

Formulação e avaliação de meio artificial para crescimento de larvas de *Haematobia irritans* (diptera: muscidae)

Leandro Alves de Carvalho

Lucas da Silva Mendes

André Mazzi Nakao

Talitha Gonçalves Mendonça Oliveira

Graduandos em Agronomia do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM

Walter Vieira da Cunha

Professor adjunto do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM

Resumo

A mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) é um parasita hematófago que ataca principalmente bovinos, podendo atingir também equinos, caprinos, ovelhas e animais silvestres. A principal característica da mosca-dos-chifres está no fato de perturbarem os animais no pastoreio, levando-os ao estresse, comprometendo seu desenvolvimento, produção de leite e ganho de peso. O método mais utilizado para controle das moscas são os inseticidas químicos, que podem perder sua eficiência à medida que as populações tornam-se resistentes aos mesmos. O controle biológico à base de bactérias entomopatogênicas tem se mostrado muito promissor no controle de insetos desta ordem. Entre elas, o *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), vem sendo utilizado com grande sucesso há mais de quarenta anos. Desta forma, este trabalho teve como objetivo formular e avaliar meio artificial para desenvolvimento de larvas de *Haematobia irritans*, o que facilitará e agilizará a seleção de cepas de *Bt* contra este inseto. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética e Biotecnologia do UNIPAM, Patos de Minas-MG, onde foram testados meios artificiais a partir de misturas de cana moída, farinha de osso, farinha de trigo integral e bicarbonato de sódio. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, com cinco tratamentos e cinco repetições com quinze larvas cada, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Foi adotado como critério de avaliação a porcentagem de larvas que empuparam. Destes, quatro apresentaram condições de desenvolvimento das larvas, com formação de pupas variando de 13,33% a 85,33%.

Palavras-chave: Controle biológico. Mosca-dos-chifres. Bactérias entomopatogênicas.

Abstract

The horn fly (*Haematobia irritans*) is a parasite that feeds on blood and attacks mainly bovine, being able to reach also equine, goat, wild sheep and animals. The main feature of the horn-fly is in fact to disturb the animals in the pasturing by stressing them, injuring their development, their production of milk and the profit of weight. The most used method to control the flies is the chemical insecticides, which can lose their efficiency while the populations become resistant to them. The biological control on the base of entomopatogenic bacterium has proved to be very promising in the control of insects of this order. Among them, the *Bacillus thuringiensis* has been used with great success for more than forty years. This way the present work aims at formulating and evaluating an artificial mean for the development of larvae of *Haematobia irritans*, what will facilitate and speed the *Bt* election of cepas against this insect. The experiments have been lead in the Laboratory of Genetics and Biotechnology of UNIPAM, Patos de Minas-MG, where artificial ways have been tested from mixtures of worn out sugar cane, flour

of bone, flour of integral wheat and sodium bicarbonate. The used experimental delineation was in totally randomized blocks, with five treatments and five repetitions with fifteen larvae in each one, being the averages compared through the test of Tukey 5%. The percentage of larvae that empupated was adopted as evaluation criterion. Of these, four presented conditions of development of the larvae, with formation of pupas varying between 13,33% to 85.33%..

Key-words: Biological control. Horn-fly. Entomopatogenic bacterium.

1. Introdução

A mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) é um parasita hematófago obrigatório de gado, nas Américas. É endêmica na Europa, de onde foi introduzida nos EUA no século 19. Sua primeira ocorrência no Brasil foi registrada em Boa Vista, Roraima, atacando o gado bovino em propriedades rurais e abatedouros (VALÉRIO; GUIMARÃES, 1983). A praga tem hospedeiro específico e se reproduz apenas nas fezes do gado. Os adultos podem se alimentar, em menor proporção, em ovelhas, caprinos, cavalos e animais silvestres. A população varia dentro dos limites de sua ocorrência, e não é incomum a ocorrência de mais de 1000 – 1500 moscas por animal, nos EUA meridional (KUNS; SCHMIDT, 1985).

Estes insetos, que são vistos em grande número sobre o animal, apresentam uma característica interessante: eles permanecem, na sua grande maioria, com a cabeça voltada para baixo, em direção ao solo (VALÉRIO, 1985). As moscas adultas permanecem no hospedeiro a maior parte do tempo, deixando-o apenas para por ovos sobre as fezes frescas dos bovinos. Os ovos, de coloração marrom-avermelhada, são depositados no geral em grupos de quatro a seis, usualmente sobre as bordas das massas fecais. Uma fêmea é capaz de produzir de 370 até 400 ovos durante sua vida. Estes ovos medem de 1,3 a 1,5 mm (VALÉRIO, 1985). Os ovos e as larvas são muito suscetíveis à dessecação, necessitando de cerca de 80% de umidade (LAZZARINI NETO, 2001). As larvas penetram na massa fecal e aí se desenvolvem por um período entre quatro a oito dias, quando então migram para áreas mais secas onde ocorre a formação do pupário. No interior desse pupário, o desenvolvimento se processa durante seis a oito dias, após o quê, ocorre a emergência dos adultos. Estes voam até os animais, reiniciando o ciclo (VALÉRIO, 1985).

A principal importância da mosca-dos-chifres está no fato de perturbarem os animais no pastoreio, comprometendo seu desenvolvimento e ganho de peso. As perdas de produção, em valor, podem chegar a 40%, quando a infestação é de até quatrocentas moscas. A irritação e a perda de sangue, causadas pela infestação por mais de mil moscas, podem levar o animal à morte. Além disso, a mosca-dos-chifres provoca o enfraquecimento do couro, deixando-o mais vulnerável ao ataque de outros parasitas externos (LAZZARINI NETO, 2001). A *H. irritans* atualmente é considerada um dos ectoparasitos mais importantes dos bovinos das Américas, provocando estresse nos animais e causando perdas da ordem de 700 milhões de dólares por ano (DRUMMOND et al., 1998). No Brasil, os prejuízos causados por este parasita foram estimados em US\$ 150 milhões anuais. Ao longo dos anos, a prática

indiscriminada do controle químico tem demonstrado seus efeitos negativos, em particular a seleção de populações de moscas resistentes aos inseticidas, com consequente redução da eficácia dos produtos utilizados e o aumento dos custos de controle (BARROS, 2002).

Estas moscas transmitem doenças como anaplasmose (VALÉRIO, 1985) e podem ainda ser vetores de ovos de outras moscas como a *Dermatobia hominis*, popularmente conhecida como berne (LEITE et al., 1998).

Inseticidas Carbamatos, Organoclorados, Organofosforados e Piretroides têm sido empregados em várias partes do mundo para controle de moscas. No Brasil, os organoclorados foram muito utilizados na década de 70 para o combate à mosca, por tratar-se de um produto relativamente barato, com elevado poder residual, moderadamente tóxico e de baixa absorção cutânea. Porém, não é biodegradável, sendo acumulativo nas gorduras de animais de sangue quente, podendo interferir no metabolismo do sódio e potássio e, ainda, mostrando-se carcinogênico em camundongos (MARICONI, 1980).

Sabe-se que o controle químico desta mosca não durará para sempre. Em alguns anos, a exemplo de outros países, a resistência se estabelecerá, já existindo indícios de que esta mosca está menos sensível aos produtos químicos no Brasil e, neste caso, o número de moscas tenderá a aumentar (BARROS, 2002).

O desenvolvimento de modernos inseticidas tem sido considerado um grande avanço tecnológico. Os problemas das pragas foram dramaticamente aliviados em grandes áreas, com a imediata redução de mortes e sofrimento do homem, bem como das perdas econômicas pela agropecuária, mas em outras o problema foi intensificado, causando consideráveis danos ao meio ambiente. Segundo Bianchin et al. (1992) quase todos os inseticidas existentes no mercado agem nas fezes bovinas, eliminando os besouros que são usados como controle biológico. Por isso, deve-se usar o mínimo de inseticida nos animais, para diminuir a eliminação de besouros e prevenir uma possível resistência das moscas aos inseticidas.

As infestações de mosca-dos-chifres têm sido controladas com inseticidas do tipo spray, marcadores de dorso, sacos de pó e brincos impregnados com inseticidas. Eventualmente, podem ser utilizadas armadilhas, nas quais tiras de gaze desalojam as moscas, que ficam retidas e morrem ao pousarem nas paredes cobertas com inseticidas (LAZZARINI NETO, 2001).

Resistência em mosca-dos-chifres tem sido reportada a diferentes classes de inseticidas, mas o problema adquire maiores proporções com relação aos piretroides. No Brasil, quatro em cada cinco inseticidas para controle da mosca são ou têm piretroides em sua composição (BARROS, 2002).

Diante das constantes dificuldades observadas no controle de moscas com inseticidas químicos, em função do surgimento de resistência, tem sido dada uma crescente importância aos agentes de controle biológico. Nos Estados Unidos e Austrália e, recentemente, no Brasil, tem sido estimulado o emprego de besouros coprófagos, *Digitontophagus gazel-*

la, que, ao revolverem as fezes tornam as mesmas mais secas e impróprias para o desenvolvimento das larvas. No Brasil, o besouro africano foi introduzido praticamente em todos os Estados, devido à colaboração dos órgãos de pesquisa, sindicatos rurais e da iniciativa privada. Em certas regiões, o besouro se encontra amplamente estabelecido, mas em outras, as condições ambientais parecem ser desfavoráveis ao desenvolvimento, dificultando assim o seu estabelecimento (GALBIATI et al. 1995).

Antes de 1976, a bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* (*Bt*) era usada exclusivamente no controle de insetos-pragas na agricultura. Mas a descoberta de um isolado patogênico a dípteros chamado *Bt israelensis* (*Bti*) passou a ser usado no controle de vetores de doenças (BECKER, 2000). Desde então, estão sendo realizados inúmeros programas de seleção, visando ao isolamento de raças mosquitocidas (DELÉCLUSE et al., 2000).

A bactéria *Bti* tem três diferentes toxinas Cry (cristal tóxico), e uma Cyt (toxina com atividade citolítica e hemolítica). Esta ação sinérgica ocorre normalmente quando são usados mais de um pesticida (DELÉCLUSE et al., 2000). Este grande número de toxinas reduz a probabilidade do desenvolvimento da resistência (BECKER, 2000; REGIS et al., 2001). Outro fato importante é a possibilidade da *Bti* ser usada juntamente com produtos químicos para aumentar a eficiência do controle (CHUI et al., 1995).

O efeito dessa bactéria se dá na fase larval do inseto, já que ela age no intestino médio e por isso necessita ser ingerido. O desenvolvimento de meios de cultura para larvas de *H. irritans* facilitará e agilizará a descoberta de novas cepas de *Bt*, que tem se mostrado muito promissor no controle de insetos desta ordem (TEMEYER, 1984, CUNHA, 2003). Assim, o objetivo deste trabalho foi formular e avaliar meios artificiais para o desenvolvimento de larvas de *H. irritans*.

2. Material e métodos

a) Obtenção de larvas de *Haematobia irritans*

H. irritans foram obtidas por meio de capturas com rede entomológica em fazendas da região de Patos de Minas-MG e leilões de gado que acontecem semanalmente na cidade. Estas moscas foram acondicionadas em gaiolas cobertas com tecido-não-tecido (TNT) e conduzidas ao Laboratório de Genética e Biotecnologia da FACIAGRA, no Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM. Dentro da gaiola colocou-se papel sulfite tamanho A4 (210 x 297 mm) para facilitar a coleta de ovos. Após três horas de captura recolheram-se os ovos, que foram distribuídos em placas de Petri, contendo fezes frescas de bovino.

b) Avaliação dos meios artificiais

Após a eclosão (24h) contaram-se e distribuíram-se quinze larvas em cada placa de Petri contendo meios com diferentes combinações (Tabela. 1), e de acordo com Perotti e Lysyk (2003) o meio de cultura foi enriquecido com complexo vitamínico (Tabela 2).

Tabela 1 – Combinação de meio artificial para criação de *H. irritans*

MEIO	COMPOSIÇÃO	PROPORÇÃO
I	Cana moída	10
	Farinha de trigo integral	2
	Farinha de osso	1,5
	Bicarbonato	0,25
II	Cana moída	4
	Farinha de trigo integral	2
	Farinha de osso	2
	Bicarbonato	0,5

Tratamentos: T1 = 1 parte de meio I para duas partes de fezes frescas; T2 = 1 parte de meio II para duas partes de fezes frescas; T3 = 1 parte de meio I para uma parte de fezes fresca; T4 = T1 autoclavado; T5 = Testemunha.

Após a distribuição das larvas, foram feitas observações diárias até o surgimento de pupas, as quais foram transferidas posteriormente para recipientes plásticos com tampas contendo algodão umedecido para que não ressecassem. As pupas foram mantidas nestes recipientes até a eclosão, onde os adultos foram contabilizados.

d) Análise estatística

Utilizou-se delineamento em blocos inteiramente casualizados, constituído de cinco tratamentos e cinco repetições. Os resultados foram submetidos a análise de variância e posteriormente ao Teste de Tukey a 5%.

Tabela 2 – Componentes de complexo vitamínico utilizado no enriquecimento de meio artificial para crescimento de larvas de *H. irritans*.

Componentes	Quantidade	Unidade
Vitamina A	306	Mcg
Vitamina D	1,7	Mcg
Tiamina (B1)	0,5	Mg
Riboflavina (B2)	0,5	Mg
Niacina	6	Mg
Ácido Pantotênico	2	Mg
Vitamina B6	0,7	Mg
Vitamina B12	0,3	Mcg
Vitamina C	20	Mg
Vitamina E	5	Mg
Biotina	0,05	Mg
Ácido Fólico	70	Mcg
Vitamina K	30	Mcg
Cálcio	267	Mg
Magnésio	100	Mg
Ferro	4,6	Mg
Zinco	5	Mg
Iodo	50	Mcg
Selênio	20	Mcg
Molibidênio	80	Mcg
Cromo	70	Mcg
Manganês	1,7	Mcg

3. Resultados e discussão

Foram testadas várias combinações de meios, e aquelas que continham maior proporção de cana moída (Meio I), em relação à farinha de trigo integral, farinha de osso e bicarbonato de sódio, apresentaram desenvolvimento das larvas em condições artificiais. Estes resultados podem estar relacionados com o maior teor de carboidrato e consequentemente de disponibilidade de fonte de energia para as larvas. As proporções do Meio I mostraram-se mais eficientes, sendo necessários alguns ajustes para otimização do desenvolvimento de larvas (Figura 1).

Quanto ao tratamento T3, em que a proporção das fezes foi a metade utilizada no T1, observou-se um desenvolvimento das larvas significativamente inferior, demonstrando a importância das fezes para o desenvolvimento das larvas e a necessidade de estudos para sua substituição por outro elemento equivalente, já que as fezes podem apresentar variações em função da alimentação dos animais.

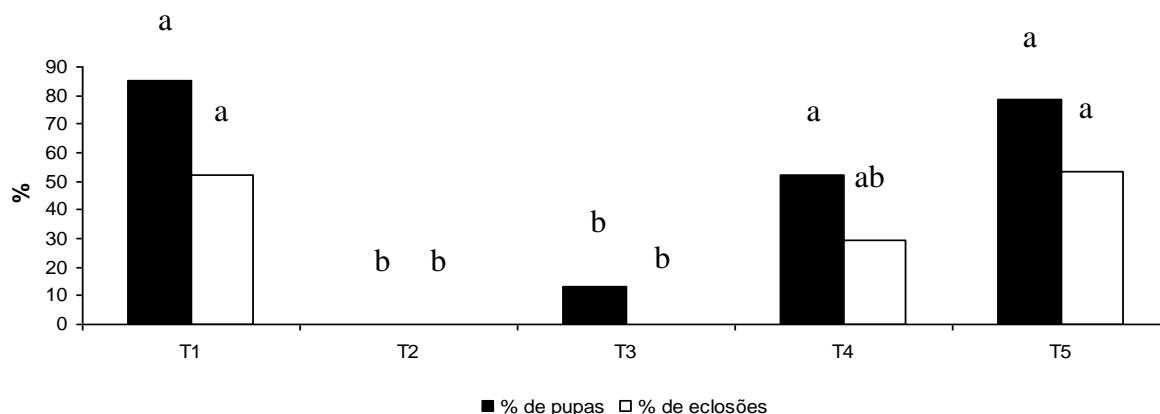


Figura 1: Número de pupas e eclosões de *H. irritans* obtidas em diferentes formulados de meio artificial. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5%. Tratamentos: T1 = 1 parte de meio I para duas partes de fezes frescas; T2 = 1 parte de meio II para duas partes de fezes frescas; T3 = 1 parte de meio I para uma parte de fezes frescas; T4 = T1 autoclavado; T5 = Testemunha.

O tratamento T4, que foi autoclavado, mostrou-se inferior ao T1, apesar de não ter diferença estatística significativa entre eles. Isso evidencia que os microorganismos presentes nas fezes são essenciais para o desenvolvimento das larvas, estando de acordo com Perotti et al. (2001). A sobrevivência neste meio pode ter sido influenciada pelo fato de as larvas, no início do desenvolvimento, terem estado em contato com tais microorganismos.

Conclusão

O tratamento contendo a combinação de cana moída, farinha de trigo integral, farinha de osso e bicarbonato de sódio nas proporções de 10, 2, 1,5 e 0,25 respectivamente,

acrescidas de duas partes de fezes frescas bovinas, foram as mais eficientes, apresentando uma taxa de empupação de 85,33%.

Referências

BARROS, A. T. M. Desenvolvimento de *Haematobia irritans* em massas fecais de bovinos mantidas em laboratório. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v. 37, n. 2, p. 217-221. 2002.

BARROS, A. T. M. *Resistência da mosca-dos-chifres a inseticidas: um problema à pecuária*. Disponível em: (<http://cpap.embrapa.br/artigos/ArtATHadeu1.html>).

BECKER, N. Bacterial control of vector-mosquitoes and black flies, in: CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE, A.; LEROUX, C. N. *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.383-398. 2000.

BIANCHIN I.; HONER M.R.; GOMES A.; KOLLER W.W. *Efeito de alguns carrapaticidas/inseticidas sobre Onthophagus gazella*. Campo Grande: Embrapa-CNPGC, 1992. 7p. (EMBRAPA_CNPGC. Comunicado Técnico, 45).

CHUI, V.W.D.; WONG, K.W.; TSOI, K.W. Control of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) using *Bti* and teflubenzuron: laboratory evaluation and semi-field test. *Environ*, V.21, P.433-40, 1995.

CUNHA, W.V. *Variabilidade genética da Haematobia irritans e seu controle com Bacillus thuringiensis var israelensis*. Dissertação (Tese de doutorado). Universidade de Uberlândia, UFU. Uberlândia-MG, 2003.

DELÉCLUSE, A.; PÉREZ, V.J.; BERRY C. Vector-active toxins: structure and diversity. In: CHARLES, J.F.; DELÉCLUSE, A.; LEROUX, C.N. *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.101-26, 2000.

DRUMMOND, R. O.; GEORGE, J. E.; KUNZ, S.E. *Control of arthropod pests of livestock: a review of technology*. Boca Raton, CRC Press, Inc., 1998, 245p.

GALBIATI C.; BENSI C.; CONCEIÇÃO, C. H. C.; FLORCOVSKI, J.F.; CALAFIORI M.H. *Estudo comparativo entre besouros do esterco Dichotomius anaglypticus (Mann,1829) e Onthophagus gazella, sobre as pastagens, em condições brasileiras*. *Ecosistema*. Espírito Santo do Pinhal, v.20, p.109-118, 1995.

KUNS, S.E.; SCHMIDT, C.D. In: *Handb of insect rearing* (Edited by Pritan Singh & R. F. Moore) Amsterdam, Elsevier, p.113-117, 1985.

LAZZARINI, S.N. *Saúde de rebanhos de corte*. 2. ed. Viçosa, p.37-40, 2001.

LEITE, R. C.; RODRÍGUEZ, Z.; FACCINI, J. L. H.; OLIVEIRA, P. R.; FERNANDES, A. A. First Report of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) as Vector of *Dermatobia hominis* (L.jr.) (Diptera: Cuterebridae) in Minas Gerais, Brazil, *Mem Instituto Oswaldo Cruz*, p.761-762, 1998.

MARICONI, F.A.M. *Inseticidas e seu emprego no combate às pragas*. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1980. 305p.

PEROTTI, M.A.; LYSYK, T. J. Novel growth for rearing larval horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, v.40, p.22-29, 2003.

PEROTTI, M. A.; LYSYK, T. J.; KALISCHUK-TYMENSEN, L. D.; YANKE, L.J.; SELINGER, L.B. Growth and survival of immature *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) is Influenced by Bacteria Isolated from Cattle Manure and Conspecific Larvae. *Journal of Medical Entomology*, v. 38, p. 180-187, 2001.

REGIS, L.; SILVA-FILHA, M.H.; NIELSEN-LEROUX, C.; CHARLES, J.F. Bacteriological larvicides of dipteran disease vectors. *Trends Parasitology*, v.17, p.377-80, 2001.

TEMEYER, K.B. Larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in the dipteran *Haematobia irritans*. *Appl Env Microb.* 47(5): 952-955, 1984.

VALÉRIO, J. R. & GUIMARÃES, J. H. Sobre a ocorrência de uma nova praga, *Haematobia irritans* (L.) (Díptera, Muscidae), no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. São Paulo, p.417-418, 1983.

VALÉRIO, J. R. *Haematobia irritans* (L.): um novo problema para a bovinocultura no Brasil. n. 25, 1985.