

PORCENTAGEM DE ECLOSÃO DE OVOS DE *Haematobia irritans* (L.) (DIPTERA: MUSCIDAE) EM LABORATÓRIO

EGG HATCH PERCENTAGE OF *Haematobia irritans* (L.) (DIPTERA: MUSCIDAE) IN LABORATORY

Luiz Gustavo Ferraz LIMA¹; Silvia Helena Venturoli PERRI; Ângelo Pires do PRADO

1. Técnico em Parasitologia na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, campus de Araçatuba e Professor universitário do Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium de Araçatuba, Unisalesiano, Araçatuba, SP, Brasil.

lgflima@fmva.unesp.br; 2. Professora, Doutora, Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal – UNESP, Aracatuba, SP, Brasil;

3. Professor, Doutor, Instituto de Biologia, Departamento de Parasitologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO: A produção de moscas-dos-chifres em laboratório é de grande importância para a pesquisa. Diversos autores tem observado que a viabilidade de diferentes estágios de artrópodes variam de acordo com a espécie. Nesse estudo observou-se a percentagem de eclosão de ovos de *Haematobia irritans*. As fezes bovinas foram obtidas dos animais alimentados por pastagem (*Brachiaria decumbens*), coletadas e usadas imediatamente ou colocadas em refrigerador (2-3°C). Foram capturadas mosca-dos-chifres em bovinos para a coleta de ovos, colocados em papel filtro sobre as fezes e incubados em 32 ± 2°C e 80% de umidade relativa, para o desenvolvimento das larvas. Os resultados basearam-se no número de ovos eclodidos, tendo sido observada a percentagem de 83,0% de larvas eclodidas.

PALAVRAS-CHAVE: *Haematobia irritans*. Mosca-dos-chifres. Eclosão. Porcentagem.

INTRODUÇÃO

Pesquisas revelaram importantes informações a respeito da biologia (DEPNER, 1961; LYSYK, 1992) e da ecologia na população da espécie *H. irritans* (L.) (LYSYK, 1993; LIMA et al., 2002, 2003).

H. irritans efetua a postura sobre fezes bovinas. Os ovos incubados eclodem após 24 horas, em temperatura de 25 ± 2°C e 70-80% de umidade (KURAMOCHI, 1985; BENIGNO et al., 1989). As larvas penetram na massa fecal onde permanecem até ao oitavo dia e, então, dispersam para áreas mais profundas e secas das fezes e formam as pupas que entre seis e oito dias dão origem a adultos.

Insetos de ciclo de vida curto, como *H. irritans*, dependem de diversos fatores abióticos e bióticos para crescerem (DANKS, 2006). Em temperaturas mais quentes observou-se melhor desenvolvimento ovariano e maior oviposição (DEPNER, 1961; BERRY; KUNZ, 1978). As propriedades físicas e nutricionais das fezes bovinas podem influenciar a reprodução em diversos aspectos: na atração das fêmeas, no estímulo a postura e na produção de ovos (DOUGHERTY; KNAPP, 1994; FLECHTMANN et al., 1995; BERKEBILE et al., 2006), além de determinar as condições para o desenvolvimento larvário (KUNZ, 1980; COOK et al., 1980; LYSYK, 1999).

A produção das formas imaturas de dípteros *in vitro* (VALIELA, 1969; ANDERSON, 1995; LOHMEYER; KAMMLAH, 2006;) para obtenção

de adultos em laboratório (THOMAS; DAVIS, 1984; DOUBE; MOOLA, 1987; STEGEMAN et al., 1996; GALLARDO et al., 2000; LIMA et al., 2009), dependem fundamentalmente de informações referentes aos primeiros estágios de vida.

Ferraz (1995) analisou a viabilidade larval de Sarcophagideo, *Peckia chrysostoma* Wiedemann, 1830 e *Adiscochaeta ingens* Walker, 1894. Thomas e Davis (1984) observaram que as larvas recém eclodidas da mosca-dos-chifres tiveram melhor desenvolvimento em fezes com moderada viscosidade, que as larvas eclodidas há mais tempo. Kuramochi (1985) avaliou o desenvolvimento de *H. irritans* em fezes bovinas liofilizadas e constatou melhor desenvolvimento larval e pupal em 80-85% de umidade, e numa densidade de 10 larvas por 10g de fezes. Lohmeyer e Kammlah (2006) pesquisaram um método para criação em massa de *H. irritans* em laboratório, aumentando a produção de ovos em 7,1% e pupas em 14%. Berkebile et al. (2006) avaliaram os efeitos da dieta e da temperatura na reprodução e mortalidade de larvas e adultos californídeos.

Embora muitas pesquisas tenham utilizado formas imaturas de *H. irritans*, ainda faltam informações importantes.

Este estudo teve por objetivo levantar informações sobre os índices de eclosão dos ovos de *H. irritans*, em temperatura de 28°C e umidade de 80%, utilizando a técnica adotada por Anderson 1995 e ajustada de modo a permitir melhor desempenho na verificação dos resultados.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Parasitologia, do Curso de Medicina Veterinária, Unesp, no município de Araçatuba, São Paulo, Brasil (50° 26' longitude Oeste e 21° 12' latitude Sul), no período de 2003 e 2004.

O material experimental foi obtido a partir de um lote de 15 bovinos machos, mestiço, *Bos indicus*, com aproximadamente 18 meses de idade, mantidos em piquete predominantemente formado por *Brachiaria decumbens*, com ingestão hídrica e de minerais *ad libitum*, sem tratamento endectocida. Os bovinos foram conduzidos ao curral para obtenção das fezes e das moscas.

O material fecal foi recolhido imediatamente após expelido, em balde plástico (20 litros) protegido de contaminação por insetos e transportado para o laboratório. Ali, foi mantido sob refrigeração e retirado duas horas antes sua utilização.

Amostras entomológicas foram obtidas com auxílio de uma rede entomológica (40 cm de diâmetro por 70 cm de profundidade), passada sobre os bovinos. No laboratório as amostras foram acondicionadas em caixa plástica "tapeware" (50cmx40cmx45cm), forradas de papel filtro umidificado, para realização de postura. Ovos viáveis (cor marrom escuro) foram recolhidos,

misturados com auxílio de um pincel e utilizados nos bioensaios.

Os ensaios, constituídos por placas fecais bovinas (500g) em pratos de alumínio forrados com terra ($\approx 1,5\text{cm}$), e cobertos por papel filtro (5x5cm) contendo 30 ovos de moscas. Cada placa fecal com o inoculo de ovos foi mantida em estufa a $28^{\circ}\text{C}(\pm 2)$, para a eclosão das larvas. Os testes foram realizados em réplicas.

Após 12 horas, com auxílio de microscópio estereoscópio (40x) e pinça histológica, o ensaio foi examinado para contagem das eclosões.

Foram contabilizados como eclodidos os ovos que apresentaram ruptura da casca e ausência de conteúdo, e não eclodidos os ovos com a casca íntegra e a presença de conteúdo embrionário.

Os dados obtidos foram analisados calculando-se a porcentagem, média e o desvio padrão de eclosões por amostragem.

RESULTADOS

Um total de 1.800 ovos de *H. irritans* inoculados, foi obtido em 2003. Deste foram registrados 1.500 ovos eclodidos. Os ensaios apresentaram média de 25 ovos eclodidos, correspondente a 83,3% dos ovos inoculados. A menor taxa de eclosões foi de 20 no ensaio 11 (66,7%), e a maior foi de 28 (93,3%) nos ensaios 7 e 18 (Tabela 1).

Tabela 1. Ensaios realizados em 2003, com o número médio de ovos e larvas, porcentagem média (\bar{x}) e desvio padrão (S) de larvas eclodidas e porcentagem média (\bar{x}) de mortalidade.

Ensaio	Ovos inoculados	Ovos eclodidos	% eclosão	% mortalidade
1	30	22	73,3	26,7
2	30	21	70,0	30,0
3	30	26	86,7	13,3
4	30	27	90,0	10,0
5	30	24	80,0	20,0
6	30	24	80,0	20,0
7	30	28	93,3	6,7
8	30	26	86,7	13,3
9	30	28	93,3	6,7
10	30	25	83,3	16,7
11	30	20	66,7	33,3
12	30	27	90,0	10,0
13	30	27	90,0	10,0
14	30	25	83,3	16,7
15	30	22	73,3	26,7
16	30	21	70,0	30,0

17	30	25	83,3	16,7
18	30	28	93,3	6,7
19	30	27	90,0	10,0
20	30	27	90,0	10,0
Média	30	25	83,3	16,7
Desvio Padrão	-	2,5	8,4	8,6

Um total de 1.440 ovos inoculados foi obtido em 2004. Deste foram registrados 1.200 ovos eclodidos. O número médio de eclosão nos ensaios foi de 25 (ou 83,3%). A menor taxa de eclosões foi de 18 (60%) no ensaio 2 e a maior foi de 30 (100%) no ensaio 16 (Tabela 2).

A taxa de mortalidade média (considerando mortos os ovos não eclodidos) foi de 16,7%, para os dois períodos, a mais elevada foi de 33,3 % em 2003, e 40% em 2004 (Tabelas 1 e 2).

Tabela 2. Ensaios realizados em 2004, com o número médio de ovos e larvas, porcentagem média (\bar{x}) e desvio padrão (S) de larvas eclodidas e porcentagem média (\bar{x}) de mortalidade.

Ensaio	Ovos inoculados	Ovos eclodidos	% eclosão	% mortalidade
1	30	19	63,3	36,7
2	30	18	60,0	40,0
3	30	27	90,0	10,0
4	30	24	80,0	20,0
5	30	27	90,0	10,0
6	30	26	86,7	13,3
7	30	22	73,3	26,7
8	30	29	96,7	3,3
9	30	21	70,0	30,0
10	30	25	83,3	16,7
11	30	28	93,3	6,7
12	30	24	80,0	20,0
13	30	26	86,7	13,3
14	30	27	90,0	10,0
15	30	27	90,0	10,0
16	30	30	100,0	0,0
Média	30	25	83,3	16,7
Desvio Padrão	-	3,5	11,5	11,5

DISCUSSÃO

Diversos autores dedicaram-se a observar diferentes aspectos no desenvolvimento de dípteros. Avaliou-se a influência da densidade de larvas por grama de fezes, no desenvolvimento de *Haematobia throuxi potans* Bezzi (DOUBE; MOOLA, 1987) e o efeito da temperatura no desenvolvimento larval (COOK. et al., 1980). Também foram avaliados métodos de criação de moscas em laboratório (THOMAS; DAVIS, 1984; ANDERSON, 1995; LOHMEYER; KAMMLAH, 2006). Contudo, não

foram apresentados dados quantitativos da porcentagem de eclosão de ovos em laboratório.

A viabilidade de larvas *H. exigue* De Meijere foi estimada em 29%, baseando-se na formação de pupas. O procedimento de se depositar os ovos diretamente nas fezes dificultou a determinação da fertilidade (ANDERSON 1995). Stegeman *et al.* (1996) incubaram ovos de *H. irritans* em fezes bovinas para analisar o desenvolvimento em massa, de moscas em laboratório, entretanto não foram citados dados das eclosões obtidas. No presente estudo, utilizou-se a

técnica adotada por Anderson (1995) e Stegeman et al. (1996) com uma modificação, buscando viabilizar a verificação dos resultados - a colocação de ovos em papel filtro sobre as fezes bovinas. Esta estratégia permitiu a manipulação do material e favoreceu a verificação do número de eclosões/ovos incubados.

Neste trabalho constatou-se 83,3% de eclodibilidade nos dois períodos (Tabelas 1 e 2). Provavelmente, a incubação dos ovos sob temperatura e umidade do ar constantes contribuíram para obtenção desse índice, uma vez que nesse estágio a vulnerabilidade aos fatores ambientais é maior (COOK et al., 1980; DANKS, 2006). Contudo, os valores individuais variaram de 66,7%, a 93,3% (Tabela 1) e 60% a 100% (Tabela 2). Segundo Berkebile et al. (2006) quando as moscas são expostas a temperaturas elevadas de 37°C e 40°C, a eclosão é afetada desfavoravelmente. O desenvolvimento de insetos de ciclo de vida curto depende das características filogenéticas, estando relacionado com o tamanho da espécie e com fatores ambientais bióticos, como o alimento e abióticos, como a temperatura (DANKS, 2006).

Em trabalho similar com *M. Autumnalis*, Valiela (1969) relatou 87,7% de ovos eclodidos, em temperatura de 32°C. Provavelmente a diferença nas taxas de eclosão de ovos dessas moscas são provenientes da diversidade e peculiaridade de *H. Irritans* e *M. Autumnalis*.

Índice, ainda maior, de 97% de ovos eclodidos de *H. Irritans* foi documentado por

Kuramochi (1985), ao avaliar método de criação de larvas em laboratório.

Durante os procedimentos metodológicos, a manipulação dos ovos pode ser um provável fator de influência negativa na eclosão dos ovos, contudo Valiela (1969) não observou o mesmo.

Um outro aspecto que merece atenção, é a taxa de mortalidade, indicada aqui pelos ovos não eclodidos. Os ovos que não eclodiram podem, simplesmente corresponder a ovulos (não fertilizados). Seria interessante identificar as causas da não eclosão dos ovos em estudos futuros, para saber exatamente que fatores contribuem para isso.

CONCLUSÕES

Os resultados permitiram verificar um índice de 83,0% de eclodibilidade de ovos de *H. irritans*, sob condições *in vitro* de 28°C de temperatura e 80% de umidade.

A adequação da técnica de obtenção dos ovos e de sua incubação em papel filtro facilitou e tornou mais consistente a verificação dos resultados. Espera-se que os resultados deste trabalho contribua para outros estudos que empregam a produção da mosca-dos-chifres em laboratório.

AGRADECIMENTOS

Os autores do presente trabalho agradecem a empresa Pecuarista D'Oeste, pelos empréstimos das instalações da chácara Nossa Senhora de Aparecida e dos animais.

ABSTRACT: The laboratory production of the horn fly is still an important resource for research. Several authors have already observed that viability of immature stages varies according to arthropod species. In this study were observed the *Haematobia irritans* egg percentage hatching. Bovine faeces was obtained from animals grazing pastures (*Brachiaria decumbens*) was collected and used immediately or placed in a refrigerator (2-3°C). Horn flies were captured in bovine to get eggs placed in filter paper on dung and incubate at 32 ± 2 °C and 80% RH for larvae rearing. The results were based on the number of hatched eggs and we observed 83,0% percent of larvae rearing.

KEYWORDS: *Haematobia irritans*. Horn fly. Egg hatch. Percentage

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. M. E. Culturing *Haematobia exigua* de Meijere (Diptera: Muscidae) in the laboratory. **J. Aust. Entomol. Soc.**, Brisbane, v. 34, n. 1, p. 17-21, Mar. 1995.

BENIGNO, R. N. M.; GARCIA, M. L. M.; MELLO, R. P. Classificação de fêmeas de *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae) de acordo com a idade fisiológica. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, supl. 4, p. 69-73, 1989.

- BERKEBILE, D. R.; SAGEL, A.; SKODA, S. R.; FOSTER, J. E. Laboratory environment effects on the reproduction and mortality of adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). **Neotrop. Entomol.**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 781-786, Nov./Dec. 2006.
- BERRY, I. L.; KUNZ, S. E. Oviposition of stable flies in responses to temperature and humidity. **Environ. Entomol.**, College Park, v. 7, n. 2, p. 213-216, Apr. 1978.
- COOK, I. M.; SPAIN, A. V.; SINCLAIR, D. F. The effects of the temperature and moisture levels of the larval breeding medium on puparial form in the buffalo fly, *Haematobia irritans exigua* (Diptera: Muscidae). **Aust. J. Zool.**, Melbourne, v. 28, n. 4, p. 547-552, 1980.
- DANKS, H. V. Short life cycles insects and mites. **Can. Entomol.**, Ottawa, v. 138, n. 4, p. 407-463, Jul. 2006.
- DEPNER, K. R. The effect of temperature on development and diapause of the horn fly, *Shiphona irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Can. Entomol.**, Ottawa, v. 93, n. 10, p. 855-859, Oct. 1961.
- DOUBE, B. M.; MOOLA, F. Effects of intraspecific larval competition on the development of the African buffalo fly *Haematobia thirouxii potans*. **Entomol. Exp. Appl.**, Oxford, n. 43, n. 2, p. 145-151, Apr. 1987.
- DOUGHERTY, C. T.; KNAPP, F. W. Oviposition and development of face flies in dung from cattle on herbage and supplemented herbage diets. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 55, n. 1-2, p. 115-127, Oct. 1994.
- FERRAZ, M. V. Larval and pupal periods of *Peckia chrysostoma* and *Adiscochaeta ingens* (Diptera: Sarcophagidae) reared under laboratory conditions. **Men. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 5, p. 611-614, set./out. 1995.
- FLECHTMANN, C. A. H.; RODRIGUES, S. R.; SENO, M. C. Z. Controle biológico da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em Selvíria, Mato Grosso do Sul. 1. Metodologia de estudo e seleção de fauna fímícula de insetos. **Rev. Bras. Entomol.**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 1-11, jun. 1995.
- GALLARDO, J. L.; MORENO D. S.; WALDON, M.; RODRIGUEZ, A. M. Mortalidad de la mosca del cuerno *Haematobia irritans* (L.) causada por el pigmento floxin B^a. **Tec. Pec. Mex.**, México, v. 38, n. 3, p. 211-217, nov. 2000.
- KUNZ, S. E. Horn fly production as affected by seasonal changes in rangeland forage conditions. **Southwest. Entomol.**, Weslaco, v. 5, n. 2, p. 80-83, 1980.
- KURAMOCHI, K. Rearing method of horn fly larvae with freeze-dried bovine dung (Diptera: Muscidae). **Res. Bull. Obihiro Univ.**, Obihiro, v. 14, p. 305-309, May 1985.
- LIMA, L. G. F.; PRADO, A. P.; PERRI, S. H. V. Localização preferencial e índices diferenciados de infestação da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em bovinos da raça Nelore. **Pesqui. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1, p. 25-32, jan. 2002.
- LIMA, L. G. F.; PERRI, S. H. V.; PRADO, A. P. Variation in population density of horn flies (*Haematobia irritans irritans*) (L.) (Diptera: Muscidae) in Nellore cattle (*Bos indicus*). **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 117, n. 4 p. 309-314, Nov. 2003
- LIMA, L. G. F.; PERRI, S. H. V.; PRADO, A. P. Efeito do tratamento em dose única ou múltipla com ivermectina na emergência de *Haematobia irritans* (L.) (díptera: Muscidae). **Vet. Zootec.**, Botucatu, v. 16, n. 2, p. 410-418, jun. 2009.
- LOHMEYER, K. H.; KAMMLAH, D. M. Improved mass rearing techniques for the horn fly, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Southwest. Entomol.**, Weslaco, v. 31, n. 1, p. 83-85, Mar. 2006.
- LYSYK, T. J. Effect of larval rearing temperature and maternal photoperiod on diapause in the horn fly (Diptera: Muscidae). **Environ. Entomol.**, College Park, v. 21, n. 5, p. 1134-1138, Oct. 1992.

LYSYK, T. J. Seasonal abundance of stable flies (Diptera: Muscidae) in dairies in Alberta, Canada. **J. Med. Entomol.**, Honolulu, v. 30, n. 5, p. 888-895, Aug. 1993.

LYSYK, T. J. Effect of temperature on time to eclosion and spring emergence of postdiapausing horn flies (Diptera: Muscidae). **Environ. Entomol.**, College Park, v. 28, n. 3, p. 387-397, Jun. 1999.

STEGEMAN, D. A.; TOZER, R. S.; SUTHERST, R. W. Procedures for mass rearing the buffalo fly, *Haematobia irritans exigua* De Meijere (Diptera: Muscidae). **Aust. J. Entomol.**, Camberra, v. 35, n. 1, p. 77-79, Feb. 1996

THOMAS, P. L.; DAVIS, N. C. A method for rearing the buffalo fly, *Haematobia irritans exigua* de Meijere. **J. Aust. Entomol. Soc.**, Brisbane, v. 23, n. 2, p. 81-82, May 1984.

VALIELA, I. An experimental study of the mortality factors of larval *Musca autumnalis* DeGeer. **Ecol. Monogr.**, Durham, v. 39, n. 2, p. 199-225, Spring 1969.