

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

THIAGO DE ARAÚJO MASTRANGELO

**Metodologia de produção de moscas estéreis de *Cochliomyia
hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) no Brasil**

Piracicaba

2011

THIAGO DE ARAÚJO MASTRANGELO

**Metodologia de produção de moscas estéreis de *Cochliomyia
hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) no Brasil**

**Tese apresentada ao Centro de Energia
Nuclear na Agricultura da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Doutor
em Ciências**

**Área de Concentração: Energia Nuclear na
Agricultura e Ambiente**

**Orientador: Prof. Dr. Julio Marcos Melges
Walder**

Piracicaba

2011

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Mastrangelo, Thiago de Araújo

Metodologia de produção de moscas estéreis de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) no Brasil / Thiago de Araújo Mastrangelo; orientador Julio Marcos Melges Walder. - - Piracicaba, 2011.

114 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Entomologia veterinária 2. Miíases 3. Pecuária I. Título

CDU 632.939.1:595.773.4

A todos aqueles que se sacrificam pelo progresso no planeta,

Dedico.

“O Brasil não tem problemas, apenas soluções adiadas.”

– Câmara Cascudo –

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a todos os espíritos que intuem os homens constantemente a trilharem o caminho da bondade e do amor.

Agradeço a toda minha família e, principalmente, meus pais, Marco Antônio e Belisa, pelo apoio incondicional em todas as horas. Ao tio Carlinhos de Fortaleza pela frase que vem me guiando até hoje: “O curso servirá para você aprender a resolver problemas...”.

Aos amigos Fernando Bezerra, Thiago Fernandes (“Branco”), Gabriel Mascarin, Márcio Silva e família, Queliabe e Daiana, Lucas Queiroz, Danilo Kamimura, Guilherme Farias, Weliton Dias, Daian, Erivaldo, Gabriel Santana, Fabrício, Aline Kamiya, Aline Rocha, Marcelo (“Krpintêro”) e família, Martín Alvarez e família, dentre tantos outros, pelo companheirismo. A Luciana Citroni pela paciência e carinho inesquecíveis. Sem vocês, os dias teriam sido sem alegria.

Ao Dr. Luís Rangel e a APC do Brasil pelas amostras de hemácias *spray dried* que serviram por toda a tese. Ao Prof. Valdomiro Shigueru pela dica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa e recursos para realização do projeto.

À Prof^a. Ana Maria Azeredo-Espin da Unicamp e toda sua equipe pelas orientações e ajuda ao longo do projeto.

Ao Prof. Aldo Malavasi e toda a equipe da Biofábrica MOSCAMED Brasil pela oportunidade de poder realizar parte dos experimentos da tese na Bahia.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura pela oportunidade de poder realizar estágios e os cursos de mestrado e doutorado em Energia Nuclear na Agricultura.

Agradeço ao Prof. Julio Walder por esses 7 anos de aprendizado, tanto profissional como humano, ensinamentos, inesgotável paciência, e pelo exemplo moral.

À bibliotecária Marília Henyei pela grande ajuda na revisão das referências e formato final da tese e à Raquel e Renata pela valiosa colaboração na recuperação dos artigos para a tese.

À equipe da divisão acadêmica, especialmente Dona Alzira, Gilson, Neuda, Cláudia, Fábio e Sônia por toda a atenção e disponibilidade.

A todos os outros funcionários do CENA/USP, de todas as divisões e laboratórios, que de alguma forma fizeram parte deste trabalho e do curso, deixo aqui meu agradecimento.

Agradeço a toda a equipe da *Comisión para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado* (COPEG) pela recepção calorosa e por permitirem a conclusão dos últimos testes do projeto no Panamá. A toda a equipe do *Screwworm Research Unit* do USDA-ARS, John Welch, Agustin Sagel, Muhammad Chaudhury, Steven Skoda, Bolívar, Mario, Jorge, Gladys, Trinidad, Zury, Fernando e Sr. Domitildo, pela amizade e auxílio em todos os momentos.

E a todos aqueles que, de alguma forma, tentaram dificultar o caminho, ofereço uma máxima de Adam Smith: “A ambição universal dos homens é viver colhendo o que nunca plantaram”.

RESUMO

MASTRANGELO, T. de A. **Metodologia de produção de moscas estéreis de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) no Brasil.** 2011. 114 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

Dentre as espécies de moscas que causam miíases, destaca-se a *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae), a qual se encontra distribuída em alguns locais do Caribe e nos países da América do Sul. Por ser um parasita obrigatório, é considerada um dos maiores problemas da pecuária mundial, acarretando prejuízos da ordem de milhões de dólares por ano em vários países. Dentro do manejo integrado das miíases, as principais estratégias de controle são o uso de agrotóxicos e a chamada Técnica do Inseto Estéril (TIE). A implementação desta última, em particular, permitiu a erradicação de *C.hominivorax* da América do Norte e de toda a América Central entre 1957 e 2004, sendo agora mantida uma barreira biológica na fronteira entre Panamá e Colômbia. Os esforços para erradicação ainda continuam na Jamaica e várias ilhas do Caribe, e diversos países da América do Sul já expressaram interesse pela TIE. Visando apoiar os projetos de controle de *C. hominivorax* com o uso da TIE nos países do MERCOSUL, foram realizados estudos de criação, esterilização com raios X e compatibilidade reprodutiva de linhagens. A colônia de *C. hominivorax* foi estabelecida com sucesso no CENA/USP e na Biofábrica MOSCAMED Brasil, e entre as gerações F₁ e F₁₈ chegou a ser produzido um volume de 30,9 L de pupas (≈ 257.200 pupas). Os valores dos parâmetros de controle de qualidade da criação foram semelhantes aos da biofábrica do México e do laboratório do USDA-ARS. Para escolha do melhor substrato de oviposição, foram testados 4 tratamentos à base de carne, fígado e dieta larval podre, sendo que o de dieta larval podre+coágulo e sangue bovino citratado foi o que permitiu maior oviposição e viabilidade de ovos. A temperatura base estimada para o desenvolvimento embrionário foi de 13,1 °C, com uma constante térmica de 9,17 GD. Foram testadas 6 diferentes dietas para adultos à base de mel, rapadura, ovo *spray dried*, melaço e hemácias *spray dried*, sendo que todas permitiram alta fecundidade e fertilidade. Nos bioensaios de dieta larval, foram testadas duas dietas líquidas, com bagaço de cana ou fibra de coco, a dieta padrão de carne e uma dieta de gel. Não houve diferença significativa entre os parâmetros de controle de qualidade das dietas e a dieta de gel provou ser viável e de menor custo. Para determinação das doses esterilizantes, pupas com 24 h antes da emergência dos adultos foram irradiadas com 10, 25 e 60 Gy de raios X. As doses que induzem 99% de esterilidade foram estimadas em 43,7 e 47,5 Gy para machos e fêmeas, respectivamente. Para estudar a compatibilidade reprodutiva e competitividade entre linhagens, foram realizados 4 testes com cruzamentos entre uma linhagem do Caribe (Jamaica-06) e a brasileira. Como não foi encontrada incompatibilidade reprodutiva nem problemas de competitividade entre as linhagens, campanhas de supressão da mosca da bicheira no MERCOSUL poderiam utilizar moscas estéreis tanto da região do Caribe quanto do Brasil.

Palavras-chave: Mosca da bicheira. Dieta. Raios X. Compatibilidade. Pecuária.

ABSTRACT

MASTRANGELO, T. de A. **Methodology to rear sterile flies of *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) in Brazil**. 2011. 114 p. Thesis (Philosophiae Doctor) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

The New World Screwworm (NWS), *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae), is a fly species that provokes myiasis and is currently distributed at some Caribbean islands and South American countries. As an obligate parasite, this fly is one of the most serious threats to livestock industry, causing economic losses of millions of dollars per year in many countries. The main control strategies in the integrated management of myiasis rely on the use of chemicals and the so called Sterile Insect Technique (SIT). This technique, in particular, allowed the eradication of the NWS from the entire North and Central America between 1957 and 2004, and a biological buffer zone was set at the Panama-Colombia border. The eradication efforts still continue in Jamaica and several Caribbean islands. Some South American countries also declared interest for the use of the SIT against the NWS. Aiming to support projects to control the NWS through the SIT in MERCOSUR countries, several studies on rearing, sterilization with X rays and reproductive compatibility between strains were performed. The NWS colony was successfully established at CENA/USP and the MOSCAMED Brazil facility. Between the generations F₁ and F₁₈, a volume of 30.9 L of pupae (\approx 257,200 pupae) was produced. The values of the quality control parameters from the rearing were similar to those from the screwworm mass-rearing facility in Mexico and the USDA-ARS laboratory. To evaluate the best oviposition substrate, four treatments made of raw meat, liver or wasted larval diet were tested, and the one made of wasted larval diet + citrated bovine blood and clot allowed the highest oviposition and egg hatch. The estimated basal temperature for the embryonic development was 13.1 °C, with a thermal constant of 9.17 GD. Six different adult diets made of honey, rapadura, spray dried egg, molasses or spray dried blood were tested and all allowed high fecundity and fertility. For the bioassays with larval diets, two liquid diets (with sugarcane bagasse or coconut fiber as bulking agents), the standard meat diet and a gelled diet were tested. There was no significant difference among the quality control parameters from the diets and the use of the gelled diet proved to be feasible and cheaper. In order to estimate the sterilization doses, pupae 24 h before the adult emergence were irradiated at 0 (control), 10, 25 and 60 Gy of X rays. The doses that induce 99% sterility were 43.7 and 47.5 Gy for males and females, respectively. To assess the reproductive compatibility and competitiveness between strains, four tests with crosses between a Caribbean strain (Jamaica-06) and the Brazilian one were performed. As no reproductive incompatibility nor competitiveness problems were found, suppression campaigns against the NWS in MERCOSUR could use sterile flies either from the Caribbean basin as from Brazil.

Key Words: Screwworm. Diet. X rays. Compatibility. Livestock.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE MOSCAS DA BICHEIRA	17
3.2 CICLO DE VIDA DE <i>Cochliomyia hominivorax</i>	17
3.3 ECOLOGIA E DISPERSÃO DE MOSCAS DA BICHEIRA	23
3.4 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E MÉDICA	26
3.5 MANEJO INTEGRADO DE MIÍASES	29
3.6 TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL (TIE)	32
3.7 PROGRAMAS DE ÁREA-AMPLA CONTRA MOSCA DA BICHEIRA	37
3.7.1 PLANO EMERGENCIAL DA AUSTRÁLIA CONTRA <i>Chrysomya bezziana</i>	39
3.7.2 A CAMPANHA DE ERRADICAÇÃO NA LÍBIA	41
3.7.3 O FRACASSO DA JAMAICA	43
3.7.4 PROJETOS CONTRA A MOSCA DA BICHEIRA NA AMÉRICA DO SUL	45
4 MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 CRIAÇÃO	48
4.1.1 SUBSTRATO PARA OVIPOSIÇÃO	48
4.1.2 TEMPERATURA BASE PARA DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	49
4.1.3 DIETA PARA ADULTOS	50
4.1.4 DIETA LARVAL	51
4.2 ESTERILIZAÇÃO	52
4.3 TESTES DE COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA E COMPETITIVIDADE ENTRE LINHAGENS	53
4.3.1 COMPATIBILIDADE ENTRE MACHOS JAMAICANOS E FÊMEAS BRASILEIRAS	53
4.3.2 TESTE DE COMPETITIVIDADE DE MACHOS	54
4.3.3 TESTE DE PREFERÊNCIA DE ACASALAMENTO	55

4.3.4 AVALIAÇÃO DA COMPATIBILIDADE GENÉTICA PÓS-ZIGÓTICA	56
4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 ESTABELECIMENTO DA COLÔNIA	59
5.2 BIOENSAIOS DE CRIAÇÃO	66
5.2.1 SUBSTRATO PARA OVIPOSIÇÃO	67
5.2.2 TEMPERATURA BASE PARA O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	68
5.2.3 DIETA PARA ADULTOS	71
5.2.4 DIETA LARVAL	73
5.3 ESTERILIZAÇÃO	78
5.4 TESTES DE COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA E COMPETITIVIDADE ENTRE LINHAGENS	81
5.4.1 COMPATIBILIDADE ENTRE MACHOS JAMAICANOS E FÊMEAS BRASILEIRAS	82
5.4.2 TESTE DE COMPETITIVIDADE DE MACHOS	83
5.4.3 TESTE DE PREFERÊNCIA DE ACASALAMENTO	86
5.4.4 AVALIAÇÃO DA COMPATIBILIDADE GENÉTICA PÓS-ZIGÓTICA	89
5.4.5 DISCUSSÃO	90
6 CONCLUSÕES	94
REFERÊNCIAS	95

1 INTRODUÇÃO

A sociedade mundial, alertada por estudiosos como Rachel Carson (“*Silent Spring*”), Aldo Leopold (“*The Land Ethic*”), William Vogt (“*Road to Survival*”), Fairfield Osborn (“*The Limits of the Earth*”), Garret Hardin (“*Tragedy of the Commons*”), Vandana Shiva (“*Monocultures of the Mind*”) e Henk Tennekes (“*The Systemic Insecticides: a Disaster in the Making*”), tem demandado tecnologias e táticas de controle de pragas na agropecuária que não sejam apenas eficientes, mas também sustentáveis e ambientalmente seguras. Recentemente, surgiu uma abordagem que tenta integrar vários métodos de controle contra toda a população de uma praga: o manejo integrado de pragas em área-ampla.

Esse manejo envolve táticas coordenadas, preventivas e sustentáveis que visam controlar a população da praga em todas as áreas de uma região, incluindo áreas urbanas, não comerciais e com os hospedeiros naturais (VREYSEN et al., 2007). Um dos métodos que pode ser componente desse manejo é a chamada Técnica do Inseto Estéril (TIE), desenvolvida nos E.U.A. ainda na década de 1940.

A descoberta de que raios X ou gama poderiam induzir mutações letais dominantes suficientes no sistema reprodutivo dos insetos (MULLER, 1927) foi percebida pelos cientistas do *United States Department of Agriculture* em 1946, os quais já vinham procurando há alguns anos um método de esterilizar massalmente insetos. Esses cientistas haviam teorizado que se grande quantidade do inseto-alvo pudesse ser produzida, esterilizada e liberada no campo, os insetos estéreis acasalariam com os insetos selvagens. A prole resultante desses acasalamentos seria inviável e, conseqüentemente, um declínio na taxa reprodutiva da população selvagem seria obtida ao longo das liberações, podendo-se alcançar até a erradicação daquela população (KNIPLING, 1955). A primeira demonstração de viabilidade dessa tecnologia do inseto estéril foi feita com a mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) (MELVIN; BUSHLAND, 1936; BUSHLAND; HOPKINS, 1953; BAUMHOVER et al., 1955).

A mosca *C. hominivorax* é um parasita obrigatório de animais de sangue quente e provoca miíase primária em feridas pré-existentes. As fêmeas têm uma taxa reprodutiva elevada e podem ovipositar até 450 ovos em intervalos de 3-4 dias na periferia de feridas ou orifícios e mucosas do corpo. As larvas eclodem depois de 12-20 h e migram imediatamente para a ferida, alimentando-se superficialmente dos fluidos da ferida.

As larvas de 2º e 3º instar aprofundam-se para se alimentar dos tecidos. Quando maduras, as larvas abandonam o animal e pupam no solo (SPRADBERY, 1994). Todo o ciclo de vida pode ser completado em apenas 14 dias sob condições ideais, podendo levar a epidemias. Por exemplo, 1,3 milhões de casos de miíases foram reportados em 1934 no sudeste dos E.U.A. (DOVE, 1937). Larvas de uma única oviposição podem matar pequenos animais e múltiplas infecções podem matar um boi adulto (KRAFSUR et al., 1987).

Em 1957, um programa de manejo integrado em área-ampla contra *C. hominivorax* foi iniciado na Flórida. Após o sucesso desse programa, com a união entre produtores, pesquisadores e o governo federal, foram lançados programas de erradicação da *C. hominivorax* em outros Estados do sudeste e sudoeste dos E.U.A. A mosca da bicheira foi dada como erradicada dos E.U.A. em 1982, depois no México em 2001 e, finalmente, da América Central em 2004 (WYSS, 2000). Nos programas dos E.U.A. e México, até 500 milhões de moscas estéreis chegaram a ser produzidas por semana na biofábrica de Tuxtla Gutiérrez, México. No istmo de Darién, Panamá, foi estabelecida uma zona tampão de 300.000 km² através da liberação semanal de 40-50 milhões de machos estéreis para se evitar reinfestação a partir da América do Sul (GARCIA et al., 2007). Os benefícios diretos anuais daquela campanha de erradicação para o setor agropecuário foram estimados em US\$ 896 milhões, US\$ 328 milhões e US\$ 87,8 milhões para os E.U.A., México e América Central, respectivamente (WYSS, 2000).

A mosca da bicheira continua sendo um sério problema de saúde animal e humana em Cuba, algumas ilhas do Caribe e na América do Sul. Desde 1996, houve esforços de erradicação na Jamaica, mas o programa sofreu vários contratemplos e pouco progresso foi alcançado até 2005 (VREYSEN et al., 2007).

Nas últimas décadas, o Brasil vem se firmando como grande produtor de proteína animal. De acordo com projeções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a produção de carne bovina brasileira deve chegar a 11,4 milhões de toneladas em 2021 (um acréscimo de 24% em relação à produção de 2011), com uma participação nas exportações mundiais de 30,1% (BRASIL, 2011). Apesar de possuir o maior rebanho bovino comercial do mundo (aproximadamente 200 milhões de cabeças) (IBGE, 2008), ainda existem muitas fazendas que empregam métodos de produção arcaicos, apresentando índices zootécnicos de produtividade que não condizem com a

nova dinâmica da produção brasileira de carne (VIEIRA, 2005). Visando obter um rebanho mais produtivo, os produtores devem adotar um manejo sanitário adequado (vacinação, vermifugação, combate a ectoparasitas e tratamento correto das afecções presentes nos animais) aliado a uma boa nutrição e melhoramento genético (DEGASPERI; PIEKARSKI, 1988; DOMINGUES; LANGONI, 2001).

Em 2006, a *Comisión México-Americana para la Erradicación del Gusano Barrenador del Ganado* (COMEXA) apresentou um projeto regional ao Ministério da Agricultura do Brasil e foi definida uma área-piloto na fronteira entre Uruguai e Brasil, onde os prejuízos somavam US\$ 150 mil/ano. O projeto foi realizado entre janeiro e maio de 2009, as moscas estéreis foram importadas da biofábrica em Tuxtla Gutierrez e liberadas pela Força Aérea uruguiaia, sendo o COMEXA a agência executora e o Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID) o financiador. No final das 13 semanas de liberação, o projeto demonstrou resultados positivos de controle (PONTES et al., 2009). Com isso, estão sendo planejados novos programas de supressão ou erradicação de *C. hominivorax* para o MERCOSUL.

A importação de moscas estéreis seria um fator limitante para esses novos programas por questões relacionadas à qualidade dos insetos e custos. Pupas de *C. hominivorax*, assim como de moscas-das-frutas, são esterilizadas já no final do estágio pupal (BAUMHOVER et al., 1955; DOWELL et al., 2005) e a emergência é atrasada durante o envio por causa das condições de hipoxia e de baixa temperatura. Qualquer atraso ou alteração da temperatura durante o transporte são considerações logísticas fundamentais, porque a qualidade final dos insetos pode diminuir significativamente, especialmente em relação aos parâmetros de emergência e habilidade de vôo das moscas (ENKERLIN; QUINLAN, 2004).

Quanto maior a distância entre o centro de produção e os locais de liberação, além da maior probabilidade de ocorrerem atrasos e problemas de manutenção da temperatura, maiores também são os custos com transporte (FAO, 1992). Como exemplo, no programa de erradicação de *C. hominivorax* na Líbia em 1990, somente o custo de envio das pupas a partir de Tuxtla Gutiérrez foi quatro vezes maior do que o custo de liberação (DOWELL et al., 2005). Portanto, fazer com que o centro de produção das moscas estéreis seja na própria América do Sul é estratégico para os novos programas de manejo integrado de *C. hominivorax* em área-ampla.

2 OBJETIVO

Visando apoiar os futuros programas de controle de *Cochliomyia hominivorax* em área-ampla nos países do MERCOSUL, o objetivo deste trabalho foi realizar uma série de bioensaios de criação de *C. hominivorax* e de esterilização com raios X no Brasil, além de estudar a compatibilidade reprodutiva e indução de esterilidade entre linhagens regionais.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Distribuição geográfica de moscas da bicheira

A mosca *Chrysomya bezziana* (Villeneuve, 1914) (Diptera: Calliphoridae) está presente em parte da África subsaariana e o norte da África-do-Sul, Oriente Médio, Índia e em grande parte do sudeste asiático, incluindo Indonésia, Timor Leste, Filipinas e Papua Nova Guiné. Um *outbreak* de *C. bezziana* ocorreu em áreas antes consideradas livres do Iraque em 1996 (AL-IZZI, 2002).

Já a mosca *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) estava distribuída originalmente do sudoeste dos E.U.A. e pelo cinturão tropical da Flórida, até as Américas Central e do Sul (HALL; WALL, 1995; GUIMARÃES; PAPAVERO, 1999; SKODA, 2001; IAEA, 2008).

A distribuição atual de *C. hominivorax* compreende uma parte da região do Caribe (Cuba, República Dominicana, Haiti, Jamaica, Trinidad e Tobago) e os países da América do Sul, com exceção do Chile (HENDRICH, 2001). Dessa forma, ela cobre aproximadamente 50% das terras do continente sul-americano durante quase todo o ano, podendo mover-se para outros 30% dependendo da estação do ano (GRANT et al., 2000). O único incidente com *C. hominivorax* fora do hemisfério ocidental foi uma introdução acidental na Líbia, África, no ano de 1988, por meio de ovelhas vivas parasitadas importadas de países da América do Sul (GABAJ et al., 1989).

3.2 Ciclo de vida de *Cochliomyia hominivorax*

Coquerel (1858) relatou a presença de larvas de Calliphoridae nas fossas nasais de um homem em Caiena, Guiana Francesa, e denominou as formas adultas de *Lucilia hominivorax*. Cushing e Patton (1933) descreveram *Cochliomyia americana*, porém Aubertin e Buxton (1934) concluíram que os insetos estudados eram indistintos de *Cochliomyia hominivorax*, devendo, portanto, ser preservada esta última denominação pela prioridade de nomenclatura.

Cochliomyia hominivorax é um inseto holometábolo, apresentando, portanto, em seu desenvolvimento os estágios de ovo, larva, pupa e adulto. A infestação no animal começa quando a fêmea adulta oviposita uma massa de ovos (até 450 ovos por massa) na periferia de ferimentos, membranas mucosas e outros orifícios do corpo (GUEVARA, 1986). Hall (1948) observou que os ovos alcançam aproximadamente 1,04 mm de comprimento por 0,22 mm de largura, enquanto Davis e Camino (1968) observaram um comprimento de 1,1 mm.

A deposição da massa de ovos é precedida por movimentação do abdômen, exposição do ovipositor e busca de local adequado para a oviposição. A fêmea prova a superfície com seu aparelho bucal e a ponta do ovipositor até selecionar o local. Os ovos são depositados em uma massa plana irregular, com os ovos orientados para uma mesma direção, de forma imbricada e não em camadas. Se a ferida já possuía uma massa de ovos, a fêmea que está para ovipositar deposita a nova massa no topo ou em contato direto com a massa anterior em 67% dos casos. Terminada a oviposição, as moscas geralmente abandonam o animal imediatamente (THOMAS; MANGAN, 1989).

A mosca da bicheira é iteropara (reproduz-se durante toda a vida), com a oviposição ocorrendo em ciclos de 3 dias. As fêmeas de *C. hominivorax*, de certa forma, combinaram longevidade e iteroparidade com autogenia e grandes massas de ovos. Esse comportamento reprodutivo é bem adaptado para a exploração de recursos transitórios como feridas de animais (THOMAS; MANGAN, 1989).

O parasitismo causado pelas larvas provoca uma infecção (MARSHALL et al., 1937) denominada miíase, vulgarmente chamada de “bicheira”. A doença não é necessariamente muito chamativa e pode não ocorrer em escala epidêmica. Infestações por bicheira estão geralmente associadas às injúrias traumáticas, lesões erosivas ou ulcerativas da pele, lesões com pus, e locais com hemorragia. Em ovelhas, as larvas da mosca da bicheira têm a habilidade de conseguir atacar a córnea pelo canto mediano (mesmo estando intacta) do olho e a região perineal mesmo estando sem trauma óbvio ou hemorragia. Abscessos do pé de origem traumática são outra fonte de miíases em ovelhas. A região umbilical de animais recém-nascidos é especialmente suscetível e é uma das principais portas de entrada para as infestações (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007). Segundo Parish (1942), as moscas dos chifres e carrapatos também são

responsáveis por incitar infestações por moscas da bicheira (moscas dos chifres representaram cerca de 32% das infestações em gado, enquanto os carrapatos, 7% das infestações em cordeiros e 3% em ovelhas e gado).

Parish (1942) relatou 6.148 casos de miíase em animais entre 1936 e 1940 no Texas. Desse total, 41% das infestações ocorreram em ovelhas, 22% em bodes, 21,5% em cordeiros e 11% no gado. Dos 43 fatores que predisõem os animais às miíases, o ferimento por *needle grass* (capim-flecha ou capim de bode) foi responsável por 1.178 casos de infestação, ou 35% dos casos em cordeiros e 27% dos casos em ovelhas. Dos 8 tipos de feridas avaliadas e que podem ser facilmente excluídas pelo manejo sanitário adequado, aquelas relacionados ao nascimento estavam entre as mais importantes, representando 63% das infestações em bezerros e 8% no gado. Melvin e Bushland (1940) também citaram miíases ocorrendo em pássaros (corvo e pardal).

Segundo Krafur e Lindquist (1996), a distribuição dos casos de miíases por *C. hominivorax* na Líbia foi de 74% em ovelhas, 16% no gado, 4% em caprinos, 4% em eqüinos e 2% em camelos. Hall et al. (2009) avaliaram 181 casos de miíases por *C. bezziana* em 10 regiões do Oriente Médio, sendo cabras e ovelhas os principais hospedeiros (84,6% dos casos) e a região da cauda e da genitália os locais mais atacados (40,3% e 14%, respectivamente).

Na Venezuela, os cães representam os hospedeiros secundários mais importantes, e, dentre os animais selvagens de zoológico, a maioria dos casos de miíase ocorrem em felinos (CORONADO; KOWALSKI, 2009).

O parasitismo começa com a invasão das larvas pela epiderme lesionada e sua agregação em cavidades. Com seus dentículos e gancho da mandíbula, elas raspam os tecidos vivos e se alimentam das secreções resultantes. Em 24 h, as cavidades aumentam e se expandem lateralmente e em profundidade no tecido subcutâneo e músculos. Um exsudado seroso e sangrento é evidente nesta fase devido à necrose progressiva dos músculos, pele e outros tecidos. Hemorragia a partir das lesões pode ser severa, e estas passam a emitir um odor característico e pungente (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Metabólitos bacterianos resultantes da necrose e destruição dos tecidos por outras larvas aumentam a atratividade das feridas como sítios de oviposição para outras fêmeas grávidas (HAMMACK et al., 1987; CHAUDHURY et al., 2002a). Mahon et al. (2004) indicaram que a atratividade das feridas parasitadas está mais relacionada com a idade da ferida (por pelo menos 3 dias).

Freqüentemente, miíases por mosca da bicheira são complicadas pelo ataque de moscas secundárias. Estas larvas de moscas secundárias, como *Chrysomya* spp., ficam normalmente na superfície das feridas e não se aprofundam (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Os sinais clínicos da infestação incluem inicialmente a presença de uma lesão com secreções, forte odor característico, e com larvas. Hipersensibilidade no início, seguida de aparente perda de sensibilidade na região da lesão, impaciência do animal afetado, febre, letargia, perda de apetite, anemia e hipoproteinemia também são sintomas comuns. Infestações nos músculos podem resultar em restrições de movimento (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007). Até o presente momento, não foram desenvolvidas vacinas comerciais que ofereçam proteção contra as miíases (WILLADSEN, 2002).

O período larval é relativamente constante em duração por ser moderado pelo hospedeiro. Nas primeiras 24 horas após os ovos terem sido colocados, as larvas eclodem e passam a se alimentar dos tecidos vivos por 5-8 dias até atingirem o terceiro instar. Hightower et al. (1972a) estabeleceram 3 fases de crescimento larval: a 1ª seria caracterizada por um lento desenvolvimento de 0,3 a 0,11 mg com duração de 3,3 dias, a 2ª fase seria de crescimento crítico de 35 a 65 mg (suficiente para pupação), e a 3ª fase seria de crescimento pós-crítico, em que é determinado o tamanho do adulto. Oliveira (1980) concluiu que, em dieta artificial, o período larval varia de 3 a 5 dias.

Mazza (1939) considerou que em condições de campo as larvas de 1º instar atingem 1,2 mm de comprimento por 0,23 mm de largura, as de 2º instar 4,85 mm de comprimento por 1,5 mm de largura, e as de 3º instar 11,7 mm de comprimento por 2,55 mm de largura. Davis e Camino (1968) observaram o comprimento larval indo de 1 até 17 mm.

As larvas deixam as feridas para pupar no solo principalmente à noite, com pico entre a meia-noite e o começo da alvorada, e as fêmeas tendem a sair antes dos machos. Caindo no solo, as larvas se aprofundam 2-3 cm, viram-se no túnel criado e pupam em 24 h. Davis e Camino (1968) relataram um comprimento pupal de $10,2 \pm 0,8$ mm, e peso de pré-pupas entre 77 e 94,4 mg.

A duração do período pupal varia de 1 a 8 semanas dependendo do tipo de solo, temperatura e umidade (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007). Oliveira (1980) observou que o período pupal de 50 culturas variou de 6 a 10 dias (26° C e 80% de umidade relativa). Segundo Laake et al. (1936), o período de pré-pupa pode durar de 7 h

a 3,2 dias, o de pupa, 7 a 54 dias dependendo da estação do ano. Brody e Rogers (1945) registraram, durante o inverno na Flórida, um período pupal de até 78 dias. Parman (1945) e Flitters e Benschoter (1968) afirmaram que a temperatura média crítica de sobrevivência de pupas está entre 9-10 °C. Thomas (1989) relatou que larvas que empuparam em solo exposto diretamente ao sol sofreram 77% de mortalidade. Pupas na Líbia apresentaram viabilidade de 70% depois de serem mantidas por 1 mês à temperatura constante de 5 °C (ELWAER; ELOWI, 1991).

De acordo com Chirico et al. (1994), pupas irradiadas no 5º dia do estágio pupal e estando nas caixas de liberação (1.600 pupas/caixa + copinho com 100 mL de dieta gelatinosa a base de glicose) podem ser armazenadas até 132±2 h a 10 °C sem comprometer a qualidade dos adultos significativamente. Segundo os mesmos autores, pupas irradiadas também podem ser mantidas a 35 °C durante as últimas 36 h do estágio pupal sem haver perda substancial da qualidade das moscas, mas já a 40 °C a emergência de adultos cai para apenas 0,3% ou menos.

Logo após a emergência, a partir de 32 °C por 28 h, a qualidade das moscas é reduzida significativamente (redução de mais de 40% na porcentagem de *flyers*) (CHIRICO et al., 1994). Segundo Hofmann (1985), os patamares mínimos para emergência e mortalidade de adultos em uma biofábrica poderiam ser 90% e 0,5%, respectivamente.

A duração do período de pré-oviposição depende da temperatura. Fletcher et al. (1966) afirmaram que a maturidade sexual ocorre em 48 h e 36 h para fêmeas e machos, respectivamente. Krafur et al. (1979) encontraram períodos de 4, 6, 8 e 17 dias para as temperaturas de 25° C (Florida *Strain*), 25-30 °C (*Strain* 001), 25 °C (*Strain* CTX) e 15 °C (*Strain* 001), respectivamente. A idade de acasalamento varia de 48 a 56 h entre as temperaturas de 26,7° e 35°C, mas aumenta para 96 h a 43,3°C (ADAMS, 1979b).

Machos de *C. hominivorax* podem formar agregações para acasalamento em arbustos e árvores e atacam qualquer objeto pequeno que passe por perto. As fêmeas geralmente não requerem uma dieta protéica para ovipositar pela primeira vez, mas alimentam-se de proteínas quando prontamente disponíveis (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

A frequência de acasalamento pelos machos é menor entre 1 e 3 dias após a emergência e máxima entre 4 e 16 dias após a emergência dos adultos (a 27°C) (ADAMS, 1979b). Adams (1979b) concluiu que são as fêmeas que determinam quando deve ocorrer o acasalamento ou não, e que fêmeas contendo ovos na fase final de oogênese

(estágios 6 a 10), são mais receptivas à cópula. A faixa ótima para maturação dos ovos de *C. hominivorax* está entre 15,7° e 43,3 °C (ADAMS, 1979a). A maior taxa de maturação dos ovos foi verificada a 32,2 °C, e temperaturas acima desta estressam o inseto, aumentam o tempo necessário para completar a pré-vitelogênese e a vitelogênese (ADAMS, 1979a). Em laboratório, Crystal (1967) observou que as fêmeas acasalavam com 3-4 dias de idade e ovipositavam pela 1ª vez estando com 4-5 dias de idade.

Apesar da idade fisiológica da fêmea, determinada pelo estágio dos ovos nos ovários, ser um bom indicativo do momento do acasalamento, a presença da glândula anelar e a liberação dos seus produtos 24-48 h após a emergência são pré-requisitos para a ocorrência da cópula. Isso porque o acasalamento ainda pode ser observado quando os ovários são removidos ou atrofiados por radiação, mas não quando as glândulas anelares são removidas ou os insetos são alimentados apenas com açúcar (dietas apenas com açúcar parecem interferir na liberação dos produtos das glândulas anelares) (ADAMS, 1979b).

Crystal (1967) concluiu que o tempo de cópula é de $2,6 \pm 0,1$ min. As fêmeas copulam uma só vez e os machos de 4 a 5 vezes. Fêmeas são mais receptivas à inseminação quando mantidas entre 21,5° e 29,4 °C (ADAMS, 1979a). Adams e Reinecke (1979) mencionaram que o intervalo de 15°C a 43,3°C não produz efeito letal sobre a inseminação de fêmeas de *C. hominivorax*. O acasalamento não ocorre em temperaturas menores que 12,8 °C e pode demorar até 480 h para ocorrer após a emergência dos adultos a 13°C (ADAMS, 1979a).

Krafsur e Garcia (1978) demonstraram que o momento em que 90% de uma população teste de *C. hominivorax* oviposita pela 1ª vez pode ser estimado por uma equação linear em função da temperatura ($D-1 = 98.04/(T-8.41)$). Adams (1979a) propuseram outra equação ($D = 60.98/(T-14.9)$), a qual predizia a maturação em até 3,4 dias. Entretanto, observações de campo e laboratório demonstraram que o dia modal para a 1ª oviposição, a temperaturas ≥ 27 °C, ocorre no 5º dia de idade, com as oviposições subseqüentes podendo ocorrer a cada 3 dias (CRYSTAL, 1967; HIGHTOWER et al., 1972b; MANGAN; THOMAS, 1989; THOMAS; CHEN, 1990).

A oviposição ocorre preferencialmente no final da tarde (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007). Davis et al. (1968) verificaram que, em temperaturas inferiores a 20°C, as fêmeas reduzem significativamente a oviposição. Hightower et al. (1972b)

relataram que moscas de colônia de laboratório ovipositaram até 11 vezes, com 3,2 dias de intervalo entre as oviposições. Fêmeas podem reabsorver os ovos quando não encontram substratos adequados para oviposição (ADAMS; REINECKE, 1979).

A longevidade média dos adultos em laboratório pode chegar a 28 dias (BUSHLAND; HOPKINS, 1953; KNIPLING, 1955; MOYA-BORJA, 2003). Segundo Adams (1979a), variações de temperatura dentro da faixa ótima (21,8° a 37,8°C) provocam poucas mudanças na maturação dos ovos pelas fêmeas, mas, por exemplo, um aumento de 5,5°C dentro de faixas sub-ótimas (de 37,8° a 43,3°C, por exemplo) pode provocar uma redução da longevidade de até 57,7%. Hightower et al. (1972b) observaram uma longevidade máxima em laboratório de 50 dias. Já Laake et al. (1936) relataram que uma fêmea em laboratório viveu até os 65 dias de idade e ovipositou 12 vezes. Thomas e Mangan (1992) relataram que moscas da linhagem de Belize liberadas em campo demonstraram sobrevivência e longevidade comparáveis às de populações selvagens.

3.3 Ecologia e dispersão de moscas da bicheira

A mosca da bicheira é uma oportunista, estrategista-*r*, e consegue sobreviver no ambiente mesmo sob baixas densidades de hospedeiros e de moscas adultas (SOUTHWOOD et al., 1974). Densidades de populações naturais de moscas da bicheira raramente excedem 200 fêmeas/km² (LINDQUIST, 1958). Sua distribuição não é uniforme na natureza, como foi observado no Arizona (PARMAN, 1945; DEONIER, 1946), Texas (HIGHTOWER, 1963; AHRENS et al., 1977; PETERSON II et al., 1983), na região do Golfo do México (KRAFSUR; HIGHTOWER, 1979; KRAFSUR et al., 1980) e nos tabuleiros costeiros do sul do México (BRENNER, 1985). Spencer et al. (1981) e Parker et al. (1993) sugeriram que populações de *C. hominivorax* em climas tropicais estão sempre presentes em níveis suficientes para provocar infestações em qualquer época do ano.

Como era de se esperar para um parasita obrigatório, a distribuição de *C. hominivorax*, tanto nativa como estéril, está intimamente associada com a distribuição de animais de sangue quente (PARMAN, 1945; DEONIER, 1946; HIGHTOWER, 1963; JONES et al., 1976b). Os adultos também preferem áreas ribeirinhas com mata, áreas sombreadas e úmidas e têm menores chances de sobreviver em áreas de campo aberto (PHILLIPS et al., 2004; ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

As fêmeas de *C. hominivorax* visitam feridas tanto para ovipositar quanto para se alimentar dos exsudados, sendo que as visitas de alimentação podem chegar a ser duas vezes mais frequentes do que as de oviposição. As visitas de alimentação duram em média 5,4 min., enquanto as de oviposição duram cerca de 15,4 min., embora ambas possam durar até 1 h (THOMAS; MANGAN, 1989).

Guillot et al. (1978) observaram machos estéreis sexualmente ativos no campo e verificaram que a maioria deles permanecia em “estações de espera” próximas de flores. Mackley e Long (1983) registraram grandes densidades de moscas estéreis próximas a certas espécies florais no sul do Texas, novamente sugerindo preferência das moscas por fontes alimentares ou lugares de agregação antes do acasalamento. Thomas (1991) relatou que os adultos de *C. hominivorax* em gaiolas de campo ficavam sob constante ameaça de formigas, especialmente enquanto se alimentavam de néctar.

Brenner (1984) propôs que os adultos de *C. hominivorax* se agregavam ao redor dos animais hospedeiros. Entretanto, Parker et al. (1993) não concordaram com essa hipótese depois que encontraram 3,6 menos moscas nas áreas de pastagem do que em áreas de floresta. Além disso, os dados de múltipla recaptura de Parker et al. (1993) sugeriram que as fêmeas não formam agregações próximas aos animais, mas que se movem (talvez ao acaso) dentro das áreas de floresta ou mais sombreadas.

A disposição das armadilhas no campo e a direção do vento exercem grande influência na avaliação da distribuição de mosca da bicheira. Brenner (1985), avaliando um local onde havia plantação de cacau e pasto, verificou que quando o vento soprava em direção ao cacau (sem animais por perto), apenas 2 moscas silvestres e 20 estéreis foram capturadas, mas quando o vento soprava para a transição entre pasto e a plantação (animais presentes dentro de 150 m), 27 moscas silvestres e 230 estéreis foram capturadas. Entretanto, esse trabalho não incluiu áreas com floresta, e Mangan e Thomas (1989) demonstraram que as fêmeas preferiam os habitats de floresta ao invés de pastagens ou áreas com vegetação rasteira.

Estudos ecológicos realizados na América Central e no Brasil utilizando armadilhas orientadas pelo vento (OLIVEIRA et al., 1982) ou animais sentinelas com feridas induzidas indicaram que *C. hominivorax* é mais abundante durante os meses de verão, os quais normalmente coincidem com períodos chuvosos. Grandes flutuações diurnas de temperatura podem ser prejudiciais à sobrevivência dessa mosca

(NOVY, 1978). Flitters e Benschoter (1968), Krafur (1987) e Thomas (1989) observaram quedas nas populações selvagens a altas temperaturas.

Segundo Parker et al. (1993), a diminuição da disponibilidade de alimento e hospedeiros durante as estações secas parece ser o principal fator responsável pelo declínio sazonal das populações de *C. hominivorax*. Nas épocas secas, as fontes de umidade (como orvalho, chuvas e secreções de plantas) diminuem, a carcaça de animais e esterco ressecam mais rapidamente e há, de modo geral, menor número de animais recém-nascidos. Altas temperaturas (>30 °C) também diminuem o número de horas de forrageamento disponíveis para as moscas durante o dia.

Baumhover (1963b) observou a perda de peso e sobrevivência de larvas maduras, pré-pupas e adultos sob vários regimes de temperatura e umidade e demonstrou que altas mortalidades ocorrem em atmosferas mais secas. Baumhover e Spates (1965) mostraram que a tolerância de adultos à falta de água e alimento pode variar muito entre linhagens selecionadas e não selecionadas.

Como encontrar um animal ferido não é muito freqüente, essas moscas desenvolveram quimiorreceptores muito sensíveis aos odores emanados de lesões, especialmente das já parasitadas com a bicheira (MOYA-BORJA, 2003).

Nessa busca por locais para oviposição, as fêmeas podem se dispersar por até 350 km durante seu período de vida (MOYA-BORJA, 2003). Já houve relato de que um único espécime de *C. hominivorax* foi capaz de se deslocar por 290 km (SPRADBERY, 1991). Fêmeas adultas de *C. bezziana*, por exemplo, conseguem voar 25-50 km em procura de um hospedeiro adequado, mas longas distâncias de 300 km também já foram relatadas (OPEC, 1999), embora grandes dispersões como esta estejam usualmente associadas com o deslocamento de animais infectados e quando a densidade de hospedeiros é menor (IAEA, 2008). Brenner (1985) verificou que a dispersão de moscas estéreis dentro de 2,1 km a partir do ponto de liberação era adequada. Mayer et al. (1995) mostraram estimativas de distância média de dispersão entre 4 e 10 km.

Também há evidências que as moscas de *C. hominivorax* podem ser carregadas pelo vento para infestar novas áreas, como parece ter sido o caso da reinfestação da Ilhas Virgens em 1977 (RAWLINS, 1985).

Thomas e Mangan (1989) detectaram uma periodicidade em populações mexicanas de 14-15 dias, o que atribuíram ser o tempo de uma geração. Essa periodicidade numa população pode sugerir certa sincronização de oviposição, resultado do comportamento de desenvolvimento em feridas. Nesse caso, a maioria das moscas

pode ser proveniente de apenas alguns poucos hospedeiros infestados. Quando uma ferida infestada atinge sua máxima atratividade (3-4 dias e com larvas de 3º instar), as fêmeas parentais podem estar prontas para ovipositar novamente. Nessas circunstâncias, uma única fêmea e um único hospedeiro conseguem iniciar uma sucessão de gerações com periodicidade de 3 dias (THOMAS; CHEN, 1990).

Matlock Junior e Skoda (2009) estimaram as taxas de recrutamento, sobrevivência e de crescimento populacional pelo método de Pradel em oito estudos de liberação-recaptura de *C. hominivorax* férteis em duas localidades da Costa Rica. Do total de 19.573 moscas marcadas liberadas, 4.476 foram recapturadas. A sobrevivência diária foi 3% maior na estação úmida em comparação com a estação seca. A recaptura de fêmeas foi quase 6 vezes maior do que a de machos, e a recaptura de moscas foi 3 vezes maior na estação seca do que na úmida. O tempo estimado para dobrar a população variou de 54 para 139 dias, enquanto o tempo mínimo encontrado na literatura (sob condições ideais) é de somente 14 dias.

A recaptura de moscas geralmente é maior nas épocas secas porque a eficiência dos atrativos existentes até hoje aumenta com a baixa disponibilidade de alimento e outros recursos naturais durante esses períodos (PARKER et al., 1993).

3.4 Importância econômica e médica

Nas últimas décadas, há centenas de relatos de infestações na Colômbia, Venezuela, Suriname, Guianas, Equador, Paraguai e Brasil. Também há vários casos na literatura sobre infestações em seres humanos nos E.U.A., Uruguai, Peru, Bolívia e Brasil (GRANT et al., 2000; IAEA, 2008).

Como consequência do parasitismo, ocorre aumento da mortalidade dos animais, dos custos com agrotóxicos, medicamentos, serviços veterinários, de mão-de-obra com inspeção e manejo dos animais, diminuição de ganho em peso, da produção de leite e da qualidade do couro. Um animal adulto infestado com *C. hominivorax* pode morrer em até 7-10 dias se não tratado corretamente (SERENO et al., 1996; IAEA, 2008). Animais pequenos, como coelhos, podem sucumbir rapidamente mediante miíase contendo 50-100 larvas (BAUMHOVER et al., 1966).

Em 1935 no E.U.A., foram relatados 230.000 casos de miíases em animais e 100 em humanos (JAMES, 1947). Jefferson (1960) descreveu que 80 a 85% das feridas dos bovinos na Flórida eram infectadas com larvas de *C. hominivorax*, o que ocasionava perdas de US\$ 10 milhões/ano. Baumhover (1966) estimou que *C. hominivorax* ocasionava perdas nos E.U.A. de US\$ 20 milhões/ano na região sudeste e de US\$ 50 a 100 milhões/ano na região sudoeste. Foi estimado que a indústria norte-americana sofreria perdas de produção da ordem de US\$ 900 milhões caso essa mosca fosse reintroduzida (McGRAW, 2001).

No Haiti e na República Dominicana, os danos por essa praga foram estimados em US\$ 16 milhões e US\$ 10 milhões por ano, respectivamente. Na Jamaica, as taxas de infestação em bovinos e caprinos chegavam a 15,1 e 18,3%, respectivamente, sendo que as perdas por causa da mortalidade, baixa produtividade e custos de produção (vistorias, prevenção e tratamento de feridas) foram estimados entre US\$ 5,5 milhões e US\$ 7,8 milhões/ano (VO, 2000).

Um estudo dos prejuízos em Cuba concluiu que mais de 97% dos custos com controle estavam relacionados com remédios não-específicos (como antibióticos para combater infecções secundárias resultantes da miíase) e o custo médio de controle era de US\$ 1,00 para caprinos e US\$ 9,00 para o gado (IAEA, 1998a). Coronado e Kowalski (2009) estimaram que os custos de controle (com larvicidas, por exemplo) na Venezuela chegavam a US\$ 2 milhões/ano.

Na pesquisa de Rawlins (1985), o gasto com monitoramento e tratamento em Trinidad, Guiana, Suriname e Jamaica variou de US\$ 4,82 a US\$ 10,71/animal. No norte da África, o custo com a inspeção e tratamento foi calculado em US\$ 5,00/animal/ano (MOYA-BORJA, 2003).

Utilizando um cenário *worst case* para o caso de estabelecimento de *C. bezziana* na Austrália, Anaman et al. (1993) estimaram que as perdas diretas pelos produtores seriam da ordem de US\$ 281 milhões. Propriedades com cria extensiva de gado sofreriam as maiores perdas (73% do total de perdas pelos produtores).

Segundo Rawlins et al. (1983), animais infestados estavam presentes em 85% e 88% das fazendas da Guiana e do Suriname, respectivamente. Carrazoni e Almazan (1973) constataram que a miíase em umbigo de bezerras na Argentina determinava de 10 a 15% das mortes de animais recém-nascidos. Carballo et al. (1990) verificaram que a maior incidência de miíases (68,6%) ocorria nos ovinos. No ano 2000, a incidência de

miíases no Uruguai chegou a ser de 5,7% nas ovelhas e de 3,4% no gado, ocasionando perdas de US\$ 210 milhões, enquanto no Brasil e Paraguai, as perdas foram estimadas em US\$ 1,8 bilhões e US\$ 103 milhões, respectivamente (IPS, 2010).

Madeira et al. (1998) conduziram uma pesquisa sobre a incidência de miíases na ovinocultura de São Paulo e verificaram que *C. hominivorax* era o ectoparasita mais freqüente e que causava mais perdas econômicas de acordo com 67,4% dos fazendeiros que responderam à pesquisa. A incidência da bicheira também estava altamente relacionada com o tamanho do rebanho: a prevalência era baixa nos rebanhos menores (< 50 animais), mas chegava a 100% nos rebanhos com mais de 500 animais. A menor taxa de infestação (33%) foi observada nas fazendas cuja produção era voltada apenas para a obtenção de lã, enquanto a maior taxa (80%) foi observada nas fazendas em que a criação era voltada para a produção de carne e lã simultaneamente. Esse estudo também mostrou que 26,7% dos ovinos que eram submetidos à prática da amputação da cauda sofriam miíases.

No Brasil, Grisi et al. (2002) estimaram que as perdas por *C. hominivorax* giravam em torno de US\$ 150 milhões/ano. Rocha e Vaz (1950) observaram a necropsia de 300 bezerros e afirmaram ser de 8 a 15% a mortalidade por *C. hominivorax* em São Paulo. Pinheiro et al. (1974) registraram a prevalência de 46% de miíase cutânea em bovinos por *C. hominivorax* em Botucatu, SP. Segundo Lello et al. (1982), casos de miíases foram encontrados em 56% das fazendas de Botucatu, e a taxa de infestação era de 46,8% em ovelhas e 95,2% no gado. De acordo com Moya-Borja (2003), a venda de “mata bicheiras” para todas as espécies animais atinge cerca de US\$ 8 milhões/ano no país.

Horn e Antonio (1983) relataram que os prejuízos por depreciação de couros de bovinos chegavam a US\$ 109 milhões/ano. Mais recentemente, as perdas por causa de defeitos provocados por ectoparasitas como a bicheira no couro bovino chegam a totalizar US\$ 216 milhões/ano no Brasil (IEL, 2000).

Nos casos em que *C. hominivorax* parasita seres humanos, deve haver condições propícias para tal, como debilidade física ou mental, desidratação, higiene corporal inadequada, desnutrição, elefantíase, diabetes, alcoolismo, anemia, infestação por piolhos e, fundamentalmente, feridas ou lesões causadas por acidentes (DURIGHETTO JUNIOR et al., 1995; STEPHAN; FUENTEFRÍA, 1999; GARCÍA et al., 2002; COUPPIE et al., 2005).

Em 1935 nos E.U.A., foram relatados 100 casos de miíases em humanos (JAMES, 1947). Snow et al. (1978) diagnosticaram 14 casos de miíases humanas na ilha de Curaçao e enfatizaram que os mais atingidos foram crianças e idosos.

Segundo Rawlins (1985), pelo menos um caso de miíase humana foi reportado pelo seu pessoal de campo em Trinidad, Guiana, Suriname e na Jamaica. Entre 2002 e 2009, foram encontrados registros de 241 casos de miíases em crianças (0-6 anos) e idosos na Venezuela, havendo ainda dois óbitos de idosos por infestação massiva (CORONADO; KOWALSKI, 2009).

Entre 1999 e 2002, foram registrados 24 casos na cidade de Recife, Pernambuco (NASCIMENTO et al., 2005). No município de São Gonçalo, Rio de Janeiro, entre julho de 2007 e maio de 2008, houve 22 casos de pessoas parasitadas por *C. hominivorax* (SILVA et al., 2008a). Lopes-Costa et al. (2008) relataram um caso de miíase por *C. hominivorax* na cavidade uterina de uma mulher.

Na verdade, existe um consenso entre especialistas médicos e veterinários de que a incidência de *C. hominivorax* é provavelmente sub-reportada na maioria dos países, com o número real sendo freqüentemente 10 vezes maior do que o número oficial. Até mesmo em países com serviços médico-veterinário bem estruturados e de boa qualidade, a incidência real é estimada como sendo 5 vezes maior do que a declarada oficialmente (IAEA, 1998b). Krafzur et al. (1979) sugeriram que as populações de *C. hominivorax* devem ser muito maiores do que poderia ser inferido a partir do número de casos de miíases.

3.5 Manejo Integrado de Miíases

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) pode ser definido como um “sistema de decisão para uso de táticas de controle, isoladamente ou associadas harmoniosamente, em uma estratégia de manejo baseada em análises de custo/benefício que levam em conta o interesse ou impacto na sociedade e ambiente” (KOGAN, 1998). Dentre as etapas para elaboração de um programa de MIP, pode-se citar: reconhecimento das pragas-chave (identificação taxonômica e bionomia), determinação dos níveis de dano econômico e de controle, amostragem populacional, determinação da dinâmica populacional e avaliação dos métodos de controle. Na verdade, nos últimos 50 anos, o MIP permaneceu como paradigma dominante do controle de pragas (KOGAN, 1998).

Dentro do manejo integrado das miíases neotropicais, larvas e adultos de *Cochliomyia hominivorax* podem ser diferenciados morfológicamente das outras espécies. Como os dois primeiros instares são relativamente imperceptíveis e duram apenas 2 dos 4-7 dias de período larval, eles raramente são apresentados para diagnose e as chaves taxonômicas geralmente são apenas para larvas de 3º instar. Na larva de 3º instar de *C. hominivorax*, os troncos traqueais dos espiráculos posteriores até o 9º ou 10º segmentos são fortemente pigmentados e o espiráculo anterior tem de 7 a 12 papilas (SPRADBERY, 2002). Para diferenciar os adultos, a faixa escura central do tórax não se estende até o final da sutura mesonotal, há sétulas escuras na parafaciália da cabeça, e o 5º segmento do tergito abdominal geralmente possui poucas cerdas lateralmente (SPRADBERY, 2002).

Para os estudos de flutuação sazonal dos adultos e monitoramento populacional, podem-se empregar animais sentinelas (para obtenção de massa de ovos e larvas) (BAUMHOVER et al., 1955), iscas com fígado deteriorado ou armadilhas com atrativos artificiais (*Swormlures*) (para captura de adultos) (GRAHAM, 1985; DRUMMOND et al., 1988; MOYA-BORJA et al., 1993; HALL; WALL, 1995).

Broce et al. (1977) desenvolveram uma armadilha mais eficiente do que a armadilha padrão para *blowflies* (*standard blowfly trap* – STT) e melhor adaptada para o uso do *Swormlure-2*, a chamada *Wind Oriented Trap* (WOT). Em campo, a WOT foi capaz de capturar mais *C. hominivorax* do que a STT e menos *C. macellaria*, além de ser de menor custo. Coronado e Kowalski (2009) instalaram WOT com diversos tipos de carne como atrativo em 23 Estados da Venezuela, mas a eficiência de captura foi muito baixa (apenas 38 espécimens de *C. hominivorax* coletados).

Jones et al. (1976a) desenvolveram um atrativo químico com 10 componentes (álcool *sec* e *iso*-butílico, ácido acético, ácido butírico, ácido valérico, fenol, *p*-cresol, ácido benzóico, indol e acetona) que atraía de 5 a 7 vezes mais machos de *C. hominivorax* e 87% menos moscas de outras espécies do que fígado em decomposição, o qual foi a isca padrão por mais de 40 anos. Coppedge et al. (1977) adicionaram o dimetil dissulfeto, criando o *Swormlure-2*, o que aumentou a atratividade para moscas da bicheira. O raio de influência do *Swormlure-2* era máximo até os 150 m (BROCE et al., 1979). Mais tarde, a acetona foi retirada da mistura e o *Swormlure-2* tornou-se componente essencial do monitoramento e dos sistemas de supressão populacional do programa de erradicação de *C. hominivorax* (SNOW et al., 1982).

Entretanto, à medida que o programa de erradicação avançava no México, a eficiência do *Swormlure-2* foi se tornando mais errática, especialmente nas áreas tropicais úmidas, aumentando a necessidade de se melhorar sua formulação. Mackley e Brown (1984) alteraram a proporção dos componentes individuais do *Swormlure-2*, visando aumentar a evaporação dos componentes mais voláteis (álcool butílico, dimetil dissulfeto, ácidos acético e butírico), mas mantendo uma evaporação suficiente dos menos voláteis (fenol, ácido valérico, *p*-cresol, ácido benzóico e indol). A nova mistura, *Swormlure-4* (193 mL de dissulfeto de dimetila, 191 mL de álcool *sec*-butílico, 194 mL de álcool *iso*-butílico, 192 mL de ácido acético, 63 mL de ácido butírico, 64 mL de ácido valérico, 52 mL de fenol, 51 mL de *p*-cresol, 13 g de indol e 12 g de ácido benzóico), era quase duas vezes mais volátil do que o *Swormlure-2*, e verificaram que WOT com *Swormlure-4* capturaram 81% mais *C. hominivorax* selvagem do que a WOT com *Swormlure-2*, depois de 7 dias de exposição. Brenner (1985) utilizou armadilhas WOT com *Swormlure-4* em áreas úmidas do sul do México e verificou que *C. hominivorax* era mais abundante quando as armadilhas estavam posicionadas na direção do vento e a 150 m de animais de sangue quente.

Como componentes das estratégias de supressão ou erradicação, pode-se citar o *Screwworm Adult Suppression System* (SWASS), o manejo preventivo do rebanho, o controle químico e a Técnica do Inseto Estéril.

Coppedge et al. (1978a) desenvolveram um sistema de isca tóxica denominado *Screwworm Adult Suppression System* (SWASS). As primeiras unidades de SWASS, utilizadas na ilha de Curaçao, consistiam em cilindros de cartolina (5,1 cm de diâmetro por 7,5 cm de altura) que continham internamente 5 g de uma mistura de cola de Elmer (52%), açúcar granulado (32%), sangue em pó (14%) e diclorvós (2%), além de algodão odontológico impregnado com 2 mL de *Swormlure-2*.

De 1954 a 1974, a ilha de Curaçao esteve livre da mosca da bicheira, mas, em dezembro de 1975, foi detectada uma infestação. Em julho de 1976, foi iniciada uma avaliação do SWASS na ilha. As unidades de SWASS foram liberadas (10-20/km²) por 15 semanas, resultando em 65-85% de supressão de adultos e declínio da incidência de larvas entre 30-70%, sendo que as unidades mataram aproximadamente 5 fêmeas adultas para cada macho (COPPEDGE et al., 1978b).

A formulação seguinte das unidades de SWASS (COPPEDGE et al., 1980) consistia de pellets de 3,5 g feitos a partir de açúcar (30,5%), sangue em pó (30,5%), farelo de milho (7,5%), diclorvós (2%) e um preparado de cera (29,5%)

(82% de *Swormlure-2* e 18% de cera). No Texas, os pellets eram distribuídos por aviões na taxa de 1 kg/5,7 km², provocando reduções das populações nativas de *C. hominivorax* de até 84% e de *C. macellaria* em até 90%.

Com melhorias do manejo sanitário do rebanho, vários tipos de casos de miíases podem ser completamente eliminados. Utilizando todos os meios de prevenção contra as infestações, os produtores podem reduzir os custos com remédios e mão-de-obra, as perdas no ganho de peso e na qualidade dos couros, além de morte de animais (PARISH, 1942). Os animais devem ser manejados de modo a evitar feridas desnecessárias e castrações, marcações, descornas e nascimento de bezerros podem ser programados para as épocas de baixo parasitismo.

No controle químico, os organofosforados (coumaphos, ronnel, chlorpyrifos, chlorfenvinfos, trichlorfon, diclorvos) são largamente utilizados, além dos endectocidas de ação residual, como avermectinas (doramectina e ivermectina) e, recentemente, Moxidectin (Cyanamid) (SPRADBERY et al., 1991; MOYA-BORJA, 2003).

3.6 Técnica do Inseto Estéril (TIE)

Com as crescentes limitações quanto à presença de resíduos de agrotóxicos na carne, leite e no ambiente, além do surgimento de linhagens resistentes de insetos, como ocorreu com *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) na Austrália (NOLAN; SCHNITZERLING, 1986; LEVOT, 1995), vem ganhando apoio da sociedade outro método de controle, a Técnica do Inseto Estéril (TIE).

Em 1933, Cushing e Patton reconheceram que *C. hominivorax* era um parasita obrigatório de animais e diferente taxonomicamente de *Cochliomyia macellaria*. Em 1934, o *Agricultural Research Service* do *United States Department of Agriculture* (USDA-ARS) inaugurou uma estação de pesquisa na Geórgia, para a qual Edward Knippling acabara sendo designado. Em setembro de 1935, Raymond Bushland foi contratado pelo ARS do Texas. Em 1936, Melvin e Bushland desenvolveram dieta artificial e técnicas de colonização da mosca da bicheira. Em 1937, Knippling e Bushland começaram a discutir sobre uma teoria autocida para a supressão de populações de *C. hominivorax*. Entretanto, toda a pesquisa foi interrompida em 1937 por causa da Segunda Guerra Mundial. Após a guerra, em 1947, ressurgiu o interesse pela erradicação de *C. hominivorax* e pelo que se tornaria a Técnica do Inseto Estéril (TIE) (WYSS, 2000).

Em 1927, Hermann J. Muller descreveu a indução de mutações letais dominantes no sistema reprodutivo de *Drosophila* sp. por raios X. Em 1946, Arthur W. Lindquist chamou a atenção de Knipling para o fato de que Muller havia relatado um meio para esterilizar insetos. Bushland e Hopkins (1951) conduziram, então, as primeiras irradiações de *C. hominivorax* no *X ray Therapy Section of the Brooke Army Hospital* e demonstraram que, quando pupas de 6 dias de idade eram expostas a 50 Gy de raios X, as moscas adultas que emergiam eram estéreis e podiam competir igualmente contra as moscas não irradiadas.

O primeiro projeto-piloto de campo foi realizado entre 1951 e 1953 na ilha Sanibel (47 km²), a 4 km da costa da Flórida, utilizando inicialmente moscas marcadas com ³²P para um experimento de liberação e recaptura. A porcentagem de massas de ovos radioativas também foi avaliada. As moscas foram produzidas no laboratório do ARS no Texas. Os resultados corroboraram os estudos de laboratório e, depois de apenas 8 semanas de liberações (aproximadamente 39 machos estéreis/km²/semana), 100% das massas de ovos coletadas dos animais sentinela eram estéreis. Mesmo assim, a erradicação não foi alcançada por causa de reinfestações contínuas por moscas férteis vindas de terra firme (BAUMHOVER et al., 1955).

Para provar a viabilidade da TIE de uma vez por todas, um teste de erradicação foi iniciado na ilha de Curaçao (435 km²), situada a 6,5 km da costa da Venezuela, em 1954. As moscas foram produzidas em uma biofábrica da Flórida e as pupas irradiadas foram acondicionadas em sacos de papel, enviadas por avião para Curaçao e liberadas duas vezes por semana. Os machos estéreis começaram a ser liberados (aproximadamente 155 machos estéreis/km²/semana) em agosto de 1954 e a erradicação foi alcançada em apenas 43 semanas (BAUMHOVER et al., 1955).

Segundo a International Plant Protection Convention (FAO, 2005), a TIE é hoje definida como um “método de controle de pragas usando liberações inundativas de insetos estéreis em área-ampla visando reduzir a fertilidade de uma população selvagem da mesma espécie”. Ao transferir espermatozoides com mutações letais dominantes (induzidas tradicionalmente por radiações ionizantes) para as fêmeas selvagens, a geração seguinte é inviabilizada.

Basicamente, pode-se dizer que a TIE é composta de 3 etapas: produção massal da espécie-alvo, esterilização dos insetos, e liberação no campo. Antes da expansão de qualquer programa que integre a TIE, são indispensáveis pesquisas preliminares relacionadas a essas etapas, como determinação dos tipos de dieta, da dose ótima de

esterilização (que não comprometa a competitividade dos adultos no campo), distribuição e densidade da praga no campo, estudos de ecologia, etologia, de compatibilidade sexual de linhagens, dentre outros (DYCK et al., 2005a).

O programa na Jamaica contra *C. hominivorax*, por exemplo, experimentou vários contratempos, muitos dos quais não relacionados com a tecnologia da TIE *per se* (IAEA, 2004a). Começar a usar uma tecnologia sem a devida preparação, adaptação e dados precisos da situação local pode implicar na perda de eficiência do projeto e aumento dos custos em curto prazo (VREYSEN et al., 2007).

De certa maneira, foram os esforços contínuos para melhorar as técnicas de produção das moscas estéreis através de pesquisas aplicadas que garantiram o sucesso das campanhas de erradicação de *C. hominivorax* ao longo das décadas.

A pesquisa com dietas é de extrema importância, uma vez que é afetado o desempenho dos estágios imaturos e do adulto (CANGUSSU; ZUCOLOTO, 1997). Estudos sobre a nutrição de *C. hominivorax* são conduzidos desde a década de 1930 (MELVIN; BUSHLAND, 1936; BROWN; GRAHAM; DUDLEY, 1959; SNOW, 1979; HARRIS et al., 1984, 1985; TAYLOR; MANGAN, 1987; TAYLOR, 1988; TAYLOR et al., 1991a; CHAUDHURY; ALVAREZ, 1999; CHAUDHURY et al., 2002b).

Encontrar dietas mais baratas para a criação massal pode refletir dramaticamente no custo total do programa. Com relação à dieta para adultos, a substituição da carne de cavalo por ovo *spray dried* e do mel por melaço, gerou uma economia de US\$ 100 mil anuais para a biofábrica do México (CHAUDHURY, 2001; McGRAW, 2001).

Melvin e Bushland (1936) foram um dos primeiros a desenvolver, em condições de laboratório, um meio para criação de larvas, o qual consistia em 750 mL de leite bovino, 250 mL de sangue citratado, 0,5 mL de formaldeído e 500 g de carne bovina. Melvin e Bushland (1940) aperfeiçoaram o meio larval para criação de *C. hominivorax* sendo composto agora por 1 L de água, 6 mL de formalina, 1 kg de carne bovina moída e 500 mL de sangue bovino citratado. Graham e Dudley (1959) elaboraram um meio constituído por 54% de carne bovina moída, 30% de água, 15% de sangue bovino citratado e 0,2% de formalina.

Gingrich (1964) realizou estudos com dietas holídicas para larvas de *C. hominivorax*. Tiamina, riboflavina, pantotenato de cálcio, niacina e colina são necessários para o crescimento, e biotina e ácido fólico são essenciais para o desenvolvimento para a fase de adulto. O crescimento também falhou na ausência de

arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, triptofano e valina. Embora ribose, glicose e maltose tenham inibido o crescimento, glicogênio e amido a 0,5% foram aceitos (mas não eram necessários).

Gingrich et al. (1971) desenvolveram uma dieta líquida, depois modificada por Brown e Snow (1979), composta de sangue e ovo *spray dried*, leite em pó, formalina e água, além de algodão ou fibras de acetato para dar sustentação às larvas, sendo utilizada nos programas de erradicação de *C. hominivorax* por mais de 12 anos. Vários autores também demonstraram que dietas com agentes gelificantes eram mais eficientes e baratas (HARRIS et al., 1985; TAYLOR; MANGAN, 1987; TAYLOR et al., 1991a).

Chaudhury e Skoda (2007) desenvolveram uma dieta larval à base de fibra de celulose (60 g de sangue *spray dried*, 40 de ovo *spray dried*, 40 g de leite em pó, 1 mL de formalina, 60 g de fibra de celulose e 800 mL de água a 39 °C), obtendo larvas e pupas de alta qualidade (peso acima de 40 mg). Após ter sido adotada na biofábrica de Tuxtla Gutierrez em 2005, essa dieta proporcionou uma economia de US\$ 250 mil/ano.

Thomas (1993) realizou uma série de experimentos para avaliar a influência da temperatura, nutrição e número de gerações (tempo após colonização) sobre a fecundidade de *C. hominivorax*. Somente 75-89% das fêmeas criadas em dieta larval artificial e mantidas a 30 °C ficaram grávidas aos 6 dias de idade comparando-se com 100% das fêmeas criadas em hospedeiro. A sincronia de maturação das fêmeas nas gaiolas foi maior a temperaturas menores que 30 °C. Com relação à dieta larval, a fecundidade média das fêmeas criadas em hospedeiros foi de 280 ovos/fêmea, enquanto a daquelas provenientes de dieta artificial foi de 185 ovos/fêmea (deve-se ressaltar que as moscas criadas em hospedeiro nesse experimento eram maiores (cápsula cefálica > 3,6 mm) e a fecundidade de *C. hominivorax* está diretamente relacionada com o tamanho da mosca) (PITTI et al., 2011).

Thomas (1993) também demonstrou que a suplementação da dieta de adulto com carne moída aumentava a fecundidade de moscas sob condições normais de laboratório em 14%, mas aumentou em 350% naquelas cuja alimentação havia sido interrompida um dia antes da fase de pré-pupa. O autor ainda sugeriu que a seleção para adaptação às condições de laboratório deve ser maior quando são mantidas temperaturas elevadas.

Para obtenção das informações básicas sobre a esterilização de *C. hominivorax*, só foi depois de 1950 que os bioensaios com radiações ionizantes foram iniciados. Bushland e Hopkins (1951) relataram que pupas 2 dias antes da emergência do adulto expostas a doses de 2.500 e 5.000 R (24,3 e 48,7 Gy) de raios X originavam machos e fêmeas

estéreis, respectivamente, e que os machos estéreis competiam satisfatoriamente contra os não-irradiados nas gaiolas de laboratório. Com o desenvolvimento de fontes gama pela *Atomic Energy Commission* dos E.U.A., Bushland e Hopkins (1953) puderam realizar experimentos comparando raios X e gama, e concluíram que nenhuma dose menor que 5.000 R (48,7 Gy) era capaz de produzir 100% de esterilidade (lotes com machos e fêmeas) e que era melhor esterilizar pupas com mais de cinco dias de idade. Duas décadas depois, Crystal (1979) re-examinou as doses de esterilização procurando encontrar uma combinação ótima entre dose e idade do inseto. Quando as pupas eram irradiadas 72 h antes da emergência do adulto, a esterilidade dos machos irradiados com 2 ou mais krad (20 Gy) era maior que 95%, e a esterilidade das fêmeas era 100% na dose de 4 krad (40 Gy).

Em atmosfera modificada, como com exceção de CO₂, as doses variam de 45 a 110 Gy (BAUMHOVER, 1963a; LaCHANCE, 1963). Adultos de *C. hominivorax* também podem ser quimioesterilizados, sendo a que a indução de esterilidade ocorre com doses menores para os machos (CRYSTAL, 1966; 1969).

A TIE não funciona quando as linhagens do inseto estéril e do selvagem são incompatíveis sexualmente (DYCK et al., 2005a). Visando explorar essa potencial limitação, iniciaram-se diversos estudos buscando verificar o grau de variabilidade inter e intra-populacional de *C. hominivorax* de diferentes localizações geográficas. Na Venezuela, populações de laboratório foram estabelecidas (IAEA, 2004b). Pesquisas preliminares com *isozyme loci* evindeciam que *C. hominivorax* deve formar uma única população panmítica nas Américas (AZEREDO-ESPIN, 1993; KRAFSUR; WHITTEN, 1993; TAYLOR; PETERSON II, 1994; TAYLOR et al., 1996a; LESSINGER; AZEREDO-ESPIN, 2000). Infante-Malaquias et al. (1999) sugeriram que a América do Sul pode ser, na verdade, o centro de origem da espécie. Através de marcadores moleculares como *mtDNA* e microsátélites, foram encontradas pequenas diferenças entre populações no Uruguai e no Brasil (LYRA et al., 2005; IAEA, 2006; TORRES et al., 2007). Entretanto, ainda existe a necessidade de trabalhos que investiguem os resultados dos cruzamentos entre essas populações em laboratório e no campo. A incompatibilidade entre a linhagem estéril e a selvagem de *C. hominivorax* também já foi constatada, com os machos selvagens rejeitando as fêmeas estéreis (IAEA, 2006).

3.7 Programas de área-ampla contra mosca da bicheira

Entre a primavera e verão de 1957, os fazendeiros sofreram grandes perdas por causa da bicheira no sudeste dos E.U.A. Naquele mesmo verão, Bushland e seu grupo de pesquisa conduziram um projeto-piloto com moscas estéreis em uma área de 5.180 km² próxima de Bithlo, Flórida. Nesse teste, houve uma redução de 70% do número de casos no centro da área de teste (BAUMHOVER et al., 1959). Esses resultados encorajaram a implementação de um programa de erradicação no sudeste dos E.U.A. (1957-1959). A campanha começou em 1957 e teve sorte por causa do inverno de 1957-1958, o qual foi um dos mais frios e úmidos da história da Flórida. Para aproveitar esse evento, a produção de moscas estéreis na biofábrica de Bithlo aumentou de 2 milhões/semana para 14 milhões/semana. Em 10 de julho de 1958, foi inaugurada outra biofábrica em Sebring, Flórida, a qual, depois de três meses, passou a produzir mais de 50 milhões de moscas estéreis por semana. Os últimos dois casos relatados de miíase por *C. hominivorax* no sudeste dos E.U.A. ocorreram em 19 de fevereiro de 1959 e 17 de junho de 1959 (WYSS, 2000). Essa campanha custou US\$ 10 milhões (ou metade do valor das perdas que os produtores sofriam com as epidemias de bicheira) (BAUMHOVER et al., 1966).

Os fazendeiros do sudoeste dos E.U.A. observaram a campanha na região sudeste com muito interesse. Entre 1960 e 1962, a *Southwest Animal Health Research Foundation* (SWAHRF) lutou para angariar fundos para uma campanha na região (1962-1966). Entre fevereiro e junho de 1962, a SWAHRF conseguiu construir uma nova biofábrica em Mission, Texas (com capacidade de produzir 200 milhões de moscas estéreis/semana), sendo que a biofábrica de Kerrville, Texas, já havia sido expandida pela *Animal Disease Eradication Division* do USDA. Os Estados do Texas e Novo México foram declarados livres de *C. hominivorax* em 1964. Todo o país foi declarado livre em 1966 (WYSS, 2000).

Devido contínuos *outbreaks* nos E.U.A. entre 1972 e 1982, e o interesse dos produtores mexicanos, foi criada em 28 de agosto de 1972 a *Comisión México-Americana para la Erradicación del Gusano Barrenador del Ganado* (COMEXA), cujos objetivos eram contruir e operar uma biofábrica e erradicar *C. hominivorax* até o istmo de Tehuantepec (190 km em comparação com os 2.400 km de fronteira entre os E.U.A. e o México) (KNIPLING, 1955; WYSS, 2000).

Em 1976, foi inaugurada em Tuxtla Gutierrez, Chiapas, México, a biofábrica com capacidade de produzir 500 milhões de moscas estéreis/semana. A campanha no México continuou utilizando moscas estéreis das biofábricas de Mission e de Tuxtla Gutierrez até quando a do Texas foi fechada em 1982. O objetivo do COMEXA de erradicar a mosca da bicheira até o istmo de Tehuantepec foi alcançado em 1984 (WYSS, 2000).

Estudos subsequentes mostraram que era mais viável manter a barreira biológica permanente entre o canal do Panamá e a Colômbia (onde seriam necessários 40 milhões de insetos estéreis/semana, comparados com os 150 milhões para Tehuantepec), e, em 1985, o plano para erradicação para a América Central foi traçado (WYSS, 2000).

O México foi declarado oficialmente livre de *C. hominivorax* em 25 de fevereiro de 1991. Entre 1988 e 1994, foi executada a erradicação na Guatemala e Belize. El Salvador e Honduras foram declarados livres em 1995 e 1996, respectivamente. A campanha de erradicação durou de 1992 a 1998 na Nicarágua, e a Costa Rica está livre desde o ano 2000. Somente nos picos de liberação nesses países, foi liberado entre 24 e 120 milhões de moscas estéreis/semana. Para cobrir todo o Panamá até 2004, foram necessários quase 80 milhões de moscas estéreis/semana (taxa de 3.000 moscas estéreis/km²) (WYSS, 2000).

Até recentemente, a biofábrica de Tuxtla produzia cerca de 100 milhões de insetos estéreis/semana (CHAUDHURY; SKODA, 2007) e a *Comisión Panamá-Estados Unidos para la Erradicación y Prevención del Gusano Barredor del Ganado* (COPEG) mantém agora liberações preventivas no istmo de Darién, fronteira com a Colômbia (área de 300.000 km², com orçamento anual em torno de US\$ 10 milhões) .

Também existem esforços para a erradicação na Jamaica e ilhas do Caribe, sendo que Porto Rico e Aruba estão livres desde 1976 e 2005, respectivamente. Em 1996, os benefícios anuais estimados somente para os pecuaristas dos E.U.A., México e América Central foram, respectivamente, de US\$ 796, 292 e 77,9 milhões. (HENDRICHS, 1998; WYSS, 2000; IAEA, 2008).

Alguns países da América do Sul, como Uruguai e Venezuela, já expressaram interesse pela TIE (IAEA, 2000). Entretanto, ainda não existem estudos completos sobre a viabilidade econômica de um programa de erradicação de *C. hominivorax* para todo o continente sul-americano, apesar de ter sido estimado que os benefícios alcançados seriam da ordem de US\$ 2,8 bilhões/ano para o continente (VARGAS-TERÁN et al., 2005; IAEA, 2008).

3.7.1 Plano emergencial da Austrália contra *Chrysomya bezziana*

Apesar de já terem ocorrido duas detecções de *Chrysomya bezziana* na Austrália, ela nunca chegou a se estabelecer. Em 1998, vários adultos de *C. bezziana* foram capturados em um navio de transporte de gado no porto de Darwin que acabara de retornar de Brunei (RAJAPAKSA; SPRADBERRY, 1989). Este incidente levou a um monitoramento intensivo de 18 embarques de Darwin para 39 portos do sudeste asiático (THOMPSON, 1992). Em 1992, larvas de *C. hominivorax* foram identificadas em uma lesão na nuca de um turista que acabara de voltar de uma viagem ao Brasil e Argentina (SEARSON et al., 1992). Essas são, portanto, as duas maneiras que impõem maior risco de introdução dessas pragas na Austrália: comércio de animais vivos e humanos infestados.

A política do governo australiano é de erradicar *C. bezziana* o mais rápido possível após uma detecção, buscando evitar os impactos ecológicos e econômicos. O atual programa de contenção e controle (AUSVETPLAN) combina as seguintes estratégias: (a) detecção e monitoramento, (b) quarentena e controle imediato da movimentação animal, (c) campanha de conscientização pública, e (d) tratamento dos casos de miíase e ações de erradicação da população da praga (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Após a detecção, os dois objetivos iniciais seriam delimitar o tamanho do *outbreak* e limitar o aumento populacional da praga. Quando a densidade de hospedeiros é baixa, a área monitorada precisa ser estendida até pelo menos 150 km (levando em conta uma dispersão de 25 km/semana e até 2 gerações da praga). O monitoramento é feito basicamente de 3 formas: (a) armadilhas de adultos, (b) animais sentinela, e (c) inspeção dos animais. A exata posição das armadilhas depende de considerações geográficas, da densidade de hospedeiros, presença de cursos d'água e da vegetação nativa. De modo geral, uma rede de 80 armadilhas para adultos poderia ser distribuída dentro de um raio de 150 km a partir do foco inicial (30 armadilhas dentro de um raio de 50 km, 30 no raio de 50-100 km, e mais 20 no raio de 100-150 km). As armadilhas podem ser vistoriadas semanalmente e as moscas capturadas, identificadas em laboratório. Armadilhas UV são geralmente ineficientes quando a densidade da praga é baixa, o que não é verdade em certas situações (como navios, estábulos e outras áreas restritas) (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Como animais sentinelas, podem-se utilizar basicamente dois tipos: (a) animais “feridos” naturalmente e (b) sentinelas feridos propositalmente. Quando animais “feridos” naturalmente (expostos a carrapatos, moscas dos estábulos e dos chifres, e animais recém-nascidos) não estão disponíveis em quantidade suficiente, deve-se levar em consideração o uso de animais com feridas em forma de “x” feitas por profissionais especializados e após consentimento das autoridades sanitárias competentes. Uma rede de animais sentinela deve ser estabelecida ao redor do foco inicial por 4 meses com 90 animais num raio de 150 km. Os animais estariam mais concentrados no raio de 50 km do foco inicial, próximos de cursos d’água e de vegetação de mata, sendo vistoriados diariamente. A terceira técnica de monitoramento é a inspeção regular dos animais nas fazendas, áreas de confinamento, abatedouros, zoológicos, portos e aeroportos (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Quarentena e controle da movimentação animal impostos na área de monitoramento (150 km) são de fundamental importância. Isto porque eles podem diminuir drasticamente a velocidade de dispersão da infestação (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Uma campanha de conscientização pública deveria divulgar os sintomas das miíases e encorajar a denúncia dos casos pelos agentes de sanidade animal, veterinários, fazendeiros e donos de animais domésticos. Tal programa de conscientização é imprescindível para se conseguir a cooperação da indústria e da comunidade para as atividades de monitoramento e controle da infestação (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Para supressão do foco de *C. bezziana*, deve-se lançar mão de uma ação preventiva (profilaxia) em larga-escala e do controle químico. O tratamento profilático da miíase consiste em: limpeza da ferida com água morna e anti-séptico, remoção das larvas (para identificação, até 10 larvas podem ser preservadas em álcool 70%, após ficarem 1 min. em água fervente), tratamento tópico, e aplicação de inseticida sistêmico de longa duração. Na maioria das vezes, é necessário que o governo declare obrigatória a profilaxia. Produtos químicos de ação prolongada são fundamentais para restringir a disponibilidade de hospedeiros. Os inseticidas não persistentes contra *C. bezziana* podem ser organofosforados, piretróides, reguladores de crescimento, lactonas macrolíticas, closantel, e spinosad (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

Como a Austrália não possui uma biofábrica para produção de moscas estéreis de *C. bezziana*, uma resposta pela TIE seria difícil de ser implementada em menos de 3 anos ou mais após a detecção inicial, mesmo com as análises bioeconômicas indicando que a erradicação de *C. bezziana* pela TIE é viável economicamente. A efetividade de um programa de TIE contra *C. bezziana* deve ser monitorada através da viabilidade dos ovos coletados dos animais sentinelas e da submissão de amostras de larvas pelas autoridades sanitárias e o público (ANIMAL HEALTH AUSTRALIA, 2007).

3.7.2 A campanha de erradicação na Líbia

Para que um programa de manejo integrado de pragas em área-ampla integrando a TIE tenha sucesso, existem vários pré-requisitos técnicos e gerenciais. Os requisitos técnicos incluem: disponibilidade de informações precisas e atualizadas para o desenvolvimento de uma estratégia apropriada, compatibilidade e competitividade adequadas entre a linhagem usada e os insetos selvagens da população-alvo, alta qualidade dos insetos estéreis liberados e um forte e contínuo sistema de monitoramento. No lado gerencial, pode-se citar comprometimento de todos os produtores, capital suficiente, uma estrutura gerencial flexível e independente com funcionários de dedicação exclusiva, e consistência na execução dos diversos componentes do programa (VREYSEN et al., 2007). A campanha de erradicação de *C. hominivorax* na Líbia foi um exemplo de sucesso.

A mosca da bicheira, *C. hominivorax*, foi detectada inicialmente no noroeste da Líbia, em uma área de 100 km ao redor de Trípoli, em 1988. Em agosto de 1990, a ocorrência epizootica chegou a se estender por 26.500 km². Apesar da urgência do controle, a campanha emergencial só foi iniciada depois de uma fase de planejamento intensivo e detalhado. Segundo o diretor de campo, Don A. Lindquist, a campanha “não teria funcionado sem um planejamento longo e muitas vezes frustrante, mas necessário” (FAO, 1992). As principais agências envolvidas foram o governo da Líbia e a Organização das Nações Unidas (FAO/IAEA). O plano de ação consistiu, basicamente, em intensivo monitoramento de campo, extensivo treinamento dos profissionais locais e análise da compatibilidade de linhagens (VREYSEN et al., 2007).

Para implementar a campanha, foi criada a *Screwworm Emergency Centre for North Africa* (SECNA). À SECNA foi dada independência política e autoridade especial,

permitindo rapidez na tomada de decisões, comunicação direta e transparência entre todos os envolvidos, além de maior agilidade das operações em geral. Dois diretores, um da FAO e outro da Líbia, gerenciaram a SECNA, sendo também diretamente responsáveis por todas as atividades de campo, manejo dos recursos e da execução da estratégia do programa. O laboratório da FAO/IAEA em Seibersdorf, Áustria, ficou responsável pelos estudos de compatibilidade sexual, elaboração de armadilhas, desenvolvimento dos atrativos (*Swormlures*) e equipamentos especiais (VREYSEN et al., 2007).

As atividades de erradicação, principalmente a liberação de insetos estéreis e inspeção regular dos animais, foram iniciadas em dezembro de 1990, coincidindo com o começo da estação fria. O sistema de monitoramento, realizado rotineiramente e sem interrupções, possuiu três componentes: inspeção animal em estações quarentenárias e por 94 equipes de campo que inspecionaram 16 e 30 milhões de animais em 1990 e 1991, respectivamente; coleta de adultos das áreas infestadas para avaliar o grau de uniformidade das liberações dos insetos estéreis e determinar a razão entre machos férteis e estéreis; coleta de massas de ovos de animais sentinela para determinação da razão entre ovos férteis e estéreis, a qual é o indicador mais direto da eficiência da TIE (FAO, 1992).

Inicialmente, as taxas de liberação de machos estéreis variaram entre 300 e 500 machos estéreis/km²/semana em uma área de 7.000 km². No começo de fevereiro de 1991, a área coberta com insetos estéreis foi expandida para 10.000 km² e, ao final de fevereiro, toda a área infestada foi incluída (FAO, 1992). Em 3 de maio de 1991, as liberações foram realizadas sobre 40.000 km² a uma taxa de aproximadamente 500 machos estéreis/km², continuando até outubro de 1991. Durante toda a campanha, não ocorreu nem uma única interrupção nas liberações semanais e as equipes de campo viajavam diariamente a toda as áreas para inspecionar todos os rebanhos com rotatividade de pessoal de 15-21 dias (FAO, 1992).

O último caso confirmado de miíase por *C. hominivorax* foi relatado em 6 de abril de 1991 (VREYSEN et al., 2007).

3.7.3 O fracasso da Jamaica

Apesar da complexidade, a maioria dos programas de manejo integrado de pragas em área-ampla que integraram a TIE obteve sucesso. Entretanto, dentre aqueles que sofreram sérias complicações na fase de execução, pode-se citar a tentativa de erradicação da mosca da bicheira na Jamaica entre 1999 e 2004.

Segundo Grant et al. (2000), a campanha na Jamaica deveria durar 3 anos. A organização e planejamento da campanha levariam 6 meses, a liberação de moscas estéreis (quase 20 milhões/semana) duraria dois anos, e mais outros 6 meses seriam para verificação do status de área-livre. O custo da campanha seria de US\$ 9 milhões.

A campanha de erradicação na Jamaica foi iniciada em 1999 com poucos dados disponíveis sobre as flutuações espacial e sazonal das populações nativas, baseando-se na premissa de “infallibilidade da TIE contra *C. hominivorax*”. Consequentemente, vários protocolos e valores como os de densidade de liberação de moscas, estabelecidos e desenvolvidos para os programas de erradicação na América Central, foram simplesmente transferidos para a Jamaica (GRANT et al., 2000).

Sob condições de criação massal ao longo das gerações, mudanças comportamentais e genéticas podem ocorrer (BARTLETT, 1984). Mudanças em *C.hominivorax* já foram evidenciadas, como alterações quantitativas e qualitativas do perfil dos hidrocarbonetos e lipídios cuticulares que são essenciais para que o macho reconheça uma fêmea para o acasalamento (POMONIS; MACKLEY, 1985; HAMMACK, 1987; POMONIS, 1989). Em estudos de acasalamento em gaiolas pequenas com moscas criadas massalmente de *C. hominivorax* e selvagens de Cuba e da Jamaica, foi verificada alta preferência dos machos selvagens por fêmeas selvagens (96-100%) (GARCÍA, 2002).

Para evitar qualquer incompatibilidade entre o inseto estéril e o selvagem, tradicionalmente os programas de erradicação nos E.U.A. e no México contra *C.hominivorax* adotaram um rígido controle de qualidade, um processo de renovação a cada dois anos da linhagem e, quase sempre, as linhagens eram desenvolvidas a partir de material selvagem da área-alvo (MARROQUIN, 1985). Esses procedimentos foram negligenciados no caso da Jamaica.

Na verdade, os gerentes do programa não tiveram influência na hora da seleção da linhagem. A decisão foi tomada unilateralmente pelos provedores dos machos estéreis. As liberações foram feitas inicialmente com uma linhagem da Costa Rica que foi criada

massalmente por 7 anos e depois com uma do Panamá que havia sido criada em laboratório por 6 anos. Além disso, a compatibilidade entre as linhagens foi avaliada apenas em gaiolas pequenas com alta densidade de moscas (VREYSEN et al., 2007). O desenvolvimento de uma linhagem jamaicana só foi levado em consideração em 2003.

Com relação à importação dos insetos, em dois momentos as pupas não foram enviadas por causa de greves na biofábrica (DYCK et al., 2005b) e chegou a ocorrer um envio de pupas não-irradiadas, o que resultou na liberação de milhões de moscas férteis por toda a ilha. Para piorar, o provedor dos insetos estéreis sempre permaneceu relutante em realizar estudos de indução de esterilidade e de supressão em campo, essenciais na avaliação da qualidade dos insetos estéreis liberados.

Os gerentes do programa da Jamaica foram assegurados de que a avaliação dos parâmetros de controle de qualidade na biofábrica e no centro de dispersão seria suficiente. Entretanto, a análise de apenas um dos parâmetros, o peso pupal médio, indicou que a qualidade das pupas enviadas caiu significativamente com o tempo (de 51 mg para 45 mg nos 5 anos) (VREYSEN et al., 2007). Em 2003, em 27 das 52 semanas, ocorreram vários outros tipos de contratempos com o recebimento, a qualidade e a dispersão dos insetos (DYCK et al., 2005b). Problemas como esses são desastrosos para qualquer campanha em área-ampla.

Na campanha da Jamaica, também não foram direcionados muitos esforços para a coleta sistemática dos vários tipos de informações do campo. A avaliação do progresso do programa foi baseada apenas no número de casos positivos de miíase relatados, um parâmetro que sofre mais influência da boa vontade dos fazendeiros em verificar as feridas e enviar as larvas para identificação do que pelo real efeito da TIE sobre a razão entre massas de ovos estéreis e férteis (VREYSEN et al., 2007).

Quanto à estrutura gerencial, a campanha não contou com funcionários de dedicação exclusiva nem flexibilidade ou independência política. O Ministério da Agricultura jamaicano havia tomado o controle do programa e preenchido os cargos com seus funcionários da Divisão de Serviços Veterinários (muitos sem a necessária atitude de “*get the job done*”), enquanto os técnicos de campo eram temporários e mal remunerados. Isso serviu de base para a ineficiência da vigilância epidemiológica, da coleta de massas de ovos na ilha e da supressão das populações nativas através do tratamento continuado de feridas (VREYSEN et al., 2007).

O programa da Jamaica também sofreu pela falta de planos ou sistemas de contingência. A ilha possuía apenas um centro de dispersão, o qual podia manejar apenas dois recebimentos de pupas por semana. Semanalmente, apenas 36 h eram destinadas para manutenção e reparos, além do número de mecânicos ser insuficiente. Quando o sistema de refrigeração do centro quebrou, as liberações foram interrompidas por 6 semanas entre agosto e setembro de 2003 (VREYSEN et al., 2007).

Com relação ao apoio da sociedade, os fazendeiros não chegaram a se envolver completamente com a campanha, muito menos chegaram a apoiar financeiramente. O atraso na submissão de amostras nas clínicas veterinárias e na análise das informações de campo atrapalhou enormemente o processo de tomada de decisões entre a gerência e os técnicos de campo (VREYSEN et al., 2007).

Em qualquer campanha contra *C. hominivorax*, as atitudes da sociedade devem ser levadas em consideração. Na Jamaica, consultores internacionais constataram a prevalência do abuso físico de animais de estimação e de criação em toda a ilha. Segundo veterinários particulares da região, 15-30% dos cães tratados clinicamente sofriam de miíase por *C. hominivorax* (GRANT et al., 2000).

Além disso, a campanha de relações públicas foi mal financiada, sendo que as mensagens eram liberadas esporadicamente, chegando inclusive a ser vinculada uma mensagem enganosa: a de que as moscas estéreis *per se* iriam eliminar o problema da bicheira (VREYSEN et al., 2007).

A TIE não é uma tecnologia que pode ser transferida diretamente da prateleira. Ela deve ser adaptada à ecologia e as condições sócio-econômicas de cada situação.

3.7.4 Projetos contra a mosca da bicheira na América do Sul

Em 2006, a *Comisión México-Americana para la Erradicación del Gusano Barrenador del Ganado* (COMEXA) apresentou um projeto regional à Superintendência Federal do Ministério da Agricultura do Rio Grande do Sul (SFA/RS/MAPA), e foi definida uma área-piloto na fronteira entre Uruguai e Brasil (incluindo os municípios de Quaraí, Barra do Quaraí e Santana do Livramento), onde os prejuízos somavam US\$ 150 mil/ano ou US\$ 0,51 por animal/ano. A área total delimitada foi de aproximadamente 4.662 km², envolvendo uma população total de 134.204 ovinos e 126.724 bovinos, e dos 277 estabelecimentos rurais da área, 100% deles já haviam

detectado a presença de miíases nos animais. O projeto foi executado entre janeiro e maio de 2009, sendo que as moscas estéreis foram importadas da biofábrica de Tuxtla Gutierrez e liberadas pela Força Aérea uruguaia, sendo o COMEXA a agência executora e o Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID) o financiador (US\$ 1 milhão a fundo perdido foi liberado para o começo das atividades). Depois de 13 semanas de liberação (21,600 milhão de moscas liberadas por semana, 4 dias/semana, sendo 1.545 moscas estéreis/km², 20 armadilhas de adultos na área), foi observado que 21,5% das massas de ovos coletadas dos animais sentinela eram estéreis (209 massas do total de 1.472 massas coletadas) (PONTES et al., 2009). Com os resultados positivos desse projeto-piloto, programas de supressão ou erradicação no MERCOSUL poderão se estruturar.

Por causa da ausência de barreiras naturais para *C. hominivorax* na América do Sul, um empreendimento tão abrangente de supressão/erradicação para o MERCOSUL exigirá coordenação internacional, cooperação entre os países vizinhos e os organismos internacionais de saúde animal, e um comprometimento político-financeiro de longo prazo por parte de todos os agentes (WYSS, 2000; IAEA, 2008). Será necessário um complexo bioindustrial que consuma grandes quantidades de materiais diariamente para o preparo de dietas dos insetos, manutenção das colônias e produção dos milhões de insetos estéreis necessários semanalmente (SILVA et al., 2008b). O Brasil já conta com dois centros que podem liderar esta última ação.

O Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), instituto especializado de pesquisa da Universidade de São Paulo (USP), possui uma “fábrica piloto”, construída com recursos do MAPA e com apoio da FAO/IAEA, que serve para dar suporte estratégico e treinamento aos programas de TIE a serem adotados pelo governo. Atualmente, são criadas 3 espécies de moscas-das-frutas e um agente de controle biológico, podendo produzir de 2-3 milhões de insetos estéreis/semana (WALDER, 2002).

Já a Biofábrica MOSCAMED Brasil (BMB), inaugurada em 2006 na Bahia, é uma organização social ligada ao MAPA e visa, no primeiro momento, a supressão populacional das moscas-das-frutas nos agropólos de todo o Vale do rio São Francisco. Sua capacidade inicial de produção semanal é de 200 milhões de machos estéreis de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e de 5 milhões do parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae).

Como sua planta dispõe de 7 módulos de produção, pelo menos um poderia facilmente ser convertido para a produção de moscas estéreis de *C. hominivorax*.

Fazer com que o centro de produção esteja baseado na própria América do Sul é estratégico. Isso porque o custo dos insetos estéreis aumenta com a distância para o local de liberação, além do fato de a qualidade dos insetos poder ser comprometida durante longas viagens (FAO, 1992; ENKERLIN; QUINLAN, 2004; CALKINS; PARKER, 2005). Em 1996, o custo das moscas estéreis de *C. hominivorax* para Cuba, fornecidas pelo México, foi estimado em US\$ 1.700,00/milhão de moscas, e o custo para envio das mesmas, liberação, equipes de campo e aumento das inspeções foi estabelecido por uma consultoria da FAO em US\$ 38 milhões (IAEA, 1998a).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios e o estabelecimento da colônia foram realizados inicialmente no Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). Em agosto de 2010, a colônia foi transferida para o Laboratório de Mosca da Bicheira na Biofábrica MOSCAMED Brasil. Já os testes de compatibilidade reprodutiva e competitividade entre as linhagens brasileira e jamaicana foram conduzidos no *Screwworm Research Unit* (USDA-ARS), localizado dentro da biofábrica de moscas estéreis da *Comisión para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado* (COPEG) no Panamá. A maioria dos bioensaios foi realizada em salas climatizadas com temperatura de $33\pm 4^{\circ}\text{C}$ e $65\pm 10\%$ de umidade relativa do ar, com fotofase de 12 horas. Para realização dos testes de criação, esterilização, compatibilidade reprodutiva e competitividade, foram utilizados ovos, larvas, pupas ou adultos provenientes da colônia-mãe.

4.1 Criação

Para elaboração dos protocolos de criação, foram realizados bioensaios relacionados à escolha de substrato para coleta de ovos, determinação do limiar térmico inferior para o desenvolvimento embrionário, e desenvolvimento de dietas de adulto e larval.

4.1.1 Substrato para oviposição

Para o teste de escolha do melhor substrato de oviposição, foram utilizadas 4 gaiolas de 75 x 151 x 90,5 cm, contendo 1 L de pupas cada (≈ 8.300 moscas). Os tratamentos foram: carne bovina moída, fígado bovino, mistura da carne e fígado, e o substrato padrão de oviposição utilizado na criação (dieta larval podre + coágulo e sangue bovino citratado - DPS).

Quando as fêmeas estavam entre 7 e 10 dias de idade, os diferentes tratamentos foram colocados em placas de Petri (10 cm de diâmetro) e cobertos com papel de filtro, aquecidos a 35 °C em estufa e inseridos simultaneamente nas gaiolas, ficando expostos por 3 h. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, havendo 4 repetições/tratamento.

As placas não foram cobertas com *voile*, mas com papel de filtro (por oferecer melhor adesão e superfície para as moscas ovipositarem, além de facilitar a retirada das massas de ovos para pesagem e avaliação da viabilidade).

A eclosão de larvas foi avaliada segundo Berkebile e Skoda (2002) (a massa de ovos foi agitada em solução de NaOH a 1,2% por 5min., e os ovos, depois de bem enxaguados e peneirados, foram colocados sobre papel de filtro umedecido em placas de Petri, as quais foram mantidas em B.O.D. à 27 °C por 3 dias).

4.1.2 Temperatura base para desenvolvimento embrionário

Foram inoculados 100 ovos sobre papel de filtro umedecido em placas de Petri (10 cm de diâmetro), as quais foram vedadas na lateral com parafilme Magipack[®]. O papel foi umedecido diariamente, de forma a evitar a desidratação dos ovos. As placas ficaram em câmaras climatizadas do tipo B.O.D. (12 h de fotofase e 65±2% de UR), reguladas conforme os tratamentos representados pelas seguintes temperaturas: 15; 19,5; 25 e 35°C.

A avaliação foi realizada diariamente por 5 dias. Cada uma das placas foi considerada uma parcela experimental, havendo 3 repetições/tratamento.

4.1.3 Dieta para adultos

Foram testadas seis diferentes dietas para os adultos, seguindo o delineamento inteiramente casualizado, sendo elas:

- a) Mel (50%) + papel higiênico neutro (50%)
- b) Rapadura de cana (100 g)
- c) Ovo *spray dried* (21 g) + mel (81 g)
- d) Ovo *spray dried* (21 g) + mel (40,5 g) + melaço (13,5 g)
- e) Hemácias *spray dried* (21 g) + mel (40,5 g) + melaço (13,5 g)
- f) Hemácias *spray dried* (6 g) + ovo *spray dried* (15 g) + mel (81 g)

As dietas à base de mel ou componentes *spray dried* foram misturadas à mão em Becker de 2 L até formar uma pasta homogênea, a qual foi acondicionada em placa de Petri (10 cm de diâmetro) e parcialmente coberta com pedaços de bagaço de cana para evitar que as moscas ficassem presas à dieta. Três placas foram colocadas em cada gaiola: uma no 1º dia, outra no 3º dia, e, a última, no 5º dia após a emergência dos adultos. Havia 4 gaiolas (gaiolas de madeira, 45 x 45 x 45 cm, com tela mosquiteiro de nylon nas laterais) para cada tratamento, com 130 mL de pupas/gaiola. O tratamento que seria apenas à base de carne moída + mel foi descartado por causa do rápido apodrecimento e contaminação.

As gaiolas foram mantidas em sala a 33 °C e 60% de UR. Os substratos de oviposição foram introduzidos quando as fêmeas atingiram 5 dias de idade, sendo praticamente aproveitadas apenas as massas de ovos do 1º ciclo gonotrófico.

Foram avaliados a duração do período de pré-oviposição, o número de ovos colocados, viabilidade dos ovos, mortalidade das moscas adultas (entre o 1º e o 7º dias após a emergência dos adultos). A viabilidade dos ovos foi feita seguindo a metodologia de Berkebile e Skoda (2002).

4.1.4 Dieta larval

No bioensaio com dieta larval, foram testadas 4 dietas seguindo o delineamento inteiramente casualizado. As dietas foram baseadas em Graham e Dudley (1959), Taylor et al. (1991a) e Chaudhury e Skoda (2007). Duas das dietas eram líquidas (60 g de hemácias *spray dried*, 40 g de ovo *spray dried*, 40 g de leite em pó desnatado, 1 g de ácido cítrico, 1 g de citrato de sódio, 1 mL de formaldeído e 800 mL de água) e foram testados como *bulking agents* bagaço de cana e fibra de coco. A terceira dieta era a utilizada como dieta larval de *start* da colônia (para 1 bandeja de 3 L: 328 g de carne moída para 350 mL de dieta líquida, a qual era preparada a partir de 21 g de hemácias *spray dried*, 14 g de ovo *spray dried*, 14 g de leite em pó desnatado, 350 mg de ácido cítrico, 350 mg de citrato de sódio, 0,35 mL de formaldeído e 300 mL de água), e serviu como grupo controle contra a dieta de gel (para 1 L: 60 g de hemácias *spray dried*, 40 g de ovo *spray dried*, 40 g de leite em pó desnatado, 30 g de Ecogel[®], 1 mL de formaldeído e 800 mL de água).

As dietas foram acondicionadas em potes plásticos (15 x 10 x 5 cm), com tampa telada com tecido *voile* para permitir aeração e matidas em uma torre aquecida a 30-35°C. Para o teste com as dietas líquidas, 100 larvas no estágio L₂ foram retiradas de uma dieta de *start* padrão e colocadas em cada parcela experimental. No teste com as dietas à base de carne e gel, uma massa de 5 mg de ovos (\approx 110 ovos) foi colocada sobre um pedaço (3 x 3 cm) de papel toalha umedecido sobre a dieta de cada parcela. As dietas líquidas tiveram que ser adicionadas duas vezes ao dia por 4 dias, enquanto que a frequência de adição de dieta para a dieta à base de carne e de gel foi de 25% no 1º dia, 50% no 3º dia e 25% no 4º dia. Segundo Chaudhury e Skoda (2007), se a dieta larval não for adicionada aos poucos, as larvas não conseguem completar o desenvolvimento por causa do apodrecimento, contaminação e ressecamento.

No 5º dia após a eclosão das larvas, os potes foram colocados sobre bandeja com vermiculita para permitir a pupação. Houve 3 repetições por tratamento.

Os parâmetros avaliados foram: peso das larvas de 3º instar, peso de pupas (5º dia após a pupação), viabilidade larval (definida como: $[(n^\circ \text{ inicial de larvas} - n^\circ \text{ de pupas}) \times 100] \div n^\circ \text{ inicial de larvas}$), porcentagem de emergência de adultos (de amostras com 100 pupas), e razão sexual ($n^\circ \text{ de fêmeas} / n^\circ \text{ de machos} + \text{fêmeas}$).

4.2 Esterilização

Os raios X utilizados foram gerados por um irradiador de baixa energia *self-contained*, o RS-2400, o qual foi adquirido pela Biofábrica MOSCAMED Brasil em 2009 da *RadSource Technologies* da Geórgia, E.U.A. (Rad Source Inc., www.radsources.com). Esta unidade opera com uma energia máxima de 150 keV, uma corrente que varia de 0-45 mA e uma taxa de dose de aproximadamente 10,8 Gy/min. As pupas eram posicionadas no centro do cilindro de irradiação, o qual ficava preso a um suporte metálico de modo a poder rotacionar ao redor do tubo horizontal no qual eram gerados os raios X.

Para cada lote de pupas irradiadas, foi realizada a dosimetria seguindo o sistema dosimétrico Gafchromic® (filmes Gafchromic HD-810; International Specialty Products, Wayne, NJ 07470, U.S.A.) (IAEA, 2004c).

Com 24 h antes da emergência do adulto, as pupas foram irradiadas com as seguintes doses: 0 (testemunha), 10, 25 e 60 Gy. Após a irradiação, foram separadas conforme os tratamentos e utilizadas para os experimentos.

Para verificação da porcentagem de emergência dos adultos e sexagem dos mesmos, pupas irradiadas foram separadas em lotes de 50 para cada repetição, sendo três repetições por dose, e colocadas em placas de Petri até a emergência. Após a emergência, foram contados e anotados os números de machos e fêmeas.

A fertilidade de machos foi avaliada, para cada tratamento (dose), expondo-se 40 fêmeas não-irradiadas a 30 machos irradiados durante uma semana em gaiolas de isopor (10 x 30 x 10 cm) com tela galvanizada tipo mosquiteiro nas laterais. Para determinar a dose esterilizante para fêmeas, 40 fêmeas irradiadas foram expostas a 30 machos férteis. O tratamento com machos e fêmeas, ambos irradiados, também foi realizado para cada dose, sendo 30 machos e 40 fêmeas em cada parcela. Água e alimento (rapadura) foram fornecidos *ad libitum*. As fêmeas ovipositaram em uma mistura de dieta larval podre e sangue bovino citratado, a qual era acondicionada em placa de Petri e coberta parcialmente com pedaços de papel de filtro. As placas foram colocadas a partir do 7º dia de idade das moscas e foram expostas por 4 h. Houve até duas coletas de ovos/repetição, sendo 3 repetições/dose.

Após serem coletados, os ovos foram colocados em papel de filtro umedecido (BERKEBILE; SKODA, 2002) para contagem e observação da viabilidade depois de 72 h em B.O.D. (33 °C nas primeiras 24 h, e 25 °C no restante do tempo).

4.3 Testes de compatibilidade reprodutiva e competitividade entre linhagens

Os testes de compatibilidade reprodutiva e competitividade entre as linhagens brasileira (BRA) e jamaicana (JAM) foram conduzidos no *Screwworm Research Unit* (USDA-ARS), localizado na biofábrica de moscas estéreis da *Comisión para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado* (COPEG). As moscas utilizadas para os cruzamentos foram padronizadas por tamanho, sendo utilizadas sempre as maiores (provenientes de pupas de peso ≥ 50 mg, e adultos com cápsula cefálica > 3 mm). A densidade de moscas nas gaiolas foi sempre mantida abaixo de 0,17 moscas/cm².

4.3.1 Compatibilidade entre machos jamaicanos e fêmeas brasileiras

Foram realizados cruzamentos visando examinar a compatibilidade sexual entre machos (estéreis e férteis) da linhagem Jamaica-06 e fêmeas brasileiras:

- a) JAM (σ^7 estéril) x JAM (f^7 fértil)
- b) JAM (σ^7 estéril) x BRA (f^7 fértil)
- c) JAM (σ^7 fértil) x BRA (f^7 fértil)
- d) JAM (σ^7 fértil) x JAM (f^7 fértil)

Machos estéreis foram provenientes de pupas (48 h antes da emergência dos adultos) irradiadas a 65 Gy em irradiador de ⁶⁰Co. Machos e fêmeas dos tratamentos foram separados no dia da emergência e mantidos assim até atingirem 4 dias de idade. Para cada cruzamento, 20 fêmeas foram expostas a 5 machos por 36 h em gaiolas teladas de alumínio (30 x 14 x 13 cm). Água (potes com água e algodão odontológico) e alimento (ovo *spray dried* + mel (1:4) em placas cobertas com casca de arroz) foram oferecidos *ad libitum*. Depois das 36 h, todas as fêmeas foram anestesiadas com frio e suas espermatecas removidas, esmagadas e examinadas microscopicamente em solução salina (1% NaCl) para determinar a porcentagem de fêmeas inseminadas. Houve três repetições/tratamento e o delineamento foi o inteiramente casualizado.

4.3.2 Teste de competitividade de machos

Neste bioensaio, foi avaliada a competitividade de machos estéreis e férteis de ambas as linhagens por fêmeas férteis brasileiras:

- a) BRA (♂ fértil) x BRA (♀)
- b) BRA (♂ estéril) x BRA (♀)
- c) JAM (♂ fértil) x BRA (♀)
- d) JAM (♂ estéril) x BRA (♀)
- e) BRA (♂ fértil) + BRA (♂ estéril) x BRA (♀)
- f) JAM (♂ fértil) + JAM (♂ estéril) x BRA (♀)
- g) BRA (♂ estéril) + JAM (♂ fértil) x BRA (♀)
- h) BRA (♂ fértil) + JAM (♂ estéril) x BRA (♀)
- i) BRA (♂ fértil) + JAM (♂ fértil) x BRA (♀)
- j) BRA (♂ fértil) + JAM (♂ estéril) (1:9) x BRA (♀)
- l) BRA (♂ estéril) + JAM (♂ fértil) (9:1) x BRA (♀)

Machos estéreis foram provenientes de pupas (48 h antes da emergência dos adultos) irradiadas a 65 Gy em irradiador de ^{60}Co . Machos e fêmeas foram separados imediatamente após a emergência e mantidos separados até completarem 4 dias de idade. Nos cruzamentos de “a” a “d”, 15 fêmeas férteis foram expostas a 5 machos. Para os cruzamentos de “e” a “i”, foram utilizados 5 machos de cada tipo e 30 fêmeas. Para os dois últimos tratamentos, 30 fêmeas férteis foram expostas a 1 macho fértil e 9 machos estéreis. Foram utilizadas gaiolas teladas de alumínio (24 x 28 x 18 cm), sendo água e alimento (ovo *spray dried* + mel (1:4) em placas cobertas com casca de arroz) oferecidos *ad libitum*. Depois de 7 dias de idade, as moscas foram estimuladas a ovipositar inserindo-se uma placa contendo uma mistura de carne moída e descarte de dieta larval e deixando-se as gaiolas em sala escura (37 °C, 80% de UR) por 2 h. Durante esse período, as placas com dieta de adulto foram cobertas para evitar que as fêmeas se alimentassem ao invés de ovipositar. Depois de coletadas, as massas de ovos foram tratadas segundo Berkebile e Skoda (2002) (amostras de 100-200 ovos sobre papel de filtro escuro umedecido para avaliação da eclosão de larvas depois de 16 h a 37 °C e 90% de UR). Houve três repetições/tratamento e o delineamento foi o inteiramente casualizado.

O índice de competitividade relativa foi estimado de acordo com Fried (1971):

a) $E = \frac{N \cdot (H_a) + S \cdot (H_s)}{N + S}$; onde E = viabilidade de ovos (%), N = nº de machos férteis, S = nº de machos estéreis, H_a = viabilidade de ovos (%) de cruzamento entre machos e fêmeas férteis, e H_s = viabilidade de ovos (%) de cruzamento entre machos estéreis e fêmeas férteis.

b) $S/N_{(calculated)} = \frac{H_a - E}{E - H_s}$; onde S/N = razão entre o número de insetos estéreis (S) e férteis (N), H_a = viabilidade de ovos (%) de cruzamento entre machos e fêmeas férteis, H_s = viabilidade de ovos (%) de cruzamento entre machos estéreis e fêmeas férteis, e E = viabilidade de ovos (%) observada no cruzamento.

c) $c = \frac{S/N_{(calculated)}}{S/N_{(actual)}}$; onde c = índice de competitividade relativa do macho estéril e S/N = razão entre o número de insetos estéreis (S) e férteis (N).

4.3.3 Teste de preferência de acasalamento

Para estudar a preferência de machos estéreis da linhagem Jamaica-06 e machos férteis da linhagem brasileira por fêmeas férteis ou estéreis, foram realizados dois conjuntos de cruzamentos:

- JAM (♂ estéril) x BRA (♀ fértil) + JAM (♀ estéril)
- JAM (♂ estéril) x JAM (♀ estéril) + JAM (♀ fértil)
- BRA (♂ fértil) x BRA (♀ fértil) + JAM (♀ estéril)
- BRA (♂ fértil) x JAM (♀ estéril) + JAM (♀ fértil)

As moscas estéreis foram provenientes de pupas com 5 dias de idade irradiadas a 65 Gy em irradiador de ^{60}Co . Machos e fêmeas dos tratamentos foram separados no dia da emergência e mantidos assim até atingirem 4 dias de idade. Em cada cruzamento, 10 fêmeas de cada tipo foram expostas a 5 machos por 36 h em gaiolas teladas de alumínio (30 x 14 x 13 cm) (razão macho: fêmea de 1:4). Para distinguir as fêmeas,

as moscas foram marcadas individualmente aplicando-se uma pequena gota de tinta solúvel sobre a superfície dorsal do tórax. Água e alimento (ovo *spray dried* + mel (1:4) em placas cobertas com casca de arroz) foram oferecidos *ad libitum*. Depois das 36 h, todas as fêmeas foram anestesiadas com frio e suas espermatecas removidas, esmagadas e examinadas microscopicamente em solução salina (1% NaCl) para determinar a quantidade de fêmeas inseminadas e o índice de preferência de acasalamento (número de fêmeas estéreis inseminadas ÷ n° total de fêmeas inseminadas). Houve três repetições/tratamento e o delineamento foi o inteiramente casualizado.

4.3.4 Avaliação da compatibilidade genética pós-zigótica

Foram realizados dois conjuntos de cruzamentos visando examinar a compatibilidade genética pós-zigótica entre a linhagem produzida massalmente no Panamá (Jamaica-06 *strain*) (JAM) e uma brasileira (BRA), a qual foi originalmente coletada no Estado de Goiás e criada até 25 gerações sob condições de laboratório.

No primeiro conjunto (cruzamentos parentais), foram comparados cruzamentos intraespecíficos e entre as linhagens:

- a) JAM (♀) x JAM (♂)
- b) BRA (♀) x BRA (♂)
- c) BRA (♀) x JAM (♂)
- d) JAM (♀) x BRA (♂)

No segundo conjunto (cruzamentos F₁), foram avaliados quatro retrocruzamentos entre híbridos do 1° conjunto de cruzamentos e a linhagem brasileira:

- a) BRA (♀) x BRA (♂) (testemunha)
- b) (BRA x JAM) (♀) x BRA (♂)
- c) (JAM x BRA) (♀) x BRA (♂)
- d) BRA (♀) x (BRA x JAM) (♂)
- e) BRA (♀) x (JAM x BRA) (♂)

Para os cruzamentos, foram colocados 80 casais em gaiolas teladas de alumínio (24 x 28 x 18 cm). Água e alimento (ovo *spray dried* + mel (1:4) em placas cobertas com casca de arroz) foram oferecidos *ad libitum*. As moscas foram estimuladas a ovipositar quando as fêmeas atingiram 7 dias de idade, inserindo-se uma placa por gaiola contendo uma mistura de carne moída e descarte de dieta larval e deixando as gaiolas em sala escura (37 °C, 80% de UR) por aproximadamente 2 h. Durante esse período, as placas com dieta de adulto foram cobertas para evitar que as fêmeas se alimentassem ao invés de ovipositar. Depois de coletadas, as massas de ovos foram tratadas segundo Berkebile e Skoda (2002) (amostras de 100-200 ovos sobre papel de filtro escuro umedecido para avaliação da eclosão de larvas). Para avaliação da viabilidade larval, 100 mg de ovos foram colocados por 1,5 L de dieta larval à base de celulose (CHAUDHURY; SKODA, 2007).

Foram feitas três repetições/tratamento e o delineamento foi o inteiramente casualizado. Os parâmetros avaliados foram: viabilidade de ovos (%), viabilidade larval (mesma equação do item 4.1.4), emergência de adultos (mesmo modo de amostragem do item 4.1.4) e razão sexual (mesma equação do item 4.1.4).

4.4 Análises Estatísticas

A determinação da temperatura base e da constante térmica foi feita através do método da hipérbole (HADDAD; PARRA, 1984). As médias de duração do período embrionário e viabilidade de ovos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

Para os parâmetros quantidade de ovos coletados (mg) e viabilidade de ovos (%) dos testes de substrato para oviposição e dietas de adulto, foi aplicado o teste F à análise de variância ($P < 0,05$), e, quando detectada diferença significativa, o teste de Tukey ($\alpha=0,05$) foi utilizado para comparar as médias. No teste de dieta larval, as médias dos parâmetros de controle de qualidade (peso das larvas, viabilidade larval, peso de pupas, porcentagem de emergência de adultos e razão sexual) foram comparadas pelo teste-t de Student ($\alpha = 0,05$). As análises foram efetuadas através do programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute, 2003).

Para a análise estatística dos dados relacionados à esterilidade induzida pelas doses de radiação, foi realizada regressão probítica seguindo Sokal e Rohlf (1981). Para

verificar a adequação dos dados às pressuposições do modelo, foi observado o ajuste do modelo matemático utilizado (coeficiente de determinação). Para avaliar os dados de emergência de adultos e razão sexual das pupas irradiadas com diferentes doses de raios X, a análise de variância com aplicação do teste F indicou se uma regressão linear significativa se adequava ou não aos dados (SAS Institute, 2003).

No bioensaio de compatibilidade entre machos jamaicanos e fêmeas brasileiras, as médias de quantidade de fêmeas acasaladas (%) e de número de fêmeas inseminadas por cada macho foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). No teste de competitividade de machos, as médias dos índices de competitividade relativa foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$), exceto para os cruzamentos “j” e “l”, cujas médias foram comparadas pelo teste-t de Student ($\alpha=0,05$). No teste de preferência de acasalamento, as médias dos índices de preferência de acasalamento dos dois conjuntos de cruzamentos foram comparadas pelo teste-t de Student ($\alpha=0,05$). As médias dos parâmetros utilizados na avaliação da compatibilidade genética pós-zigótica (viabilidade de ovos, viabilidade larval, emergência de adultos e razão sexual) foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,01$). As análises dos resultados dos testes de compatibilidade reprodutiva e competitividade entre linhagens foram realizadas através do programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute, 2003).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estabelecimento da Colônia

A colônia de *C. hominivorax* foi estabelecida com sucesso. A geração parental foi composta de pupas (≈ 30 mL de pupas) provenientes do Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética da Universidade Estadual de Campinas (CBMEG/UNICAMP), sendo uma linhagem originária de Goiás.

Inicialmente, as moscas foram mantidas em gaiolas 30 x 30 x 30 cm, alimentadas apenas com a mistura de mel + papel higiênico e ovipositaram em carne moída. A partir da geração F₃, os adultos passaram a ser mantidos em gaiolas de madeira (25 x 47 x 56 cm), depois em gaiolas de acrílico com cantoneiras de alumínio (75 x 151 x 30,5 cm) (Figura 1) e, após a F₇, em uma gaiola ainda maior (75 x 151 x 91,5 cm) a qual pôde acondicionar até 1,3 L de pupas (≈ 10.790 moscas, densidade= 0,17 moscas/cm²) (Figura 2).



Figura 1 - Evolução das gaiolas da colônia-mãe



Figura 2 - Gaiolas para a colônia de *Cochliomyia hominivorax*: a) gaiola do CENA/USP (75 x 151 x 91,5 cm) de acrílico com cantoneiras de alumínio e telas galvanizadas tipo mosquiteiro nas laterais, contendo 1,3 L de pupas (≈ 10.790 moscas); b) gaiola da Biofábrica MOSCAMED (77 x 154 x 74 cm) com cantoneiras de alumínio e telas galvanizadas tipo mosquiteiro nas laterais, contendo 1,18 L de pupas (≈ 9.960 moscas, $0,17$ moscas/cm²)

Com a transferência da criação para a Biofábrica MOSCAMED Brazil, na geração F₁₂, passaram a ser usadas uma gaiola de cantoneiras de alumínio e telas galvanizadas tipo mosquiteiro nas laterais (77 x 154 x 74 cm) (Figura 2) e uma menor de madeira (60 x 60 x 60 cm) com tela de nylon tipo mosquiteiro nas laterais.

Da F₂ à F₁₂, como dieta para os adultos foram fornecidos, ao mesmo tempo, a mistura de mel + papel higiênico (1 rolo folha simples neutro de 30 m x 10 cm para 1,5 L de mel), blocos da dieta de Gainesville (1,58 g de ágar, 0,05 g de ácido ascórbico, 0,005 g de benzoato de sódio, 100 mL de mel e 100 mL de água) e uma mistura em pó de hemácias *spray dried* (AP301[®] - American Protein Corp., Ames, IA), ovo *spray dried* (Sohovos - AB Brasil Ind. e Com. de Alimentos, Ltda), levedura Bionis[®] (Biorigin Yeast Extracts), leite em pó desnatado e açúcar (1:1:2:1:3). A partir da F₁₃, foi fornecida como dieta de adulto, uma mistura de ovo *spray dried* (22,4%) e mel (77,6%), além de pedaços de rapadura de cana (Figura 3) (cerca de 310 g da mistura e 300 g de rapadura eram suficientes para uma gaiola com 1,2 L de pupas para 15 dias). Água era fornecida em calhas ou potes com algodão umedecido com uma solução 1% de benzoato de sódio (0,03%).



Figura 3 - Dietas de adulto: a) dieta de adulto em pó no fundo da calha e blocos da dieta de Gainesville nas laterais, quando a colônia foi estabelecida no CENA/USP; b) dieta de adulto utilizada na Biofábrica MOSCAMED à base de uma mistura de ovo *spray dried* + mel e pedaços de rapadura

O aumento da temperatura entre 20 e 40°C estimula a atividade das moscas com aumento acentuado do metabolismo e do consumo de dieta. Entre 28-30°C, o stress e a falta de dieta podem ser fatores limitantes que podem induzir redução da habilidade de vôo (CHIRICO et al., 1994). Depois do 10º dia, era comum encontrar muitas moscas com asas quebradas e passando a maior parte do tempo no piso da gaiola. Davis e Camino (1968) revestiram suas gaiolas de campo com gaze para diminuir o número de moscas que quebravam as asas antes do período de acasalamento.

Como substrato de oviposição, foi utilizada uma mistura de resto de dieta larval, coágulo e sangue bovino citratado. Essa mistura era colocada em tampa plástica ou placa de Petri, coberta com recortes de papel de filtro e aquecida até 35 °C em estufa, depois era oferecida às moscas. Depois de 3-4 h de exposição, esse substrato de oviposição era retirado do interior da gaiola e os ovos eram então coletados. Para que as moscas ovipositassem adequadamente, a temperatura da sala devia estar maior ou igual a 26°C e a umidade relativa do ar maior ou igual a 50%. O sangue bovino era coletado no abatedouro municipal e para evitar a coagulação e preservá-lo, 10 g de citrato de sódio, 10 g de ácido cítrico e 5 g de dextrose eram adicionados para cada 2 L de sangue.

Depois de coletados, os ovos eram colocados em potes plásticos (12 x 6 x 17 cm) contendo carne moída e dieta larval líquida (usada em substituição ao sangue citratado *in natura*) e eram mantidos por 48 h a 35°C na B.O.D. (Figura 4). Como os ovos não podiam entrar em contato direto com a dieta líquida, era feito um montinho de bagaço de cana

sobre a dieta. Segundo Taylor (1988), há três tipos de sistema de inoculação na criação de *C. hominivorax*: direto na carne, direto na dieta larval (sem carne), ou incubação em carne (sobre ou inserido na dieta larval).

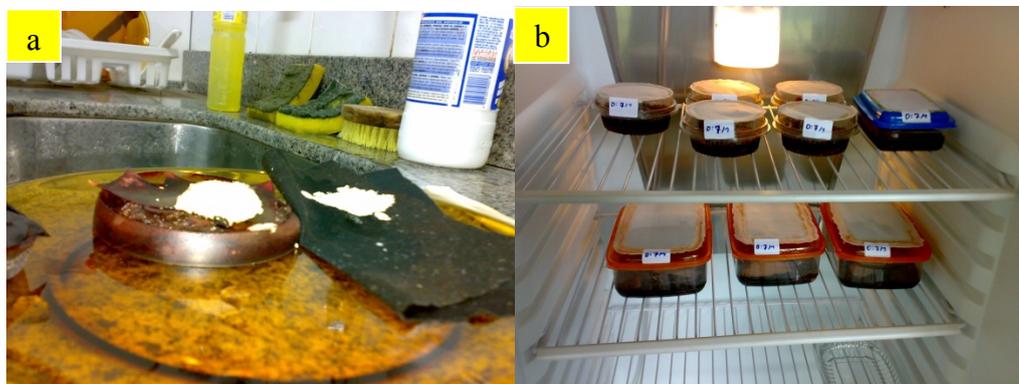


Figura 4 - Detalhes das massas de ovos de *C. hominivorax*: a) Massas de ovos no papel de filtro e no pano que é colocado na base da placa com o substrato de oviposição; b) Potes com dieta larval de *start* e os ovos mantidos à 35°C por 48 h

Após as 48 h, as larvas atingiam o estágio L₂ e eram transferidas para bandejas plásticas de 3 L com a tampa perfurada mas fechada por tecido *voile* para permitir aeração (Figura 5). Por bandeja, eram colocadas aproximadamente 328 g de carne moída e 350 mL de dieta líquida e o fundo da bandeja era preenchido com bagaço de cana. Dependendo da densidade larval, uma bandeja podia chegar a produzir 114,3 mL de pupas (\approx 950 pupas). A composição da dieta líquida (para 1 L) era 60 g de hemácias *spray dried*, 40 g de ovo *spray dried*, 40 g de leite em pó, 1 g de ácido cítrico, 1 g de citrato de sódio, 1 mL de formaldeído e 800 mL de água.

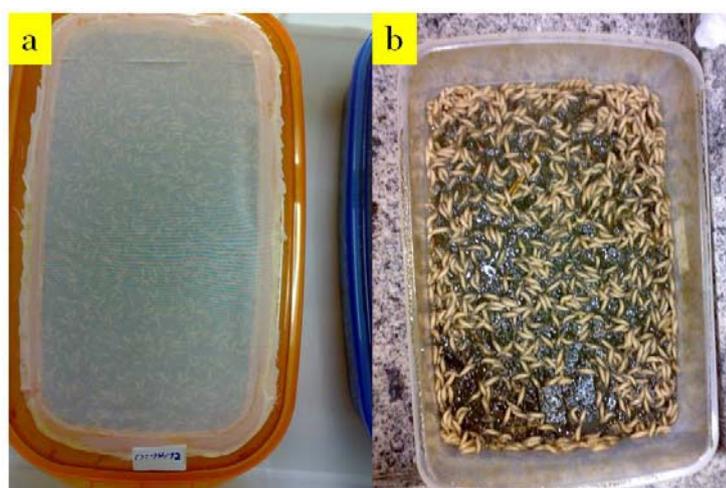


Figura 5 - Produção de larvas de *C. hominivorax*: a) Bandeja plástica (3 L) com dieta larval; b) Larvas no estágio L₃ sobre a dieta larval

A partir da geração F₂₂, as larvas no estágio L₂ passaram a ser alimentadas com uma dieta de gel (para 1 L: 60 g de hemácias *spray dried*, 40 g de ovo *spray dried*, 40 g de leite em pó desnatado, 30 g de Ecogel[®], 1 mL de formaldeído e 800 mL de água) (Figura 6). Essa dieta era mais barata e permitia um desenvolvimento larval igual ou mesmo superior ao da dieta à base de carne.



Figura 6 - Bandeja plástica (3 L) com dieta larval de gel para larvas no estágio L₂

Estando a temperatura entre 26 e 35°C, o período larval era de 4 dias e o de pupa durava de 7 a 9 dias. Valores similares foram descritos por Baumhover et al. (1966). Segundo Taylor et al. (1991a), a criação massal na biofábrica do COMEXA possuía 3 tipos de salas: a sala de iniciação (39 °C, 75% de UR), a de criação (35 °C, 70% de UR) e a de pupação (30 °C, 60% de UR).

Depois dos 4 dias na dieta larval, as larvas junto com os restos da dieta eram transferidos manualmente das bandejas plásticas para bandejas de isopor (22 x 4 x 12 cm). Estas, por sua vez, eram colocadas sobre tripés de madeira em caixas plásticas com vermiculita esterilizada. Os tripés deixavam um espaço livre de aproximadamente 1,5 cm entre a bandeja de isopor e a caixa para evitar que as larvas fossem esmagadas ou virassem pupas deformadas. As larvas rastejavam, caíam na vermiculita, e, depois de 3 dias, a vermiculita podia ser peneirada e o volume de pupas em proveta de 500 mL determinado (Figura 7). O peso pupal era determinado quando as pupas atingiam 5 dias de idade (CHAUDHURY; SKODA, 2007).



Figura 7 - Detalhes das pupas de *C. hominivorax*: a) Larvas no estágio L₃ saindo da dieta para pupar na vermiculita; b) Caixas com larvas empupando (26-35°C, 40-80% de U.R.); c) Pupas depois de peneiradas; d) Pupas sendo medidas volumetricamente

Quando havia necessidade de atrasar a emergência dos adultos, as pupas podiam ser mantidas por até 20 dias a 15°C e umidade relativa $\geq 40\%$ na B.O.D. sem prejuízo da qualidade (máximo de decréscimo na emergência registrado foi de 10%). Baixas temperaturas ($\leq 10^\circ\text{C}$) nos primeiros 15 min. em que as moscas estão emergindo devem ser evitadas, pois o processo de distensão das asas pode ser prejudicado (BAUMHOVER et al., 1966) às vezes de modo irreversível. Para determinação da emergência de adultos e da razão sexual, 100 pupas de 6 dias de idade eram separadas e colocadas em placas de Petri para posterior contagem.

Entre as gerações F₁ e F₇, os valores de viabilidade de ovos se mostraram erráticos, variando entre 25 e 80%. Isso pode ter sido devido tanto ao processo de domesticação da mosca quanto à metodologia empregada. A partir da F₈, foi adotada uma metodologia semelhante à proposta por Berkebile e Skoda (2002). A massa de ovos era imersa em uma solução de hidróxido de sódio a 1,2% por, no máximo, 10 minutos e agitada constantemente para desprender os ovos. Em seguida, os ovos eram peneirados em uma tela de *voile* preto, colocados sobre papel de filtro umedecido em placas de Petri e mantidos a 27°C. A contagem dos ovos não-eclodidos e semi-eclodidos era realizada depois de 3 dias. A viabilidade média de ovos na F₈ e F₉ foi, respectivamente,

82,9±2,5% e 74,4±5,1%, semelhantes aos valores obtidos na biofábrica de Tuxtla Gutierrez (México) e no USDA-ARS (CHAUDHURY et al., 2000; BERKEBILE; SKODA, 2002). Entre as gerações F₁₀ e F₂₀, a viabilidade média foi de 89,9±1,8%.

Os dados relativos à produção de pupas, emergência de adultos e razão sexual estão apresentados nos gráficos das Figuras 8 e 9. Já na geração F₃, foi alcançada a produção de 1,1 L de pupas e na F₉, de 2,6 L. Entre as gerações F₁ e a F₁₈, foi produzido um volume total de 30,98 L de pupas (≈ 257.199 pupas).

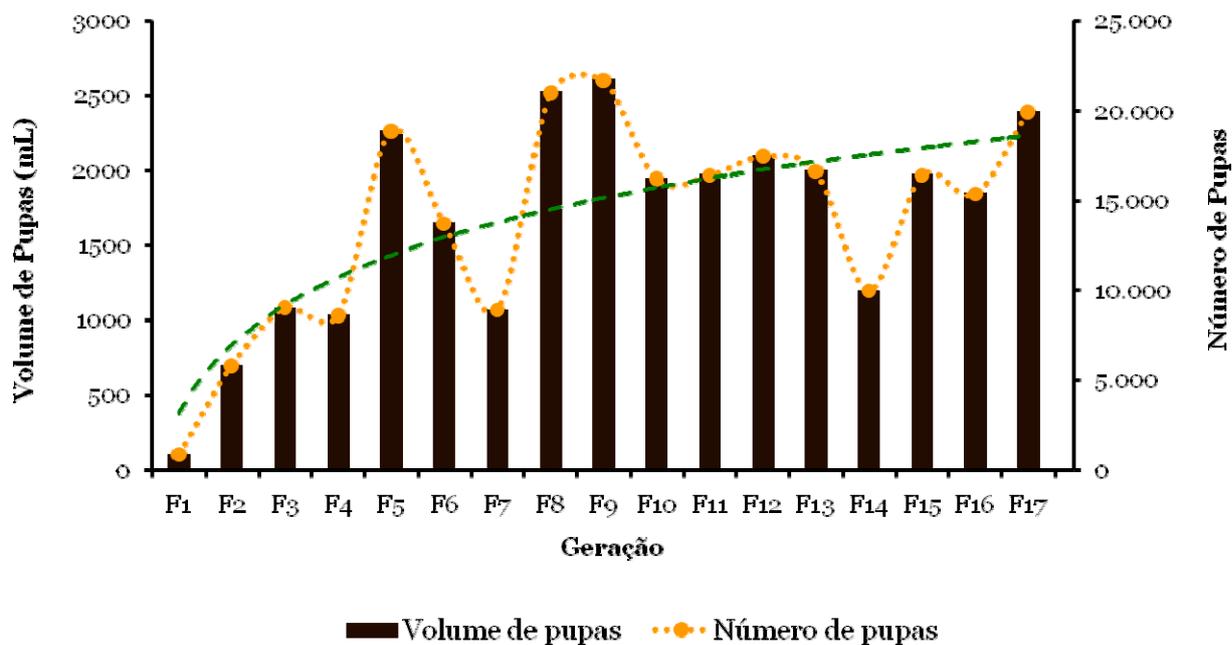


Figura 8 - Produção de pupas ao longo das gerações (linha de tendência em verde)

A queda em F₇ foi devida, na verdade, à menor densidade larval usada, o que levou à produção de pupas de elevado peso (entre 50 e 60 mg aproximadamente) e moscas de alta qualidade. Em contrapartida, houve sobra de dieta e aumento do descarte de dieta. A média do peso das pupas nas gerações foi de 47,1±1,7 mg, o que era um reflexo da boa qualidade das pupas segundo Vreysen et al. (2007). O menor e maior valores observados na criação foram de 30,5 mg e 59,1 mg respectivamente. Já a queda em F₁₄ foi resultado da má qualidade da carne utilizada na dieta larval.

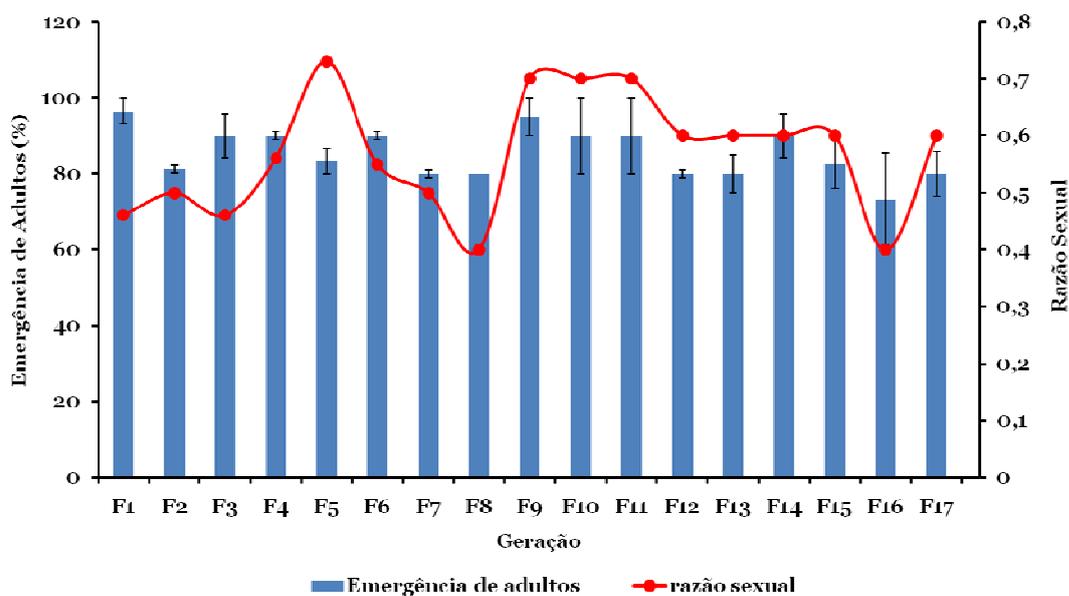


Figura 9 - Emergência de adultos e razão sexual ($\frac{\text{♀}}{\text{♀}+\text{♂}}$) ao longo das gerações

A emergência de adultos manteve-se elevada desde a F₁ (96,5%) e foi variando entre 70 e 100%. A razão sexual (nº de fêmeas/nº de machos + fêmeas) oscilou entre 0,4 e 0,6, mas houve um pico (0,7) na F₅, provavelmente devido ao fato de terem sido pegas pupas provenientes de larvas que puparam primeiro (predominância de fêmeas), fato também observado por Baumhover et al. (1966).

A partir da geração F₆, a produção de pupas foi mantida entre 1,5 e 2,5 L, pois esta quantidade era suficiente para manter a colônia e realizar os experimentos da tese. Com a gaiola de 77 x 154 x 74 cm (\approx 1,18 L pupas/gaiola), com duas ou três coletas de ovos já era possível alcançar essa quantidade de pupas.

5.2 Bioensaios de Criação

Como a estabilização de colônias de insetos leva, de modo geral, de 5 a 7 gerações (BOLLER; CHAMBERS, 1977; BARTLETT, 1984; PARRA, 2001), os bioensaios destinados à elaboração de um protocolo de criação massal só foram iniciados a partir da geração F₈.

5.2.1 Substrato para oviposição

Os resultados de quantidade de ovos depositada (mg) e de porcentagem de eclosão de larvas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Quantidade de ovos depositada (média \pm erro padrão) e eclosão de larvas em diferentes substratos de oviposição

Tratamento	Quantidade de Ovos (mg)	Eclosão de Larvas (%)
Carne bovina moída	75,5 \pm 46,4 ^a b	68,5 \pm 7,5 a ^b
Fígado	0 b	---
Carne + Fígado	7,5 \pm 6,5 b	26,9 \pm 1,7 b
Dieta larval podre + Sangue	2.605,8 \pm 1091,2 a	78,7 \pm 3,3 a
C.V. (%)	14,1	2,4

^aMédias originais nesta tabela. Os dados de quantidade de ovos depositada foram transformados por “ $\log_{10}(x+k)$ ”, e os de porcentagem de eclosão de larvas por “ $(x+k)^{-2}$ ” antes das análises.

^bMédias na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si ($P > 0,05$).

A DPS diferiu significativamente dos outros tratamentos quanto à quantidade de ovos (2.605,8 mg de ovos \approx 57.328 ovos) e foi o que obteve maior eclosão de larvas (78,7%). Na verdade, somando as repetições da DPS, a quantidade de ovos chegou a 10,4 g (\approx 230.000 ovos).

Depois de 5 min. de colocadas na gaiola, as placas ficaram completamente cobertas pelas moscas. Mas, decorridos 15-20 min., as moscas claramente demonstravam preferência pela DPS, abandonando as outras.

Apesar do forte cheiro exalado, as moscas não ovipositaram no fígado e muito pouco na sua mistura com carne moída. As massas de ovos colocadas nessa mistura apresentaram baixa viabilidade. Isto pode ser um indicativo de que as moscas talvez consigam discriminar a qualidade do substrato e se devem colocar mais ovos férteis ou não.

A oviposição também pode variar com a linhagem. O aumento da taxa de oviposição (maior fecundidade, menor período de pré-oviposição, menor relutância em ovipositar) relatado para linhagens adaptadas há mais tempo às condições de laboratório (SPATES; HIGHTOWER, 1970; HIGHTOWER et al., 1972b; FLETCHER et al., 1973; DEVANEY; GARCIA, 1975) pode indicar seleção de genes melhor adaptados para as

condições de criação em laboratório (LaCHANCE, 1979), diminuição do limiar de resposta ao estímulo de oviposição, ou ambos (THOMAS, 1993).

Segundo Baumhover et al. (1966), as gaiolas de produção na Flórida eram mantidas em sala escura antes da oviposição. O dispositivo de oviposição consistia em uma bandeja (170 x 31 x 4 cm) contendo uma mistura de carne e atrativo (sucos de carne ou albumina de sangue), sendo aquecida a 35 °C por cabo aquecedor termostato. Uma grade de madeira era colocada sobre a bandeja para servir de local para as oviposições, assim como lâmpadas incandescentes para aumentar a atração das moscas. Depois de 4 h, as gaiolas eram transferidas para uma sala a 0 °C para permitir a retirada do dispositivo.

Segundo Thomas (1993), as moscas em criação massal eram estimuladas a ovipositar em substrato artificial feito de carne moída umedecida com descarte de dieta larval em salas escuras a 40 °C. Em sala escura ou com maior escotofase, o dano físico e morte prematura das fêmeas por machos agressivos são reduzidos (Berkebile et al., 2006).

Berkebile et al. (2006) utilizaram como substrato de oviposição uma mistura feita a partir de 10 g de carne moída fresca e 100 mL de sangue em putrefação.

5.2.2 Temperatura base para desenvolvimento embrionário

Um dos fatores que afeta significativamente a viabilidade de ovos é a temperatura ambiente, sendo que dois parâmetros são mais comumente empregados para avaliar o seu efeito: a temperatura base (T_b) e a temperatura ótima (T_o). A primeira se refere a uma temperatura abaixo da qual a viabilidade de ovos é nula, ou a partir da qual é possível ocorrer o desenvolvimento embrionário. Enquanto a segunda é definida como sendo aquela temperatura onde há a máxima viabilidade (eclosão) num curto período de tempo.

As necessidades térmicas dos insetos podem ser avaliadas pela constante térmica (K , em graus-dias), a qual, desde há muitos anos, é usada em estudos de previsão de crescimento de plantas. Uma vez que os insetos são heterotérmicos, essa constante térmica também pode ser aplicada ao desenvolvimento dos insetos (HADDAD; PARRA, 1984).

O período de incubação e a viabilidade de ovos variaram em função das temperaturas testadas, caracterizando uma relação inversamente proporcional entre a duração do desenvolvimento embrionário e a temperatura (Figura 10), dentro de uma faixa de 15 a 35 °C. As menores viabilidades foram encontradas para a temperatura de 15 °C, em razão da menor atividade metabólica dos ovos. A faixa térmica entre 25 e 35 °C proporcionou maior viabilidade de ovos ($F=134,1$; $P < 10^{-3}$). Considerando um menor período de desenvolvimento e máxima viabilidade de ovos, a temperatura ótima, dentre as testadas, seria de 35 °C (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias (\pm erro padrão) da duração do desenvolvimento embrionário (dias) e viabilidade de ovos (%) de *C. hominivorax*, sob diferentes temperaturas de incubação (UR = $60 \pm 10\%$, Fotofase = 12 h)

Temperatura (°C)	Duração (dias)	Viabilidade (%)
15	$3 \pm 0,6$ a ^a	$30,3 \pm 3,9$ c ^b
19,5	$1,5 \pm 0,05$ b	$70,4 \pm 4,1$ b
25	$0,9 \pm 0,06$ bc	$82,3 \pm 3,0$ ab
35	$0,4 \pm 0,05$ c	$91,9 \pm 1,5$ a
C.V.	16,8%	8,3%
F	30,5	134,1
P	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$

^aMédias originais nesta tabela. Os dados de duração do desenvolvimento embrionário foram transformados por " $\log_{10}(x+k)$ " antes das análises.

^bMédias na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Com base na equação de regressão linear (Tabela 3), a temperatura base foi estimada em 13,1°C, com uma constante térmica de 9,17 GD.

Tabela 3 - Limiar térmico inferior de desenvolvimento (T_b), constante térmica (K), equação de regressão ($1/D$) e coeficiente de determinação (r^2) da fase de ovo de *C.hominivorax*, em condições de laboratório (UR = $60 \pm 10\%$; Fotofase = 12 h)

Fase	T _b (°C)	K (GD)	Equação	r ²	Erro	Erro	F	P
					padrão do coeficiente angular	padrão do coeficiente linear		
Ovo	13,1	9,17	$1/D = -1,429 + 0,109.T$	0,97	0,012	0,29	83,03	0,011

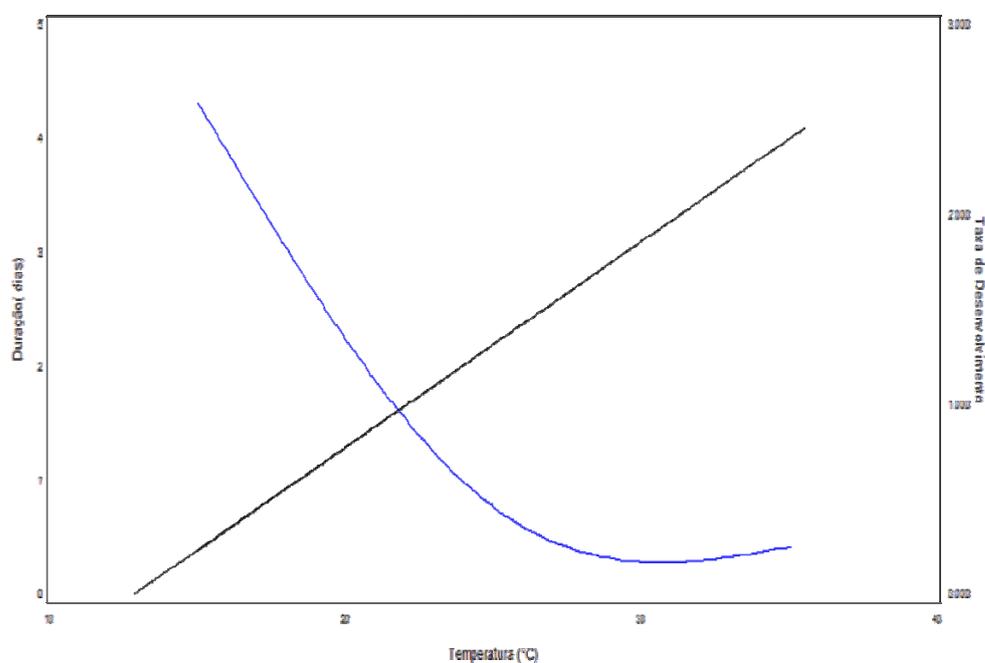


Figura 10 - Relação entre a temperatura com o tempo e a velocidade de desenvolvimento para a fase de ovo de *C. hominivorax*

Vale ressaltar que o limiar térmico inferior pode variar para uma mesma espécie, em função do local e clima em que se encontra a população, estado fisiológico do inseto, estágio de desenvolvimento, fotoperíodo e qualidade nutricional das fontes alimentares (BERGANT; TRDAN, 2006).

5.2.3 Dieta para adultos

O período de pré-oviposição não variou entre os tratamentos. Com 5-6 dias de idade, mantidas em sala a 33 °C e 60% de UR, 100% das fêmeas mostraram-se dispostas a ovipositar. Entre o 1º e 7º dias após a emergência dos adultos, a mortalidade entre os tratamentos também não variou, ficando abaixo de 5% (≤ 47 moscas) em todas as gaiolas. Os resultados dos demais parâmetros avaliados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Médias (\pm erro padrão) da quantidade de ovos (mg) e viabilidade de ovos (%) de adultos de *C. hominivorax* alimentados com diferentes dietas

Dieta	Quantidade de ovos (mg)	Viabilidade dos ovos (%)
Mel+Papel	484 \pm 11 ^a a	94,1 \pm 2,3 ab ^b
Rapadura	676 \pm 60 a	96,6 \pm 0,7 a
Ovo <i>spray dried</i> + mel	667 \pm 154 a	84,1 \pm 3,0 b
Ovo <i>spray dried</i> + mel + melaço	565 \pm 155 a	85,9 \pm 4,3 ab
Hemácias <i>spray dried</i> + mel + melaço	572 \pm 29 a	92,8 \pm 2,2 ab
Hemácias <i>spray dried</i> + ovo <i>spray dried</i> + mel	723 \pm 57 a	85,1 \pm 2,5 ab
C.V.	4,6%	4,8%

^aMédias originais nesta tabela. Os dados de quantidade de ovos foram transformados por " $\log_{10}(x+k)$ " antes das análises.

^bMédias na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

O peso das massas de ovos coletadas variou entre 480 e 720 mg aproximadamente. Os tratamentos não diferiram significativamente entre si ($F = 1,1$; $P = 0,39$). Ainda assim, a média de massa de ovos de maior peso (723 mg \approx 15.906 ovos) foi obtida das gaiolas com o tratamento de hemácias *spray dried* + ovo *spray dried* + mel, e a menor (484 mg \approx 10.648 ovos), da gaiola em que foi oferecido apenas mel com papel (Tabela 4).

Quanto à viabilidade dos ovos, os tratamentos diferiram significativamente entre si ($F = 4,6$; $P = 0,015$). O maior valor médio de viabilidade de ovos observado ($96,6 \pm 0,7\%$) foi obtido de massas depositadas por adultos de *C. hominivorax* que se alimentaram apenas de rapadura. O menor valor médio de viabilidade de ovos ($84,1 \pm 3,0\%$) veio do tratamento de ovo *spray dried* + mel, sendo que foi observada, pelo menos no início, certa rejeição da dieta por parte das moscas.

Cochliomyia hominivorax é uma espécie autógena por pelo menos o 1º ciclo gonotrófico e consegue completar até 3 ciclos sem ingestão de proteína na fase adulta (CRISTAL, 1966, 1978). Entretanto, comparada a outras moscas da família Calliphoridae, a mosca da bicheira ainda apresenta certa necessidade de proteínas (THOMAS; MANGAN, 1989). A ingestão de carboidratos é essencial para a sobrevivência e reprodução (PETERSON et al., 1987), sendo que moscas de *C. hominivorax* já foram vistas se alimentando de recursos florais (MACKLEY; LONG, 1983) e esterco (MACKLEY; SNOW, 1982), os quais também são fontes potenciais de proteínas.

Thomas (1993) relatou que a presença de proteína na dieta de adulto acelera a maturação dos ovários de *C. hominivorax*, aumentando o número de oócitos maduros. Segundo Hammack (1999), a suplementação da dieta de adulto com carne durante a 1ª semana aumenta o número de ovos por fêmea grávida em 30%. Chaudhury et al. (2000) verificaram que fêmeas alimentadas com dietas com ovo *spray dried* colocaram massas de ovos mais pesadas do que as que haviam se alimentado apenas da dieta padrão à base de carne moída de cavalo e mel.

Sagel et al. (2002) testaram dietas de adulto à base de xarope de milho (*corn syrup*), carragenina e sangue *spray dried*, e relataram que o ovo *spray dried* era menos fagoestimulante nesse tipo de dieta de gel. Berkebile et al. (2006) observaram que as moscas não aceitaram completamente dietas de adulto feitas exclusivamente de leite em pó e ovo *spray dried*.

O peso médio de massa de ovos no tratamento de rapadura também foi elevado ($676 \text{ mg} \approx 14.872$ ovos). Chaudhury et al. (2000) também testaram dietas à base de ovo *spray dried* mais melaço e obtiveram alta produção de ovos. O melaço contém pouca frutose (8,7%) em comparação com o mel (42,4%), porém é rico em nutrientes minerais

como ferro, potássio, cálcio, magnésio e cobre, geralmente ausentes ou em quantidades traço no mel. É possível que esse conteúdo mineral do melaço, assim como na rapadura, influencie a ativação enzimática do metabolismo e síntese protéica nas fêmeas, resultando em maior atividade oogênica (HAMMACK, 1999).

5.2.4 Dieta larval

Os resultados dos testes com as dietas larvais estão apresentados nas Tabelas 5 e 6. O teste com as dietas líquidas contendo como agente *bulking* bagaço de cana ou fibra de coco foi realizado com larvas de segundo instar, porque a viabilidade das larvas de 1º instar, depois que as massas de ovos eram colocadas diretamente sobre as dietas, era muito baixa e variável (entre 0 e 25% somente). As larvas de estágio L₂ para este teste, portanto, foram obtidas de dieta de *start* (0,9 g de carne moída para cada 1 mL de dieta líquida - 60 mg de hemácias *spray dried*, 40 mg de ovo *spray dried*, 40 mg de leite em pó, 1 mg de ácido cítrico, 1 mg de citrato de sódio, 0,001 mL de formaldeído e 0,8 mL de água). Para o teste com as dietas à base de carne e gel, foram utilizadas massas de ovos.



Figura 11 - Dieta para larvas de *C. hominivorax*: a) teste com dietas larvais; b) as bandejas com dietas larvais tinham que ser mantidas a 30-36 °C por 4 dias na “torre do fedor”

Tabela 5 - Parâmetros biológicos (média \pm erro padrão) de *C. hominivorax* em diferentes dietas líquidas para larvas

DIETA LÍQUIDA	Peso Larval (mg)	Viabilidade Larval (%)	Peso Pupal (mg)	Emergência (%)	Razão Sexual^b
Bagaço de cana	52,7 \pm 6,4 a ^a	96,7 \pm 2,3 a	55,3 \pm 3,7 a	95 \pm 0,9 a	0,56 \pm 0,012 a
Fibra de coco	55,3 \pm 4,4 a	98 \pm 0,58 a	50,7 \pm 3,2 a	85 \pm 4,8 a	0,55 \pm 0,084 a
ANOVA (LSD)	$F_{1,5} = 0,12$ $P = 0,74$ C.V. ^c = 17,5%	$F_{1,5} = 0,31$ $P = 0,61$ C.V. = 3,02%	$F_{1,5} = 0,91$ $P = 0,39$ C.V. = 11,3%	$F_{1,5} = 4,2$ $P = 0,11$ C.V. = 6,7%	$F_{1,5} = 0,03$ $P = 0,87$ C.V. = 18,7%

^a Médias na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste-t de Student ($P > 0,05$).

^b Razão sexual = n° de fêmeas/(n° de machos + n° de fêmeas).

^c C.V. = coeficiente de variação.

Os valores de peso e viabilidade larvais, peso pupal (pupas com 5 dias de idade), emergência de adultos e razão sexual obtidos das dietas dos dois testes foram todos elevados, embora não tenham sido detectadas diferenças significativas ($P > 0,05$). Também não foi observada variação no tempo de desenvolvimento larval entre as dietas, ficando sempre em torno de 4-5 dias.

Baumhover et al. (1966) relataram a tentativa de utilização de uma dieta semi-líquida na biofábrica em Mission, Texas. A dieta era à base de carne moída, plasma bovino, água e formalina, e eram colocadas camadas de algodão que flutuavam na bandeja, dando suporte para as larvas e evitando afogamento. Dessa forma, a densidade larval podia ser aumentada porque as larvas se dispersavam mais na bandeja ao invés de se alimentarem com o comportamento de “ondas” como nas outras dietas.

Tabela 6 - Parâmetros biológicos (média ± erro padrão) de *C. hominivorax* em diferentes dietas larvais

DIETA	Peso Larval (mg)	Viabilidade Larval (%)	Peso Pupal (mg)	Emergência (%)	Razão Sexual^b
Carne	47,7 ± 2,6 a ^a	89,3 ± 5,2 a	53 ± 1,7 a	92,7 ± 1,9 a	0,47 ± 0,06 a
Gel	58,7 ± 4,7 a	93 ± 5,1 a	52 ± 2,52 a	80 ± 6,2 a	0,56 ± 0,03 a
ANOVA (LSD)	$F_{1,5} = 4,2$ $P = 0,11$ C.V. ^c = 12,4%	$F_{1,5} = 0,26$ $P = 0,64$ C.V. = 9,7%	$F_{1,5} = 0,11$ $P = 0,76$ C.V. = 7,1%	$F_{1,9} = 3,8$ $P = 0,09$ C.V. = 11,9%	$F_{1,9} = 1,6$ $P = 0,25$ C.V. = 19,6%

^a Médias na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste-t de Student ($P > 0,05$).

^b Razão sexual = n° de fêmeas/(n° de machos + n° de fêmeas).

^c C.V. = coeficiente de variação.

O peso das larvas de 3° instar foi de 52,7±6,4 mg na dieta líquida com bagaço de cana, 55,3±4,4 mg na dieta líquida com fibra de coco, 47,7±2,6 mg na dieta à base de carne e 58,7±4,7 mg na dieta de gel. Taylor e Mangan (1987) relataram valores de peso larval entre 40 e 80 mg para testes com dietas de carne e gel. Chaudhury e Skoda (2007) obtiveram valores entre 47 e 74 mg em testes de dietas de gel e à base de fibra de celulose.

O peso pupal em todas as dietas dos dois testes também foi elevado, sendo sempre maior ou igual a 47 mg. Segundo Vreysen et al. (2007), o peso mínimo aceitável para pupas irradiadas com cinco dias de idade deve ser de 47 mg.

A dieta com Ecogel[®] proporcionou alta viabilidade larval e larvas de 3° instar com peso igual ou superior (embora sem diferença significativa) aos da dieta à base de carne (Tabela 6). Embora o período larval tenha sido praticamente o mesmo nas duas dietas, mais de 90% das pré-pupas da dieta à base de carne abandonou o meio em menos de 15 h (provavelmente para escapar do excesso de resíduos tóxicos e da carne em putrefação), enquanto que foi possível encontrar larvas de 3° instar terminando de se alimentar na dieta de gel. O Ecogel[®], aparentemente, também conseguiu absorver os resíduos

metabólicos excretados pelas larvas, o que reduziu consideravelmente o mau odor (odores à base de amônia e enxofre) emitido pela dieta. Além disso, a dieta de gel manteve-se semi-sólida todo o tempo, sem aumento da viscosidade (o que atrapalharia a saída das larvas), mas podia ser dissolvida rapidamente em água, facilitando, assim, seu descarte.

Outra grande vantagem da dieta de gel foi o seu menor custo. Para produzir 100 mL de pupas (\approx 830 pupas), o custo da dieta à base de carne (500 g de carne moída + 300 mL de dieta líquida) era de R\$ 6,60, enquanto a de gel (\approx 1 L) era de apenas R\$ 1,89 (economia de quase 72% ou 3,5 vezes).

Na verdade, trabalhos anteriores demonstraram a viabilidade de dietas de gel para a mosca da bicheira. A dieta à base de carne desenvolvida por Melvin e Bushland (1936) foi utilizada praticamente sem alterações para a produção massal de *C. hominivorax* até 1970. Gingrich et al. (1971) desenvolveram uma dieta líquida, depois modificada por Brown e Snow (1979), composta de sangue e ovo *spray dried*, leite em pó, formalina e água, além de algodão ou fibras de acetato para dar sustentação às larvas, sendo utilizada nos programas de erradicação de *C. hominivorax* por mais de 12 anos.

A produção massal de larvas de *C. hominivorax* com essa dieta líquida consistia de duas fases. Na primeira (fase de iniciação), os ovos eram colocados sobre 30 g de carne de cavalo em placas de Petri e incubados por 8 h. Em seguida, o conteúdo dessas placas era transferido para bandejas (46 x 33 x 5 cm) com 2 L de dieta líquida com fibras de acetato. Depois de 24 h, as larvas eram transferidas para bandejas maiores (66 x 46 x 9 cm) contendo 4 L de dieta líquida, permanecendo aí por mais 24 h. Na segunda fase, as larvas eram transferidas para outro tipo de bandeja (91 x 152 x 2,5 cm), sendo que o resíduo de dieta podre era aspirado e substituído por dieta nova 8 h depois da transferência e a cada 4 h por 3 dias. A remoção incompleta da dieta podre reduzia a quantidade de dieta nova que podia ser adicionada e resultava na completa contaminação da bandeja por toxinas metabólicas, principalmente bicarbonato de amônio. No fim, as larvas abandonavam as bandejas, caindo no sistema de coleta (TAYLOR, 1988).

Harris et al. (1984) testaram vários agentes gelificantes para a dieta de Gingrich et al. (1971) e relataram que quatro (*Gelgard*, carragenina, caseína e goma *Karaya*) permitiam uma produção de larvas com qualidade semelhante às da dieta de carne. Harris et al. (1985) demonstraram que o agente gelificante de poliacrilato de poliacrilamida de sódio, *Water-Lock G-400*, era promissor para a formulação de dietas larvais.

Taylor e Mangan (1987) compararam os parâmetros de controle de qualidade de moscas criadas na dieta de carne padrão e na de gel *Water-Lock* ao longo de cinco gerações e não encontraram diferenças significativas.

Taylor (1988) comparou as dietas à base de *Water-Lock* (70 g de sangue *spray dried*, 30 de ovo *spray dried*, 30 g de leite em pó, 1,2 mL de formalina, 12 g de *Water-Lock* G-400 e 1 L de água) e carragenina (em três concentrações) para produção de larvas em pequena escala e massal. A dieta com *Water-Lock* foi superior tanto na iniciação larval quanto na criação. Mesmo assim, a biofábrica do COMEXA adotou, em agosto de 1986, a dieta à base de carragenina (6% de sangue *spray dried*, 3% de ovo *spray dried*, 3% de leite em pó, 0,1% de formalina, 0,25% de carragenina e 87,65% de água) para a iniciação larval.

Taylor et al. (1991a) compararam os sistemas de produção baseados na dieta de gel *Water-Lock* e o padrão (GINGRICH et al., 1971). O sistema com dieta de gel rendeu 2% de pupas com maior peso, viabilidade ovo-pupa 32% maior e exigiu menos 54% de dieta e 88% de trabalho do que o sistema padrão. O teste piloto com dieta de gel produziu uma média de 19,2 milhões de pupas/semana, com peso médio pupal de 47,1 mg, rendimento de $1,4 \times 10^4$ pupas/g de ovo e 11,7 L de dieta para produzir 10^4 pupas. No mesmo período, o sistema padrão gerou pupas com peso médio de 46,2 mg, rendimento de $1,1 \times 10^4$ pupas/g de ovo, e usou 25,3 L de dieta para produzir 10^4 pupas. Com isso, a conversão completa da biofábrica do COMEXA para o sistema de criação em dieta de gel *Water-Lock* começou em outubro de 1989 e foi concluída em abril de 1990. Até recentemente, a dieta larval utilizada na biofábrica do COMEXA era praticamente a mesma (60 g de sangue *spray dried*, 40 de ovo *spray dried*, 40 g de leite em pó, 1 mL de formalina, 18 g de *Aquatain* e 841 mL de água) (CHAUDHURY; SKODA, 2007).

Agentes gelificantes como o *Water-Lock* ou o Ecogel[®] possuem inúmeras vantagens. A dieta permanece semi-sólida ao longo do tempo, emite menos odores de enxofre e amônia, e mantém a qualidade nutricional por mais tempo para as larvas antes de se contaminar com os resíduos tóxicos. Por causa da pouca disponibilidade de água livre, os resíduos metabólicos solúveis, como amônia, não se difundem para as partes ainda não aproveitadas pelas larvas, eliminando a necessidade de se remover a dieta podre e reduzindo a frequência de adição de dieta. O agente gelificante também não exige aquecimento, como ágar ou carragenina, podendo ser utilizado imediatamente.

Os sistemas de produção de larvas devem ter bom desempenho não apenas na fase experimental, mas devem ser flexíveis e resilientes a condições de mão-de-obra e ambientais sub-ótimas às quais serão expostos no dia-a-dia de uma biofábrica.

5.3 Esterilização

As curvas de regressão linear de esterilidade na escala de Probit contra o logaritmo das doses de raios X estão apresentadas nas Figuras 12 e 13. As doses estimadas para indução de 99% de esterilidade (DE_{99}), com seus respectivos intervalos de confiança, estão listadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Doses esterilizantes de raios X estimadas a partir das equações de regressão linear para esterilidade em escala Probit

Tratamentos	Coefficiente angular \pm EP	P	Equação	DE_{99} (Gy)
Machos irradiados de <i>C. hominivorax</i>	$2,7 \pm 0,17$	0,038	$y = 2,9 + 2,7 \log(x)^a$	$43,7^b$ (22,2; 85,5) ^c
Fêmeas irradiadas de <i>C. hominivorax</i>	$5,8 \pm 0,31$	0,033	$y = -2,4 + 5,8 \log(x)$	47,5 (27,2; 83,2)
Machos e Fêmeas irradiados	$4,7 \pm 0,31$	0,041	$y = 0,5 + 4,7 \log(x)$	28,9 (16,9; 49,5)

^a y = Probit e x = dose (Gy).

^b DE_{99} = Dose que induz 99% de esterilidade.

^c Valores entre parênteses representam os intervalos de confiança ao nível de 95%.

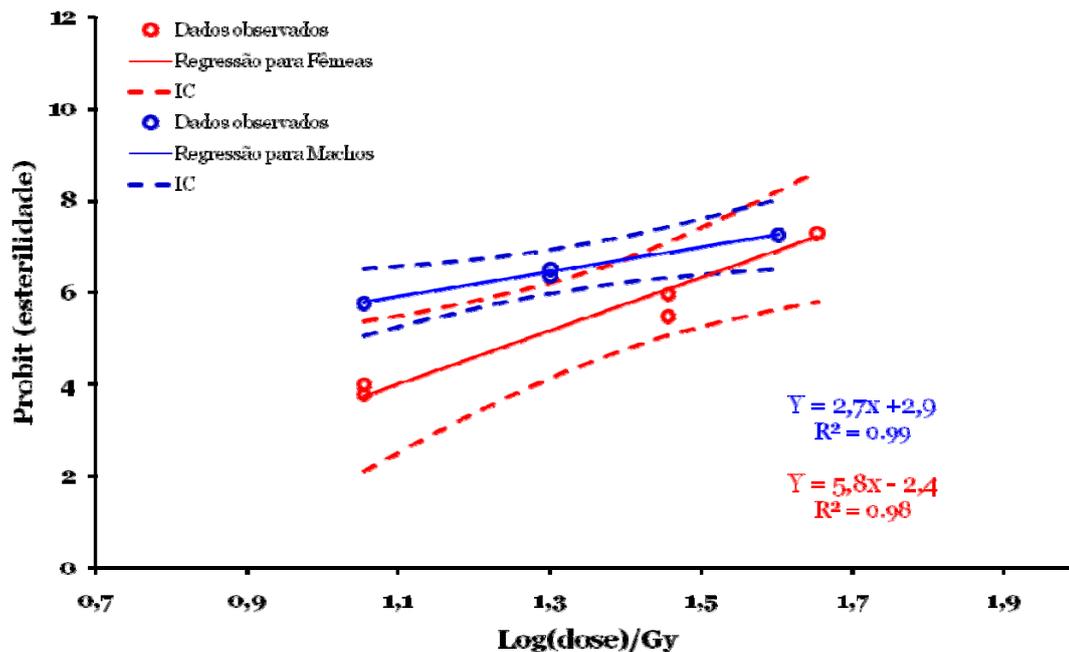


Figura 12 - Próbitos estimados da esterilidade obtida para machos e fêmeas de *C.hominivorax*, e seus intervalos de confiança (95%)

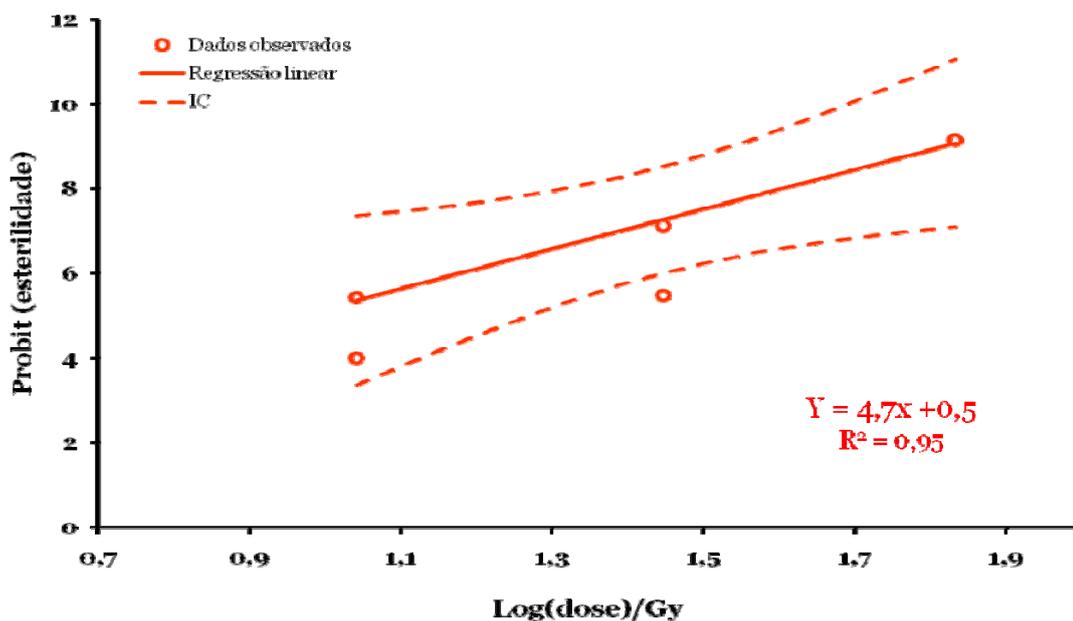


Figura 13 - Próbitos estimados da esterilidade obtida de cruzamentos entre fêmeas e machos, ambos irradiados, de *C. hominivorax*, e seu intervalo de confiança (95%)

A fertilidade média de *C. hominivorax* dos grupos controle foi de $91,9 \pm 1,6\%$. Outros estudos sobre métodos de separação de ovos e de dieta larval revelaram viabilidade de ovos nos grupos controle variando de 60 a 96% (CHAUDHURY et al., 2000; BERKEBILE; SKODA, 2002).

Tanto para machos quanto para fêmeas de *C. hominivorax*, a fertilidade diminuiu significativamente com o aumento das doses de radiação. Para os machos irradiados, 99% de esterilidade pôde ser alcançada com doses de 43,7 Gy de raios X. Em relação às fêmeas irradiadas, a DE_{99} estimada foi um pouco maior, sendo de 47,5 Gy (Tabela 7).

Com relação à emergência de adultos e à razão sexual, ambos não foram significativamente afetados pelas doses de raios X (Tabela 8). Os valores de emergência e razão sexual foram maiores do que 70% e 0,5, respectivamente.

Tabela 8 - Regressão linear para emergência de adultos e razão sexual para *C. hominivorax* irradiada com diferentes doses de raios X

Parâmetros de controle de qualidade	Dose (Gy)				Teste de significância da regressão linear ^b
	0	10	25	60	
Emergência de Adultos	$80 \pm 5,8^a$	$76,7 \pm 12,0$	$93,1 \pm 6,6$	$93,3 \pm 6,7$	$F_{1,11} = 3,34^{ns}$ $P = 0,21$
Razão Sexual^c	$0,6 \pm 0,07$	$0,6 \pm 0,03$	$0,7 \pm 0,03$	$0,6 \pm 0,1$	$F_{1,11} = 0,12^{ns}$ $P = 0,76$

^a Média \pm Erro padrão.

^b Análise de variância com aplicação do teste F indica se uma regressão linear significativa se adéqua ou não aos dados ($P > 0,05$; *ns*, não significativa).

^c Razão sexual = n° de fêmeas/(n° de fêmeas + n° de machos).

Bushland e Hopkins (1951) verificaram que a emergência de adultos e razão sexual de pupas mais jovens (16-48 h de idade) irradiadas com 2.500 R (24,3 Gy) e 5.000 R (48,7 Gy) foram de apenas 34,4% e 0,7, e 0,6% e 1, respectivamente. Bushland e Hopkins (1953) irradiaram pupas com 6 dias de idade com 48,7 Gy de raios X e gama e não encontraram diferença significativa entre os valores da testemunha e os dos dois tipos de radiação (todos os valores de emergência de adultos e de razão sexual ficaram em torno de 65% e 0,5 respectivamente).

Quando machos irradiados foram expostos a fêmeas irradiadas, houve uma redução significativa da fertilidade (aproximadamente 99%) já em baixas doses como 28 Gy de raios X, comparando-se com a testemunha (Figura 13). Fêmeas irradiadas com 60 Gy não ovipositaram. Resultados semelhantes foram encontrados na literatura.

Os primeiros bioensaios de esterilização de *C. hominivorax* foram realizados na década de 1950. Bushland e Hopkins (1951) relataram que pupas 2 dias antes da emergência do adulto expostas a doses de 2.500 e 5.000 R (24,3 e 48,7 Gy) de raios X originavam machos e fêmeas estéreis, respectivamente, e que os machos estéreis competiam satisfatoriamente contra os não-irradiados nas gaiolas de laboratório. Com o desenvolvimento de fontes gama pela *Atomic Energy Commission* dos E.U.A., Bushland e Hopkins (1953) puderam realizar experimentos comparando raios X e gama, e concluíram que nenhuma dose menor que 5.000 R (48,7 Gy) era capaz de produzir 100% de esterilidade (lotes com machos e fêmeas) e que era melhor esterilizar pupas com mais de cinco dias de idade. Baumhover (1963a) relatou que, em atmosfera enriquecida de CO₂, eram necessários 11.100 R (108 Gy) para esterilizar as fêmeas. Duas décadas depois, Crystal (1979) re-examinou as doses de esterilização procurando encontrar uma combinação ótima entre dose e idade do inseto. Quando as pupas eram irradiadas 72 h antes da emergência do adulto, a esterilidade dos machos irradiados com 2 krad ou mais (20 Gy) era maior que 95%, e a esterilidade das fêmeas era 100% na dose de 4 krad (40 Gy).

No Brasil, Guevara (1986) concluiu que a dose ideal de radiação gama para esterilização de duas amostras de *C. hominivorax*, uma de SP e outra de MG, seria de 75 Gy (mas os resultados de dosimetria não foram analisados).

Em atmosfera modificada, como com exceção de CO₂, as doses variam de 45 a 110 Gy (LaCHANCE, 1963; BAUMHOVER, 1963a). Adultos de *C. hominivorax* também podem ser quimioesterilizados, sendo a que a indução de esterilidade ocorre com doses menores para os machos (CRYSTAL, 1966; 1969).

5.4 Testes de compatibilidade reprodutiva e competitividade entre linhagens

Os testes de compatibilidade reprodutiva e competitividade entre as linhagens brasileira (BRA) e jamaicana (JAM) foram conduzidos no *Screwworm Research Unit* (USDA-ARS), localizado na biofábrica de moscas estéreis da *Comisión para la*

Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado (COPEG). As moscas utilizadas para os cruzamentos foram padronizadas por tamanho, sendo utilizadas sempre as maiores (provenientes de pupas de peso ≥ 50 mg, e adultos com cápsula cefálica > 3 mm). A densidade de moscas nas gaiolas foi sempre mantida abaixo de 0,17 moscas/cm².

5.4.1 Compatibilidade entre machos jamaicanos e fêmeas brasileiras

Foram realizados cruzamentos visando examinar a compatibilidade sexual entre machos (estéreis e férteis) da linhagem Jamaica-06 (JAM) e fêmeas brasileiras (BRA) (Tabela 9).

Tabela 9 - Porcentagens de fêmeas acasaladas e número de fêmeas inseminadas por cada macho (média \pm erro padrão) em cruzamentos entre machos jamaicanos (estéreis e férteis) e fêmeas jamaicanas ou brasileiras

Cruzamentos ♂ x ♀	Fêmeas acasaladas (%)	Nº de fêmeas inseminadas/macho
JAM (estéril) x JAM (fértil)^a	96,1 \pm 3,9 ^b a ^c	3,8 \pm 0,15 a
JAM (estéril) x BRA (fértil)	94,7 \pm 5,3 a	3,7 \pm 0,21 a
JAM (fértil) x BRA (fértil)	84,8 \pm 2,7 a	3,4 \pm 0,12 a
JAM (fértil) x JAM (fértil)	94,8 \pm 3,03 a	3,8 \pm 0,12 a
ANOVA (HSD)	$F_{3,11} = 1,8$ $P = 0,22$ C.V. = 7,2%	$F_{3,11} = 1,82$ $P = 0,21$ C.V. = 7,3%

^a JAM= linhagem jamaicana; BRA= linhagem brasileira.

^b Média \pm Erro padrão.

^c Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si ($P > 0,05$).

As porcentagens de fêmeas inseminadas por machos estéreis ou férteis não diferiram significativamente ($F_{3,11} = 1.8$; $P = 0,22$). As porcentagens de inseminação foram elevadas, variando entre 82 e 100%. As fêmeas brasileiras, portanto, não rejeitaram os machos estéreis e férteis jamaicanos (Tabela 9).

As fêmeas (20 fêmeas com 5 machos) ficaram expostas aos machos por 36 h, e também não foi encontrada diferença significativa entre o número de fêmeas inseminadas por cada macho (Tabela 9), com valores variando entre 3,3 e 3,95 fêmeas/macho.

Alley e Hightower (1966) observaram 2,6 acasalamentos por macho nas linhagens mexicana e da Flórida em 1 h (3 machos com 30 fêmeas). Crystal (1967) relatou 4,8 acasalamentos/macho em 1 h (1 macho com 15 fêmeas) e 6,4 acasalamentos/macho em 2 h. Adams (1979b) verificou que machos com idade entre 4 e 16 dias inseminaram 3 fêmeas em 4 h (1 macho com 5 fêmeas). Taylor et al. (1991b) relataram que machos da linhagem OW-87 inseminaram uma média de cinco fêmeas depois de 7 dias juntos (1 macho com 10 fêmeas).

5.4.2 Teste de competitividade de machos

Neste bioensaio, foi avaliada a competitividade de machos estéreis contra férteis de ambas as linhagens por fêmeas férteis brasileiras (Tabela 10).

Tabela 10 - Índices de competitividade entre machos estéreis e férteis de ambas as linhagens por fêmeas brasileiras

Cruzamento			Índice de competitividade relativa	ANOVA
♂	x	♀		
BRA (fértil)+ BRA (estéril) (1:1) ^a	x	BRA	0,84 ^b ± 0,13 a ^c	$F_{3,11} = 0,47$ $P = 0,71$ C.V. = 17,8%
JAM (fértil)+ JAM (estéril) (1:1)	x	BRA	0,93 ± 0,33 a	
BRA (estéril)+ JAM (fértil) (1:1)	x	BRA	0,71 ± 0,15 a	
BRA (fértil)+ JAM (estéril) (1:1)	x	BRA	1 ± 0,06 a	
BRA (fértil) + JAM (estéril) (1:9)	x	BRA	0,95 ± 0,21 a	$F_{1,5} = 0,05$ $P = 0,84$ C.V. = 23,1%
BRA (estéril) + JAM (fértil) (9:1)	x	BRA	1 ± 0,53 a	

^a JAM= linhagem jamaicana; BRA= linhagem brasileira; razão entre machos fértil e estéril entre parênteses.

^b Médias (± erro padrão) originais nesta tabela. Os dados de índice de competitividade relativa foram transformados por “(x + k)” antes das análises.

^c Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si ($P > 0,05$).

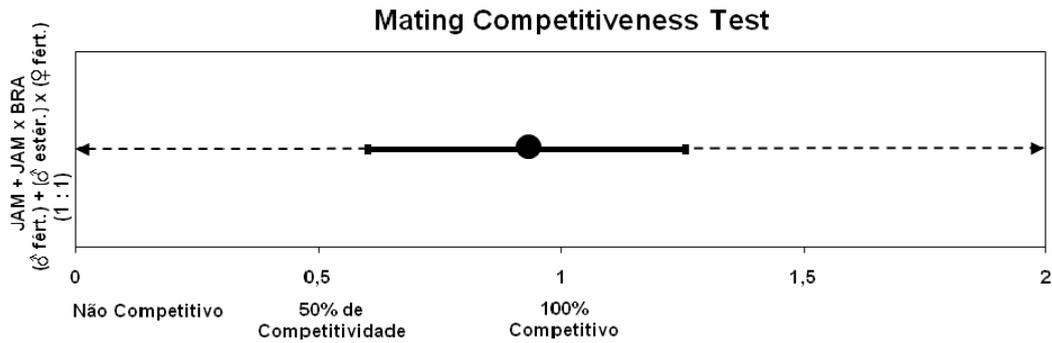


Figura 15 - Competitividade de machos jamaicanos estéreis contra machos jamaicanos férteis (razão 1 fértil: 1 estéril) por fêmeas brasileiras férteis

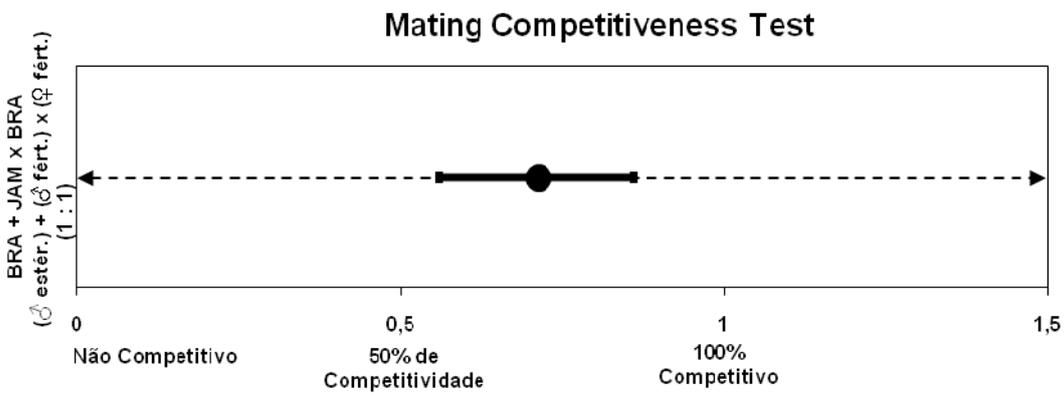


Figura 16 - Competitividade de machos brasileiros estéreis contra machos jamaicanos férteis (razão 1 fértil: 1 estéril) por fêmeas brasileiras férteis

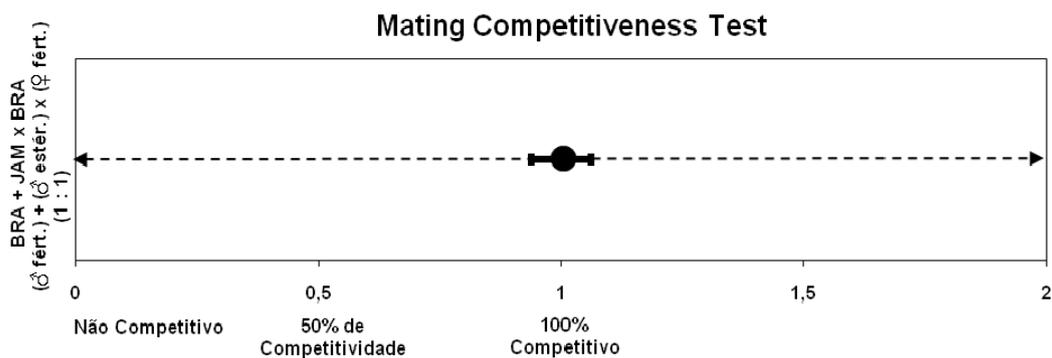


Figura 17 - Competitividade de machos jamaicanos estéreis contra machos brasileiros férteis (razão 1 fértil: 1 estéril) por fêmeas brasileiras férteis

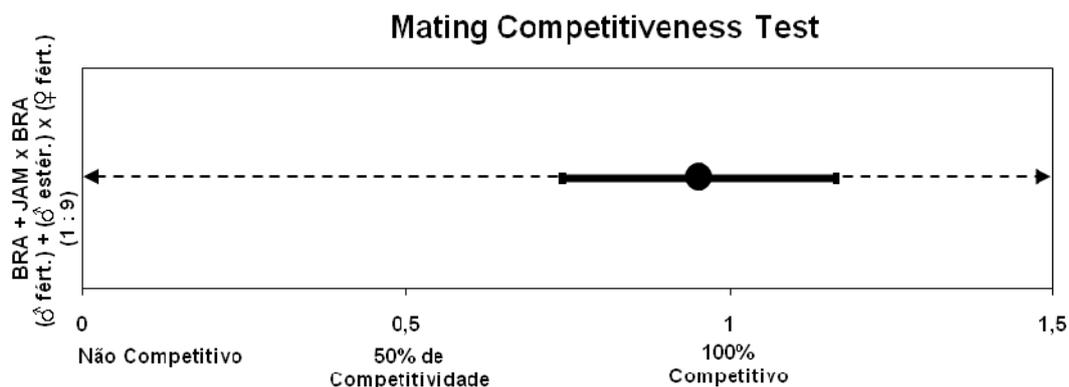


Figura 18 - Competitividade de machos jamaicanos estéreis contra machos brasileiros férteis (razão 1 fértil: 9 estéreis) por fêmeas brasileiras férteis

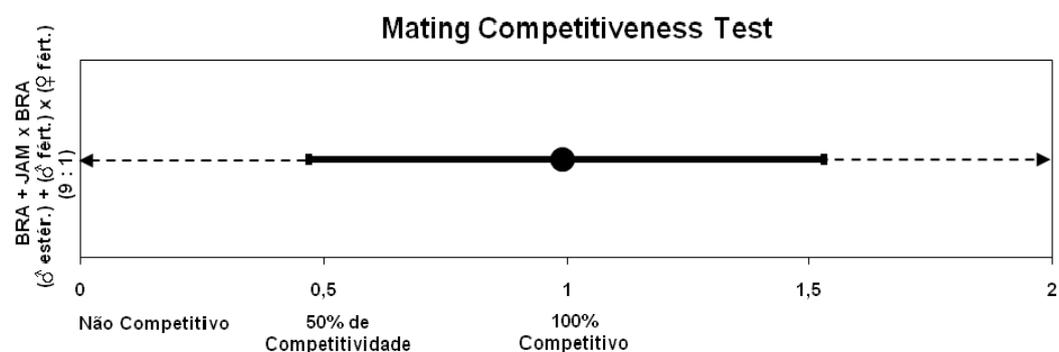


Figura 19 - Competitividade de machos brasileiros estéreis contra machos jamaicanos férteis (razão 1 fértil: 9 estéreis) por fêmeas brasileiras férteis

Crystal (1979) encontrou valores de competitividade para machos estéreis entre 0,39 e 0,91, com uma média de 0,75. Pitti et al. (2011) avaliaram a competitividade de machos estéreis de diferentes tamanhos, encontrando valores de índice de competitividade relativa entre 0,32 e 1,55. A competitividade dos machos menores estéreis foi de apenas $0,51 \pm 0,14$.

5.4.3 Teste de preferência de acasalamento

Para estudar a preferência de machos estéreis da linhagem Jamaica-06 e machos férteis da linhagem brasileira por fêmeas férteis ou estéreis, foram realizados dois conjuntos de cruzamentos (Tabela 11).

Tabela 11 - Teste de preferência de machos estéreis da linhagem Jamaica-06 e machos férteis da linhagem brasileira por fêmeas férteis ou estéreis

Cruzamentos		Índice de Preferência de acasalamento	ANOVA (LSD)
♂	x ♀		
JAM (estéril)	x BRA (fértil)+ JAM (estéril)^a	0,48± 0,03 ^{b a^c}	$F_{1,5} = 0,01$ $P = 0,92$ C.V. = 8,3%
JAM (estéril)	x JAM (estéril)+ JAM (fértil)	0,48± 0,02 a	
BRA (fértil)	x BRA (fértil)+ JAM (estéril)	0,5± 0,03 a	$F_{1,5} = 0,01$ $P = 0,91$ C.V. = 15,8%
BRA (fértil)	x JAM (estéril)+ JAM (fértil)	0,46± 0,05 a	

^a JAM= linhagem jamaicana; BRA= linhagem brasileira.

^b Média ± Erro padrão.

^c Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si ($P > 0,05$).

O índice de preferência de acasalamento serve de indicador da preferência dos machos por fêmeas (fértil ou estéril), e seu valor pode variar de 0 (significa que os machos acasalam-se apenas com fêmeas férteis) a 1 (significa que os machos acasalam-se apenas com fêmeas estéreis). Os índices de preferência de acasalamento variaram entre 0,41 e 0,53, não havendo diferença significativa entre os cruzamentos (Tabela 11). Como todos os resultados foram próximos de 0,5, foi demonstrado que os machos acasalaram-se indiscriminadamente quando as fêmeas férteis e estéreis foram expostas simultaneamente nas gaiolas (Figuras 20 e 21).

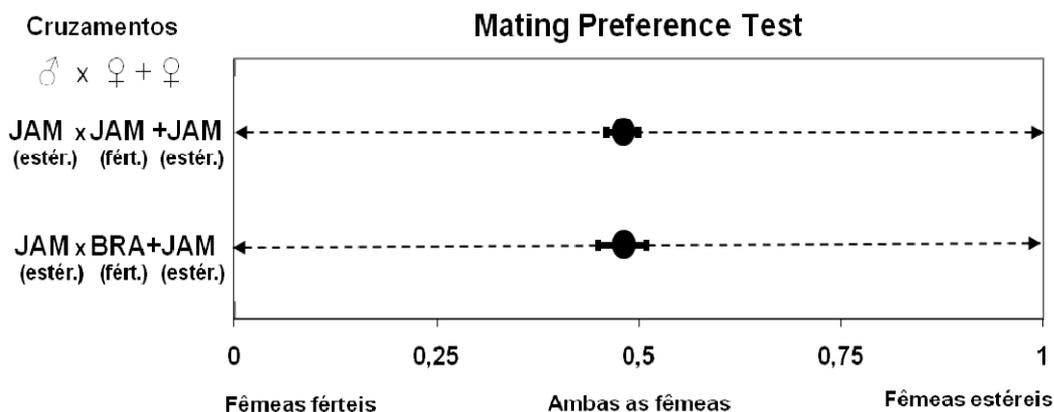


Figura 20 - Índices de preferência de acasalamento para machos estéreis da linhagem Jamaica-06

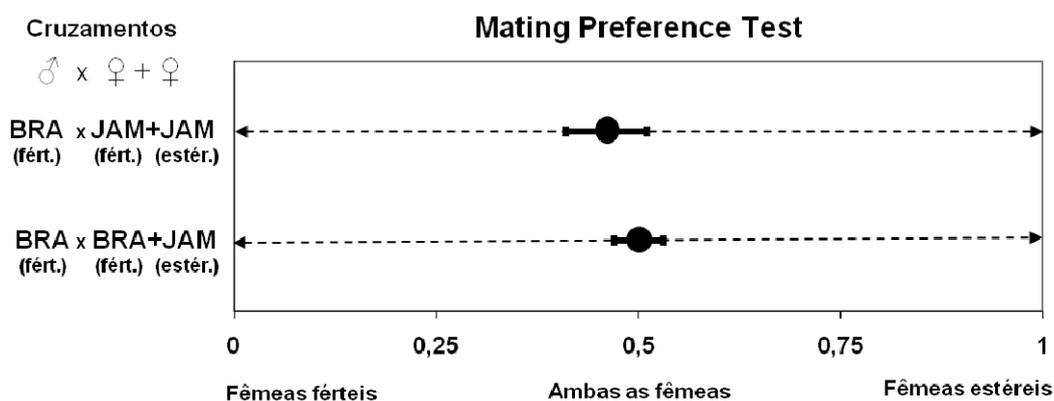


Figura 21 - Índices de preferência de acasalamento para machos férteis da linhagem brasileira

Quase não há trabalhos na literatura comprovando a preferência de machos de *C. hominivorax* por fêmeas de diferentes linhagens ou status reprodutivo (fértil ou estéril). Apenas García (2002), em estudos de acasalamento em gaiolas pequenas com moscas selvagens de Cuba e da Jamaica e uma linhagem criada massalmente (Panamá-95), relatou alta preferência dos machos selvagens por fêmeas selvagens (96-100%).

5.4.4 Avaliação da compatibilidade genética pós-zigótica

Foram realizados dois conjuntos de cruzamentos visando examinar a compatibilidade genética pós-zigótica entre a linhagem produzida massalmente no Panamá (Jamaica-06 *strain*) (JAM) e uma brasileira (BRA), a qual foi originalmente coletada no Estado de Goiás e criada até 25 gerações sob condições de laboratório.

Tabela 12 - Avaliação da compatibilidade genética pós-zigótica entre a linhagem Jamaica-06 e a linhagem brasileira

Cruzamento ♀ x ♂	Viabilidade de ovos (%)	Viabilidade larval (%)	Emergência de Adultos(%)	Razão Sexual^d
JAM x JAM^a	85,9± 5,7 ^{b ac}	89,9± 5,2 a	97,7± 1,5 a	0,6± 0,07 a
BRA x BRA	89,3± 0,4 a	91,2± 4,5 a	97,3± 1,3 a	0,5± 0,06 a
BRA x JAM	89,8± 4,9 a	89,9± 7,5 a	95± 2,9 a	0,5± 0,05 a
JAM x BRA	96,2± 1,3 a	89,6± 5,7 a	98,3± 1,7 a	0,5± 0,03 a
ANOVA (HSD)	$F_{3,11} = 1,3$ $P = 0,35$ C.V. = 7,3%	$F_{3,11} = 0,01$ $P = 0,99$ C.V. = 11,2%	$F_{3,11} = 0,5$ $P = 0,65$ C.V. = 3,5%	$F_{3,11} = 1,9$ $P = 0,21$ C.V. = 17,2%
BRA x BRA	90,1± 0,7 a	87,8± 6,1 a	93,3± 3,3 a	0,5± 0,06 a
(BRA x JAM) x BRA	87,9± 2,3 a	83,1± 11,6 a	98,3± 1,7 a	0,5± 0,08 a
(JAM x BRA) x BRA	91,8± 2,7 a	87,8± 1,5 a	95± 0,6 a	0,6± 0,08 a
BRA x (BRA x JAM)	95,7± 1,7 a	91,1± 4,6 a	96,7± 3,3 a	0,5± 0,03 a
BRA x (JAM x BRA)	95,5± 0,9 a	84,9± 9,9 a	98,3± 1,7 a	0,4± 0,03 a
ANOVA (HSD)	$F_{4,14} = 3,5$ $P = 0,05$ C.V. = 3,4%	$F_{4,14} = 0,16$ $P = 0,95$ C.V. = 15,2%	$F_{4,14} = 0,84$ $P = 0,53$ C.V. = 4,3%	$F_{4,14} = 0,88$ $P = 0,51$ C.V. = 20,2%

^a JAM= linhagem jamaicana; BRA= linhagem brasileira.

^b Média ± Erro padrão.

^c Médias na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si ($P > 0,01$).

^d Razão sexual= ♀/♂+♀.

Nos cruzamentos parentais, os parâmetros de controle de qualidade (viabilidade de ovos, viabilidade larval, emergência de adultos e razão sexual) não diferiram significativamente entre os tratamentos ($P > 0,01$). Nos retrocruzamentos, os valores de viabilidade de ovos, viabilidade larval, emergência de adultos e razão sexual também não diferiram significativamente daqueles do cruzamento controle (BRA x BRA) ($P > 0,01$) (Tabela 12).

Não houve, portanto, evidências de incompatibilidade genética entre as linhagens, nem foi observada disgenesia do híbrido nos cruzamentos entre linhagens. Todos os híbridos demonstraram fertilidade normal nos retrocruzamentos com a linhagem brasileira (Tabela 12).

5.4.5 Discussão

A existência de diferenças genéticas entre populações ou mesmo de incompatibilidade reprodutiva entre espécies crípticas é um fator crítico nos programas de controle de pragas em área-ampla que integram a TIE (KRAFSUR, 2005). Dessa forma, foram realizados extensivos estudos sobre os padrões de diversidade genética de populações de *C. hominivorax* nas últimas décadas através de marcadores nucleares e mitocondriais, polimorfismo de comprimentos de fragmentos de restrição (RFLPs) e dados de seqüências (ROEHRDANZ, 1989; TAYLOR et al., 1996b; TAYLOR et al., 1996c; LYRA et al., 2005; TORRES et al., 2007; McDONAGH et al., 2009; LYRA et al., 2009; TORRES; AZEREDO-ESPIN, 2009; FRESIA et al., 2011).

Richardson et al. (1982) havia proposto que *C. hominivorax* era na verdade um complexo de populações isoladas reprodutivamente na América do Norte. Entretanto, estudos subseqüentes falharam em achar qualquer evidência de especiação (LaCHANCE et al., 1982; McINNIS, 1983; McINNIS et al., 1983; DEV et al., 1986; KRAFSUR; WHITTEN, 1993; TAYLOR; PETERSON II, 1994).

Taylor et al. (1996a), avaliando *mtDNA*, compararam amostras de *C. hominivorax* da região do Caribe, América do Sul e Central, e demonstraram que os haplótipos se subdividiam em três linhagens: Jamaica, América do Norte + Central, e América do Sul.

Taylor et al. (1996b) observaram que moscas da bicheira da América do Sul, Jamaica e Trinidad e Tobago eram muito semelhantes geneticamente, enquanto as amostras de Cuba eram mais próximas dos exemplares da Costa Rica. Taylor et al. (1996c) examinaram a variação das freqüências de aloenzimas de várias populações do Brasil e observaram baixos níveis de diferenciação entre as populações do Brasil, Costa Rica e México, e apenas pequenos desvios do equilíbrio esperado das freqüências genotípicas. Através de marcadores moleculares como *mtDNA* e microsátélites, foram encontradas pequenas diferenças entre populações no Uruguai e no Brasil (LYRA et al., 2005; IAEA, 2006; TORRES et al., 2007).

McDonagh et al. (2009), trabalhando com seqüências de DNA nuclear e mitocondrial, analisaram filogeneticamente amostras de *C. hominivorax* da América do Sul, Caribe e duas (agora extintas) do sul dos E.U.A.. A genealogia multi-gene baseada no método da máxima parcimônia demonstrou uma separação entre as duas amostras do Texas e as da América do Sul e do Caribe, e agrupou as populações de Cuba juntas (mas uma amostra de Minas Gerais, Brasil, apareceu fortemente associada às populações de Cuba).

Fresia et al. (2011) estudaram a história filogeográfica de *C. hominivorax* utilizando seqüências parciais de DNA mitocondrial de 361 larvas coletadas em 38 locais da América do Sul e do Caribe. De acordo com os autores, o padrão de distribuição geral da variabilidade genética dessa espécie estaria estruturado em quatro grupos regionais: Cuba, República Dominicana, e áreas ao norte e sul da floresta Amazônica. As análises de história demográfica também revelaram que a expansão da população começou entre 20 e 25.000 anos atrás e, recentemente, aumentou exponencialmente. Os autores também sugeriram que a região do Caribe e as áreas ao norte e sul da Amazônia deveriam ser consideradas unidades independentes para os programas futuros de controle de *C. hominivorax*.

Embora tanto as seqüências de DNA nuclear quanto mitocondrial tenham sido utilizadas para explorar a variabilidade genética das populações de *C. hominivorax*, a maioria dos estudos moleculares realizados foi fortemente focada na análise de marcadores mitocondriais. Na verdade, a maioria dos trabalhos baseados em *mtDNA* de artrópodes tem usado freqüentemente apenas genes codificadores de proteínas simples de séries limitadas em relação à quantidade de seqüências potencialmente disponíveis para análise, com diversos genes de *mtDNA* sendo largamente ignorados e outros recebendo apenas atenção esporádica (CATERINO et al., 2000; SHAO; BARKER, 2007).

Apesar de todas essas informações genéticas serem úteis na identificação das relações entre populações de *C. hominivorax*, em realidade, elas dizem muito pouco sobre a compatibilidade entre as populações em termos de acasalamento. Para a eficiência da TIE, ter certeza do sucesso do acasalamento entre o inseto estéril liberado e o selvagem é muito mais crítico do que conhecer apenas o mapa genético dos insetos (ROBINSON et al., 2009).

Krafsur e Hightower (1979) não encontraram diferenças significativas nas frequências de acasalamento entre moscas estéreis de duas linhagens (*Tex-Mex* e FF8) e populações selvagens de áreas costeiras do México. Entre 1990 e 2011, há apenas dois trabalhos com cruzamentos entre linhagens de *C. hominivorax*. Após a infestação da Líbia em 1988, Taylor et al. (1991b) realizaram cruzamentos entre a linhagem produzida massalmente no México (OW-87, originária de Belize) e moscas provenientes de massas de ovos coletadas próximas a Trípoli e não encontraram nenhum tipo de incompatibilidade reprodutiva.

No relato de García (2002), em que foram avaliados cruzamentos entre uma linhagem criada massalmente (Panamá-95) e moscas selvagens de Cuba e da Jamaica, foi observada a preferência dos machos selvagens por fêmeas selvagens. Entretanto, Robinson et al. (2009) atribuíram essa recusa às diferenças de perfil dos feromônios sexuais entre as moscas estéreis e as selvagens, ou seja, à qualidade dos insetos estéreis.

Com relação à *C. bezziana*, Spradbery (1988) demonstrou que linhagens de diferentes regiões geográficas conseguiam acasalar em condições de laboratório e produzir descendência fértil. Hall et al. (2009) sugeriram que uma única colônia de *C. bezziana* poderia ser utilizada na implementação da TIE na região do Golfo Pérsico, dado o baixo grau de diversidade genética entre as populações na região.

A identificação de regiões promissoras para presença de populações reprodutivamente isoladas requer um claro entendimento da dinâmica de distribuição espacial da espécie, especialmente dos padrões de migração e da capacidade de dispersão. Sob condições naturais, existem as possibilidades de cicatrização da ferida ou de morte do animal infestado por mífase antes que a próxima geração de *C. hominivorax* complete o desenvolvimento. Portanto, naturalmente, as fêmeas de *C. hominivorax* precisam se dispersar e procurar novas feridas a cada geração. Esse processo acaba resultando em um alto fluxo gênico na maioria das regiões, o que evitaria a diferenciação genética das populações (TAYLOR et al., 1996c).

Portanto, até o presente momento, não foram encontradas evidências suficientes para provar que *C. hominivorax* não é uma espécie única e panmítica ao longo de toda a sua distribuição histórica e atual.

Em conclusão, todos os testes deste trabalho indicaram que a linhagem de *C. hominivorax* do Brasil é compatível reprodutivamente com a Jamaica-06, a qual é criada massalmente na biofábrica de COPEG para manutenção da zona tampão no istmo de Darién e para campanhas de erradicação no Caribe. Sendo assim, nenhuma barreira reprodutiva deveria impedir o uso da TIE em programas de supressão/erradicação da mosca da bicheira na América do Sul usando-se moscas estéreis da região do Caribe.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nos bioensaios de criação, esterilização, compatibilidade reprodutiva e competitividade deste trabalho, pode-se concluir que:

- 1) O melhor substrato para oviposição de *C. hominivorax* pode ser feito a partir de dieta larval podre e sangue.
- 2) A temperatura base para o desenvolvimento embrionário de *C. hominivorax* é de 13,1 °C.
- 3) Dietas à base de hemácias e ovo *spray dried*, mel ou rapadura podem ser utilizadas para a alimentação de adultos de *C. hominivorax*.
- 4) Criação de larvas de *C. hominivorax* em dieta de gel no Brasil é viável e de menor custo.
- 5) Machos e fêmeas de *C. hominivorax* são esterilizados com doses de raios X a partir de 43,7 e 47,5 Gy, respectivamente.
- 6) Não existe incompatibilidade reprodutiva nem problemas de competitividade entre moscas do Brasil e do Caribe.

REFERÊNCIAS

ADAMS, T.S. The reproductive physiology of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). II. Effect of constant temperatures on oogenesis. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 15, p. 484-487, 1979a.

ADAMS, T.S. The reproductive physiology of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). III. Mating. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 15, p. 488-493, 1979b.

ADAMS, T.S.; REINECKE, J.P. The reproductive physiology of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). I. Oogenesis. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 15, p. 472-483, 1979.

AHRENS, E.H.; COPPEDGE, J.R.; GUILLOT, F.S.; COODENOUGH, J.L. Comparison of the distribution and daily activity periods of released and native screwworm flies. **Environmental Entomology**, College Park, v. 6, p. 138-142, 1977.

ALLEY, D.A.; HIGHTOWER, B.G. Mating behavior of the screwworm fly as affected by differences in strain and size. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 59, p. 1499-502, 1966.

AL-IZZU, M.A.J. Work by the Arab Organisation for Agricultural Development to control the Old World screw-worm fly. In: SCREW-WORM FLY EMERGENCY PREPAREDNESS CONFERENCE, 2001, Canberra, Australia. **Proceedings...** Canberra: Office of the Chief Veterinary Officer, Agriculture, Fisheries and Forestry, 2002.

ANAMAN, K.A.; ATZENI, M.G.; MAYER, D.G.; STUART, M.A.; BUTLER, D.G.; GLANVILLE, R.J.; WALTHALL, J.C.; DOUGLAS, I.C. **Economic assessment of the expected producer losses and control strategies of a screwworm fly invasion of Australia**. Project Report Series QO93016. Brisbane: Queensland Department of Primary Industries, 1993.

ANIMAL HEALTH AUSTRALIA. **Disease strategy: Screw-worm fly (Version 3.0)**. Australian Veterinary Emergency Plan (AUSVETPLAN). 3. ed. Canberra: Primary Industries Ministerial Council, 2007.

AUBERTIN, D.; BUXTON, P.A. *Cochliomyia hominivorax* and myiasis in tropical America. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Leeds, UK, v. 28, n. 3, p. 245-254, 1934.

AZEREDO-ESPIN, A.M.L. **Mitochondrial DNA variability in geographic populations of screwworm fly from Brazil**. Vienna: IAEA, 1993. p. 161-165.

BARTLETT, A.C. Genetic changes during insect domestication. In: King, E.G; Leppla, N.C. (Eds.). **Advances and challenges in insect rearing**. New Orleans: USDA-ARS, 1984, p.2-8.

BAUMHOVER, A.H. Influence of aeration during gamma irradiation of screwworm pupae. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 56, n. 5, p. 628-631, 1963a.

BAUMHOVER, A.L. Susceptibility of screw-worm larvae and prepupae to desiccation. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.56, p.473-475, 1963b.

BAUMHOVER, A.H. Eradication of the Screwworm Fly, an agent of Myiasis. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 196, n. 3, p. 240-248, 1966.

BAUMHOVER, A.L.; SPATES Jr., C.E. Artificial selection of adult screw-worms for extended survival without food and water. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.58, p.645-649, 1965.

BAUMHOVER, A.H.; GRAHAM, A.J.; BITTER, B.A.; HOPKINS, D.E.; NEW, W.D.; DUDLEY, F.H.; BUSHLAND, R.C. Screw-worm control through release of sterilized flies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, p. 462-466, 1955.

BAUMHOVER, A.H.; HUSMAN, C.N.; SKIPPER, C.C.; NEW, W.D. Field observations on the effects of releasing sterile screwworms in Florida. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 52, n. 6, p. 1202-1206, 1959.

BAUMHOVER, A.H.; HUSMAN, C.N.; GRAHAM, A.J. Screwworms. In: SMITH, C.N. (Ed.). **Insect colonization and mass production**. New York: Academic Press, 1966. p. 533-554.

BERGANT, K.; TRDAN, S. How reliable are thermal constants for insect development when estimated from laboratory experiments? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 120, p. 251-256, 2006.

BERKEBILE, D.R.; SKODA, S.R. Chemicals useful for separating egg masses of the screwworm. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v. 27, p. 297-299, 2002.

BERKEBILE, D.R.; SAGEL, A.; SKODA, S.R.; FOSTER, J.E. Laboratory environment effects on the reproduction and mortality of adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 781-786, 2006.

BOLLER, E.F.; CHAMBERS, D.L. (Ed.). **Quality control: an idea book for fruit fly workers**. Wageningen: International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants, West Palaearctic Regional Section, 1977. 162 p. (WRPS Bulletin, 1977/5). Disponível em: <http://allserv.rug.ac.be/~padclerc/AMRQC/proceedings/IOBC1977-5.zip>. Acesso em: 10 ago. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Projeções do Agronegócio: Brasil 2010/2011 a 2020/2021**. Brasília, DF: Assessoria de Gestão Estratégica, 2011. 59 p.

BRENNER, R.J. Dispersal, mating, and oviposition of the screwworm (Diptera: Calliphoridae) in southern Mexico. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 77, p. 779-788, 1984.

BRENNER, R.J. Distribution of screwworms (Diptera: Calliphoridae) relative to land use and topography in the humid tropics of Southern Mexico. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 78, n. 4, p. 433-439, 1985.

BROCE, A.B.; GOODENOUGH, J.L.; COPPEDGE, J.R. A Wind Oriented Trap for Screwworm Flies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 70, n. 4, p. 413-416, 1977.

BROCE, A.B.; GOODENOUGH, J.L.; SNOW, J.W. 1979. Recovery of screwworm flies released at various distances and directions of the attractant *Swormlure-2*. **Environmental Entomology**, College Park, v. 8, p. 824-828, 1979.

BRODY, A.L.; ROGERS, E.E. Winter activity of *Cochliomyia americana* in the Southeastern States. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 38, n. 1, p. 85-89, 1945.

BROWN, H.E.; SNOW, J.W. Screwworms (Diptera: Calliphoridae): A new liquid media for rearing screwworm larvae. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 16, p. 29-32, 1979.

BUSHLAND, R.C.; HOPKINS, D.E. Experience with screwworm flies sterilized by X-rays. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 44, p. 725-731. 1951.

BUSHLAND, R.C.; HOPKINS, D.E. Sterilization of screwworm flies with X-rays and gamma rays. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 46, p. 648-656, 1953.

CALKINS, C.O.; PARKER, A.G. Sterile insect quality. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. Berlin: Springer, 2005. p. 269-296.

CANGUSSU, J.A.; ZUCOLOTO, F.S. Effect of protein sources on fecundity, food acceptance, and sexual choice by *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 57, p. 611-618, 1997.

CARBALLO, M.; COLOMBO, A.; HEINZEN, T. Presencia de especies de dipteros Califoridos causantes de miasis cutaneas en Uruguay. Levantamiento de larvas parasitaria (instar III) en ruminantes. **Veterinaria**, Montevideo, v. 26, p. 4-6, 1990.

CARRAZONI, J.A.; ALMAZAN, F.R. Miasis y parición en Chaco y Formosa. **Gaceta Veterinaria**, Buenos Aires, v. 35, n. 271, p. 23-26, 1973.

CARSON, R. **Silent spring**. New York: Penguin Books, 1962.

CARVALHO, R.A. de. **Isolamento e caracterização do gene da esterase relacionado à resistência a inseticidas organofosforados na mosca praga da pecuária *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae)**. 2007. 86 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

CATERINO, M.S.; CHO, S.; SPERLING, F.A.H. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 45, p. 1-54, 2000.

CHAUDHURY, M.F. New screwworm diet helps save money for eradication program. **ESA Newsletter**, Lanham, v. 24, n. 1, p. 1, 2001.

CHAUDHURY, M.F.; ALVAREZ, L.A. A new starchgrafted gelling agent for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 92, p. 1138-1141, 1999.

CHAUDHURY, M.F.; SKODA, S.R. A cellulose fiber-based diet for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larvae. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 100, n. 1, p. 241-245, 2007.

CHAUDHURY, M.F.; ALVAREZ, L.A.; WELCH, J.B. An alternative source of blood protein for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 91, p. 1397-1400, 1998.

CHAUDHURY, M.F.; ALVAREZ, L.A.; VELAZQUEZ, L.L. A meatless diet for adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 93, p. 1398-1401, 2000.

CHAUDHURY, M.F.; WELCH, J.B.; ALVAREZ, L.A. Responses of fertile and sterile screwworm (Diptera: Calliphoridae) flies to bovine blood inoculated with bacteria originating from screwworm-infested animal wounds. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 39, n. 1, p. 130-134, 2002a.

CHAUDHURY, M.F.; ALVAREZ, L.A.; VELAZQUEZ, L.L. Recycled paper products as substitutes for gelling agent in screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 95, p. 1337-1341, 2002b.

CHIRICO, J.; POUDEVIGNE, F.; AL-AYAN, S.; MUGHADMI, K.; BABILONIA, E.; COURTOIS, R. Temperature tolerance of radiation-sterilized *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Dipt., Calliphoridae). **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 117, p. 78-83, 1994.

COPPEDGE, J.R.; AHRENS, E.; GOODENOUGH, J.L.; GUILLOT, F.S.; SNOW, J.W. Field comparisons of liver and a new chemical mixture as attractants for the screwworm fly. **Environmental Entomology**, College Park, v. 6, n. 1, p. 66-88, 1977.

COPPEDGE, J.R.; BROCE, A.B.; TANNAHILL, F.H.; GOODENOUGH, J.L.; SNOW, J.W.; CRYSTAL, M.M. Development of a Bait System for Suppression of Adult Screwworms. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 71, n. 3, p. 483-486, 1978a.

COPPEDGE, J.R.; GOODENOUGH, J.L.; BROCE, A.B.; TANNAHILL, F.H.; SNOW, J.W.; CRYSTAL, M. M.; PETERSEN, H.D. Evaluation of the Screwworm Adult Suppression System (SWASS) on the Island of Curaçao. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 71, n. 4, p.579-584, 1978b.

COPPEDGE, J.R.; BROWN, H.E.; GOODENOUGH, J.L.; TANNAHILL, F.H.; SNOW, J.W.; PETERSEN, H.D.; HOFMANN, H.C. Field Performance of a New Formulation of the Screwworm Adult Suppression System. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.73, n. 3, p.411-414, 1980.

COQUEREL, C. Des larves de dipteres developés dans lês sinus fronteur et lês fosses nasales de l'homme à Cayenne. **Archives Générale de Médecine**, Paris, v. 5, n. 11, p. 513-528, 1858.

CORONADO, A.; KOWALSKI, A. Current status of the New World screwworm *Cochliomyia hominivorax* in Venezuela. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 23, p. 106-110, 2009. Suppl. 1.

COUPPIE, P.; ROUSSEL, M.; RABARISON, P.; SOCKEEL, M.J.; SAINTE-MARIE, D.; MARTY, C.; CARME, B. Nosocomial nasal myiasis owing to *Cochliomyia hominivorax* : a case in French Guiana. **International Journal of Dermatology**, Oxford, v. 44, p. 302-303, 2005.

CRYSTAL, M.M. Sexual sterilization of screw-worm flies by a peroral chemosterilant: Quantitative aspects and relation to pretreatment starvation. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 59, p. 580-585, 1966.

CRYSTAL, M.M. Reproductive behavior of laboratory-reared screw-worm flies (Diptera:Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 4, n. 4, p. 443-450, 1967.

CRYSTAL, M.M. Sexual sterilization of screw-worm flies: reliability of the chemosterilant technique. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 62, p. 136-139, 1969.

CRYSTAL, M.M. Diflubenzuron-induced decrease of egg hatch of screwworms (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 15, p. 52-56, 1978.

CRYSTAL, M.M. Sterilization of screwworm flies (Diptera: Calliphoridae) with gamma rays: restudy after two decades. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 15, n. 2, p. 103-108, 1979.

CUSHING, E.C.; PATTON, W.S. Studies on the higher Diptera of medical and veterinary importance *C. Americana sp nov.*, the screwworm of the New World. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Leeds, UK, v. 27, p. 539-551, 1933.

DAVIS, R.B.; CAMINO, M. Life cycle of the screwworm reared in outdoor cages near Veracruz City, Mexico. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 61, p. 824-827, 1968.

DAVIS, R.B.; HIGHTOWER, B.G.; ALLEY, D.A.; TURNER, J.P.; LOPEZ, E. Releases of sterile screw-worm flies in Northern Veracruz, Mexico, measured by recovery of sterile egg masses. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 61, n. 1, p. 96-101, 1968.

- DEGASPERI, S.A.R.; PIEKARSKI, P.R.B. **Bovinocultura leiteira**: planejamento, manejo e instalações. Curitiba: Livraria do Chain, 1988. 417 p.
- DEONIER, C.C. Population studies on *Cochliomyia americana* in Arizona. **Journal of the Kansas Entomological Society**, Manhattan, v. 19, p. 26-29, 1946.
- DEV, V.; LaCHANCE, L.E.; WHITTEN, C.J. Polytene chromosomes, karyotype correlations, and population cytology of the primary screwworm fly. **The Journal of Heredity**, Washington, DC, v. 77, p. 427-434, 1986.
- DEVANEY, J.A.; GARCIA, J.J. Longevity, oviposition, and fertility of several strains of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v.12, p. 511-513, 1975.
- DOMINGUES, P.F.; LANGONI, H. **Manejo sanitário animal**. Rio de Janeiro: EPUB, 2001. 210 p.
- DOVE, W.E. Myiasis of man. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 30, p. 29-39, 1937.
- DOWELL, R.V.; WORLEY, J.; GOMES, P.J. Sterile insect supply, emergence, and release, In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. (Ed.). **Sterile insect technique**: Principles and practice in area-wide integrated pest management. Berlin: Springer, 2005. p. 297-324.
- DRUMMOND, R.O.; GEORGE, J.E.; KUNZ, S.E. **Control of arthropod pests**: a review of Technology. Boca Raton: CRC Press, 1988. 245 p.
- DURIGHETTO JUNIOR, A.F.; MACHADO, M.I.; FAVORETO JUNIOR, S.; MAGALHÃES, A.O. Miíases orais: aspectos clínico-laboratoriais de um caso humano. **Revista Odontológica do Brasil Central**, Goiânia, v. 5, p. 19-22, 1995.
- DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Berlin: Springer, 2005a. 787 p.
- DYCK, V.A.; REYES FLORES, J.; VREYSEN, M.J.B.; REGIDOR FERNANDEZ, E.E.; TERUYA, T.; BARNES, B.N.; GOMEZ RIERA, P.; LINDQUIST, D.; LOOSJES, M. Management of Area-Wide Integrated Pest Management Programmes that Integrate the Sterile Insect Technique. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. (Ed.). **Sterile Insect Technique**: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Berlin: Springer, 2005b. p. 525-545.
- ELWAER, O.R.; ELOWNI, E.E. Studies on the screwworm fly *Cochliomyia hominivorax* in Libya: effect of temperature on pupation and eclosion. **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 77, p. 48-49, 1991.

ENKERLIN, W.R.; QUINLAN, M.M. Development of an international standard to facilitate the transboundary shipment of sterile insects. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 6., 2004, Irene, South Africa. **Proceedings...** Irene, South Africa: Isteg Scientific Publications, 2004. p. 203-212.

FAO. **The New World Screwworm Eradication Programme: North Africa 1988-1992.** Rome, 1992. 192 p.

FAO. **Glossary of phytosanitary terms.** Provisional additions. Rome: FAO/IPPC, 2005.

FLETCHER, L.W.; O'GRADY JUNIOR, J.J.; CLABORN, H.V.; GRAHAM, O.H. A Pheromone from Male Screw-worm Flies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 59, n. 1, p. 142-143, 1966.

FLETCHER, L.W.; TURNER, J.P.; HUSMAN, L.N. Surface temperature as a factor in selection of ovipositional sites by three strains of the screwworm. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 66, p. 422-423, 1973.

FLITTERS, N.E.; BENSCHOTER, C.A. Survival of screw-worm pupae exposed to simulated winter temperatures from selected sites in Texas. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 61, n. 1, p. 65-67, 1968.

FRESIA, P.; LYRA, M.L.; CORONADO, A.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Genetic structure and demographic history of new world screwworm across its current geographic range. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v.48, n.2, p. 280-290, 2011.

FRIED, M. Determination of sterile-insect competitiveness. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 64, p. 869-872, 1971.

GABAJ, M.M.; WYATT, N.P.; PONT, A.C.; BEESLEY, W.N.; AWAN, M.Q.; GUSBI, A.M.; BENJAJ, K.M. The screwworm fly in Libya: a threat to the livestock industry of the Old World. **Veterinary Record**, London, v. 125, p. 347-349, 1989.

GARCÍA, R. **Cross-mating between wild new world screwworm flies from Jamaica and the mass-reared released Panama 95 strain.** Vienna, Austria: IAEA, 2002. (Report).

GARCIA, S.H.; VISCIARELLI, E.C.; MENA, F.; GABBARINI, M.; PEREZ, S.; LUCCHI, L.; COSTAMAGNA, S.R. Un caso de miiasis humana por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera, Calliphoridae) en Bahía Blanca, Argentina. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 9, p. 591-597, 2002.

GARCIA, R.; MENDEZ, L.; SERRANO, E.; MORALES, T.G.; VREYSEN, M.J.B. Insecticidal wound treatment of livestock on Isla de la Juventud, Cuba: an efficient suppression method of new world screwworm *Cochliomyia hominivorax* prior to the release of sterile insects. In: VREYSEN, M.J.B.; ROBINSON, A.S.; HENDRICH, J. (Ed.). **Area-wide control of insect pests: from research to field implementation.** Vienna, Austria: IAEA, 2007. p. 393-403.

GRAHAM, O.H. **Symposium on eradication of the screwworm from the United States and México**. Lanham: Entomological Society of America, 1985. 68 p. (Miscellaneous Publications, 62).

GRAHAM, A.J.; DUDLEY, F.H. Culture methods for mass rearing of screw-worm larvae. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 52, p. 1006-1008, 1959.

GRANT, G.H.; SNOW, J.W.; VARGAS, M. The New World screw-worm as a pest in the Caribbean and plans for its eradication from Jamaica and the other infested Caribbean Islands. In: TAN, K.-H. (Ed.). **Area-wide control of fruit flies and other insect pests**. Pulau Pinang: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 2000. p. 87-94.

GINGRICH R.E. Nutritional studies on screw-worm larvae with chemically defined media. **Annals of the Entomological Society America**, Columbus, v. 57, p. 351-360, 1964.

GINGRICH, R.E.; GRAHAM, A.J.; HIGHTOWER, B.G. Media containing liquefied nutrients for mass rearing larvae of the screw-worm. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 64, p. 678-683, 1971.

GRISI, L.; MASSARD, C.L.; MOYA BORJA, G.E.; PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 21, n. 125, p. 8-10, 2002.

GUEVARA, J.D.E. **Biologia de duas amostras brasileiras de *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) submetidas ou não a irradiação gama**. 1986. 49 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1986.

GUILLOT, F.S.; BROWN, H.E.; BROCE, A.B. Behavior of sexually active male screwworm flies. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 71, p. 199-201, 1978.

GUIMARÃES, J.H.; PAPAVERO, N. **Myiasis in man and animals in the Neotropical Region**: Bibliographic database. São Paulo: FAPESP, 1999. 308 p.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. **Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1984. 12 p. (Série Agricultura e Desenvolvimento).

HALL, D.G. **The blowflies of North America**. Lanham: Thomas Say Foundation, 1948. cap. 4, p. 120-148.

HALL, M.; WALL, R. Myiasis of human and domestic animals. **Advances in Parasitology**, London, v. 35, p. 257-334, 1995.

HALL, M.J.R.; WARDHANA, A.H.; SHAHHOSSEINI, G.; ADAMS, Z.J.O.; READY, P.D. Genetic diversity of populations of Old World screwworm fly, *Chrysomya bezziana*, causing traumatic myiasis of livestock in the Gulf region and implications for control by sterile technique. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 23, p. 51-58, 2009. Suppl. 1.

HAMMACK, L. Chemical basis for asymmetric mating isolation between strains of screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 13, n. 6, p. 1419-1430, 1987.

HAMMACK, L. Stimulation of oogenesis by proteinaceous adult diets for screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 89, n. 5, p. 433-440, 1999.

HAMMACK, L.; BROMEL, M.; DUH, F.M.; GASSNER, G. Reproductive factors affecting responses of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to an attractant of bacterial origin. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 80, p. 775-780, 1987.

HARDIN, G. The tragedy of the commons. **Science**, Washington, DC, v. 162, p. 1243-1248, 1968.

HARRIS, R.L.; PETERSON, R.D.; VASQUEZ-G., M.E.; GRAHAM, O.H. Gelled media for the production screwworm larvae. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v. 9, p. 257-262, 1984.

HARRIS, R.L.; GERSABECK, E.F.; CORSO, C.; GRAHAM, O.H. Screwworm larval production on gelled media. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v. 10, p. 253-256, 1985.

HENDRICHS, J. To the reader. **FAO/IAEA Insect and Pest Control Newsletter**, Vienna, v. 52, p. 1-2, 1998.

HENDRICHS, J. To the reader. **FAO/IAEA Insect and Pest Control Newsletter**, Vienna, v. 56, p. 2-3, 2001.

HIGHTOWER, B.G. Nocturnal resting places of the screw-worm fly. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 56, p. 498-500, 1963.

HIGHTOWER, B.G.; SPATES JUNIOR, G.E.; GARCIA, J.J. Growth and critical size at pupation for larvae of the screwworm developing in fresh wounds. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 65, n. 5, p. 1349-1352, 1972a.

HIGHTOWER, B.G.; O'GRADY, J.J.; GARCIA, J.J. Ovipositional behavior of wild-type and laboratory adapted strains of screwworm flies. **Environmental Entomology**, College Park, v. 1, p. 227-229, 1972b.

HOFMANN, H.C. Methods development activities in Mexico. In: GRAHAM, O.H. **Symposium on eradication of the screwworm from the United States and Mexico**. Lanham: Entomological Society of America, 1985. p. 41-47. (Miscellaneous Publication, 62).

HORN, S.C.; ANTONIO, R.S. **Carrapato, berne e bicheira no Brasil**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura; IICA, 1983. 153 p.

IAEA. **Economic losses from screwworm in Cuba**. Internal report. Vienna, Austria, 1998a. 15 p.

IAEA. **Thematic plan for the sterile insect technique for old and new world screwworm**. Vienna, Austria, 1998b.

IAEA. New World screwworm successes in Central America. **FAO/IAEA Insect and Pest Control Newsletter**, Vienna, v. 55, p. 24, 2000.

IAEA. Technical co-operation projects (the Jamaica screwworm eradication project – JAM/5/007). **FAO/IAEA Insect and Pest Control Newsletter**, Vienna, v. 64, p. 8-10, 2004a.

IAEA. Reporting on ongoing and planned co-ordinate research projects (CRPs) and RCMs. **FAO/IAEA Insect and Pest Control Newsletter**, Vienna, v. 62, p. 17-18, 2004b.

IAEA. **Dosimetry system for SIT**: Standard operating procedure for Gafchromic film. Vienna, 2004c. Disponível em: http://www.iaea.org/programmes/nafa/d4/public/d4_pbl_5_2.html. Acesso em: 10 set. 2010.

IAEA. Reporting on on-going and planned co-ordinate research projects (CRPs) and RCMs **FAO/IAEA Insect and Pest Control Newsletter**, Vienna, v. 66, p. 15-16, 2006.

IAEA. **Model business plan for a sterile insect production facility**. Vienna, Austria, 2008. 396 p. (Project INT/5/145 Insect Pest Control Using the Sterile Insect Technique).

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2007**. Rio de Janeiro: IBGE, 2008. v. 1, 62 p.

IEL - INSTITUTO EUVALDO LODI. Núcleo Nacional (Brasília, DF). **Estudo sobre a eficiência econômica e competitividade da cadeia agroindustrial da pecuária de corte no Brasil**. Brasília, DF: IEL, 2000. 416 p.

INFANTE-MALACHIAS, M.E.; YOTOKO, K.S.C.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Random amplified polymorphic DNA of screwworm fly populations (Diptera: Calliphoridae) from southeastern Brazil and northern Argentina. **Genome**, Ottawa, v. 42, p. 772-779, 1999.

IPS - INTER PRESS SERVICE. **Radioactive attack on flesh-eating screwworm**. Rome, 2010. Disponível em:

<http://domino.ips.org/ips/eng.NSF/vwWEBMainView?SearchView&Query=%28radioactive+attack+on+flesh%2Deating+screw%2Dworm%29++and+Y%2E2010x+and+M%2E10x+and+D%2E18x&SearchMax=100&SearchOrder=3>. Acesso em: 18 out. 2010.

JAMES, M.T. **The flies that cause myiasis in man**. Washington, DC: USDA, 1947. 175 p. (Miscellaneous Publication, 63).

JEFFERSON, M.E. Irradiated males eliminate screwworm flies. **Nucleonics**, New York, v. 18, n. 2, p. 74-76, 1960.

JONES, C.M.; OEHLER, D.D.; SNOW, J.W.; GRABBE, R.R. A chemical attractant for screwworm flies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 69, n. 3, p. 389-391. 1976a.

JONES, C.M.; SNOW, J.W.; VILLASENOR, M.A. Screwworm flies: seasonal occurrence in central Tamaulipas, Mexico, 1973-1974. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 69, p. 761-762, 1976b.

KNIPLING, E.F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, n. 4, p. 459-462, 1955.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 243-270, 1998.

KRAFSUR, E.S. Climatological correlates of screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) abundance in Texas, USA. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 1, p. 71-80, 1987.

KRAFSUR, E.S. Role of population genetics in the sterile insect. In: DYCK, V.A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. Berlin: Springer, 2005. p. 389-406.

KRAFSUR, E.S.; GARCIA, L. Responses of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax*, to two sterile male release methods in south Texas, 1975-1976. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v.14, p.687-697, 1978.

KRAFSUR, E.S.; HIGHTOWER, B.C. Field tests of sterile screwworm flies, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), against natural populations in three coastal areas of Mexico. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 16, p. 33-42, 1979.

KRAFSUR, E.S.; WHITTEN, C.J. Breeding structure of screwworm fly populations (Diptera-Calliphoridae) in Colima, Mexico. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 30, p. 477-480, 1993.

KRAFSUR, E.S.; LINDQUIST, D.A. Did the sterile insect technique or weather eradicate screwworms (Diptera: Calliphoridae) from Libya? **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 33, p. 877-887, 1996.

KRAFSUR, E.S.; HIGHTOWER, B.G.; LEIRA, L. A longitudinal study of screwworm populations, *Cochliomyia hominivorax*, (Diptera: Calliphoridae), in northern Veracruz, Mexico. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 16, p. 470-481, 1979.

KRAFSUR, E.S.; HIGHTOWER, B.G.; VARGAS, M. Responses of screwworm (Diptera: Calliphoridae) populations to sterile male challenge in Veracruz. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 17, p. 235-241, 1980.

KRAFSUR, E.S.; WHITTEN, C.J.; NOVY, J.E. Screwworm eradication in North and Central America. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 3, p. 131-137, 1987.

LaCHANCE, L.E. Enhancement of radiation-induced sterility in insects by pretreatment in CO₂ + air. **International Journal of Radiation Biology**, London, v. 7, n. 4, p. 321-331, 1963.

LaCHANCE, L.E. Genetic strategies affecting the success and economy of the sterile insect release method. In: HOY, M.A.; McKELVEY, J.J. (Ed.). **Genetics in relation to insect management**. New York: Rockefeller Foundation, 1979. p. 8-18.

LaCHANCE, L.E.; BARTLETT, A.C.; BRAM, R.A.; GAGNE, R.J.; GRAHAM, O.H.; McINNIS, D.O.; WHITTEN, C.J.; SEAWRIGHT, J.A. Mating types in screwworm populations? **Science**, Washington, DC, v. 218, p. 1142-1145, 1982.

LAAKE, E.W.; CUSHING, E.C.; PARISH, H.E. **Biology of the primary screwworm fly, *Cochliomyia americana*, and a comparison of its stages with those of *C. macellaria***. Washington, DC: USDA, 1936. 24 p. (Technical Bulletin, 500).

LELLO, E.; PINHEIRO, F.A.; NOCE, O.F. Epidemiologia de mífases no município de Botucatu, S.P., Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 34, p. 93-108, 1982.

LEOPOLD, A. **A sand county almanac**. New York: Oxford University Press, 1949.

LESSINGER, A.C.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Evolution and structural organization of mitochondrial DNA control region of myiasis-causing flies. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 14, p. 71-80, 2000.

LEVOT, G.W. Resistance and the control of sheep ectoparasites. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 25, n. 11, p. 1355-1362, 1995.

LINDQUIST, A.W. Entomological uses of radioisotopes. In: CLAUS, W.D. (Ed.). **Radiation biology and medicine**. Reading, MA: Addison-Wesley, 1958. p. 688-710.

LOPES-COSTA, P.V.; SANTOS, A.R.; PEREIRA-FILHO, J.D.; SILVA, B.B. Myiasis in the uterine cavity of an elderly woman with a complete uterine prolapsed. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London**, v. 102, p. 1058-1060, 2008.

LYRA, M.L.; FRESIA, P.; GAMA, S.; CRISTINA, J.; KLACZKO, L.B.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Analysis of mitochondrial DNA variability and genetic structure in populations of New World Screwworm flies (Diptera: Calliphoridae) from Uruguay. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 42, n. 4, p. 589-595, 2005.

LYRA, M.L.; KLACZKO, L.B.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Complex pattern of genetic distribution in populations of the New World screwworm fly revealed by mitochondrial DNA markers. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 23, p. 32-42, 2009.

MACKLEY, J.W.; SNOW, J.W. Effects of cattle dung on the behavior and survival of adult screwworms and on the development of their eggs. **Environmental Entomology**, College Park, v. 11, p. 432-435, 1982.

MACKLEY, J.W.; LONG, G.L. Behavior of sterile adult screwworms (Diptera: Calliphoridae) on flowering trees and shrubs. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 76, p. 839-843, 1983.

MACKLEY, J.W.; BROWN, H.E. Swormlure-4: a New Formulation of the Swormlure-2 Mixture as an Attractant for Adult Screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 77, n. 5, p. 1264-1268, 1984.

MADEIRA, N.G.; AMARANTE, A.F.T.; PADOVANI, C.R. Effect of management practices on screwworm among sheep in São Paulo state, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburg, v. 30, p. 149-157, 1998.

MAHON, R.J.; AHMAD, H.; WARDHAUGH, K.G. 2004. Factors affecting abundance and oviposition rates of a field population of Old World screw-worm fly *Chrysomya bezziana* (Diptera: Calliphoridae). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 94, p. 359-368, 2004.

MANGAN, R.L.; THOMAS, D.B. Habitat preferences and dispersal patterns in native screwworm flies (Diptera: Calliphoridae). **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 82, p. 332-339, 1989.

MARROQUIN, R. Mass production of screwworms in Mexico. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, Lanham, n. 62, p. 31-36, 1985.

MARSHALL, H.; TALIAFERRO, W.F.; SCWARTZ, B. Supplement to the report of the twelfth annual meeting of the American Society of Parasitologists. **Journal of Parasitology**, Oxford, v. 23, p. 324-329, 1937.

MATLOCK JUNIOR, R.B.; SKODA, S. Mark – recapture estimates of recruitment, survivorship and population growth rate for the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax*. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 23, p. 111-125, 2009. Suppl. 1.

MAYER, D.G.; ATZENI, M.G.; SWAIN, A.J.; STUART, M.A. Models for the spatial dispersal of insect pests. **Environmetrics**, Elmont, v. 6, p. 497-503, 1995.

MAZZA, S. Investigaciones sobre Dipteros Argentinos. I. Miasis. **Misión de Estudios de Patología Regional**, Jujuy, Argentina, v. 41, p. 1-46, 1939.

McDONAGH L.; GARCIA R.; STEVENS, J.R. Phylogenetic analysis of New World screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax*, suggests genetic isolation of some Caribbean island populations following colonization from South America. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 23, p. 14-22, 2009. Suppl. 1.

McGRAW, L. Squeezing out screwworm. **Agricultural Research**, Hyattsville, MD, p. 18-21, April 2001.

McINNIS, D.O. Chromosomal variation in the screwworm: polymorphism or cryptic species. **American Naturalist**, Chicago, v. 122, n. 6, p. 840-842, 1983.

McINNIS, D.O.; WHITTEN, C.J.; MACKLEY, J.W.; PETERSON II, R.D.; SPENCER, J.P. Cytogenetic studies of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) from Chiapas, Mexico. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 76, p. 628-640, 1983.

MELVIN, R.; BUSHLAND, R.C. **A method of rearing *Cochliomyia americana* C. and *P.* on artificial media**. Washington, DC: USDA, Bureau of Entomology and Plant Quarantine, 1936. (Report ET-88).

MELVIN, R.; BUSHLAND, R.C. The nutritional requirements of screwworm larvae. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 33, n. 6, p. 850-852, 1940.

MOYA-BORJA G.E.; OLIVEIRA C.M.B.; MUNIZ R.A.; GONÇALVES L.C.B. Prophylactic and persistent efficacy of doramectin against *Cochliomyia hominivorax* in cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 4, n. 1, p. 95-105, 1993.

MOYA-BORJA, G.E.M. Erradicação ou manejo integrado das miíases neotropicais das Américas? **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 23, p. 131-138, 2003.

MULLER, H.J. Artificial transmutation of the gene. **Science**, Washington, DC, v. 66, p. 84-87, 1927.

NASCIMENTO, E.M.F.; OLIVEIRA, J.B.; PAES, M.J.; LOBO, A.P.; SILVA, A.L.A.; SANTOS JUNIOR, E.R.; LEAL; J.L.F.; MOYA-BORJA, G.E. Miíases humanas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera, Calliphoridae) em hospitais públicos na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 37-51, 2005.

NOLAN, J.; SCHNITZERLING, H. Drug resistance in arthropod parasites. In: CAMPBELL, W.C.; LEW, R.S. (Ed.). **Chemotherapy of parasitic diseases**. New York: Plenum Press, 1986. p. 603-620.

NOVY, J.E. Operation of a screwworm eradication program. In: RICHARDSON, R.H. (Ed.). **The screw-worm problem**. Austin, TX: University of Texas Press, 1978.

OIE - WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of standards for diagnostic tests and vaccines**. 4. ed. Paris, 2000.

OLIVEIRA, C.M.B. **Biologia, flutuação populacional e patologia da *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae)**. 1980. 92 p. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1980.

OLIVEIRA, C.M.B.; MOYA BORJA, G.E.; MELLO, R.P. Flutuação populacional de *Cochliomyia hominivorax* no município de Itaguaí, Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 2, n. 4, p. 139-142, 1982.

OPEC - ORGANIZATION OF THE PETROLEUM EXPORTING COUNTRIES. **OPEC fund extends US\$150,000 towards screwworm eradication efforts in the Middle East**. Vienna, Austria, 1999. (Fund for International Development news release, 99/54).

OSBORN, F. **The Limits of the Earth**. Boston: Little, Brown and Co, 1953. 238 p.

PARISH, H.E. Factors predisposing animals to screwworm infestation in Texas. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 35, n. 6, p. 899-903, 1942.

PARKER, F.D.; WELCH, J.B.; MATLOCK JUNIOR, R.B. Influence of habitat, season, and attractant on adult behaviour of the screwworm (Diptera: Calliphoridae) in a tropical dry forest in Costa Rica. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 86, p. 1359-1375, 1993.

PARMAN, D.C. Effect of weather on *Cochliomyia americana* and a review of methods and economic applications of the study. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 38, p. 66-76, 1945.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001. 134 p.

PETERSON, R.D.; MCINNIS, D.O.; WHITTEN, C.J.; COPPEDGE, J.R. Dispersal and distribution of ground released screwworms *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in south Texas, 1980. Washington, DC: USDA, Animal and Plant Health Inspection Service, 1983. 11 p. (APHIS, 91-57).

PETERSON, R.D.; MACKLEY, J.W.; CANDIDO, A.O. Sugar feeding by adult screwworms (Diptera: Calliphoridae) and its effect on longevity and oocyte maturation. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 80, p. 130-135, 1987.

PHILLIPS, P.L.; WELCH, J.B.; KRAMER, M.H. Seasonal and spatial distributions of adult screwworms (Diptera: Calliphoridae) in the Panama Canal Area, Republic of Panama. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 41, p. 121-129, 2004.

PINHEIRO, C.A.; LELLO, E.; NOCE, O.F. O problema das miíases no município de Botucatu, SP. **Ciência e Cultura**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 7, p. 473-474, 1974.

PITTI, A.; SKODA, S.R.; KNEELAND, K.M.; BERKEBILE, D.R.; MOLINA-OCHOA, J.; CHAUDHURY, M.F.; YOUM, O.; FOSTER, J.E. Effect of Adult Screwworm Male Size on Mating Competence. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v. 36, n. 1, p. 47-60, 2011.

POMONIS, J.G. Cuticular hydrocarbons of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): isolation, identification and quantification as a function of age, sex and irradiation. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 13, p. 1419-1430, 1989.

POMONIS, J.G.; MACKLEY, J.W. Gas chromatographic composition profiles of surface lipid extracts from screwworm compared by age, sex, colonization and geography. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v. 10, p. 65-76, 1985.

PONTES, J.B.; SEVERO, J.E.V.; GARCIA, E.F.C.; COLARES, R.; KOHEK JUNIOR, I.; REVERBEL, M.S. Projeto demonstrativo de controle e possível erradicação da mosca da bicheira. **Hora Veterinária**, Porto Alegre, n. 171, p. 27-30, 2009.

RAJAPAKSA, N.; SPRADBERRY, J.P. Occurrence of the Old World screw-worm fly *Chrysomya bezziana* on livestock vessels and commercial aircraft. **Australian Veterinary Journal**, Carlton, v. 66, p. 94-96, 1989.

RAWLINS, S.C.; ALEXANDER, F.C.; MOE, V.; CAESAR, E.; MOLL, K.; APPLEWHAITE, L. Screw-worm (Diptera: Calliphoridae) myiasis in the southern Caribbean, and proposals for its management. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 76, p. 1106-1111, 1983.

RAWLINS, S.C. Current trends in screwworm myiasis in the Caribbean region. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 18, n. 3, p. 241-250, 1985.

RICHARDSON, R.H.; ELLISON, J.R.; AVERHOFF, W.W. Autocidal control of screwworms in North America. **Science**, Washington, DC, v. 215, p. 361-370, 1982.

ROBINSON, A.S.; VREYSEN, M.J.B.; HENDRICHS, J.; FELDMANN, U. Enabling technologies to improve area-wide integrated pest management programmes for the control of screwworms. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 23, p. 1-7, 2009. Suppl. 1.

ROCHA, U.F.; VAZ, Z. Miíase e perfuração de rúmen de bezerras por larvas de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858). Significação econômica. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária da USP**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 281-286, 1950.

ROEHRDANZ, R.L. Intraspecific genetic variability in mitochondrial DNA of the screwworm fly (*Cochliomyia hominivorax*). **Biochemical Genetics**, New York, v. 27, p. 551-569, 1989.

SAGEL, A.; BERKEBILE, D.R.; FOSTER, J.E.; SKODA, S.R. The optimum diet of spray-dried animal blood cells as protein source for adult screwworms (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Entomological Science**, Tifton, v. 37, n. 4, p. 353-362, 2002.

SCRUGGS, C.G. The origin of the screwworm control program. In: RICHARDSON, R.H. (Ed.). **The screw-worm problem**. Austin, TX: University of Texas Press, 1978. p. 11-18.

SEARSON, J.; SANDERS, L.; DAVIS, G.; TWEDDLE, N.; THORNBUR, P. Screwworm fly myiasis in an overseas traveller - case report. **Communicable Disease Intelligence**, Canberra, v. 16, p. 239-240, 1992.

SERENO, J.R.B.; CATTO, J.B.; SERENO, F.T.P.S. **Prevenção de miíases umbilicais em bezerros criados extensivamente, no Pantanal, através da utilização de ivermectin**. Corumbá: EMBRAPA, CPAP, 1996. 5 p. (Comunicado Técnico, 16).

SHAO, R.; BARKER, S.C. Mitochondrial genomes of parasitic arthropods: implications for studies of population genetics and evolution. **Parasitology**, London, v. 134, p. 153-167, 2007.

SHIVA, V. **Monocultures of the mind: perspectives on biodiversity and biotechnology**. London: Zed Books, 1993. 184 p.

SILVA, J.A.B.; QUEIROZ, M.M.C.; MOYA-BORJA, G.E. Ocorrência e epidemiologia de miíases humanas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera, Calliphoridae) em hospital público na cidade de São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22., 2008, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: SBE, 2008a. 1 CD-ROM.

SILVA, C.E.; BORJA, G.E.M.; AZAMBUJA, P. Use of polyester pad as a new physical substrate for rearing *Cochliomyia hominivorax* coquerel (Diptera: Calliphoridae) larvae. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, p. 349-351. 2008b.

SKODA, S.R. Kit for detecting flesh-eating maggots. Science update. **Agricultural Research**, Washington, DC, v. 49, n. 8, p. 23, 2001.

SNOW, J.W.; COPPEDGE, J.R. The Screwworm *Cochliomyia hominivorax* (Diptera:Calliphoridae) Reinfests the Island of Curaçao, Netherlands Antilles. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 14, n. 5, p.592-593, 1978.

SNOW, J.W.; COPPEDGE, J.R.; BROCE, A.B.; GOODENOUGH, J.L.; BROWN, H.E. 1982. *Swormlure*: development and use in detection and suppression systems for adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). **Bulletin of the Entomological Society of America**, Washington, DC, v. 28, p. 277-284, 1982.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry**. 2. ed. New York: W.H. Freeman & Co., 1981. 859 p.

SOUTHWOOD, T.R.E.; MAY, R.M.; HASSEL, M.P.; CONWAY, G.R. Ecological strategies and population parameters. **American Naturalist**, Chicago, v. 108, p. 791-804, 1974.

SPATES, G.E.; HIGHTOWER, B.G. Variations in the size and reproductive capacity of wild-type and laboratory adapted populations of the screwworm fly. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 63, p. 1381-1385, 1970.

SPENCER, J.P.; SNOW, J.W.; COPPEDGE, J.R.; WHITTEN, C.J. Seasonal occurrence of the primary and secondary screwworm (Diptera: Calliphoridae) in the Pacific Coastal area of Chiapas, Mexico during 1978-1979. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v.18, p.240-243, 1981.

SPRADBERY, J.P. **Screw-worm fly *Chrysomya bezziana* hybridisation studies in the United Kingdom**. Report. Canberra: Department of Primary Industries and Energy, 1988.

SPRADBERY, J.P. **A Manual for the diagnosis of screw-worm fly**. Canberra: Australian Government Publishing Service, 1991.

SPRADBERY, J.P. Screw-worm fly: a tale of two species. **Agricultural Zoology Reviews**, Bedfordshire, UK, v. 6, p. 1-61, 1994.

SPRADBERY, J.P. **A Manual for the diagnosis of screw-worm fly**. Canberra: Australian Government Publishing Service, 2002.

SPRADBERY, J.P.; TOZER, R.S.; POUND, A.A. The efficacy of insecticides against the screw-worm fly (*Chrysomya bezziana*). **Australian Veterinary Journal**, Carlton, v. 68, p. 338-342, 1991.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS Version 9.1**. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2003.

STEPHAN, A.; FUENTEFRIA, N.B. 1999. Míase oral: parasita versus hospedeiro. **Revista da Associação Paulista Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 53, p. 47-49, 1999.

TAYLOR, D.B. Comparison of two gelling agents for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 81, p. 1414-1419, 1988.

TAYLOR, D.B.; MANGAN, R.L. Comparison of gelled and meat diets for rearing screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) larvae. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 80, p. 427-432, 1987.

TAYLOR, D.B.; PETERSON II, R.D. Population genetics and gene variation in primary and secondary screwworm (Diptera: Calliphoridae). **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 87, p. 626-633, 1994.

TAYLOR, D.B.; BRUCE, J.C.; GARCIA, R. Gelled diet for screwworm (Diptera: Calliphoridae) mass production. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 84, p. 927-935, 1991a.

TAYLOR, D.B.; HAMMACK, L.; ROEHRDANZ, R.L. Reproductive compatibility and mitochondrial DNA restriction site analysis of New World Screwworm, *Cochliomyia hominivorax*, from North Africa and Central America. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 5, p. 145-152, 1991b.

TAYLOR, D.B.; SZALANSKI, A.L.; PETERSON II, R.D. Mitochondrial DNA variation in screwworm. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 10, p. 161-169, 1996a.

TAYLOR, D.B.; SZALANSKI, A.L.; PETERSON II, R.D. A polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism technique for identification of screwworms (Diptera: Calliphoridae). **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 10, p. 63-70, 1996b.

TAYLOR, D.B.; PETERSON II, R.D.; MOYA BORJA, G.E. Population genetics and gene variation in Screwworms (Diptera: Calliphoridae) from Brazil. **Biochemical Genetics**, New York, v. 34, p. 67-76, 1996c.

TENNEKES, H. **The systemic insecticides: a disaster in the making**. West Yorkshire: Northern Bee Books, 2010. 72 p.

THOMAS, D.B. Survival of the pupal stage of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera: Calliphoridae) in subtropical Mexico. **Journal of Entomological Science**, Tifton, v. 24, p. 321-328, 1989.

THOMAS, D.B. Time-activity budget of screwworm behavior (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 28, p. 372-377, 1991.

THOMAS, D.B. Fecundity and oviposition in laboratory colonies of the screwworm fly (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 86, p.1464-1472, 1993.

THOMAS, D.B.; CHEN, A.C. Age distribution of adult female screwworms (Diptera: Calliphoridae) captured on sentinel animals in the coastal lowlands of Guatemala. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 83, p. 1422-1429, 1990.

THOMAS, D.B.; MANGAN, R.L. Oviposition and wound-visiting behaviour of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 82, p. 526-534, 1989.

THOMAS, D.B.; MANGAN, R.L. Persistence of sterile screwworm (Diptera: Calliphoridae) flies at a release site. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.85, p. 441-444, 1992.

THOMPSON, D. **Screw-worm Fly Risk Assessment Project**. Sydney: Australian Meat and Livestock Research and Development Corporation, 1992. (Project no. NTA019).

TORRES, T.T.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Population structuring in new world screw-worm populations from the Caribbean: insights from microsatellite data. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 23, p. 23-31, 2009.

TORRES, T.T.; LYRA, M.L.; FRESIA, P.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Assessing genetic variation in the New World screwworm *Cochliomyia hominivorax* populations from Uruguay. In: VREYSEN, M.J.B.; ROBINSON, A.S.; HENDRICH, J. (Org.). **Area-wide control of insect pests: from research to field implementation**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 183-191.

VARGAS-TERÁN, M.; HOFMANN, H.C.; TWEDDLE, N.E. 2005. Impact of screwworm eradication programmes using the sterile insect technique. In: DYCK, V.A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. Berlin: Springer, 2005. p. 629-650.

VIEIRA, G.A. Produção intensiva de bovinos de corte: análises e perspectivas. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 342, p. 131-134, 2005.

VO, T.T. Economic impact of eradication of New World screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) from Jamaica. In: TAN, K.-H. (Ed.). **Area-wide control of fruit flies and other insect pests**. Pulau Pinang: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 2000. p. 113-116.

VOGT, W. **Road to survival**. New York: William Sloan Associates, 1948. 325 p.

VREYSEN, M.J.B.; GERARDO-ABAYA, J.; CAYOL, J.P. Lessons from area-wide integrated pest management (AW-IPM) programmes with an SIT component: an FAO/IAEA perspective. In: VREYSEN, M.J.B.; ROBINSON, A.S.; HENDRICH, J. (Org.). **Area-wide control of insect pests: from research to field implementation**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 723-744.

WALDER, J.M.M. Produção de moscas-das-frutas e seus inimigos naturais: associação de moscas estéreis e controle biológico. In: PARRA, J.R.; BOTELHO, P.S.M.; FERREIRA, B.S.C.; BENTO, M.S.B. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 181-188.

WILLADSEN, P. The feasibility of vaccinating against the screw-worm fly *Chrysomya bezziana*. In: SCREW-WORM FLY EMERGENCY PREPAREDNESS CONFERENCE, 2001, Canberra. **Proceedings...** Canberra, Australia: Office of the Chief Veterinary Officer, Agriculture, Fisheries and Forestry, 2002.

WYSS, J. H. Screw-worm eradication in the Americas – overview. In: TAN, K.-H. (Ed.). **Area-wide control of fruit flies and other insect pests**. Pulau Pinang: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 2000. p. 79-86.

ZUMPT, F. **Myiasis in man and animals in the Old World**. London: Butterworths, 1965. 267 p.