,27)	0,28	0 (0,00)	0,00			
Cobra	0 (0,00)	0,00	0 (0,00)	0,00	0 (0,00)	0,00			

♀% = percentagem de fêmeas

qt. = percentagem total

QUADRO 2 - Especificidade da preferência alimentar de *Stomoxys calcitrans* (L.). Araucária-Pr., 1980-1.

Fonte de Alimentação	Grupos de exemplares de <i>Stomoxys calcitrans</i> , de acordo com a fonte de alimentação																					
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V
Vaca	X	X	X	X	X	X	X		X	X		X	X	X		X	X	X		X	X	
Cavalo		X	X	X				X	X	X	X	X	X		X	X	X	X				
Cão			X				X	X	X			X		X				X	X	X		
Porco				X								X	X									X
Gato					X							X										
Homem					X							X	X									
Cabra						X				X												
Ovelha															X						X	X
Cobaio					X				X												X	
Rato branco								X														X
Marreco										X	X							X	X			
Pato														X	X				X			
Ganso									X					X								
Peru									X						X							
Rã																				X		X
Sapo																X	X					

4. DISCUSSÃO

A presença de moscas, principalmente de *Musca domestica* L. e de *Stomoxys calcitrans* (L.), nos aviários estudados no Município de Araucária, não foi um acontecimento surpreendente. Foram capturados 2714 exemplares de *S. calcitrans* nos três aviários, durante os 12 meses de pesquisa. Foi verificada uma estimativa de aproximadamente 90% da totalidade das moscas que pousavam nas paredes interiores e no teto dos barracões. Tendo em vista a percentagem de insetos capturados e as dificuldades enfrentadas nesta operação, em virtude do comportamento característico do inseto, que está sempre pousado e atento ao menor ruído e movimento, (quando então levanta vôo rapidamente) o número total de exemplares obtidos, 2714, pode ser considerado de alta significância (Tabela 1). ANDERSON e POORBAUGH (1964), quando realizaram estudos ecológicos sobre *Díptera* associadas a ranchos de criação de galinhas, na Califórnia, U.S.A., determinaram a presença de exemplares de representantes de mais de 12 famílias das moscas mais comuns àquela região. Não era nossa intenção realizar um estudo de tamanha amplitude, mas sim determinar uni

camente as preferências alimentares da mosca hematófaga *S. calcitrans*, verificando inclusive a possibilidade da incidência incomum de hematofagia em aves. SÉGUY (1935) e GOLDING (1946) já haviam relatado o fato destes insetos pousarem nas partes desprovidas de penas. MITZMAIN (1913) e BOS (1934) criaram moscas dos estábulos em cativeiro, alimentando-as em galinhas, fato que parece ocorrer somente nestes casos especiais, quando não se lhes proporciona outra opção. Este experimento foi reproduzido em nossos laboratórios.

Em decorrência do que foi dito acima, foi resolvido verificar as origens do sangue utilizado como alimento pelas moscas que fazem dos aviários seu habitat. Ficou comprovado que a presença de *S. calcitrans* no interior dos aviários se devia ao fato de que estas moscas fazem oviposição nos depósitos de fezes de galinhas, que parecem ser seu substrato preferido. Daí, saem para campo aberto a procura de alimentação, principalmente em mamíferos (Tabela 9). Afirmativas estas que estão de acordo com os resultados publicados por ANDERSON e TEMPELIS (1967 e 1970), TEMPELIS et al. (1963, 67 e 70). ANDERSON e POORBAUGH (1964), realizaram capturas com aparelhos de sucção e fitas adesivas em granjas de aves domésticas. ANDERSON e TEMPELIS (1970) conseguiram cerca de 900 exemplares em seis meses de trabalho e enfrentaram as mesmas dificuldades que tivemos aqui, apesar de utilizarem técnicas

mais sofisticadas como as de DIETRICK (1959), DAVIES et al. (1962), PICKENS (1975), MILLER & PICKENS (1975), com atraentes para capturar *S. calcitrans* (L.). Dos 2714 exemplares capturados 60,5% eram ♀ e 39,5% ♂ (Fig. 13), resultados coincidentes com os obtidos por ANDERSON e TEMPELIS (1970), na Califórnia, de 61% para ♀ e 39% para ♂.

É interessante reportar o grau de incidência de *Musca domestica* no interior dos aviários estudados, em número três vezes superior que o de *S. calcitrans*. Este resultado não causou surpresa, uma vez que *M. domestica* além de usar fezes frescas e úmidas como substrato para oviposição, ela e suas larvas utilizam grande variedade de matéria orgânica como alimento. Ao contrário, *S. calcitrans* ovipõe no interior dos aviários, em fezes velhas e secas e voa até 5 quilômetros para se alimentar em mamíferos, em campo aberto.

O aviário I foi o que apresentou maior incidência de *S. calcitrans*, com um total de 1513 exemplares, mais que o dobro dos outros dois aviários estudados. Este acontecimento provavelmente está relacionado com a temperatura local, uma vez que o horário estabelecido estava dentro da faixa mais quente do dia (das 11:30 às 13:30) com temperaturas atingindo até 44°C no verão (fig. 10). É importante citar que este inseto procura abrigar-se do sol intenso. Nos aviários II e III os resultados obtidos foram semelhantes entre si. O menor número de insetos capturados nestes dois aviários ocorreu provavelmente em virtude dos horários pré-estabelecidos,

quando as temperaturas eram mais baixas (figs. 11 e 12). Portanto o aviário I foi significativamente diferente dos aviários II e III e estes foram significativamente iguais, apesar do número maior de capturas no aviário II em relação ao III. As figuras 10, 11 e 12 mostraram que o aumento do número de moscas dos estábulos nos aviários foi diretamente proporcional ao aumento da temperatura. Esta foi a razão de maior incidência de *S. calcitrans* no verão, na região de Araucária, onde as quatro estações do ano são bem definidas. Com a finalidade de verificar se o esterco de galinhas era mesmo um bom substrato para oviposição (ROUBAND, 1911), foram feitas coletas de larvas nos três aviários estudados. Os resultados obtidos confirmaram as observações de ROUBAND (1911) assim como as afirmações de GUIMARÃES (1984). As figs. 14, 15 e 16 retratavam o que foram as coletas de larvas realizadas durante os 12 meses de pesquisa, mostrando que o número aumentou proporcionalmente com o aumento da temperatura ambiente, isto é, nos meses quentes do ano. Das larvas levadas para criação no laboratório, 39,8% chegaram ao imago. Os insetos assim obtidos eram mantidos em frascos de plástico (com tela de nylon) e alimentados em galinhas. Para tal as galinhas eram imobilizadas e os frascos com *S. calcitrans* eram fixados nas aves, em locais onde as penas haviam sido retiradas. Experiências semelhantes foram realizadas por MITZMAIN (1913) e ANDERSON & POORBAUGH (1964).

As preparações de AC em galinhas foi realmente satis

fatória, tendo em vista o tratamento prévio ao qual estas foram submetidas, conseguindo-se um rendimento em soro de 2:5 a mais do que as não preparadas. Os soros assim obtidos apresentaram boa qualidade e títulos máximos já nas terceiras inoculações. Resultados semelhantes foram obtidos, quando soros de aves foram inoculados em coelhos (os quais estão filogeneticamente mais distintas das aves), contrariando as afirmações de PROOM (1943), que considera as injeções endovenosas e intraperitoniais mal toleradas por estes animais, resultando soros precipitantes de baixos títulos.

A adição de azida sódica aos soros como agente bacteriostático, não alterou as suas propriedades após 15 meses a -20°C , apesar de WEITZ (1960) ser contra a adição deste agente bacteriostático. Segundo ele, ocorre turvação quando se adiciona a droga, dificultando conseqüentemente as reações. Também AMARAL & AGUIAR (1950) trabalhando com mosquitos, verificaram que exemplares ao serem sacrificados 12 horas após o repasto sangüíneo, puderam ser conservados secos e íntegros -20°C pelo menos um ano, permitindo a realização de testes de precipitina com bons resultados.

O fato de serem utilizados galinhas e coelhos de procedência conhecida não foi condição suficiente para que as pesquisas de obtenção de AC fossem iniciadas; todos foram antes testados frente à reações cruzadas. O "Ring test" (1981) apesar de ser uma técnica qualitativa, foi satisfatória para verificar a ausência de AC naqueles animais.

Os métodos de laboratório que servem para a determinação de grupos específicos de proteínas, baseados na imunoprecipitação, são de grande aplicação e têm sido utilizados na identificação de tipos de sangue extraído de insetos hematófagos, com a finalidade de serem identificados as fontes de alimentação dos mesmos (BULL & KING (1923), SIQUEIRA, 1960, ZINSSER, 1960, TEMPELIS & LOFY 1963, ANDERSON & TEMPELIS, 1970, TEMPELIS et al. 1970, HAYES et al. 1973).

Os métodos clássicos de HULENHUTH (1903), já sofreram diversas modificações, assim como os de BECHLOLD & ZIEGLER (1906), UHLENHUNTH et al. (1908), FRIEDMAN & KRAEMER (1930), GRABAR & WILLIAMS (1953), OUCHTERLONY (1958), assim como os de MULLER et al. (1958, 1959) que é uma variação do teste de COOMBS (1963), de MAREK et al. (1964), HUDSON & HAY (1976) e BIER et al. (1977), levou-nos a pesquisas métodos mais práticos para uma rápida e específica determinação de Ag.

As divergências em torno das afirmações de ANDERSON & TEMPELIS (1970) de que BISHOPP (1913) afirmado ter visto *S. calcitrans* se alimentando em galinhas, em campo aberto, e o fato de SÉGUY (1935) e GOLDING (1946) terem observado estes insetos pousados em cristas daquelas aves, incentivou-nos a aplicar o teste de precipitina na identificação dos sangues extraídos dos exemplares capturados nos aviários estudados. Os resultados obtidos dão-nos subsídios para afirmar que *S. calcitrans* se alimenta pouco em aves, não se alimen

tando em galinhas em condições naturais. Sua preferência por mamíferos pode ser positivada analisando-se a tabela 9. ANDERSON & TEMPELIS (1970), obtiveram resultados semelhantes, sempre com maior incidência de sangue de mamíferos. Foi verificado que, das 2714 moscas ensaiadas, nenhuma havia se alimentado em galinhas. É evidente que estas pesquisas foram realizadas com a finalidade de verificar os hábitos alimentares da *S. calcitrans*, portanto, sempre dirigidas no sentido da identificação das fontes do sangue sugado por estes insetos. Os testes de precipitina revelaram que 60% destes haviam se alimentado em vacas, 50% em cavalos, 45% em cães, 35% em porcos, 15% em gatos e apenas 7% no homem. Pequena percentagem apresentou teste positivo para aves e surpreendentemente 3 deram reação positiva para rãs e 2 para sapos, resultados que podem ser questionados, embora tenham sido repetitivos.

Analizando os resultados obtidos pode ser deduzido que *S. calcitrans* apresenta comportamento alimentar eclético, sempre dando preferência a mamíferos, mesmo quando localizados a distâncias de até 5.000 metros e que os aviários servem, em primeiro lugar, como local de criação dos insetos. Resultados interessantes são os mostrados no Quadro 2, que agrupa *S. calcitrans* de acordo com a origem do sangue sugado.

Numerosos surtos de *S. calcitrans* tem aparecido em várias áreas dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná. É sabido que a cada ano que passa a ocorrência de mosca dos estábulos aumenta e os prejuízos à pecuária tem sido

maiores. Em quase todos os surtos, as fezes secas de galinha foram o substrato mais importante. GUIMARÃES (1984) aconselha três medidas que podem auxiliar no controle de *S. calcitrans*. Primeira, proteção do esterco, cobrindo-o com plástico escuro para impedir a proliferação das larvas, que são mortas pelo calor e amônia produzidos; segunda, aplicação residual de inseticidas nos estábulos, aviários, etc.; e terceira, aplicação de inseticidas próprios, nos animais.

5. CONCLUSÕES

- 1 - O teste de precipitina mostrou-se eficaz na determinação de origem de sangue utilizado como alimento de *Stomoxys calcitrans* (L.),
- 2 - A ordem de preferência alimentar, da *Stomoxys calcitrans* (L.), por tipo de sangue de mamíferos, foi a mesma nos / três aviários pesquisados: vacas, cavalos, cães, porcos, gatos, homens, cabras, ovelhas, cobaias, ratos branco.
- 3 - *Stomoxys calcitrans* (L.), capturadas em aviários de Araucária-Pr, não se alimentam de sangue de galinhas.
- 4 - O esterco de galinhas constitui substrato para o desenvolvimento de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.).
- 5 - Há uma influência sazonal na densidade populacional de / *Stomoxys calcitrans* (L.) durante ano, possivelmente relativa à temperatura.

- 6 - Entre os insetos capturados no interior dos aviários sempre foi observado maior incidência de fêmeas.
- 7 - Em áreas rurais os aviários se constituem em focos de / criação de *Stomoxys Calcitrans* (L.).
- 8 - *Stomoxys calcitrans* (L.), criadas em laboratório, quando induzidas, se alimentam de sangue de galinha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, J.P. & AGUIAR, A.A. Reações de precipitina em alguns culicídeos. Mem. Inst. Butantan, 22: 205-12, 1950.
- ANDERSON, J.R. & POORBAUGH, J.H. Observations on the Ethology and Ecology of various Diptera Associated with Northern California Poultry Ranches. J. Med. Ent., 1 (2):131-47, 1964.
- ANDERSON, J.R. & TEMPELIS, C.H. Precipitin Test Identification of Blood Meals of *Stomoxys calcitrans* (L.) caught on California Poultry Ranches, and observations of digestion rates of Bovine and citrate human blood. J. Med. Entomol., 7 (2): 223-9, 1970.
- ARNOLD, E.H.; SIMMOUS, S.W. & FAWCETT, D.G. Precipitin technique for determining mosquito blood meals. Publ. Health Rep. 61: 1244-9, 1946.
- BAILEY, D.L.; WHITFIELD, T.L. & LaBRECQUE, G.C. Laboratory Biology and Techniques For Mass Producing The Stable Fly, *Stomoxys calcitrans* (L.) J. Med. Entomol. 12 (2): 189-93 , 1975.
- BECHLHLD, H. & ZIEGLER, J. Die Beeinflu Bblakeit der Diffu-sion in Gallerten. Z. Phys. Chem. 56: 105-21, 1906.
- BIER, O.G.; MOTA, I.; DA SILVA, W.D. & VAZ, N.M. Imunologia

- Básica e Aplicada. 2.ed. G. Koogan, 1977, p. 383.
- BISHOPP, F.C. The Stable Fly (*Stomoxys calcitrans* L.), an important livestock pest. J. Econ. Entomol. 6: 112-26, 1913.
- BISHOPP, F.C. The Stable Fly. Farmers Bull. (540):11-25, 1913.
- BISHOPP, F.C. The Stable Fly, how to prevent its annoyance and its losses to livestock. Farmer's Bull., 197: 1 - 18, 1939.
- BLAKESLEY, R.W. & BOEZI, J.A. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using coomassie brilliant blue G 250. Anal. Biochem. 82: 580-2, 1977.
- BORDET, J. Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le serum d'animaux injectés de sang défibriné. Ann. Inst. Pasteur, 12: 688-95, 1898.
- BOS, A. Beitrag zur kenntnis der geflügelpodremibertragung durch Nücken und anche Arthropoden. Z. Infekt. Kr. Haust. 46: 195-259, 1934.
- BRAIN, B.A. *Stomoxys calcitrans* Linn. Ann. Entomol. Amer. Soc., 5: 421-29, 1912
- BRUES, C.T. The Grographical Distribution of the Stable Fly, *Stomoxys calcitrans*. J. Econ. Entomol. 6: 459-477, 1913.
- BULL, G. CARROL & KING, W.V. The identification of the Blood-Meal os Mosquitoes by means of the Precipitin Test. Amer. J. Hyg., 3: 491-96, 1923.
- CHENG, T.H. The effect of biting fly control on weight gain

- in beef cattle. J. Econ. Entomol. 51: 275-8, 1958.
- COOMBS, R.R.A. & GOLL, P.G.H. Diagnostic methods in serology and immunopathology. In Clinical Aspects of Immunology. Ed. Gell. P. G.H. & Coombs, R.R.A. Oxford, Brackwell, 1963, p. 3-47.
- CORRÊA, R.R. & AGUIAR, A.A. O teste de precipitina na identificação da fonte alimentar do *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). Arq. Hig. Saúde Publ.: 17 (51): 3 - 8, 1952.
- CRUZ, F.F. A reação das precipitinas aplicada aos dípteros do gênero *Phelobetomus*. An. Inst. Med. Trop. 2: 187-96, 1945.
- CUTKOMP, L.K. & HARVEY, A.L. The weight response of beef cattle in relation to control of horn and stable fly. J. Econ. Entomol. 51: 72-75, 1958.
- DAVIES, L., DOWNE, A.E.R., WEITZ, B. & WILLIAMS, C.B. Studies on black flies (Diptera, Simuliidae) taken in a light trap in Scotland. II. Blood meal identification by precipitin test. Tr. Roy Ent. Soc. 114: 21-7, 1962.
- DIETRICK, E.J., SCHLINGER, E.J. & BOSCH, R. A new method for sampling arthropods using a suction collecting machine and modified Berlese funnel separator. J. Econ. Entomol. 52 (6): 1085-91, 1959.
- DOWNE, A.E.R. Precipitin test studies on rate of digestion of blood-meals in black flies (diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 35: 459-462, 1957.
- DOWNE, A.E.R., GORING, N.L. & WEST, A.S. The influence of size and source of blood meals on rate of digestion of ver

- tebrate serum proteins in mosquitoes (Diptera, culicidae .
J. Kans Entomol. Soc. 36: 200-06, 1963.
- ELICH, G.S. Factores influencing the performance of the pre-
cipitin test in the determination of blood-meals of insects.
Can. J. Zool., 30(4): 213-18, 1952.
- EWING, J. & STRAUS, I. Pricipitins and their medico- legal
use. Medical News, 983: 871-80, 1903.
- FRIEDMAN, L. & KRAEMER, E.D. The structure of gelatin gels
from studies of diffusion. J. Amer. Chem. Soc. 52: 1295 -
304, 1930.
- FROUIN, A. The formation of exclusively agglutinating and
exclusively hemolytic sera. Compt. Red. Soc. Biol., 62: 153-
54, 1907.
- GOLDING, F.D. A New Method of Trapping Flies. Bull. Entomol.
Res. 37: 143-54, 1946.
- GRABAR, P. & WILLIAMS, C.A. Méthode permettant l'étude con-
juguee des propriétés électrophorétiques et immunochimiques
d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin.
Biochim. Biophys. Acta 10: 193-4, 1953.
- GRABAR, P. & BURTIER, P. L'analyse immuno-électrophorétique;
premiers résultats obtenus avec des sérums pathologiques.
Presse Méd., 38: 804-5, 1955.
- GRANET, P. & HANSENS, E.J. The effect of biting fly control
on milk production. J. Econ. Entomol. 49: 465-7, 1956.

GREENBERG, B. Flies and Diseases. New Jersey, Princeton University. v.2, p. 29-42, 1970.

GUIMARÃES, J.H. Mosca dos estâbulos: uma importante praga do gado. Agro-química Ciba-Geigy, 23: 10-14, 1984.

HAFEZ, M. & GAMAL-EDDIN, F.M. On the feeding habits of *Stomoxys calcitrans* (L.) and *Sitiens* Rand. With special reference to their biting cycle in nature. Bull. Soc. Entomol. Egypte 4: 241-311, 1959.

HAYES, R.O.; TEMPELIS, C.H.; HESS, A.D. & REEVES, W.C. Mosquito host preference studies in Hale Country Texas. Am. J. Trop. Med. Hyg., 22 (2): 270-277, 1973.

HEKTOEN, L. On the Production of Precipitins. J.Infect.Dis. 14 (3): 403-10, 1914.

HEKTOEN, L. The production of precipitins by the fowl. J. Infec. Dis., 22: 561-6, 1918.

HIRSCHFELD, J. Immuno-electrophoresis Procedure and Application to the study of group-specific variations in sera. Sci. Tools, 7: 18, 1960.

HOLSTEIN, M. Les sérums précipitantes Fabrications et limitation dans le temps de leur emploi pour la détermination du sang ingéré par les insectes hématophages. Acta. Trop. 4: 306-26, 1948.

HUDSON, L. & HAY, F.C. Practical Immunology. Oxford, Blackwell, 1976. p. 116-25.

KABAT, E.A. & MAYER, M.M. Kjeldahl nitrogen determination.

- In: THO C.C. (E.D.). Experimental immunochemistry. Springfield, Banners Tome house, 1964, p. 476.
- KNIERIN, F.; CASTRO, M.; VILLARROEL, F. & SCHENONE, H. Estudio preliminar sobre la fuente de alimentación de *Triatoma infestans* Y *Triatoma spinolai* mediante la reacción de doble difusión en gel. Bol. Chil. Parasitol. 31: 34-6, 1976.
- KRAUS, R. "Über spezifische Reaktionen in Keimfreien Filtern aus Cholera-thysphrus - und Pestbouillonkulturen, erzeugt durch homologes serum. Wien, Klin. Wschr. 10, 736, 1897.
- LaBRECQUE, G.C. & WEIDHAAS, D.E. A method for determining the survival of adult and immature stages in populations of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). Fla. Entomol. 58 (1): 9-14, 1975.
- LOWRY, O.H., RESENBROUCH, N.V., FARR, R.V. & RANPALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193; 265-75, 1951.
- MAREK, Z.; JAEGERMANN, K. & TOROWSKA, B. Oznaczenie Gatunkowej Przynależności Bialek Przy Pomocy Precypitacji W Polu Elektrycznym W Żelú Agarowyn. Folia. Méd. Cracoviensia. 1: 6-91, 1964.
- MARINI, O.J. Geologia da Folha de Araucária. Contribuição da Comissão da Carta Geológica do Paraná. Bol. Univ. Paraná, Geol., (24): 1-22, 1967.
- McFARLANE, A.S. Behavior of Lipoids in Human Serum. Nature, 149 (3781): 439, 1942.

- MILLER, R.W. & PICKENS, L.G. Feed Additives For Control of Flies on Dairy Farms. J. Med. Entomol. 12 (1): 141-2, 1975.
- MITZMAIN, M.B. The bionomics of *Stomoxys calcitrans* (L.), a preliminary account Philip J. Sci. 8 (B): 29-48, 1913.
- MULLER, M., FONTAINE, G., MULLER, P.H. & DONAZUM, M.A. Application médico-legale de la reaction antigens-antibody milieu Gélifie Médicale III/3, 1958, V.4: p. 218.
- MULLER, M.; FONTAINE, G. & MULLER, P.H. L'identification des taches biologiques par les methode imunochimiques. A. Méd. Lég. 39: 337, 1959.
- NEWBOULD, B.B. Production of Allergic Encephalomyelitis in Rats by Injections of Spinal Cord Adjuvant into the Inguinal Synth Nodes. Immunology, 9: 613-4, 1965.
- NEWSTEAD, R. On the life-history of *Stomoxys calcitrans* (L.). J. Econ. Biol., 157-166, 1906.
- NUTTALL, G.H.F. Blood immunity and blood relationship. London. Cambridge University, 1904, p. 1056.
- OUCHTERLONY, O. Diffusion in gel methods for immulogical analysis, Prog. Allergy, 5: 1-78, 1958.

- OUCHTERLONY, O. & NILSSON, I.A. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. In: Weis, D. (ed.). Handbook of experimental immunology. Oxford, Blackwell, 1978, p. 1911-1944.
- OUJIN, J. Méthode d'analyse immuno-chimique par précipitation spécifique en Milien Gélifié. C.R. Acad. Sci., 222: 115-6, 1946.
- PARR, H.C.M. Studies on *Stomoxys calcitrans* (L.) in Uganda, East Africa. II. Notes on the life-history and behavior. Bull. Entomol. Res., 53: 437-443, 1962.
- PELCZAR, M.; REID, R. e CHAM, E.C.S. Microbiologia V.2. McGraw-Hill do Brasil, 1981, p. 1072.
- PESSOA, S.B. & MARTINS, A.V. Parasitologia Médica. 11ª ed. Guanabara Koogan, S.A. Rio de Janeiro, 1982, p. 872.
- PICKENS, L.G.; MILLER, R.W.; CAMPBELL, L.E. Bait-Light Combinations Evaluated as Attractants For House Flies And Stable Flies. J. Med. Entomol. 11 (6): 749-51, 1975.
- PINTO, C. Arthropodes Parasitas e Transmissores de doenças. Rio de Janeiro, Pimenta de Mello, 2V, 1930.
- PROOM, H. The preparation of precipitating sera for the identification of animal species. J. Pathol. Bacteriol. 55: 419-26, 1943.
- REEVES, W.C. & HANNON, W. McD. Feeding habits of the provem and possible mosquito vectors of Western equine and St. Louis encephalitis in the Yakima Valley, Washington. Am. J. Trop. Med., 24: 131-4, 1944.
- REEVES, W.C. & HANNON, W. McD. The role of arthropod vectors. In epidemiology of the arthropod - borne viral encephalitis in Kern Country, California, 1943-1952. Univer. Ca-

- California Publ. Public Health 4: 75-108, 1962.
- REEVES, W.C., TEMPELIS, C.H., BELLANY, R.E. & LOFY, M.F.
Observations on the feeding habits of *Culex tarsalis* in Kern Country, California, using precipitating antisera produced in birds. Am. J. Trop. Med. Hyg. 12 (6): 929-35, 1963.
- RICHARDS, O.W., DAVIES, R.G. & IMMS, A.D. A general textbook of Entomology, 10. ed. London, Metuen, 1977. v.2. p. 651.
- RICHARDSON, C.H. In: BRUES, C.T. The geographical distribution of the stable fly, *Stomoxys calcitrans*. J. Econ. Entomol. 6: 459-77, 1913.
- RICE, J.B. & BARBER, M.A. Malaria studies in Greece. A modification of the Uhlenhuth-Weidanz Precipitin Test for Determining the Source of Blood-Meals in Mosquitoes and other Insects. J. Lab. Clin. Med., 27: 876-83, 1934.
- RIDDELL, W.A.; REMPEL, J.G. & McNELLY, E. The specificity of the precipitin reaction, as used in the study of mosquito feeding habits. Can.J. Res. 25: 210-15, 1947.
- ROMAÑA, C. Utilisation de la méthode des précipitines pour l'identification du sang ingéré par certains redvidés. Bull. Soc. Pathol. Excor., 32: 625-28, 1939.
- ROUBAUD, In GREENBERG, B. 1970. Flies and Diseases. New Jersey, Princeton University, 1911, v.2, p.29-42.
- SÉGUY, E. Etudes sur les stomoxydines et particulièrement des mouches charbonneuses du genre stomoxys. In: Encyclopedia Entomologique. Paris, Serv B, V. 2 Part 8, 1935. p. 24-33.
- SIQUEIRA, A.F. Estudos sobre a reação da precipitina aplica

- da identificação de sangue ingerido por Triatomíneos. R. Inst. Med. Trop. São Paulo. 2 (1): 41-53, 1960.
- SCHUBERT, J.H. & KELLEY, M.H. The precipitin technique for determining species of host blood in mosquitoes. Modifications improvements. J. Nat. Mal. Soc. 9: 341-8, 1950.
- SCHUBERT, J.H. & HOLDEMAN, L.V. A modified Precipitin Technique for Determining the Source of Mosquito Blood-Meals. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 5: 272-73, 1956.
- SUTHERLAND, W.D. & MITRA, G.C. Misleading reactions obtained with precipitating antisera and how to avoid them. Indian J. Med. Res. 1: 704-10, 1913.
- STEELMANN, D., 1976. Effects of external and internal arthropods parasites on domestic livestock production. Annu. Rev. Entomol. 21: 155-78, 1966.
- TEMPELIS, C.H. Use of the pheasant (*Phasianus torquatus*) to produce a specific anti-chicken serum. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 110: 393-94, 1962.
- TEMPELIS, C.H. & REEVES, W.C. The production of a specific antiserum to bird serum. Am. J. Trop. Med. Hyg., 11: 000-000, 1961.
- TEMPELIS, C.H. & REEVES, W.C. The production of immunological unresponsiveness in the chicken to produce a species specific antiserum to bird serum. Am. J. Trop. Med. Hyg. 11: 298-302, 1962.
- TEMPELIS, C.H. & REEVES, W.C. The production of a specific antiserum to bird serum. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 11 (2) 294-7, 1962.

- TEMPELIS, C.H. & LOFY, M.F. A modified Precipitin Method For Identification of Mosquito Blood-Meals. Am. J. Trop. Med. Hyg., 12: 825-31, 1963.
- TEMPELIS, C.H.; FRANCOY, D.B.; HAYES, R.O. & LOFY F. MARY. Variations in Feeding Patterns of Seven Culicine Mosquitoes on Vertebrate Hosts in Weld and Larimer Counties, Colorado. Am. J. Trop. Med. Hyg. 16 (1): 111-19, 1967.
- TEMPELIS, C.H.; HAYES, R.O., HESS, A.D. & REEVES, W.C. Blood-feeding habits of four species of mosquito found in Hawaii. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 19 (2): 335-41, 1970.
- TCHISTOVICH, R.,. Étude sur l'immunité par le sérum d'anguilles. Ann. Inst. Pasteur, 13: 406S, 1899.
- UHLENHUTH, P., Demonstration der Lactoserumreaktion. Dtsch. Med. Wschr., 29, 39, 1903.
- UHLENHUTH, P., WEIDANZ, O. & ANGELOFF, 1908. Arb. Kaiser. Gesundh., 28: 594-99. Abstracted in Chem. Zentr. 79(2):910.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Livestock and poultry, In: Losses in Agriculture. Agric. Hand., 291: 72-84, 1965.
- WEITZ, B. & BUXTON, P.A. The Rate of Digestion of Blood-Meals of Various Haematophagous Arthropods as Determined by the Precipitin Test. Bull. Entomol. Res., 44: 445-50, 1953.
- WEITZ, B. Identification of blood-meals of blood-sucking arthropods. Bull. World Health Orga., 15: 473-90, 1956.
- WEITZ, B. Feeding habits of blood-sucking arthropods. Exp.

Parasitol., 9: 63-82, 2960.

WEST, A.S. & ELIGH, G.S. The rate of Digestion of blood in mosquitoes precipitin test studies. Can. J. Zool., 30 (5): 267-72, 1952.

WOLFE, H.R. The effect of Injection Methods on the Species Specificity of Serum Precipitins. J. Immunol., 29 (1): 1 - 12, 1935.

WOLFE, H.R. Precipitin-Production In Chickens. I. Interfacial Titers as Affected by Quantity of Antigen Injected and Aging of Antisera, J. Immunol., 44: 135-45, 1942.

WOLFE, H.R. & DILKS, E. Precipitin Production in chickens . II Studies on the in vitro rise of the interfacial titers and the formation of precipitins. J. Immunol., 52: 331-41, 1946.

WOLFE, H.R., TEMPELIS, C., MUELLER, A. & REIBEL, S. Precipitin in chickes. J. Immunol., 79: 147-53, 1957.

ZINSSER, F. Microbiology. 12.ed. New York, Appleton, 1960. p. 1026.

ZOLTOWSKI, Z.; STEJGWILLO-LAUDAŃSKA, B. & KAŻMIERCZWK, J. Studies on host ranges and food preferences of forest mosquitos of the genus Aedes Meigen, 1818 (Diptera, Culicidae). Acta Parasitol. Pol., 26 (31): 257-65, 1978.

ZOLTOWSKI, Z.; STEJGWILLO-LAUDAŃSKA, B. & KOSISKI, J. Application of the electroimmunoprecipitation reaction in agar gel and the spectriscopic method for detecting and determining blood microtraces in alimentary tracts of haemato-

phagous arthropods. Acta. Parasitol. Pol. 25: 276-3, 1978.

ZUMPT, F. Myiasis in man and animals in the old world. London, Butterworths, 1965.

WOLFE, H.R. Standardization of the precipitin technique and its applications to studies of relationship in mammals, birds and reptiles. Biol. Bull Woods Hole , 76: 108-20, 1939.

APÊNDICE 1 - Número de *Stomoxys calcitrans* (L), capturadas, três vezes por semana, no aviário I, no município de Araucária-Pr., 1980-1.

Captura	Aviário I (Semanas)														
	1ª			2ª			3ª			4ª			5ª		
Meses	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S
Março	57	63	20	28	31	26	25	12	32	11	15	13	11	-	-
Abril	-	29	27	19	13	11	23	11	12	9	8	9	7	8	-
Maio	-	-	47	13	11	11	15	16	13	6	3	5	5	7	4
Junho	9	10	12	10	8	7	7	10	11	7	4	5	4	-	-
Julho	-	7	9	8	5	7	4	6	7	5	3	2	2	2	-
Agosto	2	2	1	1	1	2	2	1	0	1	3	1	-	-	-
Setembro	4	5	4	4	6	5	7	5	4	4	3	3	3	-	-
Outubro	-	2	1	2	1	1	2	3	2	1	2	1	1	0	0
Novembro	7	5	7	5	4	6	7	5	4	8	9	6	-	-	-
Dezembro	8	11	10	6	10	11	10	11	12	8	7	5	6	5	-
Janeiro	-	-	37	10	13	21	12	11	12	8	7	9	9	8	11
Fevereiro	12	17	21	10	22	11	18	15	22	18	16	20	-	-	-

S-Segunda-Feira

Q-Quarta-Feira

S-Sexta-Feira

APÊNDICE 2 - Temperatura em °C, verificadas três vezes por semana, no avário I, Araucária - Pr., 1980-1.

Meses	Temperatura °C														
	AVIÁRIO I														
	1ª			2ª			3ª			4ª			5ª		
	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S
Março	38,5	37,5	38,0	31,5	32,0	32,5	30,0	30,5	29,5	28,0	27,0	26,0	27,0	-	-
Abril	-	28,5	29,5	25,0	26,0	27,0	26,0	26,5	27,0	25,5	26,0	25,0	26,5	24,5	-
Maio	-	-	26,8	24,0	25,0	24,5	27,0	26,5	26,0	21,6	22,0	21,8	21,8	22,0	21,6
Junho	22,6	22,8	23,0	22,4	19,8	22,2	21,5	21,0	20,5	16,4	16,2	15,8	16,2	-	-
Julho	-	14,0	13,0	16,3	17,8	18,3	15,8	14,4	16,2	13,0	14,0	9,0	12,0	12,0	-
Agosto	3,5	4,5	4,0	3,8	2,6	5,0	2,0	1,8	2,2	6,0	6,8	6,4	-	-	-
Setembro	14,5	15,5	15,0	17,4	17,0	17,2	19,0	19,8	19,4	15,8	16,2	15,4	15,8	-	-
Outubro	-	7,6	7,2	6,0	6,1	6,1	8,0	8,4	8,2	15,5	16,5	16,0	16,5	17,0	14,5
Novembro	12,5	13,0	13,5	13,0	12,0	17,0	19,5	20,0	20,5	24,0	24,5	23,5	-	-	-
Dezembro	21,0	22,0	23,0	25,0	28,0	28,0	25,0	25,6	25,3	36,0	38,0	37,0	36,5	37,5	-
Janeiro	-	-	30,0	36,0	37,6	-	30,0	29,6	29,8	41,0	42,0	43,0	42,5	42,0	41,5
Fevereiro	37,0	39,0	41,0	37,0	36,0	35,0	43,5	42,5	44,0	42,0	42,0	42,5	-	-	-

APÊNDICE 3 - Número de *Stomoxys calcitrans* (L), capturadas, três vezes por semana, no aviário II, no município de Araucária-Pr., 1980-1.

Meses	Captura														
	Aviário II														
	1ª			2ª			3ª			4ª			5ª		
	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S
Março	14	9	5	9	8	7	10	8	8	7	6	5	4	-	-
Abril	-	15	11	7	9	7	6	8	5	5	4	5	3	2	-
Maio	-	-	22	5	6	7	5	5	6	3	4	2	1	2	2
Junho	5	7	6	5	8	7	4	6	3	4	3	3	3	-	-
Julho	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
Agosto	2	1	0	2	1	2	1	1	0	1	0	0	-	-	-
Setembro	5	3	6	3	4	3	4	2	2	3	2	3	1	-	-
Outubro	-	2	4	2	2	2	1	1	2	2	1	0	0	0	0
Novembro	5	7	4	3	4	4	3	4	5	5	7	7	-	-	-
Dezembro	5	6	6	7	8	3	9	8	4	4	5	4	3	7	-
Janeiro	-	-	19	6	7	8	6	5	7	5	6	5	3	5	-
Fevereiro	7	8	7	7	10	8	10	11	8	9	11	10	-	-	-

APÊNDICE 4 - Temperatura em °C, verificadas três vezes por semana, no aviário II, Araucária - Pr.,
1980-1.

Meses	1ª			2ª			3ª			4ª			5ª		
	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S
Março	28,5	29,0	29,5	27,6	27,8	28,0	27,5	28,5	28,0	21,5	22,0	22,5	22,0	-	-
Abril	-	27,6	28,0	25,0	25,0	25,0	23,0	24,0	25,0	17,0	19,0	21,0	20,0	18,0	-
Maio	-	-	23,0	20,0	19,6	19,8	15,0	17,0	16,0	15,8	15,6	17,0	17,0	15,6	15,6
Junho	17,0	16,0	15,0	17,0	19,0	15,0	8,0	12,0	10,0	7,0	9,0	11,0	9,0	-	-
Julho	-	5,0	3,0	4,5	5,5	5,0	4,0	4,5	3,5	5,5	6,5	4,5	5,5	5,5	-
Agosto	7,0	8,0	6,0	9,0	10,0	8,0	6,0	8,0	7,0	4,0	6,0	5,0	-	-	-
Setembro	16,0	17,0	15,0	12,5	13,5	14,5	11,0	9,0	10,0	12,0	11,0	10,0	11,0	-	-
Outubro	-	7,5	8,5	7,0	9,0	5,0	5,0	6,0	4,0	3,0	5,0	4,0	3,5	4,5	4,0
Novembro	18,0	19,0	17,0	17,0	15,0	16,0	15,8	15,2	15,2	21,0	20,0	19,0	-	-	-
Dezembro	18,0	18,2	18,4	20,0	19,6	19,2	19,2	19,4	19,6	18,0	20,0	22,0	19,0	21,0	-
Janeiro	-	-	18,0	17,0	19,0	21,0	15,0	16,0	17,0	22,0	21,0	20,0	21,0	21,0	-
Fevereiro	19,0	20,0	18,0	22,0	23,0	24,0	25,0	27,0	26,0	27,0	28,0	29,0	-	-	-

APÊNDICE 5 - Número de *Stomoxys calcitrans* (L), capturadas, três vezes por semana, no aviário III, no município de Araucária-Pr., 1980-1.

Meses	Aviário III														
	1ª			2ª			3ª			4ª			5ª		
	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S
Março	13	8	6	7	9	9	8	10	8	4	6	5	5	-	-
Abril	-	8	7	3	5	8	4	5	4	2	3	1	2	2	-
Maio	-	-	10	2	1	8	4	5	6	2	3	3	1	1	5
Junho	3	2	1	4	2	1	3	3	2	1	2	3	1	-	-
Julho	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
Agosto	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
Setembro	0	1	1	2	1	1	2	2	1	1	2	2	0	-	-
Outubro	-	1	1	1	2	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0
Novembro	2	3	2	3	4	2	3	4	4	3	2	6	-	-	-
Dezembro	3	4	2	4	5	4	4	3	4	3	2	2	2	4	-
Janeiro	-	-	17	4	3	6	5	6	4	5	6	4	1	3	-
Fevereiro	6	5	6	5	4	7	7	7	9	9	9	8	-	-	-

APÊNDICE 6 - Temperatura em °C, verificadas três vezes por semana, no aviário III, Araucária - Pr., 1980-1.

Meses	Temperatura °C														
	AVIÁRIO III														
	1ª			2ª			3ª			4ª			5ª		
	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	S	S	Q	
Março	23,0	21,0	25,0	21,6	21,8	22,0	25,0	24,0	24,5	19,0	17,0	18,0	18,0		
Abril	-	15,8	1,5	17,0	16,0	15,0	11,0	10,0	12,0	7,0	9,0	8,0	10,0	6,0	
Maiο	-	-	7,8	6,0	5,4	5,8	13,0	12,0	11,0	12,5	13,0	12,0	12,5	11,0	14,0
Junho	8,0	7,0	9,0	9,0	10,0	8,0	8,5	8,0	7,5	9,5	8,5	9,0	9,0	-	-
Julho	-	7,5	6,5	3,5	4,5	4,0	4,8	4,2	3,6	4,0	5,0	3,0	3,5	4,5	-
Agosto	5,0	4,6	4,8	3,5	4,0	4,5	2,0	3,0	4,0	3,0	4,0	2,0	-	-	-
Setembro	5,0	4,0	3,0	7,0	6,0	5,0	8,0	10,0	6,0	9,0	8,5	8,0	8,5	-	-
Outubro	-	4,5	5,5	4,0	4,4	4,2	3,5	3,0	2,5	5,0	6,0	4,0	4,0	6,0	5,0
Novembro	9,0	10,0	8,0	13,0	12,0	14,0	15,0	14,0	16,0	16,0	17,0	17,4	-	-	-
Dezembro	12,0	11,0	13,0	14,0	15,0	16,0	13,0	15,0	14,0	17,0	16,0	16,4	16,3	17,0	-
Janeiro	19,0	10,0	18,0	18,0	16,0	17,0	18,0	19,0	17,0	22,0	23,0	21,0	22,0	22,0	
Fevereiro	29,0	28,0	28,5	16,0	17,0	15,0	24,0	23,0	22,0	25,0	26,0	27,0	-	-	-

APÊNDICE 7 - Número de larvas de *Stomoxys calcitrans* (L.), coletadas semanalmente nos aviários (I, II e III), Araucária-Pr., 1980-1.

Coleta	AVIÁRIO I					AVIÁRIO II					AVIÁRIO III				
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Março	75	50	45	30	-	35	25	20	10	-	21	19	17	13	-
Abril	43	40	24	19	12	17	15	13	8	9	9	8	11	12	10
Maio	-	37	41	26	23	-	11	9	10	17	-	9	12	7	14
Junho	13	12	14	16	-	8	9	11	10	-	7	8	9	6	-
Julho	10	7	8	4	3	5	4	3	1	0	3	2	1	2	2
Agosto	6	4	3	2	-	3	2	3	1	-	2	1	2	2	-
Setembro	6	5	5	4	-	3	4	5	8	-	4	3	5	3	-
Outubro	10	5	9	11	0	2	3	4	0	1	3	4	5	4	4
Novembro	12	9	15	12	-	4	5	6	5	-	5	10	8	12	-
Dezembro	30	40	20	12	18	8	7	10	13	15	9	10	6	7	8
Janeiro	-	35	40	30	25	-	25	18	15	22	-	10	13	15	15
Fevereiro	30	42	40	26	-	7	30	38	35	-	22	20	23	15	-

APÊNDICE 8 - Análise da variância do número de *Stomoxys calcitrans* (L.), capturadas, nos aviários I, II e III. Araucária - Pr., 1980-1.

Causas da Variação	GL	SQD	QMR	F
Aviários	2	48559,72	24270,86	16,66*
Meses	11	86708,53	7882,59	5,41*
Resíduos	22	32056,31	1457,105	
Total	35	167324,56		

CV 50,63

APÊNDICE 9 - Análise da variância do número de larvas *Stomoxys calcitrans* (L.), coletadas nos aviários I, II e III. Araucária-Pr., 1980-1.

Causas da Variação	GL	SQD	QMR	F
Aviários	2	18291,71	9145,86	17,41*
Meses	11	45927,63	4175,24	7,95*
Resíduos	22	11558,96	525,41	
Total	35	75778,31		