UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

DESENVOLVIMENTO DE SUBSTRATOS PARA CRIAÇÃO DE MOSCA-DOS-ESTÁBULOS *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) EM LABORATÓRIO

Franciely da Silva Varoni de Moura

CAMPO GRANDE, MS
2015

2015		DESENVOLVIMENTO DE SUBSTRATOS PARA CRIAÇÃO DE MOSCA-DOS-ESTÁBULOS		MOURA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

DESENVOLVIMENTO DE SUBSTRATOS PARA CRIAÇÃO DE MOSCA-DOS-ESTÁBULOS *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) EM LABORATÓRIO

DEVELOPMENT OF SUBSTRATES FOR STABLE FLY *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) REARING IN LABORATORY

Franciely da Silva Varoni de Moura

Orientadora: Prof. Dr. Eliane Mattos Piranda

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE, MS 2015

Dedicatória

À memória do meu querido pai, meu orgulho, meu alicerce e meu exemplo.
Dedico.

Agradecimentos

Meu especial agradecimento à Professora Doutora Eliane Mattos Piranda, por todo o conhecimento passado ao longo dos anos de convivência e pela paciência em momentos conturbados.

Ao Doutor Paulo Henrique Duarte Cançado, por ceder o Laboratório de Entomologia Veterinária para a realização dos bioensaios e por compartilhar experiências de campo.

À Taciany Ferreira de Souza, pela amizade construída e companheirismo, pelos milhares de momentos felizes que passamos trabalhando juntas e por ser um grande exemplo de perseverança e responsabilidade. Sem você este trabalho não seria possível

À Larissa Bezerra dos Santos, por ser meu braço direito e esquerdo, pelo incentivo não só para a realização deste trabalho, mas por quase dez anos de amizade e por estar ao meu lado em cada segundo da vida.

Ao Doutor Wilson Werner Koller, pelas palavras de fé e de apoio, por ser incrivelmente capaz de fazer com que possamos enxergar a vida de uma maneira tão boa, quanto uma "cuca de uva".

Ao Doutor Antonio Thadeu Medeiros de Barros, por compartilhar seu conhecimento e incentivar a pesquisa da forma mais minuciosa possível.

Ao Professor Doutor Fernando de Almeida Borges, pela acolhida e apoio em momentos tão difíceis, pelo exemplo de disciplina e senso crítico que contribuiu para a minha formação durante esses anos de mestrado.

Aos meus amigos Keula, Tamires, Jessica, Mari Green, Juliana Kátia, Catarina, Lair, Hillary, Matheus, Michelli, Isabel, Natália e Cynthia, obrigada por fazer os meus dias mais alegres e pela amizade demonstrada em momentos onde tudo pareceu escuro.

À Letícia Carvalho, que foi uma amiga especial com sua simpatia e seu altruísmo, sempre com uma palavra de carinho.

Ao Ramiro, por estar sempre pronto a ajudar em qualquer situação e por arrancar risadas em dias difíceis de trabalho pesado.

Aos meus queridos Ricardo e Kamila, que com sua disposição e amizade tornaram-se pessoas especiais que fizeram parte deste trabalho.

Ao meu Amor, Douglas, por ser minha fortaleza, meu companheiro e meu porto seguro. Agradeço por entender minha ausência e por aturar o cheirinho de mosca que impregnou no carro. A você todo meu amor, minha admiração e toda a minha gratidão, pois sem seu apoio esta conquista não teria sido possível.

Que não nos esqueçamos do real sentido de se alcançar a um grande objetivo,
E que o brilho da vitória seja uma luz que nunca se apague,
Que o sabor da conquista seja tão intenso quanto a sacies.
Douglas Olmedo

Resumo

Moura, F.S.V. Desenvolvimento de substratos para criação de mosca-dos-estábulos *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em laboratório. 2015. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

Stomoxys calcitrans é um díptero hematófago, responsável por impactos sanitários e econômicos à pecuária bovina. Os frequentes surtos no Brasil, por vezes, relacionados à expansão das usinas sucroalcooleiras, apontam para a necessidade de se aprimorar técnicas de criação deste inseto em laboratório, visando pesquisa e realização de bioensaios toxicológicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar novos substratos para o desenvolvimento de imaturos de *S.calcitrans*, visando contribuir para a criação e manutenção da colônia em laboratório. Neste estudo, foram testados como substratos de criação três tipos de rações para alimentação de cães, um tipo de ração bovina e fezes bovinas em diferentes proporções, comparadas a um substrato padrão utilizado para criação das larvas de mosca-dos-estábulos em laboratório. A formulação de substrato contendo rações para a criação não foi favorável ao processo de pupação e posterior emergência dos adultos de *S. calcitrans*; enquanto que a substituição de farinha de carne por fezes permitiu o desenvolvimento de todos os estádios da mosca em laboratório. O presente trabalho demonstra que é possível sincronizar e acelerar a criação destes insetos em laboratório.

Palavras- chave: Entomologia, colônia, pecuária, biologia

Abstract

Moura, F.S.V. evaluation development of substrates for stable fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) rearing in laboratory. 2015. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

Stomoxys calcitrans is a blood-sucking fly responsible for health and economic losses to livestock production. Stable fly outbreaks in Brazil related to the expansion of sugarcane industry, highlight the need to improve control of this insect. Laboratory research to achieve this goal include bioassays using insect colonies. This study aimed to evaluate some substrates in order to improve maintennance of immature *S.calcitrans* at the laboratory. In this study, three types of dog food, one type of bovine food and cattle manure mixed to a know rearing diet a in different proportions where compared to the standard diet used for *S. calcitrans* larvae maintennance. The use of animal foods was not favorable to the pupation process and subsequent adult emergence; on the other hand, roplacement of meat flour by manure allowod the complete development of all imamture in the laboratory. This study demonstrated that it is possible to synchronize and accelerate the development of these insects in the laboratory.

Keywords: Entomology, control, livestock, biology

.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO..... 9
1. Histórico..... 9
2. Importância médica veterinária e impacto econômico..... 9
3. Biologia..... 10
3.1.Criação de moscas em laboratório..... 12
4. Surtos no Brasil..... 13
5. Controle 14
6. Referências..... 16
Artigo - AVALIAÇÃO DE SUBSTRATOS PARA CRIAÇÃO DE MOSCA DOS-ESTÁBULOS *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) EM LABORATÓRIO 22
Referências..... 32
Anexos..... 39
Apêndices..... 39

INTRODUÇÃO

1. Histórico

Stomoxys calcitrans (Linnaeus, 1758) é um díptero hematófago com ampla distribuição em todo o mundo, popularmente conhecido como mosca-dos-estábulos. Acredita-se que sua origem seja na África, embora Muir (1914) tenha salientado que a dificuldade de se evidenciar de fato se a espécie surgiu na África ou na Índia.

Segundo Brues (1913), em 1776 ocorreu o primeiro relato de presença de *S. calcitrans* nos Estados Unidos e acredita-se que esta seja a época em que foi introduzida nas Américas. A mosca-dos-estábulos também ocorre por toda costa da Colômbia e Peru. Na África Central, tem causado importantes impactos ambientais causando a morte de diversas espécies de animais, pelo aumento considerável de suas populações (ELKAN, et al., 2009).

Este díptero habita locais de climas tropicais, subtropicais e temperados, já que a temperatura é um fator determinante para a abundância de adultos no ambiente (BRUES, 1913; LYSYK,1998). O Brasil apresenta condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de *S. calcitrans* (FREITAS, 1985), o que predispõe a ocorrência de surtos em algumas regiões do país, agravado pela expansão da indústria sucroalcooleira (NAKANO et al., 1973; BARROS et al., 2010; KASSAB, 2012).

2. Importância médica veterinária e impacto econômico

Além de ser um importante carreador de agentes patogênicos, a mosca-dos-estábulos causa danos impactantes para a pecuária bovina. Além dos custos anuais infringidos ao produtor com a profilaxia, as dolorosas picadas fazem com que os bovinos diminuam a ingestão de alimento, prejudicando seu ganho de peso diário e ocasionando a redução na produção diária de leite, ou seja, prejuízo estimado em cerca de 350 milhões de dólares para a bovinocultura brasileira (BALDACCHINO et al., 2013; GRISI ET al., 2014; KOLLER et al., 2009).

De acordo com Gonçalves e Veiga (1998), *S. calcitrans* possui comportamento alimentar heterogêneo, embora o sangue de mamíferos como bovinos, eqüinos e até mesmo cães, sejam os de eleição. Estas moscas podem também se alimentar de algumas aves, como gansos, patos, perus e galinhas, quando a oferta de alimento é escassa. Este tipo de comportamento pode influenciar na transmissão de patógenos, seja biológica ou mecanicamente; a transmissão mecânica é uma forma simples de transmissão de patógeno e se dá por meio de contaminação do aparelho bucal ou até mesmo pela regurgitação do conteúdo ingerido (BALDACCHINO et al., 2013).

A mosca-dos-estábulos é uma espécie cosmopolita, capaz de transmitir mecanicamente agentes causadores de doenças, como a Anemia Infecciosa Equina, Febre do Vale do Rift, Peste Suína Africana e Febre no Nilo. É também suspeita de transmitir bactérias e parasitas, sendo apontada como hospedeiro intermediário de *Habronema microstoma*. Pode ainda ter envolvimento na transmissão de algumas espécies de *Onchocerca* sp. e *Dirofilaria* sp. a humanos e animais (BALDACCHINO et al., 2013).

O surto de transmissão de *Trypanossoma vivax* em bovinos, no sertão da Paraíba, teve relação direta com a presença de *S. calcitrans* parasitando estes animais. O que demonstra o grande potencial de transmissão mecânica de patógenos (BATISTA et al., 2008).

3. Biologia

A classificação taxonômica da espécie *Stomoxys calcitrans* é: Filo Arthropoda, Classe Insecta; Ordem Diptera, Subordem Brachycera, Infraordem Muscomorpha, subsecção Calyptratae, família Muscidae e subfamília Stomoxydinae (GUIMARÃES, 2001). Ambos os sexos do gênero *Stomoxys* são dotados de aparelho bucal do tipo picador, localizado entre palpos curtos, com quatro listras negras longitudinais no tórax, coloração acinzentada e corpo medindo cerca de seis milímetros e a veia M_{1+2} de sua asa apresenta uma suave curvatura (SOUSBY, 1987; CAMPBEL, 1993).

Com um sulco longitudinal em um dos lados, os ovos de *S. calcitrans* apresentam uma coloração branca a amarela clara e medem aproximadamente um milímetro. As larvas saprófagas possuem corpo afilado, medindo aproximadamente dez milímetros de comprimento e possuem placas estigmáticas separadas e espiráculos em forma de “S”. Têm coloração esbranquiçada bastante similar à mosca doméstica e assim

como outras moscas da família Muscidae, as larvas realizam três ecdises. (SOULSBY, 1987).

A maior parte do tempo *S. calcitrans* permanece pousada em árvores, arames de cercas e outras estruturas próximas de onde emergiu, sempre ao abrigo do sol. Sendo machos e fêmeas parasitas obrigatoriamente hematófagos, em geral preferem sangue de mamíferos e ocasionalmente, algumas aves, quando a oferta alimentar for limitada (FOIL; HOGSETTE, 1994; MELLO, et al., 1998; BITTENCOURT, 2012).

A mosca-dos-estábulos possui um ciclo de vida com metamorfose completa, variando em torno de 14 a 21 dias, de acordo com a temperatura da região. Este díptero possui uma alta capacidade de dispersão e as fêmeas podem percorrer 29,11 km em 24 horas. Após a cópula a fêmea de *S. calcitrans* deposita seus ovos em matéria orgânica úmida em decomposição (BAYLEY et al., 1973; AGUIAR-VALGODE; MILWARD-DE-AZEVEDO, 1992). Após a postura as larvas de primeiro estádio eclodem após 12-24 h (L1); estas larvas crescem e fazem a muda para segundo e terceiro estádio larval.

O período larval tem uma variação média de 14 a 26 dias. O processo de pupação se dá quando as larvas de terceiro estádio, alimentadas e desenvolvidas, iniciam lentamente o processo de estagnação para formar o pupário. Após cerca de 7-14 dias no estágio de pupa, os adultos emergem e saem à procura de um local de abrigo e alimento, iniciando a etapa de vida parasitária. Após 3-5 dias, os adultos começam a fase de acasalamento e as fêmeas estão aptas a ovipor quando atingem 5-8 dias de idade e realizaram mais de um repasto sanguíneo (FRAENKEL et al., 1973; GUIMARÃES, 1983).

Gonçalves e Veiga (1998) avaliavam a preferência alimentar de *S. calcitrans* em aviários no município de Araucária, Paraná e descobriram nestes locais um ambiente ótimo para criação da mosca-dos-estábulos. Fezes secas acumuladas sob as gaiolas demonstraram ser material adequado para postura. No trabalho realizado por Lam et al. (2007), as moscas demonstraram preferência por depositar seus ovos em locais de abundância de microorganismos.

No ambiente, geralmente as moscas colocam seus ovos em áreas com acúmulo de líquido como urina, poças de vinhaça e canais por onde esta é drenada para fertilizar a plantação de cana-de-açúcar, matéria orgânica vegetal em decomposição (BURALLI E GUIMARÃES, 1985; CASSOL et al., 2010). Bittencourt et al. (2012) e Cançado et al. (2013b) encontraram larvas de *S. calcitrans*, no interior de colmos de cana-de-

açúcar, ficando em evidência o potencial de desenvolvimento do parasita, dificultando ainda mais o controle.

As larvas de *S. calcitrans* se desenvolvem em matéria orgânica, desde que esta possua um adequado gradiente de fermentação e umidade adequada (MACEDO, 2001). Os adultos devem realizar repasto sanguíneo para maturação sexual, tanto de machos quanto de fêmeas. As fêmeas precisam se alimentar para estimular a oogênese, alimentando mais de uma vez até a postura total (FOIL; HOGSETTE, 1994) e os machos para maturar a glândula acessória, responsável pela inoculação de esperma no corpo da fêmea (ANDERSON, 1978).

4. Criação de *S. calcitrans* em laboratório

Uma produção em larga escala de mosca-dos-estábulos, em laboratório, depende sobretudo de um perfeito conhecimento sobre a biologia deste parasito (BAILEY et al.,1975). No entanto, estudos enfocando técnicas de criação e manutenção deste inseto em laboratório são relativamente escassos; apesar da importância e promissora aplicação no desenvolvimento de biotecnologias.

O estudo de Lysyk (1998) aponta que o desenvolvimento dos imaturos de *S. calcitrans* não tem dependência da variação de temperatura; porém apresenta uma relação direta com o período de duração da postura das moscas. Já o estudo de Gilles et al. (2005) aponta que em temperaturas entre 20 a 25°C, os imaturos de *S. calcitrans* se desenvolvem de maneira satisfatória, enquanto que em temperaturas extremas abaixo de 15 e acima de 35°C houve um índice de mortalidade considerável. Desta forma, quanto mais elevada for à temperatura, é reduzido o tempo de transição entre uma fase de desenvolvimento e a seguinte (ANGULO LEWYLLE; LECUONA, 2014).

Em Uganda, foram observadas condições laboratoriais para a criação de mosca dos estábulos, com temperatura de 26,7ºC (80°F) e umidade relativa de 80%. Nestas condições, as larvas podem eclodir após 24 horas de incubação e o período de pupa ser de apenas dois dias (PARR, 1962).

No estudo de Bailey et al. (1975), os adultos permaneceram em um ambiente com umidade relativa em torno de 70% e temperatura em torno de 24°C. Para Hogsette (1992), a temperatura de armazenamento das dietas das larvas de *S. calcitrans* deve ser em média 26,7°C.

A temperatura ideal para manter, tanto as formas imaturas quanto adultos, é em torno de 24°C, com umidade relativa variando de 30 a 50% e um fotoperíodo de 12/12 horas na sala de criação (BAILEY et al., 1975; BERKEBILE et al., 2009).

Microorganismos, como as bactérias auxiliam na nutrição de larvas de Muscidae. Em geral, os locais escolhidos para oviposição pelas moscas possuem uma microbiota abundante, o bastante para suprir as necessidades alimentares das larvas. Estudo com *Musca domestica* demonstra que bactérias presentes nas cascas dos ovos, garantem o aporte nutricional para as larvas recém-eclodidas (WATSON et al., 1993 ; LAM et al., 2007).

Para o sucesso de uma colônia de mosca-dos-estábulos em laboratório é essencial que o sangue a elas fornecido esteja fresco e seja administrado pelo menos duas vezes ao dia, para corresponder ao que ocorre na natureza (SALEM et al., 2012). No estudo de Coelho (1988), o sangue utilizado para alimentação dos exemplares capturados a campo era de origem bovina e citratado (0,38%). Da mesma forma, procedeu Mello (1989) em relação à alimentação dos adultos.

No Brasil, a Embrapa Gado de Corte mantém uma colônia de *S. calcitrans* em condições laboratoriais propícias para realização de bioensaios com formas imaturas e adultos deste díptero (BARROS et al., 2014).

5. Surtos de *S. calcitrans* relacionados ao setor sucroalcooleiro no Brasil

O primeiro registro relacionando um surto de *S.calcitrans* com usinas de sucroalcooleiras, ocorreu em Piracicaba, estado de São Paulo em 1973 (NAKANO et al., 1973). Nos estados de São Paulo, Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, o aumento da abundância da mosca-dos-estábulos também está relacionado com a expansão das usinas sucroalcooleiras nestes estados (KASSAB et al., 2010; BITTENCOURT, 2012).

Em Mato Grosso do Sul, surtos são recorrentes desde o ano de 2009. Kassab (2012) aponta que um dos fatores determinantes para que ocorra o surto seja a proximidade entre fazendas e usinas sucroalcooleiras. A abundância de *S. calcitrans* na torta de filtro e palha com vinhaça indica um importante papel das usinas sucroalcooleiras no desenvolvimento da mosca (CORRÊA et al., 2013). Outro trabalho desenvolvido em Mato Grosso do Sul relata a presença de larvas de *S. calcitrans* no interior do tolete da cana-de-açúcar, demonstrando a sua permanência em condições ambientais adversas à aplicação de inseticidas (CANÇADO et al., 2013b). Bittencourt

(2012), em seu estudo no estado de São Paulo, não encontrou formas imaturas da mosca na palha.

Kassab et al. (2012), em algumas visitas técnicas pelo interior de Mato Grosso do Sul, em áreas de aplicação de vinhaça também não encontraram moscas-dos-estábulos, apesar de estas áreas serem apontadas por Corrêa et al. (2013) e Souza et al. (2014) como áreas preferenciais para a reprodução da mosca.

6. Controle de mosca dos estábulos

O manejo sanitário ambiental adequado, principalmente de dejetos, é essencial para que outras medidas de controle de *S.calcitrans* sejam efetivas. Remover fezes e restos de alimento dos locais onde os animais estão estabulados ou confinados é uma maneira de minimizar a reprodução do parasita (NAKANO et al., 1973).

A mosca-dos-estábulos não permanece por muito tempo sobre o corpo do animal. Sendo assim, não é conveniente direcionar os inseticidas sobre o corpo do hospedeiro, sendo mais eficiente destinar o uso de inseticidas aos lugares comumente utilizados para desenvolvimento deste díptero (LYSYK et. al., 2010). Algumas propriedades rurais em Mato Grosso do Sul na tentativa de controlar a infestação no gado, optaram por utilizar brincos impregnados com organofosforado inseticidas *pour on*. Essas medidas de controle apresentaram baixa eficiência, deixando em evidência a grande dificuldade de controle das populações de *S. calcitrans* pelo uso de inseticidas. Cabe ressaltar que se não houver uma destinação e manejo adequado de dejetos, o controle químico sozinho não terá resultados satisfatórios (BARROS et al., 2010).

A vinhaça utilizada para irrigar o solo nas usinas sucroalcooleiras, deve ser aplicada de acordo com a norma técnica vigente para todo território nacional (que determina os critérios utilizados para a aplicação deste subproduto em solo. Não é permitido aplicar vinhaça em áreas de preservação permanente, em áreas próximas ao perímetro urbano e a menos de 100 metros de distância dos poços de abastecimento (SÃO PAULO: CETESB, 2005).

Uma alternativa de controle emergencial é a queima profilática, utilizada para diminuir a proliferação de criadouros de mosca-dos-estábulos nas usinas antes que os possíveis surtos aconteçam. Ela é regulamentada e autorizada, quando justificada, pelo órgão do Sistema Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 1998). Cançado et al. (2013a) ponderam que o uso do fogo nas usinas sucroalcooleiras vem gradativamente sendo reduzido, motivo pelo qual a queima profilática só deve ser realizada mediante

autorização dos órgãos ambientais competentes. Como o vinhoto vem sendo utilizado como fertilizante e a palha pós colheita se acumula na superfície do solo, a mosca-dos-estábulos ali se reproduz em larga escala.

Diversas alternativas para o controle biológico da mosca-dos-estábulos são apresentadas na literatura. A predação de larvas de *S. calcitrans* por aves em uma usina sucroalcooleira foi observada por Oda e Arantes (2010). Os estudos com himenópteros parasitóides ainda necessitam de maiores esclarecimentos para que se possa definir seu potencial no controle de imaturos de *S. calcitrans* (RATCLIFFE et.al., 2002).

Desde a década de 80, as características patogênicas do *Bacillus thuringiensis* aos insetos, com poucas exceções, são exploradas para os estágios larvares. Contudo é indispensável desenvolver mais estudos a respeito do uso destes agentes biológicos como *Bacilo thuringiensis* no controle de moscas, como é o caso atual de *S. calcitrans* (WILTON; KLOWDEN, 1985). Possivelmente o uso destes agentes diminuiria o impacto no ambiente e a dependência por produtos químicos. Isso, consequentemente, reduziria o desenvolvimento de populações de moscas resistentes aos inseticidas. O mercado não disponibiliza muitas opções de produtos a serem utilizados diretamente nas fezes, assim se não tiver caráter seletivo poderá causar desequilíbrio ambiental, sobretudo aos inimigos naturais de *S. calcitrans* (LYSYK et al., 2010).

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. R. Mating behavior of *Stomoxys calcitrans*: Effects of a blood meal on the mating drive of males and its necessity as a prerequisite for proper insemination of females. **Entomological Society of America**, v. 71, n, 2. p. 379-386, 1978.

ANGULO LEWYLLE, M.; LECUONA, R. E. First colony of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) successfully established under laboratory conditions in Argentina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina.** La Plata, v. 73, n. 3-4, 2014 .

BADACCHINO, F.; MUENWORN, V.; DESQUESNES, M.; DESOLI, F.; CHAROENVIRIYAPHAP, T.; DUVALLET, G. Transmission of pathogens by Stomoxys flies (Diptera, Muscidae): a review. **Parasite.** v. 20, n. 26, p.1-13, 2013. DOI: 10.1051/parasite/2013026

BAILEY, D. L.; WHITFIELD T. L.; LABRECQUE G. C. Laboratory biology and techniques for mass Producing the Stable Fly *Stomoxys calcitrans* (L.)(DIPTERA: MUSCIDAE. **Journal of Medical Entomology**, v.12, n.2, p. 189-193, 1975.

BARROS, A.T.; KOLLER, W.W.; CATTO, J. B.; SOARES, C.O. Surtos por *Stomoxys calcitrans* em gado de corte no Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.11, p. 945-952, 2010.

BARROS, T. M.; SOUZA, T. F.; CANÇADO, P. H. D. Metodologia para bioensaios com imaturos de *Stomoxys calcitrans.* **Congresso Brasileiro de parasitologia veterinária,**2014.

BATRA, S.W.T. Biological control in agroecosystems. **Science**, v. 215, n.8, p. 134-139, 1982.

BERKEBILE, D. R.; WEINHOLD, A. P. & TAYLOR, D. B. A new method for collecting clean stable fly (Diptera: Muscidae) pupae of known age. **Southwestern Entomologist,** v. 34, n.4, p. 469-476. 2009,

BITTENCOURT, A. J. Avaliação de surtos e medidas de controle ambiental de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) na Região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária,** v. 34, supl.1, p. 73-82, 2012.

BITTENCOURT, A. J., MOYA BORJA, G. E. *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae): preferência por locais do corpo de bovinos para alimentação. **Revista Brasileira de Zoociências**, Juiz de Fora, v. 4, n.1, p. 75-83, 2002

BROCE, A. B.; HOGSETTE, J.; PAISLEY, S. Winter feeding sites of hay in round bales as major developmental sites of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) in pastures in spring and summer. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n.6, p. 2307-2312, 2005.

BRASIL. Decreto N º 2.661, de 8 de Julho de 1998. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/d2661.htm . Acesso em 30 Jun 2015.

BRUES, C.T. The geographical distribuition of the Stable fly, *Stomoxys calcitrans*. **J. Economic Entomology.** 6: 419-477, 1913.

BURALLI G. M. & GUIMARÃES J. H. Controle de *Musca domestica* Linnaeus (Diptera, Muscidae) em área de manejo de vinhaça (Macatuba, São Paulo, Brasil). **Revista Brasileira de Zoologia.** 3(1): 1-6, 1985.

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

CANÇADO, P. H. D.; BARROS, A. T. M.; CATTO, J. B.; KOLLER, W. W.; SOARES, C. O. Uso da queima profilática no controle emergencial e prevenção de surtos pela mosca-dos-estábulos (*Stomoxys calcitrans*) em propriedades produtoras de cana-de-açúcar. Campo Grande: **Embrapa Gado de Corte**, p. 1-4, 2013a.

CANÇADO, P. H. D.; FERREIRA, T.; PIRANDA, E. M.; SOARES, C. O. Sugarcane stems as larval habitat for the stable fly (*Stomoxys calcitrans*) in sugarcane plantations. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.6, p. 741-744, 2013b.

CASSOL, D. M. S.; SANDOVAL, G. A. F.; HENRIQUE, C. H.; GIL, P. C. N.; ORTOLAN, M. D. D. V. Controle integrado da *Stomoxys calcitrans*, a mosca dos estábulos. **A Hora Veterinária.** N, 174, 2010

CORRÊA, E. C.; RIBAS, A. C. A.; CAMPOS, J.; BARROS, A. T. M. Abundância de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em diferentes subprodutos canavieiros. **Pesquisa Veterinária Brasileir**a, v. 33, n.11, p. 1303-1308, 2013.

ÉLKAN, P. W.; PARNELL, R.; SMITH, J. L. D. A die-off of large ungulates following a Stomoxys biting fly out-break in lowland forest, northern Republic of Congo. **African Journal of Ecology.** v.47, n.4, p. 528-536, 2009.

FOIL L. D.; HOGSETTE J. A. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. **Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties.** v**.**13, n.4, 1125-1158, 1994.

FRAENKEL G, BHASKARAN G. Pupariation and pupation in Cyclorrhaphous Flies (Diptera): Terminology and interpretation. **Annals of the Entomological Society of America.** v. 66, n.2, 418-422, 1973.

FREITAS, T. R. P. Estudo sobre o potencial da mosca de estábulo *Stomoxys calcitrans* L. como portadora e veiculadora do vírus da leucemia bovina (Retroviridae). 78p. **Tese (Mestrado)** – Universdade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1985.

GILLES, J. Dynamique et gene tique des populations d'insectes vecteurs. Les stomoxes, *Stomoxys calcitrans* et *Stomoxys niger niger*, dans les elevages bovins reunionnais. **PhD thesis,** Universite de La Reunion, France, 2005.

GONCALVES, N. M. F. M.; VEIGA, L. A. S. Variação nos hábitos alimentares da mosca de estábulos *Stomoxys calcitrans* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba , v. 41, n. 3, p. 1-5, 1998 .

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

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária.** São Paulo, Editora Plêiade/FAPESP, 2001.218p..

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LÉON, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, n.2, p. 150-156, 2014.

HOGSETTE J. New Diets for Production of House Flies and Stable Flies (Diptera: Muscidae) in the Laboratory. **Veterinary Entomology** 85, n.6, 2291-2294, 1992.

KOLLER, W. W.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I.; SOARES, C. O.; PAIVA, F.; TAVARES, L. E. R.; GRACIOLLI, G. **Surtos da mosca-dos-estábulos, *Stomoxys calcitrans* em Mato Grosso do Sul: novo problema para as cadeias produtivas da Carne e Sucroalcooleiras?** Embrapa Gado de Corte. 2009.31p. (Documentos/ Embrapa Gado de Corte, 175). http://www.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc_pdf/DOC175_online.pdf

KASSAB, S. O.; GAONA, J. C.; LOUREIRO, E. S.; MOTA, T. A.; FONSECA, P. R. B. & ROSSONI, C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulos no Mato Grosso do Sul: medidas de controle e prevenção. **Revista Agrarian**, v. 5, n.5, p. 84-88, 2012.

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

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

LYSYK, T.J, KALISCHUK-TYMENSEN L. D, ROCHON K, SELINGER L. B. Activity of *Bacillus thuringiensis* Isolates Against Immature Horn Fly and Stable Fly (Diptera:Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v.103, n.3, 1019-1029, 2010.

MUIR, F. On the original habitat of *Stomoxys calcitrans*. **Journal of Economic Entomology,** v. 6. n. 6, p. 459-457, 1914.

NAKANO, O.; PARO, J. R. L. A.; CAMARGO, A. H. Controle químico de adultos e larvas da mosca doméstica. **O Biológico**, v. 39, p. 5-8, 1973.

ODA, F. H.; ARANTES, C. A. Surto populacional da mosca-dos-estábulos *Stomoxys calcitrans*, Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) no município de Planalto. In: **ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR**, 6., 2009, São Paulo. Anais Maringá: Cesumar, p. 27 a 30, 2010.

PARR, H. C. M. Studies on *Stomoxys calcitrans* (L.) in Uganda, East Africa II Notes on life-history and behavior. **Bulletin of Entomological Research.** V.53, n.2, p.437-443.1962.

RATCLIFFE, T. S. T.; ROBERTSON, H. M.; JONES, C. J.; GERMAN, A. B.; WEINZIERL, R.A. Assessment of Parasitism of House Fly and Stable Fly (Diptera: Muscidae) Pupae by Pteromalid (Hymenoptera: Pteromalidae) Parasitoids Using a Polymerase Chain Reaction Assay. **Journal of Medical Entomology**. 39(1) 52-60, 2002.

SALEM, A.; FRANC, M.; JACQUIET, P.; BOUHSIRA, E.; LIÉNARD, E. Feeding and breeding aspects of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. **Parasite.** 19(4): 309–317, 2012.

SMITH, T. A. The maturation of the fly larvae following removal from the larval medium. **California Vector Views**. v.16, n.8, p.72-78, 1969.

SOUZA, T. F.; OLIVEIRA, H.; BARROS, A. T. M.; SOARES, C. O.; CANÇADO, P. H. D. Abundância de *Stomoxys calcitrans* em ambientes de usina sucroalcooleira. **Congresso brasileiro de parasitologia veterinária**, 2014.

WATSON, D.W.; MARTIN P. A.W.; SCHIMIDTMANN, E. T. Egg yolk and bacteria growth medium for *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Journal of Medical Entomology.** v.30, n.4, p. 820–823, 1993.

ARTIGO

Artigo a ser submetido à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Full Article

AVALIAÇÃO DE SUBSTRATOS PARA CRIAÇÃO DE MOSCA-DOS-ESTÁBULOS *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) EM LABORATÓRIO

EVALUATION DEVELOPMENT OF SUBSTRATES FOR STABLE FLY *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) REARING IN LABORATORY

Franciely da Silva Varoni de Moura[1], Paulo Henrique Duarte Cançado[2;] Taciany Ferreira de Souza Dominghetti[1], Eliane Mattos Piranda[3]

[1]Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, Campo Grande, MS, Brasil

[2]Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa Gado de Corte - CNPGC, Campo Grande, MS.

3 Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS.

Abstract: *Stomoxys calcitrans* is a blood-sucking fly responsible for health and economic losses to livestock production. Stable fly outbreaks in Brazil related to the expansion of sugarcane industry, highlight the need to improve control of this insect. Laboratory research to achieve this goal include bioassays using insect colonies. This study aimed to evaluate some substrates in order to improve maintennance of immature *S.calcitrans* at the laboratory. In this study, three types of dog food, one type of bovine food and cattle manure mixed to a know rearing diet a in different proportions where compared to the standard diet used for *S. calcitrans* larvae maintennance. The use of animal foods was not favorable to the pupation process and subsequent adult emergence; on the other hand, roplacement of meat flour by manure allowod the complete development of all imamture in the laboratory. This study demonstrated that it is possible to synchronize and accelerate the development of these insects in the laboratory

Keywords: Entomology, control, livestock, biology

Resumo: *Stomoxys calcitrans* é um díptero hematófago que está causando grandes impactos sanitários e econômicos à pecuária bovina. Os frequentes surtos no Brasil, relacionados com a expansão das usinas sucroalcooleiras, aponta para a necessidade de estudos sobre a biologia da mosca visando entre outros à realização de bioensaios toxicológicos. Neste estudo, foram testados como substratos de criação três tipos de rações para alimentação de cães, um tipo de ração bovina e fezes bovinas em diferentes proporções, comparadas a um substrato padrão utilizado para criação das larvas de mosca-dos-estábulos em laboratório. A formulação de substrato contendo rações para a criação não foi favorável ao processo de pupação e, posterior emergência dos adultos de *S. calcitrans*; enquanto que a substituição de farinha de carne por fezes permitiu o desenvolvimento de todos os estágios da mosca em laboratório. O presente trabalho demonstra que é possível sincronizar e acelerar a criação destes insetos em laboratório.

Palavras- chave: Entomologia, controle, pecuária

Introdução

Stomoxys calcitrans é um diptero hematófago amplamente distribuído por todo o mundo e endêmico em diversas regiões do Brasil. Desde 1973 surtos relacionados a este díptero foram noticiados. Surtos frequentes em regiões de pecuária e usinas sucrooalcoleiras próximas, chamam a atenção sobre a necessidade de estudos de monitoramento deste parasita (NAKANO et al., 1973; KASSAB et al., 2012).

Poucos estudos investigam a criação deste inseto em laboratório, evidenciando os parâmetros biológicos em função dos fatores abióticos. O trabalho de Paar (1962) relata que as moscas se alimentavam duas vezes ao dia, em almofadas absorventes com sangue bovino citratatado. Assim como Mello (1989), que também oferecia sangue citratado aos bovinos, porém a cada 24 horas. No período de postura, o substrato utilizado nos trabalhos de Christmas (1970) e Moraes (1990) consistia basicamente em farinha de trigo, farelo de carne, bicarbonato e cana de açúcar. Sabendo que *S. calcitran*s tem preferência por ovipor e se desenvolver em matéria orgânica e vegetal em decomposição (SOULSBY, 1987), este estudo visou avaliar diferentes substratos para criação do díptero em laboratório empregando produtos destinados à nutrição animal ricos em fibras, farelo de carne, soja e com alto teor fermentativo.

Os frequentes surtos de mosca-dos-estábulos têm causado prejuízos econômicos, interferindo cada vez mais na pecuária bovina brasileira e consequentemente, na economia nacional. Aumenta a cada ano a necessidade de bioensaios para se estabelecer métodos alternativos de controle do parasita. Com a necessidade de se manter uma colônia viável em laboratório para a realização de tais estudos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar novas dietas para o desenvolvimento de imaturos de *S.calcitrans*, visando otimizar a criação e manutenção da colônia em laboratório.

Material e Métodos

Local de execução

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Entomologia Veterinária, na Embrapa Gado de Corte em Campo Grande, MS, no período de abril a novembro de 2014.

Colônia de *S. calcitrans*

A criação da mosca-dos-estábulos iniciou-se a partir de larvas e pupas coletadas em subprodutos do processo de produção de açúcar e álcool de usinas sucroalcooleiras situadas em Alto Taquari, no estado de Mato Grosso e Vista Alegre em Mato Grosso do Sul, no mês de agosto de 2012.

O material biológico coletado, proveniente de poças de vinhaça e torta de filtro, foi encaminhado ao Laboratório de Entomologia Veterinária em caixas plásticas (56,4 x 38,5 x 37,1 cm) cobertas com tela de nylon na tampa e nas laterais (Fig.2). As larvas existentes neste material permaneceram na caixa até a pupação. Posteriormente, as pupas foram coletadas através da técnica de imersão em água e transferidas para caixas plásticas até a emergência dos adultos.

A alimentação dos exemplares adultos consistiu na administração diária de sangue bovino citratado (citrato de sódio a 0,38%) obtido em um abatedouro frigorífico da região e oferecido em absorvente feminino (sem gel e sem neutralizador de odores[1]. O sangue era oferecido duas vezes ao dia que era depositado sobre a caixa e em contato direto com a tela de nylon (Fig. 2). As moscas se deslocam para a parte superior da caixa e ali se alimentam. Em época de postura, um tecido preto úmido era colocado na parte superior da caixa para que as moscas ali depositassem seus ovos, os quais eram lavados em água corrente posteriormente, colocada em bandejas contendo o substrato

[1] MISS e outra marca

alimentar. Este meio de criação consistiu em uma mistura de cana-de-açúcar (330 g), farelo de soja (125 g), farinha de carne (40g), bicarbonato de sódio (5g) e água destilada (250 ml) (MACEDO, 2001). Os itens que compõe o substrato eram obtidos na própria Embrapa Gado de Corte, exceto a farinha de carne que se obteve no frigorífico mencionado.

A dieta sofreu algumas adaptações, pois, o farelo de trigo inicialmente utilizado apresentava algum tipo de contaminação prejudicial à colônia, tendo que ser substituído por farelo de soja. Além disso, passou-se a utilizar o dobro de água da receita acima mencionada.

A colônia foi mantida em sala de criação sob a temperatura de 27±1ºC, sendo aferida diariamente através de dois termômetros, sendo um de mercúrio e outro digital e a 70±10% de umidade relativa através de dois umidificadores.

Bioensaios

Em todos os tratamentos os substratos foram preparados, homogeneizados e armazenados separadamente em potes plásticos (1,5 L). Na tampa de cada pote foi realizada uma abertura, na qual se encaixava na moldura um tecido de organza para permitir a ventilação e adequada fermentação do substrato. Estes potes foram mantidos na sala de criação em sob as seguintes condições: (27±1ºC e 70±10% de umidade relativa) por um período de 72 de horas para sua maturação, seguindo a recomendação de Cançado et al. (2014). Após esse período, foi realizada coleta dos ovos para os bioensaios. Foram utilizados posturas efetuadas em um período de duas horas, utilizando um decido de algodão preto mantido sobre a tela de nylon da gaiola de criação.

Para cada tratamento foram utilizados 100g de substrato depositados em potes transparentes plásticos (350 mL), perfazendo seis repetições por tratamento (no total de nove tratamentos). Foram pesados 15g de fezes bovinas, e colocados como uma "pastilha" sobreposta ao substrato a ser avaliado. Posteriormente, um filtro de papel de 4 cm de diâmetro foi posicionado sobre a pastilha de fezes (Fig. 6), sobre o qual os 50 ovos por repetição, foram depositados com auxílio de um pincel umedecido com água. Cada pote foi coberto com tecido de organza, para permitir a ventilação do substrato e evitar possível contaminação por postura de outros dípteros.

Através do pote foi possível visualizar como se dava o desenvolvimento da fase larval, pela quantidade de larvas se deslocando no interior do substrato e respectivo vigor.

Em torno de 10 dias após a postura (início do bioensaio), após concluído o processo de pupação, procedeu-se a coleta das pupas. Cada pupa era delicadamente separada do substrato com o auxílio de uma pinça entomológica. No caso de existirem larvas de terceiro ínstar, estas eram colocadas novamente em contato com o substrato e retornavam à sala de criação. Em três dias estas larvas teriam seu processo de pupação completo. As pupas separadas do substrato eram colocadas em placas de petri, identificadas de acordo com cada tratamento e repetição. Após a emergência dos adultos, estes eram quantificados para calcular o percentual de emergência em cada tratamento.

Desta forma, foram realizados três bioensaios diferentes para avaliação do desenvolvimento de *S. calcitrans* em laboratório, como descrito abaixo.

Bioensaios utilizando fezes bovinas

As fezes utilizadas nos bioensaios foram coletadas diretamente da ampola retal de bovinos não tratados com produtos antiparasitários, pertencentes ao rebanho da Embrapa Gado de Corte. Após coleta as fezes foram acondicionadas em sacos plásticos e imediatamente congeladas e armazenadas em freezer (aproximadamente -10°C). No dia antecedente ao bioensaio as fezes foram retiradas do freezer e mantidas em uma geladeira convencional para descongelamento. Caso permanecessem congeladas, as fezes seriam expostas à água previamente aquecida em microondas.

Os substratos utilizados como alimento larval consistiram dos seguintes tratamentos:

Grupo SP- Substrato padrão contendo o dobro de água (Macedo, 2001, modificado) (SP);

Grupo F1- SP com substituição de 50g farinha de carne por 50 g de fezes bovinas;

Grupo F2 – SP com substituição 50g de farinha de carne por 100g de fezes bovina;

Grupo F3 - SP com substituiçãõ 50g de farinha de carne por 150g de fezes bovina;

Grupo F4 –SP com substituição 50g de farinha de carne por 200g de fezes bovina.

Bioensaios utilizando ração para cães

Como componentes básicos da formulação das rações estão relacionados: proteínas, milho e farelo de soja. As rações destinadas à alimentação de cães adultos e filhotes foram adquiridas em lojas especializadas neste segmento, observando o prazo de validade impresso no rótulo. Cada produto foi armazenado ainda lacrado de forma que não houvesse contaminantes do meio externo. No dia da realização do experimento as embalagens foram abertas e seu conteúdo devidamente pesado e utilizado na proporção de um quilo por tratamento.

Grupo P- Substrato padrão contendo o dobro de água (Macedo, 2001, modificado) (SP);

Grupo F4 – SP com substituição 50 g de farinha de carne por 200 g de fezes bovinas

Grupo R1 – 410 g de ração para cães a base de vegetais.

Grupo R2 – 410 g de ração para cães filhotes[2].

Grupo R3– 410 g de ração para cães adultos a base de carne[3].

Bioensaios utilizando ração para bovinos

A ração utilizada para compor este substrato tratava-se de um alimento peletizado destinado à nutrição de bovinos, adquirida em loja agropecuária, observando a data de validade impressa no rótulo. A ração a ser testada passou pelo mesmo processo dos demais substratos, desde o armazenamento até a execução do teste.

Grupo P - Substrato padrão contendo o dobro de água (Macedo, 2001, modificado) (SP);

Grupo F4 – SP com substituição de 50 g de farinha de carne por 200 g de fezesbovina.

Grupo R4 – SP com substituição de 50g de farinha de carne por 410g de ração para bovinos.

Grupo R5 – 410g de ração para bovinos[4].

Parâmetros avaliados

A eclosão das larvas foi determinada após 72 horas do início do teste, para garantir o término do processo de eclosão. A avaliação da eclosão foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópio, no qual se verificou a quantidade de ovos e cascas de ovos. A coleta das pupas foi realizada 12 dias após a postura, sendo então

[2] Max Filhotes – Max Alimentos S/A -
[3] Faro Adultos – Guabi Pet Care S/A – Campinas /SP
[4] Vialac – Socil S/A – Paulinia/SP.

mantidas em placas de *petri* descartáveis para emergência dos adultos. Posteriormente, os adultos foram quantificados para determinar a taxa de emergência em relação aos meios testados. O percentual de eclosão foi calculado em relação ao total de ovos expostos ao substrato, e os percentuais de pupação e emergência em relação ao número de larvas eclodidas em cada tratamento, uma vez que o processo de eclosão não é influenciado pelo substrato e sim pelo processo de cópula e oviposição.

Análises dos dados

Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey, salvo os casos que não seguiram distribuição normal, nos quais se utilizou o teste de Kruskall-Wallis (SAMPAIO, 2007). As médias foram consideradas significativas para o desenvolvimento de *S. calcitrans* em diferentes tipos de substrato quando $P<0,05$.

Resultados e Discussão

Os bioensaios realizados demonstram a importância de se padronizar os substratos utilizados na criação de *S. calcitrans* em laboratório para fortalecer as colônias e, assim, fornecer número suficiente de moscas saudáveis para diversos propósitos. Independente do substrato utilizado, o cuidado no manuseio dos ovos é de especial importância, a fim de garantir a eclosão larval e etapas subsequentes.

A mosca-dos-estábulos não se desenvolve em temperaturas mais extremas, sendo o estágio larval prejudicado em temperaturas superiores a 30ºC (AGUIAR-VALGODE; MILWARD-DE-AZEVEDO, 1992) por esta razão é que os potes utilizados nos bioensaios eram tampados com tecido de organza, para aumentar a ventilação e impedir que a temperatura interna do pote não se elevasse a ponto de prejudicar o desenvolvimento larval. O fator temperatura deve ser levado em consideração quando se trata de criação de insetos em laboratório, já que *S. calcitrans* não tolera temperaturas extremas. Em relação à emergência de adultos observou-se neste estudo elevada taxa de pupação, ou seja, durante a fase larval ocorreram as maiores perdas durante o ciclo da mosca-dos-estábulos. De acordo com Mello (1989) as larvas de terceiro instar buscam em seu substrato de desenvolvimento, um local com condições de umidade adequadas para iniciar a formação do pupário. As larvas que puparam nestas condições em sua maioria deram origem a adultos saudáveis.

Após 72 horas de início dos bioensaios foi possível visualizar os ovos abertos, assim a quantificação das larvas eclodidas foi realizada de forma indireta. De acordo com Cançado et al. (2014), este tempo favorece um desempenho favorável de eclosão para *S. calcitrans*. A metodologia utilizada permitiu a observação da movimentação das larvas de segundo e terceiro instar no pote transparente, não sendo necessário manipular os exemplares e supervisionar assim as do ciclo vital.

A partir do oitavo dia de deposição dos ovos nos substratos, observou-se o início do processo de pupação, após mais sete dias a emergência dos adultos era concluída independente do substrato a qual foram expostos os ovos.

Bioensaios utilizando fezes bovinas

Os tratamentos utilizados P (controle), F1, F2, F3, F4 tem como base o substrato de Macedo (2001) modificado, tendo sido adicionadas fezes bovinas nos tratamentos F1, F2, F3 e F4.

Considerando o número de ovos (100%) o percentual de eclosão das larvas no grupo controle P (86%) é considerado um número elevado. Comparando a eclosão dos demais tratamentos ao substituir a farinha de carne e aumentar gradativamente a quantidade de fezes observamos que os grupos F2, F3 e F4 não diferiram significativamente entre si em relação à taxa de eclosão (Figura 1). A fase larval de *S. calcitrans* é o estágio de vida mais sensível do parasita, no qual se tem as maiores perdas, assim como ocorreu neste estudo; os exemplares que conseguiram completar a pupação em sua maioria deram origem a adultos morfofisiologicamente saudáveis (PEDROSO-DE-PAIVA et al., 1994).

Entre os bioensaios utilizando fezes, o tratamento que obteve a maior média de pupação foi o F4. Este tratamento por apresentar menor variação na amplitude de emergência de adultos, foi utilizado como substrato de comparação nos bioensaios utilizando ração para cães e bovinos, assim como o substrato padrão (grupo P). As pupas concentravam-se na superfície do substrato e laterais do pote. As larvas de moscas utilizam bactérias presentes nas fezes como fonte de nutrição e também podem se alimentar de bactérias oriundas da digestão da celulose, ou seja, retiram desses microorganismos nutrientes que favoreçam seu desenvolvimento. Um substrato enriquecido com fezes, ricas em bactérias, proporciona para as larvas uma dieta rica em nutrientes (KEIDING, 1976; GILLES et al., 2008) e, provavelmente, por causa destes fatores é que o substrato de maior pupação tenha sido o F3 (Tabela 1).

Contudo, nem todas as bactérias presentes nas fezes servem como fonte rica de alimento para *S. calcitrans*. No estudo de Rochon et al. (2004), a bactéria *Escherichia coli* não é tão fácil de ser digerida e utilizada na nutrição das larvas de *S. calcitrans*, ao contrário da *Musca domestica*. Neste estudo, as fezes foram congeladas, armazenadas em freezer a aproximadamente -10°C sabe-se que *E.coli* se reproduz bem em temperatura ambiente e até mesmo em meios pouco ácidos, entretanto baixas temperaturas são condições desfavoráveis à bactéria (GOMES et al., 2011). Desta forma, acredita-se que *E. coli* tenha sido inativada pelas condições adversas de temperaturas a que foi submetida neste experimento o que pode ter favorecido aos substratos contendo fezes em sua formulação.

As fezes utilizadas no presente bioensaio eram provenientes de animais sabidamente livres de tratamento antiparasitários. Sabe-se que as avermectinas são parasiticidas utilizadas para o controle de nematódeos gastrintestinais, principalmente de bovinos, podendo os animais tratados excretarem durante vários dias resíduos nas fezes (REINECKE, 1994). Por esta razão, animais tratados com este parasiticida não devem ser usados como fornecedores de fezes enquanto apresentarem resíduos do produto. De acordo com Fincher (1992), pode haver inibição no desenvolvimento de larvas de *Haematobia irritans* por até 63 dias. Floate (2001) relatou que após utilizar ivermectina por via injetável em bovinos, esta apresentou uma ação larvicida contra *S. calcitrans*, por 35 dias pós-tratamento. Este estudo demonstra a importância que a origem das fezes bovinas pode ter, tanto na criação e manutenção da mosca-dos-estábulos, quanto em futuros estudos envolvendo antiparasitários endectocidas no controle deste díptero.

Bioensaios utilizando ração para cães

Os grupos P e F4 demonstraram-se promissores, isto é, o parasito completou seu ciclo; o mesmo não aconteceu com os demais tratamentos. O percentual de eclosão, pupação e emergência de adultos do grupo controle (P) e F4, encontram-se na tabela 2.

Na rotina laboratorial, foi observadoo que os adultos do bioensaio F4 emergiram cerca de três dias antes do grupo com substrato padrão (P). O substrato com adição de fezes (F4) obteve percentuais de eclosão, pupação e emergência superiores a 90%, o que demonstrou que este é um meio propício à criação de *S. calcitrans*.

O grupo contendo ração para cães de pequeno porte (R1), apesar do alto percentual de eclosão (95%), teve uma das menores taxas de emergência de adultos

(14,4%) dos grupos testados. Este baixo índice de desenvolvimento foi inesperado, pois dentre os substratos testados este era o que apresentava uma menor alteração devido a proliferação fúngica.

A menor taxa de pupação em relação ao número de larvas eclodidas foi do tratamento utilizando ração para cães filhotes (R2). Neste tratamento, o papel filtro sobre a pastilha de fezes encontrava-se com muitas sujidades, com uma camada de líquido de consistência gelatinosa, revestindo a maior parte da superfície. Alguns ovos se encontravam nas laterais do papel filtro que estavam mais limpos. Sendo assim, no decorrer do teste observou-se desde grande quantidade ou nenhuma larva em meio ao substrato, e finalizando os dias previstos para avaliação do teste, percebeu-se que o meio não foi propício para o desenvolvimento de *S. calcitrans*.

Apesar do percentual de eclosão do R3 (45,9%), em todas as repetições havia larvas mortas sobre o papel filtro. As larvas encontravam-se sem atividade, imóveis, e quase não era possível visualizá-las em meio ao substrato, o que refletiu na taxa de emergência. Este substrato apresentava aspecto escuro, sugerindo a proliferação de algum microorganismo, visto que o local estava úmido e desfavorável para o desenvolvimento das larvas.

As pouquíssimas larvas presentes estavam mortas ou pela proliferação fúngica e/ou redução de bactérias simbióticas. Houve uma grande perda de larvas de terceiro estadio, de maneira que estas se encontravam predominantemente mortas na lateral do pote. As larvas que resistiram iniciaram o processo de pupação previsto, com a ressalva de que algumas apresentaram uma morfologia vermiforme, o que resultou em um reduzido (35,4%) número de adultos emergidos.

Bacillus thuringiensis (Bt) dos sorotipos *B. thuringiensis aizawai, B.thuringiensis israelensis, B. thuringiensis kurstaki e B. thuringiensis tenebrionis* são apresentados na literatura como forma de controle de insetos, incluindo os da ordem Diptera (GLARE; O' CALLAGHAN 1998; JOUNG; CÔTÉ 2000). Assim a presença de Bt ou de sua toxina na formulação das rações acima mencionadas pode ter relação direta com a morte das larvas. A presença desses microoganismos na formulação das rações é justificada pelo fato do milho ser geneticamente modificado por meio da inserção de uma proteína denominada cry1 Ab de *B. thurigiensis*, para que este, então, não sofra danos ao ser atacado por insetos (VERCESI et al. 2009).

Bioensaios utilizando ração para bovinos

A adição de ração para bovinos ao substrato de criação foi inadequada para o desenvolvimento de *S. calcitrans* em laboratório. Os substratos apresentavam aspecto seco, condições desfavoráveis para o desenvolvimento dos ovos e eclosão larval.

Após 72 h da colocação dos ovos na pastilha de fezes, o forte odor de amônia era bastante perceptível e não foi possível constatar a eclosão das larvas. No decorrer dos dias ao se verificar que não havia larvas se movimentando dentro do substrato, este foi examinado visualmente e verificado que não havia larvas eclodidas. Desta forma demonstrou-se que *S. calcitrans* não completou seu ciclo evolutivo neste substrato.

Conclusões

Os resultados do presente trabalho permitiram concluir que:

- As rações comerciais testadas não foram eficientes para criação de *S. calcitrans* em laboratório;
- A adição de fezes bovinas nas quantidades de 50, 100, 150 e 200g permitiu a criação de *S. calcitrans* sem interferências significativas na manutenção da colônia em laboratório;
- A adição de fezes bovinas nas quantidades de 150 e 200g proporcionaram maiores taxas de eclosão larval e emergência de adultos de *S. calcitrans* em laboratório.

Considerações finais

A adição de fezes nas proporções citadas acelerou o desenvolvimento das larvas, o que permite acelerar o ciclo em laboratório para criação deste inseto em larga escala, disponibilizando, assim, número elevado de moscas com características desejáveis para atender à demanda de outras pesquisas.

Referências

Aguiar-Valgode M, Milward-De-Azevedo EMV. Determinação das exigências térmicas de *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae), em condições de laboratório. *Mem Inst Osv Cruz* 1992; 87(1): 11-20.

Anderson Jr. Mating behavior of *Stomoxys calcitrans*: Effects of a blood meal on the mating drive of males and its necessity as a prerequisite for proper insemination of females. *J Econ Entomol*1978; 71: 379-386.

Barros ATM, Koller WW, Catto JB, Soares CO. Surtos por *Stomoxys calcitran s*em gado de corte no Mato Grosso do Sul, Brasil. *Pesq Vet Bras* 2010; 30(11): 945-952.

Batra SWT. Biological control in agroecosystems. *Science* 1982; 4529 (215): 134-139.

Bayley DL, Whitefield TL, Smittle BJ. Flight and dispersal of the stable fly. *J Econ Entomol* 1973; 66(2): 410-411.

Bittencourt AJ. Avaliação de surtos e medidas de controle ambiental de *Stomoxys calcitrans* (díptera Muscidae) na região Sudoeste do Brasil. *Rev Bras Med Vet* 2012; 34(1): 73-82.

Cançado PHD, Barros ATM, Catto JB, Koller WW, Soares, CO. Uso da queima profilática no controle emergencial e prevenção de surtos pela mosca-dos-estábulos (*Stomoxys calcitrans*) em propriedades produtoras de cana-de-açúcar. Embrapa Gado de Corte 2013; 126:1-4, 2013.

Cançado PHD, Souza TF, Oliveira H, Barros ATM, Piranda EM. Efeito do período de maturação do substrato no desenvolvimento de imaturos de *Stomoxys calcitrans*. Congresso brasileiro de parasitologia veterinária, 2014.

Fincher, GT. Injectable Ivermectin for Cattle: Effects on some Dung-Inhabiting Insects. *Env Entomol* 1992; 21(4): 871-876.

Gomes QB. et al., Resistência da Bactéria *E. Coli*. IX Simpósio de Base Experimental das Ciências Naturais da Universidade Federal do ABC , 2011.

Lysyk TJ. Relationships between teperature and life-history parameters of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *J Med Entomol* 1998; 35(2): 107-119.

Foil LD, Hogsette JA. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Rev Sci Tech Int Epiz* 1994; 13(4): 1125-1158.

Glare TR. & NMO' Callaghan. Environmental and Health Impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health, Grasslands, New Zealand. Division, *Ag Res* 1998. 58 p.

Grisi L, Leite RC, Martins JRS, Barros ATM, Andreotti R, Cançado PHD, Léon AAP, Pereira JB, Villela HS. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2014; 23(2): 150-156.

Joung KB & CÔTÉ JC. A Review of the Environmental Impacts of the Microbial Insecticide Bacillus thuringiensis. *Tecl Bull* 2000; 29:16 p.

Kassab SO, Gaona JC, Loureiro ES, Mota TA, Fonseca PRB, Rossoni C. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulos no Mato Grosso do Sul: medidas de controle e prevenção. *Rev Agra* 2012; 5(15): 84-88.

Koller WW, Catto JB, Bianchin I, Soares CO, Paiva F, Tavares LER, Graciolli G.. Surtos da mosca-dos-estábulos, *Stomoxys calcitrans* em Mato Grosso do Sul: Novo Problema para as Cadeias Produtivas da Carne e Sucroalcooleira. Embrapa Gado de Corte. 2009; 21:1-31.

Lam K, Geisreiter C, Gries G. Ovipositing female house flies provision offspring larvae with bacterial food. *Entomol Exp Appl* 2009; 133(3): 292-295.

Macedo DM. Desenvolvimento pós-embrionário de *Musca domestica (Díptera: Muscidae) e Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae)* criadas em fezes de bovinos

tratados com diferentes avermectinas [Tese]. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2001.

Mello RP., Estudo de alguns aspectos de desenvolvimento biológico e do comportamento, em laboratório, de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae). [Tese]. Itaguaí : Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 1989.

Nakano O, Paro Jr LA, Camargo AH. Controle químico de adultos e larvas da mosca doméstica. *Bio* 1973; 39 (1):5-8.

Reinecke RK., Parasitic control in intensive vs. Non-intensive systems ruminants. *Vet Parasitol* 1994. 54 (1-3): 49-67.

Salem A, Franc M, Jacquiet P, Bouhsira E, Liénard E. Feeding and breeding aspects of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. *Parasite.* 2012; 19(4): 309-317.

Sampaio, I. B.M. Estatística aplicada à experimentação animal 3a. edição. Editora FepMVZ 2007.

Smith TA. The maturation of fly larvae following removal from the larval medium. *Cal Vec Views*. 1969; 16(8): 73-78.

Soulsby EJL. Parasitología y enfermedades parasitárias em los animales domésticos. 7a Ed. México, Interamericana 1987. 823 p.

Lysyk, TJ, Kalischuck-Tymensen LD, Rochon K, Selinger LB. Activity of *Bacillus thuringiensis* Isolates Against Immature Horn Fly and Stable Fly (Diptera: Muscidae). *J of Econ Entomol* 2010; 103(3): 1019-1029.

Watson DW, Martin PAW, Schimidtmann ET. Egg yolk and bacteria growth medium for *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J Med Entomol* 1993; 30(4):820–823.

Control of the stable fly, Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae), on St. Croix, U.S. Virgin Islands, using integrated pest management measures. II. Mass rearing and sterilization.

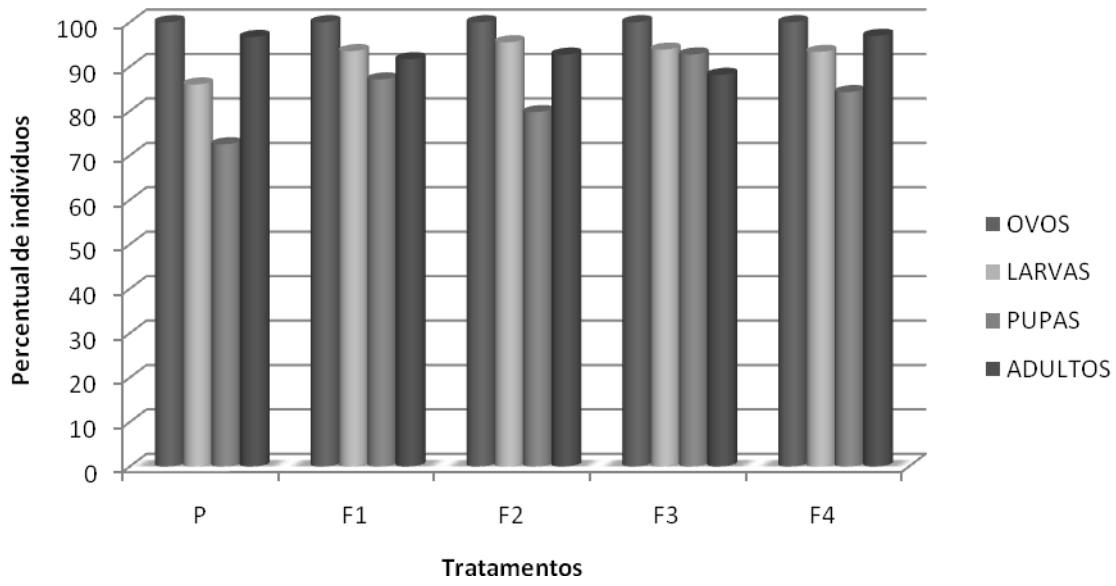

Figura1: Percentual de eclosão, pupação e emergência de adultos de *S. calcitrans*, utilizando fezes de bovinos em diferentes proporções, sendo F1- Substrato padrão contendo o dobro de água Macedo, (2001) modificado (SP); F2- SP com substituição de 50g de farinha de carne por 50 g de fezes bovinas; F3 - (SP substituindo 50g de farinha de carne por 100g de fezes bovinas); F4 - (SP substituindo 50g de farinha de carne por 150g de fezes bovinas); F5 -(SP substituindo 50g de farinha de carne por 200g de fezes bovinas).

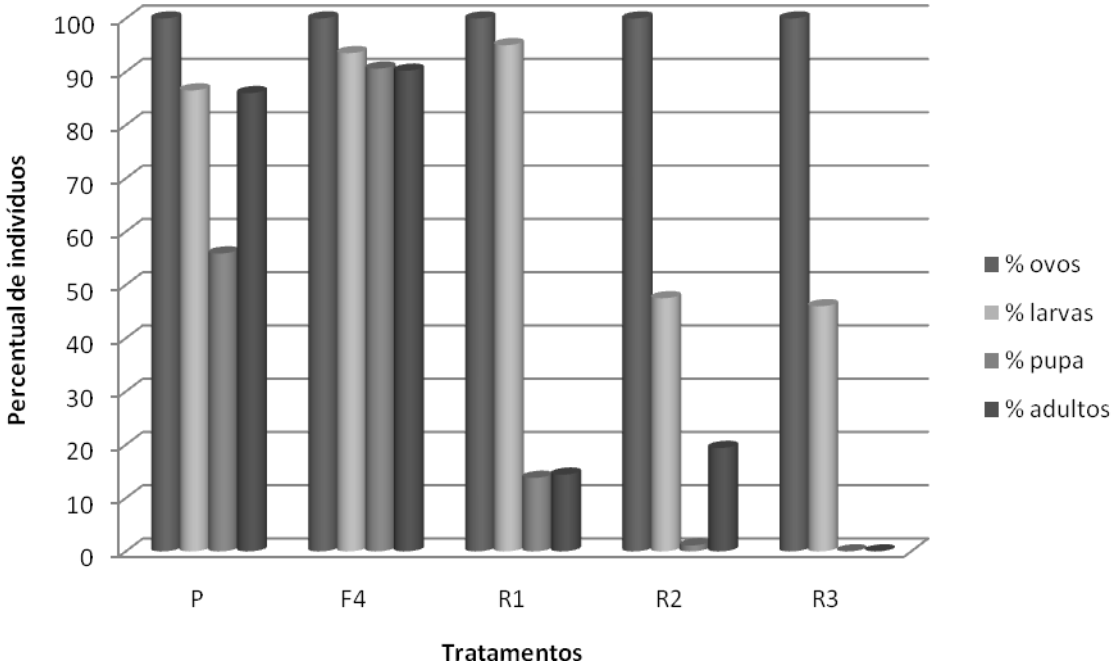

Figura 2: Percentual de eclosão, pupação e emergência de adultos de *S. calcitrans*, utilizando diferentes tipos de rações para cães, sendo R1: Substrato padrão contendo o dobro de água modificado; R2: substrato padrão substituindo 50 g de farinha de carne por 200 g de fezes R3: substrato padrão substituindo farelo de soja de carne por 410 g de ração para cães a base de vegetais, R4: substrato padrão substituindo 1 kg de substrato padrão por 1 kg de ração para filhotes de cães, R5 susbtrato padrão substituindo 1 kg de substrato padrão por 1kg de ração para cães adultos a base de carne.

Tabela 1 Percentual de eclosão, pupação e emergência de *S. calcitrans* exposta a diferentes substratos (F1- Substrato padrão contendo o dobro de água Macedo, (2001) modificado (SP); F2- SP com substituição de 50g de farinha de carne por 50 g de fezes bovinas; F3 - (SP substituindo 50g de farinha de carne por 100g de fezes bovinas); F4 - (SP substituindo 50g de farinha de carne por 150g de fezes bovinas); F5 -(SP substituindo 50g de farinha de carne por 200g de fezes bovinas), em condições laboratoriais (27±1º.C e 70±10%UR).

Grupos	Eclosão	Pupação	Emergência
P	86±14,3b	72,7±21,9b	96,8±4,3
	50-98	36-98	89-100
F1	93,5±4,0ab	87,3±9,6ab	91,8±9,6
	86-100	70-98	64-100
F2	95,5±3,1ª	79,7±14,9ab	92,8±9,3
	88-100	50-96	67-100
F3	93,8±4,9ab	92,8±6,1a	88,3±18,6
	82-100	81-100	33-100
F4	93,3±6,1ab	84,3±13,7ab	97±3,9
	82-100	49-100	89-100

Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente (P<0,05)

Tabela 2: Percentual de eclosão, pupação e emergência de *S. calcitrans* exposta a diferentes substratos (R1: Substrato padrão contendo o dobro de água modificado; R2: substrato padrão substituindo 50 g de farinha de carne por 200 g de fezes R3: substrato padrão substituindo farelo de soja de carne por 410 g de ração para cães a base de vegetais, R4: substrato padrão substituindo 1 kg de substrato padrão por 1 kg de ração para filhotes de cães, R5 susbtrato padrão substituindo 1 kg de substrato padrão por 1kg de ração para cães adultos a base de carne), em condições laboratoriais (27±1º.C e 70±10%UR).

Grupos (n=12)	Eclosão	Pupação	Emergência
P	86.5±16.8a	55.9±21.3ab	86.0±15.6a
	44-96	18.2-93.3	50-100
F4	93.5±4.1a	90.6±6.5a	90.2±10.8a
	84-100	78.7-100	61.1-100
R1	95.0±3.4ac	13.8±26.0b	14.4±29.1b
	90-100	0-83	0-100
R2	47.5±49.6b	1.1±2.1b	19.4±38.8b
	0-98	0-6.4	0-100
R3	45.9±48.1bc	40.8±44ab	35.4±38.3b
	0-98	0-97.9	0-93.5

Anexos

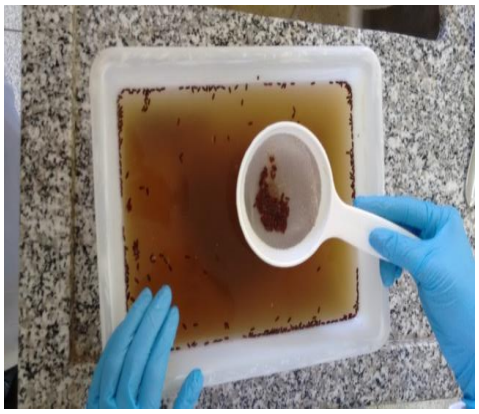

Figura 1. Coleta de pupas: imersão em água

Figura 2. Caixa de plástico com tela de nylon

Figura 3. Dieta larval com farelo de soja

Figura 4. Sala de criação de *S. calcitrans*

Figura 5. Coleta de postura com tecido preto

Figura 6. Filtro de papel sobre pastilha de fezes

APÊNDICES

Formulações básicas de Rações utilizadas nos Bioensaios: Max Buffet pequeno porte (T3)

Arroz quebrado, milho integral moído**, farinha de vísceras de frango, farelo de soja*, farelo de glúten de milho-60**, farinha de carne e ossos, gordura de frango, hidrolisado de frango e/ou subprodutos, carne mecanicamente separada de frango (3%), arroz integral (2%), carne de ovelha em pó (2%), beterraba desidratada (2%), cenoura desidratada (2%), espinafre desidratado (2%), levedura seca de cervejaria, fosfato bicálcico, semente de linhaça (1,5%), cloreto de sódio (sal comum), cloreto de potássio, óleo de girassol (0,3%), óleo de oliva (0,3%), extrato de alho, corante artificial vermelho 40, corante artificial amarelo crepúsculo, corante artificial verde 3, aditivos antioxidantes (BHA, BHT), extrato de yucca schidigera (0,1%), aroma de carne e bacon, aroma de carne grelhada (0,01%), vitamina A, vitamina B12, vitamina D, vitamina E, selenito de sódio, ácido fólico, ácido pantotênico, sulfato de cobre, cloreto de colina, sulfato ferroso, iodato de cálcio, óxido de manganês, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina H, vitamina K, vitamina PP, óxido de zinco. **Agrobacterium tumefasciens, Arabidopis thaliana, Bacillus thuriginensis, Streptomyces viridochromogenes, **Bacillus thuriginensis, Bacillus thuriginensis var. aizawai, Zea mays, Bacillus tumefaciens*.

Níveis de garantia

Componente	Quantidade	Componente	Quantidade	Componente	Quantidade
Umidade (máx.)	120g/kg (12%)	Matéria Mineral (máx.)	110g/kg (11%)	Ácido Linolênico (mín.)	2.300 mg/kg (0,23%)
Extrato Etéreo (mín.)	110g/kg (11%)	Cálcio (máx.)	24g/kg (2,4%)	Ácido Linoleico (mín.)	11,5g/kg (1,15%)
Proteína Bruta (mín.)	230g/kg (23%)	Cálcio (mín.)	10g/kg (1%)	Sódio (mín.)	3.500 mg/kg (0,35%)
Matéria Fibrosa (máx.)	40g/kg (4%)	Fósforo (mín.)	8.000 mg/kg (0,8%)	Potássio (mín.)	5.000 mg/kg (0,5%)

Max filhote (T4)

Arroz quebrado, milho integral moído**, farinha de vísceras de frango, farelo de soja*, farelo de glúten de milho-60**, farinha de carne e ossos, gordura de frango, levedura seca de cervejaria, hidrolisado de frango e/ou subprodutos, carne mecanicamente separada de frango (3%), carne de ovelha em pó (2%), leite integral em pó (2%), fosfato bicálcico, semente de linhaça (1,5%), açúcar, cloreto de sódio (sal comum), cloreto de potássio, óleo de girassol (0,3%), óleo de oliva (0,3%), extrato de alho, aditivo antioxidante (BHA, BHT), dióxido de titânio, vitamina A, vitamina B12, vitamina D, vitamina E, selenito de sódio, ácido fólico, ácido pantotênico, sulfato de cobre, cloreto de colina, sulfato ferroso, iodato de cálcio, óxido de manganês, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina H, vitamina K, vitamina PP, óxido de zinco.

**Agrobacterium tumefasciens, Arabidopis thaliana, Bacillus thuriginensis, Streptomyces viridochromogenes, **Bacillus thuriginensis, Bacillus thuriginensis var. aizawai, Zea mays, Bacillus tumefaciens*.

Níveis de garantia

Componente	**Quantidade**	**Componente**	**Quantidade**	**Componente**	**Quantidade**
Umidade (máx.)	18.000 U.I.	Matéria Mineral (máx.)	1 mg	Ácido Linolênico (mín.)	250 mg
Extrato Etéreo (mín.)	250 mcg	Cálcio (máx.)	25 mg	Ácido Linoleico (mín.)	3 mg
Proteína Bruta (mín.)	2.500 U.I.	Cálcio (mín.)	20 mg	Sódio (mín.)	80 mg
Matéria Fibrosa (máx.)	450 U.I.	Fósforo (mín.)	1.300 mg	Potássio (mín.)	10 mg

Ração Faro Adulto sabor carne (T5)

Milho*, Quirera de Arroz, Farinha de Carne e Ossos, Óleo de Frango, Óleo de Canola, Óleo de Linhaça, Farelo de Soja*, Farelo de Glúten de Milho*, Farelo de Trigo, Óleo Vegetal,

Hidrolisado de Fígado de Frango, Prebióticos (Mannan-Oligossacarídeos, Inulina), Corante (Vermelho 40), Ácido Propiônico, Glucanos, Sorbato de Potássio, Extrato de Yucca (0,025%), Antioxidantes (BHA, BHT), Vitaminas (A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12, Ácido Pantotênico, Ácido Fólico, Niacina, Biotina, Cloreto de Colina), Minerais (Cloreto de Sódio, Cloreto de Potássio, Óxido de Zinco, Sulfato Ferroso, Sulfato de Cobre, Monóxido de Manganês, Iodato de Cálcio, Selenito de Sódio), Minerais Quelatados (Manganês, Selênio, Zinco).

Eventuais Substitutos

Farinha de Vísceras de Frango, Sorgo, Levedura Seca de Cervejaria, Farinha Integral de Soja Micronizada*, Farelo de Milho Desengordurado*, Triguilho.

**Agrobacterium ssp, Bacillus thuringiensis e Streptomyces ssp*

Níveis de garantia

Proteína Bruta (mín.) - 210 g/kg - 21%

Extrato Etéreo (mín.) - 90 g/kg - 9%

Umidade (máx.) - 120 g/kg - 12%

Matéria Fibrosa (máx.) - 40 g/kg - 4%

Matéria Mineral (máx.) - 100 g/kg - 10%

Cálcio (mín./máx.) - 10/24 g/kg - 1,0/2,4%

Fósforo (mín.) - 9000 mg/kg - 0,9%

Sódio (mín.) - 4000 mg/kg - 0,4%

Potássio (mín.) - 4000 mg/kg - 0,4%

Ômega 6 (mín.) - 10 g/kg - 1,0%

Ômega 3 (mín.) - 1000 mg/kg - 0,1%

Mannan-Oligossacarídeos (mín.) - 2500 mg/kg - 0,25%

Inulina (mín.) - 1500 mg/kg - 0,15%

Saponina (mín.) - 4 mg/kg

Ração peletizada para bovinos

Alimento concentrado indicado para nutrição de bezerras do nascimento até o 6º mês de vida.

Níveis de Garantia

Umidade (Max) 130,00 g/kg

Proteína Bruta (Min) 19,00%

Extrato Etério (Min) 2,00%

Matéria Fibrosa (Max) 18,00%

Matéria Mineral (Max) 12,00%

Cálcio (Min/Max) 9,00 / 15,00 mg/kg

Fósforo (Min) 0,50%

Promotor de Crescimento e Eficiência Alimentar 30,00 mg/kg