

EFICÁCIA DO DIFLUBENZURON 25% NO CONTROLE DA *HAEMATOBIA IRRITANS*
(DIPTERA: MUSCIDAE): DESAFIO *IN VITRO* E A CAMPOA. Dell' Porto¹, E.G.L. Hoppe², A.G. Gomes³, R.S.S. Mata⁴, R.M. de S. Rocha⁴¹Universidade de Brasília, CP 4.508, CEP 70910-970, Brasília, DF, Brasil. E-mail: arletedp@unb.br

RESUMO

Avaliou-se, neste experimento, a eficácia *in vitro* e *in vivo* do diflubenzuron a 25% para uso em bovinos, no controle da infestação por *Haematobia irritans*. Para o teste *in vitro*, ovos de moscas-dos-chifres foram mantidos em recipientes contendo fezes de animais não-tratados ou tratados com diflubenzuron a 25%, e acompanhados até emergência dos adultos. No teste *in vivo*, foram utilizadas 40 fêmeas aneloradas, divididas em dois grupos: controle (C) e tratado (T) com intensidade parasitária equivalente. Durante o experimento, o grupo C recebeu apenas suplementação mineral, enquanto o grupo T recebeu suplementação mineral e diflubenzuron a 25%. A contagem de moscas nos animais foi realizada na região dorsal, desde a nuca até as pontas da anca de cada animal, no início e ao final de um período de cinco meses. Na avaliação *in vitro*, o grupo controle apresentou média de emergência de 86% ($\pm 8,4\%$), enquanto o grupo cultivado em fezes de bovinos tratados com diflubenzuron a 25% apresentou taxa de emergência média de 1% ($\pm 0,2\%$), sendo a eficácia calculada de 98,83%. No teste *in vivo*, não foi observada redução significativa na contagem de moscas no grupo C, porém, no grupo T houve significativa redução da infestação por *H. irritans* ($t = 16,46$, $p < 0,0001$). A eficácia do produto, em condições de campo, foi de 99,20%. O diflubenzuron a 25% adicionado ao sal mineral mostrou-se eficaz contra *H. irritans*, sendo indicado para esse fim.

PALAVRAS-CHAVE: Larvicida, moscas-dos-chifres, bovinos, inibidor de desenvolvimento de insetos.

ABSTRACT

EFFICACY OF 25% DIFLUBENZURON FOR CONTROL OF *HAEMATOBIA IRRITANS* (DIPTERA: MUSCIDAE): IN VITRO AND FIELD CHALLENGES. In this experiment, the *in vitro* and *in vivo* efficacy of a 25% diflubenzuron commercial formulation were evaluated for control of *Haematobia irritans* infestation on cattle. For the *in vitro* test, horn-fly eggs were cultivated in feces from untreated or treated with 25% diflubenzuron for verification of adult emergence. In the *in vivo* test, 40 crossbred female bovines were divided into 2 experimental groups: Controls (C) and treated (T) with 25% diflubenzuron, with similar horn-fly infestations. In the *in vitro* test, the control group had a mean emergence of 86% ($\pm 8.4\%$) while the group cultivated in feces from cattle treated with 25% diflubenzuron had a mean emergence rate of only 1% ($\pm 0.2\%$), showing product efficacy of 98.83%. In the *in vivo* test no significant reduction was observed in the fly count of the C group, whereas the T group showed a clear reduction in the infestation ($t = 16.46$, $p < 0.0001$). The efficacy of the product under field conditions was 99.20%. In conclusion, the formulation of 25% diflubenzuron demonstrated efficacy against *H. irritans*, and is therefore indicated for this purpose.

KEY WORDS: Larvicide, horn flies, cattle, insect growth regulator.

A mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans* é considerada um dos principais problemas da pecuária. Esse parasita foi introduzido no Brasil no final da década de 1970, distribuindo-se por todo o território na década seguinte (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Os prejuízos decorrentes de infestação por moscas-dos-chifres chegam a 150 milhões de dólares

no Brasil (GRISI *et al.*, 2002). As perdas econômicas são decorrentes de espoliação direta, por perda de sangue (HARRIS *et al.*, 1974), redução da produção de leite (GARCÍA *et al.*, 2001), de carne (BIANCHIN *et al.*, 2004) e da taxa de prenhez (BIANCHIN; ALVES, 2002), além de resultar em bezerras com menor peso ao desmame (DRUMMOND *et al.*, 1981). Com base nessas

²Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Jaboticabal, SP, Brasil.

³Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Goiânia, GO, Brasil.

⁴Champion Farmoquímico, Departamento Técnico, Anápolis, GO, Brasil.

informações, torna-se óbvia a necessidade de controle químico desse artrópode, buscando minimizar o impacto do parasitismo sobre a produção animal. Entretanto, em decorrência do uso de fármacos antiparasitários surge outro problema: a deposição de resíduos em produtos de origem animal e seus derivados.

Uma alternativa ao emprego de antiparasitários com período de carência elevado é a adição de inibidores de crescimento de insetos (IGR) à dieta dos animais. As benzoilfenilureias, dentre as quais o diflubenzuron, são moléculas representantes dessa classe de inseticidas e apresentam como mecanismo de ação a inibição da síntese de quitina pelos artrópodes, conseqüentemente, impedindo o desenvolvimento adequado das formas imaturas (SILVA; MENDES, 2002). O uso de benzoilfenilureias, devido às suas particularidades de metabolismo e eliminação é, portanto, bastante promissor para o controle desses importantes parasitas de bovinos, já que as larvas estarão diretamente expostas ao fármaco.

Até o presente, o diflubenzuron é o IGR mais estudado e empregado contra uma variedade de insetos e pragas. Estudos revelaram que o diflubenzuron apresenta baixa toxicidade para vertebrados (KEGLEY *et al.*, 2010), baixa deposição na musculatura de peixes (WINKALER, 2008) e ausência de resíduos tanto na carne quanto no leite (TFOUNI *et al.*, 2007), não requerendo período de carência para o consumo desses produtos, e permitindo maior segurança no seu uso.

Baseado no exposto, o presente trabalho visa avaliar a eficácia *in vitro* e *in vivo* de uma formulação comercial de diflubenzuron a 25% (Difly®) para uso em bovinos. Para confirmar a eficácia deste fármaco sobre o desenvolvimento larvar de *H. irritans*, sem possível influência de alterações climáticas, foi realizado um experimento em condições controladas.

Insetos adultos foram coletados de animais não tratados com auxílio de rede entomológica e enviados ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP/GO) para obtenção de ovos em condições de laboratório. As gaiolas de oviposição eram dotadas de papel-filtro umedecido com água adoçada com sacarose, para servir como substrato para oviposição. A cada três horas, o papel era examinado a procura de ovos, que eram então avaliados quanto à viabilidade, de acordo com a coloração. Os ovos viáveis foram transferidos para recipientes com 500 g de fezes de animais não-tratados ou tratados com diflubenzuron a 25%, em ingestão diária de 70 g/animal, constituindo dois grupos experimentais, Controle (C) e Tratamento (T). Cada grupo contava com quatro repetições de 50 ovos cada. Os recipientes com fezes e ovos foram mantidos em estufa de demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D.) com temperatura constante, a 25° C e fotoperíodo de 12

horas, por um período de 20 dias, ao final do qual foi constatada cessação da emergência dos adultos.

A eficácia foi determinada pela relação entre o número de adultos obtidos de cada recipiente e o número inicial de ovos. Os grupos C e T foram comparados estatisticamente pelo teste de Mann-Whitney, com P ajustado em 0,05, devido à impossibilidade de se testar a normalidade de distribuição, dado o número baixo de repetições (n = 4).

A eficácia do produto em condições de campo foi avaliada através de experimento realizado entre os dias 15 de setembro de 2010 a 15 de fevereiro de 2011, em duas fazendas situadas em Ouro Verde de Goiás, GO. As propriedades foram escolhidas por apresentarem grande semelhança nas condições de manejo, pasto e clima, sendo separadas por um riacho. Ambas as propriedades contavam com pasto de *Brachiaria brizantha*, com taxa de lotação de 4 UA/ha.

Para a formação dos grupos experimentais, 40 fêmeas aneladas, com idade entre 2 a 4 anos e peso médio de 350 kg, foram passadas em mangueira para contagem do número total de *H. irritans* presentes na região dorsal, desde a nuca até as pontas da anca, de cada animal (ALMEIDA *et al.*, 2005), que consistia em contar as moscas presentes na região dorsal, desde a nuca até as pontas da anca, de cada animal. As avaliações foram realizadas sempre às 8 h da manhã. Os grupos experimentais, controle (C) e tratados com diflubenzuron a 25% (T), foram formados por 20 fêmeas com intensidade parasitária média semelhante (C = 474,5 T = 465,0), conforme preconizado pela portaria nº 48 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2001).

Os grupos experimentais foram submetidos às mesmas condições de manejo e alimentação. Porém, o grupo T foi tratado com diflubenzuron a 25% na dosagem de 0,5 g/kg de sal mineral pronto para uso, enquanto o grupo controle recebeu apenas sal mineral comum. O sal foi fornecido diariamente e *ad libitum* em ambos os grupos, com consumo médio de 70 g/dia por animal. Os animais dos grupos experimentais foram avaliados durante cinco meses, com a avaliação da infestação dos animais iniciando em setembro e concluindo em fevereiro.

Previamente à análise estatística desse grupo, a normalidade de distribuição dos dados foi confirmada pelo teste de D'Agostino & Pearson. Como os grupos C e T, apesar de sujeitos às mesmas condições climáticas, pertenciam a fazendas diferentes, optou-se pela comparação múltipla entre os grupos e infestações de cada grupo pelo teste t. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software GraphPad Prism v. 5.04 (GRAPHPAD, 2007), com P ajustado em 0,05.

O grupo controle apresentou média de emergência de 86% ($\pm 8,4\%$), enquanto o grupo mantido

em fezes de bovinos tratados com diflubenzuron a 25% apresentou taxa de emergência média de apenas 1% ($\pm 0,2\%$). A eficácia calculada, tomando por base o grupo controle, foi de 98,83%, de acordo com metodologia proposta por HOLDSWORTH *et al.*, (2006). Pela análise de Mann-Whitney, constatou-se clara diferença estatística entre os grupos ($U = 0,0$; $p = 0,0265$).

No início do experimento não foi constatada diferença estatística entre os grupos experimentais, que apresentavam infestações médias equivalentes ($C = 474,5 \pm 123,8$ e $T = 465,0 \pm 125,2$).

Ao final do período experimental, os animais foram novamente contidos em tronco para contagem das moscas. O grupo controle apresentou infestação média de 460 moscas-dos-chifres por animal, não sendo observada redução significativa ($t = 0,7307$, $p = 0,4694$) em relação ao início do experimento. Já com relação ao grupo tratado que apresentou média de 4 moscas-dos-chifres por animal, notou-se redução significativa da infestação ($t = 16,46$, $p < 0,0001$). Foi constatada diferença estatística entre os tempos finais dos dois grupos experimentais ($t = 15,75$; $p < 0,0001$). A eficácia do produto, em condições de campo, foi de 99,20%.

De acordo com GROSSCURT (1978), o diflubenzuron atua comumente em todos os estágios larvais de insetos mas, em algumas espécies, os primeiros e os últimos estágios podem ser mais ou menos susceptíveis. O teste *in vitro*, no presente trabalho, demonstrou claramente a ação dessa molécula sobre o desenvolvimento de formas imaturas, evidenciando a sua eliminação ainda ativa nas fezes do animal tratado com essa formulação, além da boa eficácia no desafio a campo, no qual foi observada redução da contagem de moscas no grupo tratado superior a 99%.

SILVA; MENDES (2002) verificaram que, além de o 3º estágio larval de *H. irritans* ser mais sensível à ação do diflubenzuron quando comparado com os estágios anteriores, progênes de adultos colhidos a campo e tratados com diferentes concentrações deste fármaco apresentaram malformação pupal. Por agir sobre a síntese de quitina, o diflubenzuron desenvolve nos insetos cutículas que não sustentam os músculos durante a muda, sendo incapazes de liberar suas exúvias, resultando em morte por inanição ou ruptura da nova, delicada e malformada cutícula (GROSSCURT *et al.*, 1988), e acarretando na diminuição da população de adultos no meio.

Resultados da eficácia do diflubenzuron também foram comprovados no controle de insetos de importância em saúde pública, como *Aedes aegypti* (BORGES *et al.*, 2004; MARTINS; SILVA, 2004), *Culex quinquefasciatus* e *C. pipiens* (SELF *et al.*, 1978), *Musca domestica* (MILLER *et al.*, 1975; ABLES, 1975) e *Anopheles darlingi* (COSTA, 2007).

A utilização do diflubenzuron a 25% adicionado ao sal mineral de bovinos apresentou eficácia de 98,83% e 99,20% nos testes *in vitro* e a campo, respectivamente, sendo indicado como alternativa para o controle desse ectoparasito.

REFERÊNCIAS

- ABLES, J.R. Response of the house fly and its parasitoids to Dimilin (TH -6040). *Journal of Economic Entomology*, v.68, n.1, p.622-624, 1975.
- ALMEIDA, F.A.; ZOCOLLER-SENO, M.C.; BASSO, F.C.; VALÉRIO FILHO, W.V. Comparação de métodos de contagem da moscas-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em diferentes regiões do corpo de bovinos da raça Guzerá e mestiço. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 17., 2005, Ilha Solteira, SP. *Resumos*. Ilha Solteira, 2005. p.1-2.
- BIANCHIN, I.; ALVES, R.G.O. Moscas-dos-chifres, *Haematobia irritans*: comportamento e danos em vacas e bezerros Nelore antes da desmama. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.22, p.109-113, 2002.
- BIANCHIN, I.; KOLLER W.W.; ALVES, R.G.O. Efeito da mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae), no ganho de peso de bovinos Nelore. *Ciência Rural*, v.34, n.3, p.885-890, 2004.
- BORGES, R.A.; CAVASIN, G.M.; SILVA, I.G.; ARRUDA, W.; OLIVEIRA, E.S.F.; SILVA, H.H.G.; MARTINS, F. Mortalidade e alterações morfológicas provocadas pela ação inibidora do diflubenzuron na ecdisse de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Revista de Patologia Tropical*, v.33, n.1, p.91-104, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário*. Portaria n.48 de 12 de maio de 1997. Brasília: MAPA, 2001. 970p.
- COSTA, F.M. *Avaliação da atividade inseticida do regulador de crescimento de insetos Diflubenzuron contra Anopheles darlingi Root, 1926 (Diptera, Culicidae), em condições de laboratório*. 2007. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Área de Concentração em Entomologia) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2007.
- DRUMMOND, R.O.; LAMBERT, G.; SMALLEY, A.E.; TERRILL, C.E. Estimated losses of livestock to pests. In: PIMENTEL, D. (Ed.). *CRC Handbook of pest management in agriculture*. Boca Raton: CRC, 1981. v.1, p.111-127.
- GARCÍA, C.A.; SALAS, S.C.; ORTI, J.L.; VÁZQUEZ, Z.G. Dinâmica poblacional de *Haematobia irritans* em um ható de bovinos de Soto la Marina, Tamaulipas, México. *Veterinaria México*, v.32, p.149-152, 2001.

- GRAPHPAD Prism. Analyse, graph and organize your data. Version 5.04. GraphPad Software, San Diego, CA, 2007.
- GRISI, L.; MASSARD, C.L.; MOYA-BORJA, G.E.; PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, v.21, n.125, p.8-10, 2002.
- GROSSCURT, A.C. Diflubenzuron: some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and evaluation of its practical possibilities. *Pesticide Science*, v.9, p.373-386, 1978.
- GROSSCURT, A.C.; HAAR, M.T.; JONGSMA, B.; STOKER, A. PH 70-23: A new acaricide and insecticide interfering with chitin deposition. *Pesticide Science*, v.22, p.51-59, 1988.
- HARRIS, R.L.; MILLER, J.A.; FRAZAR, E.D. Hornflies and stableflies feeding activity. *Annals of the Entomological Society of America*, v.67, p.891-894, 1974.
- HOLDSWORTH, P.A.; VERCRUYSE, J.; REHBEIN, S.; PETER, R.J.; De BRUIN, C.; LETONJA, T.; GREEN, P. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of ectoparasiticides against biting and nuisance flies on ruminants. *Veterinary Parasitology*, v.136, p.3-13, 2006.
- KEGLEY, S.E.; HILL, B.R.; ORME S.; CHOI A.H. *Pesticide Database*. San Francisco: Pesticide Action Network, 2010. Disponível em: <http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC34807>. Acesso em: 30 mai.o 2011.
- MARTINS, F.; SILVA, I.G. Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.37, n.2, p.135-138, 2004.
- MILLER, R.W.; CORLEY, C.; HILL, K.R. Feeding TH6040 to chickens: effects on larval house flies in manure and determination of residues in eggs. *Journal of the Economic Entomology*, v.68, p.181-182, 1975.
- OLIVEIRA, A.A.A.; AZEVEDO, H.C.; MELO, C.B.; BARROS, A.T.M. de. Suscetibilidade da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) a inseticidas nos tabuleiros costeiros de Alagoas, Bahia e Sergipe, Brasil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v.15, p.65-70, 2006.
- SELF, L.S.; NELSON, M.J.; PANT, C.P.; USMAN, S. Field trials with two Insect Growth Regulators against *Culex quinquefasciatus*. *Mosquito News*, v.38, n.1, p.74-79, 1978.
- SILVA, J.J.; MENDES, J. Effects of Diflubenzuron on immature stages of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, p.679-682, jul. 2002.
- TFOUNI, S.A.V.; FURLANI, R.P.Z.; ARAÚJO, J.D. Avaliação da presença de resíduos em leite de vacas tratadas com diflubenzuron. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v.66, p.230-233, 2007.
- WINKALER, E.U. *Análises de resíduos, riscos alimentares, e variáveis bioquímicas de pacu *Piaractus mesopotamicus* exposto ao diflubenzuron e teflubenzuron*. 2008. 60f. Tese (Doutorado em Aquicultura de Águas Continentais.) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

Recebido em 4/7/11

Aceito em 12/7/12