



INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
Rede Nordeste de Biotecnologia– RENORBIO
Ponto Focal Alagoas
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS



ANALICE FERREIRA DA SILVA

**USO DE SEMIOQUÍMICOS NO CONTROLE DE MOSCAS VAREJEIRA,
Chrysomya megacephala (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE): UMA PRAGA CAUSADORA DA MIÍASE**

Maceió, AL
2020

ANALICE FERREIRA DA SILVA

**USO DE SEMIOQUÍMICOS NO CONTROLE DE MOSCA VAREJEIRA,
Chrysomya megacephala (FABRICIUS, 1794) (DÍPTERA:
CALLIPHORIDAE): UMA PRAGA CAUSADORA DA MIÍASE**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da RENORBIO da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana.

Coorientador: Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart

Maceió, AL
2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1787

S586u Silva, Analice Ferreira da.
 Uso de semioquímicos no controle de mosca varejeira, *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Díptera: Calliphoridae) : uma praga causadora da miíase / Analice Ferreira da Silva. – 2021.
 163 f. : il. color.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Santana.
Co-orientador: Henrique Fonseca Goulart.
Tese (doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. RENORBIO. Maceió, 2020.

Inclui bibliografias.

1. Miíase. 2. Sensilas. 3. Pragas - Controle. 4. Aleloquímicos. I. Título. |

CDU: 636.093

ANALICE FERREIRA DA SILVA

Uso de semioquímicos no controle de moscas varejeira, *Chrysomya megacephala*,
(Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae): uma praga causadora da mitose

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Alagoas, Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais.

Aprovada em: 17/12/2020.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Antônio Eusébio Goulart Santana
Orientador - Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart
Coorientador - Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Profa. Dra. Bianca Giuliano Ambrogi

Universidade Federal de Sergipe - UFS



Prof. Dr. Guilherme Benjamin Brandão Pina
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas - UNCISAL



Dr. João Gomes da Costa
EMBRAPA Alimentos e Territórios



Profa. Dra. Ruth Rufino de Nascimento
Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Dedico a Jesus, meu melhor amigo, que sempre esteve comigo, meu sustento e força em todos os momentos, a Ele dedico tudo que conquistei e o que está por vir. Meu muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

À Jesus toda a minha gratidão e amor, por ser a razão de tudo o alfa e o ômega.

A Virgem Mãe por ser colo e consolo nos momentos difíceis.

A minha filha, Maria Cllara, por ser amiga e parceira em todos os momentos. Meu grande amor.

Aos meus pais in memoriam, que no céu, pertinho de Jesus estão cuidando de mim.

A minha irmã, Maria Betânia, por travarmos juntas todas as lutas e por toda oração

Ao Prof. Dr. José Gomes Chaves, meu amigo, companheiro de todos os momentos, materializador dos meus sonhos, maior exemplo de competência e honestidade, minha maior inspiração. Amo Você.

À família que Deus me presenteou, Enedina Gomes, e toda a sua extensaõ. Gratidão!!

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart de Santana, pela orientação e por estar sempre a disposição para ajudar e por ter acrescentado na minha carreira acadêmica meus eternos agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart pela coorientação e as inúmeras contribuições sempre à disposição

Ao Prof. Dr. João Gomes pela colaboração de grande importância para conclusão desta tese.

Ao Prof. Dr. Guilherme Benjamin B. Pitta pela disponibilidade e generosidade que sempre me atendeu.

A Prof. Dr^a Ruth Rufino por toda ajuda, atenção e carinho.

Á grande amiga, Maria José Cardoso pelas orações, força e torcida.

À minha querida amiga, Ellen Rebecca Lopes de Oliveira, pela amizade, pelas lutas que travamos juntas diariamente, por toda o carinho e companheirismo.

Às amigas Regina da Silva Acácio, Auridete Maria e Cristiane Araújo pela amizade, carinho e contribuição indispensável para o desenvolvimento desta tese.

Aos amigos da Síntese em especial aos meus grandes amigos Isis Torres e Vanderson Bernando.

Aos amigos, Thyago Ribeiro, Karlos Lisboa, Miguel Angel, minha amiga Viviane Dalbon por toda ajuda durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu amigo e profissional excepcional, Aldy dos Santos por toda a dedicação.

A todos demais amigos do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais. Gratidão!!!

“As mãos que ajudam são mais sagradas do que os lábios que rezam”.

Madre Tereza de Calcutá

RESUMO

A mosca, *Chrysomya megacephala* (Fabricius,1794),(Diptera:Calliphoridae),conhecida por mosca da latrina oriental, é uma praga de interesse para à saúde pública, além de apresentar importância veterinária por provocar miíases que acometem humanos e outros animais. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar as características morfológicas e morfométricas que permitam identificar e diferenciar sexualmente estes insetos; caracterizar os tipos e funções das sensilas e por fim avaliar a atratividade de fontes alimentares em períodos distintos de decomposição, visando determinar a eficiência de compostos presentes nestas fontes alimentares no monitoramento e controle de *C. megacephala*. A pesquisa foi constituída de duas etapas:a primeira envolveu a identificação taxonômica dos espécimes, análises morfométricas e caracterizações morfofisiológicas das sensilas. A segunda na identificação e avaliação da influência comportamental dos apneumônios emitidos por fontes alimentares em diferentes estágios de decomposição frente a mosca, *C. megacephala*. Para as análises morfológicas dos espécimes utilizou-se chaves taxonômicas com o auxílio de microscópios estereoscópicos. Para morfometria usou-se 100 moscas *C. megacephala*, régua milimetrada, paquímetro digital e microscópio estereoscópicos. A avaliação morfofisiológica das sensilas realizou-se por microscopia eletrônica por varredura (MEV). A partir da técnica de aeração os compostos voláteis presentes nas fontes alimentares foram extraídos. As avaliações comportamentais das moscas *C. megacephala* frente aos extratos alimentares e aos padrões sintéticos foram realizadas em olfatômetro de quatro braços. Para os testes de campo usou-se quatro tratamentos, extrato de camarão (48h), soluções sintéticas nas concentrações 100 ppm e 50 ppm e tratamento-controle. Como resultados, identificou-se que a espécie predominante pertence ao gênero *Chrysomya*, família *Calliphoridae* e espécie *C. megacephala*. As análises morfométricas demonstraram que as fêmeas de *C. megacephala* são maiores que os machos coespecíficos na maioria das variáveis analisadas. Por microscopia eletrônica de varredura (MEV), constatou-se que as antenas de *C. megacephala* são formadas por três segmentos, escapo, pedicelo, flagelo e aristas, caracterizou-se cinco tipos de sensilas presentes nos segmentos antenais, observou-se dimorfismo no pedicelo, flagelo e na arista. Os resultados dos bioensaios comportamentais com *C. megacephala*, demonstraram que o extrato de camarão (48h) eliciu maior atração em fêmeas, ao passo que, os machos coespecíficos foram mais atraídos para o tratamento-controle, sugerindo uma possível repelência. Observou-se ainda que, os extratos de camarão nos distintos períodos de decomposição (0h, 24h e 48h) desencadearam os melhores tempos de permanência das moscas fêmeas. Os resultados das análises do extrato de camarão (48h) em cromatografia gasosa acoplada a um detector eletroantegráfico (CG-EAG) e cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chama (CG-DIC) e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas(CG-EM) demonstraram três compostos bioativos, identificados como fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila. A avaliação comportamental de *C. megacephala* frente aos padrões sintéticos demonstrou que os compostos testados individualmente, em combinação binária não apresentaram diferenças significativas ao comparar com tratamento-controle 0,01 ($P>0,01$ e $P<0,01$), em combinação ternária apresentou diferença significativa ao comparar com tratamento-controle 0,01 ($P>0,01$ e $P<0,01$). As análises(EAG) das moscas *C. megacephala* frente aos padrões sintéticos mostraram-se equivalentes às observadas no extrato de camarão (48h). Nos testes de campo o extrato de camarão 48 h e mistura ternária dos padrões sintéticos(50ppm e 100ppm) desencadearam maior atratividade para as moscas fêmeas. Do total capturados 324 espécimes, 219 foram *C. megacephala*. Estes resultados, demonstram o uso potencial destas substâncias em armadilhas,visando ao monitoramento e controle de *C.megacephala* no manejo integrado.

Palavras-chave: Miíase secundária; Sensilas; Controle; Pragas; Aleloquímicos.

ABSTRACT

The fly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), known as the eastern latrine fly, is a pest of interest to public health, in addition to being of veterinary importance for causing myiasis that affects humans and other animals. Thus, the present work aimed to evaluate the morphological and morphometric characteristics that allow to identify and sexually differentiate these insects; characterize the types and functions of the sensillae and finally evaluate the attractiveness of food sources in different periods of decomposition, aiming to determine the efficiency of compounds present in these food sources in the monitoring and control of *C. megacephala*. The research consisted of two stages: the first involved the taxonomic identification of specimens, morphometric analysis and morphophysiological characterizations of the sensillae. The second in the identification and evaluation of the behavioral influence of apneumones emitted by food sources at different stages of decomposition against the fly, *C. megacephala*. The morphological analysis of the specimens, dichotomous keys were used with the aid of a stereoscopic microscope, for morphometry, 100 *C. megacephala* flies, millimeter ruler, digital caliper and stereoscopic microscope were used. The morphophysiological evaluation of the sensilla was performed by scanning electron microscopy (SEM). From the aeration technique, volatile compounds present in food sources were extracted. The behavioral assessments of *C. megacephala* flies against food sources and synthetic standards were performed using a four-arm olfactometer. For the field tests, four treatments were used (shrimp extract (48h), synthetic solution in concentrations 100 ppm and 50 ppm and control treatment). As a result, it was identified that the predominant species belong to the genus *Chrysomya*, family Calliphoridae and species *C. megacephala*. The morphometric analyzes showed that the females of *C. megacephala* are larger than the co-specific males in most of the variables analyzed. Scanning electron microscopy (SEM) it was found that the antennae of *C. megacephala* are formed by three segments, scape, pedicel, flagella and arista, five types of sensilla present in the antennal segments were characterized, dimorphism was observed in the pedicel, flagellum and arista. The results of the behavioral bioassays with *C. megacephala*, demonstrated that the 48h shrimp extract elicited greater attraction in females, whereas, the co-specific males were more attracted to the control treatment, suggesting a possible repellency. It was also observed that the shrimp extracts in the different decomposition periods (0h, 24h and 48h) triggered the best residence times of the female flies. The results of the analyzes of the shrimp extract (48h) in gas chromatography coupled to an electroantennographic detector (CG-EAG) and gas chromatography coupled to a flame ionization detector (CG-DIC) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (CG-EM) demonstrated three bioactive compounds, identified as phenol, 2-nonanone and methyl disulfide. The behavioral evaluation of *C. megacephala* against synthetic standards showed that the compounds tested individually, in binary combination, did not show significant differences when compared with the control-treatment 0,01 ($P > 0,01$ e $P < 0,01$), in ternary combination showed a significant difference when compared with treatment-control 0,01 ($P > 0,01$ e $P < 0,01$). The analyzes (EAG) of the *C. megacephala* flies against the synthetic standards proved to be equivalent to those observed in the (48h) shrimp sample. In the field conditions, the shrimp extract (48h) and the ternary mixture of the synthetic patterns (50 ppm and 100 ppm) triggered greater attractiveness for the female flies. Of the total captured 324 specimens, 219 were identified as *C. megacephala*. These results demonstrate the potential use of these substances in traps, aiming at the monitoring and control of *C. megacephala* of integrated management.

Keywords: Secondary myiasis; Sensilla; Pest; control; Allelochemicals.

LISTA DE FIGURAS

Referencial Teórico

Figura 1: . Desenvolvimento das larvas de *Chrysomya megacephala* no hospedeiro. A) massa de ovos depositadas no hospedeiro. Larvas de diferentes instares se alimentado nos ferimentos do hospedeiro(A, B, C, D, E e F).22

Figura 2: Ciclo de vida mosca varejeira, *Chrysomya megacephala*.....23

Capítulo 1:

Figura 1: Vista frontal da mosca varejeira, *Chrysomya megacephala*, corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen de cores verde ou azul com reflexos metálicos. A) Tórax e abdômen. A1) Faixas transversais pretas.46

Figura 2: Vista frontal e dorsal de *Chrysomya megacephala*. A) vista dorsal mostrando a presença de cerdas oculares. B) Vista dorsal presença de cerdas na região torácica.47

Figura 3: A espécie *Chrysomya megacephala* em vista lateral. A) seta indica o espiráculo anterior e B) seta indicam a caliptra inferior.47

Figura 4: Espécie, *Chrysomya megacephala*. A) presença das antenas e aristas perpendicular entre os olhos compostos b) presença de gena com dilatação. C) Asas de *C. megacephala* hialinas com formação de ângulo na região M1+2.48

Figura 5: Microscopia eletrônica de varredura da região ocular das moscas fêmeas e machos de *Chrysomya megacephala*. A) Cabeça da fêmea com notória separação interocular. B) presença de omatídeos sem diferença de tamanhos nas fêmeas. C) cabeça do macho com discreta separação interocular. D) presença de omatídeos maiores na região superior dos olhos e na região inferior com pequenos tamanhos nos machos.....49

Figura 6: Microscopia eletrônica de varredura da região frontal da antena de *Chrysomya megacephala*. I- Escapo, II-pedicelo, III - flagelo. Barra 10 µm.51

Figura 7: Microscopia eletrônica de varredura caracterizando o escapo das antenas de *Chrysomya megacephala*, em ambos os sexos. Com presença de sensilas do tipo caética. Barra 10 µm.52

Figura 8: Microscopia eletrônica de varredura caracterizando o pedicelo das antenas de *Chrysomya megacephala*, ambos os sexos. Com presença de sensilas caéticas de vários tamanhos e sensilas estilocônica. Barra 10 µm.54

Figura 9: Microscopia eletrônica de varredura caracterizando o flagelo da antena de *Chrysomya megacephala*, em ambos os sexos. Com presença de sensilas tricoídes, basicônicas e coelocônica e numerosos pequenos pelos. Barra 10 µm.55

Capítulo 2:

Figura 1: Olfatômetro de quatro braços usado nos bioensaios comportamentais com adultos de mosca-varejeira. 1) arena, 2) frente, 3) lado, 4) braços, 5) conector e 6) conector central para a dispersão de ar. 71

Figura 2: Área experimental com área com um total de 2,5 ha, dividida em cinco áreas. Esquema de distribuição das armadilhas cada armadilha com aproximadamente 20 m de distância uma da outra. 75

Figura 3: Armadilhas de composição plástica, com piso adesivos e com septos de borrachas impregnadas com hexano (controle), solução do padrão sintético a 50 ppm e solução do padrão sintético a 100 ppm e extrato natural do camarão 48 h. 76

Figura 4: Respostas eletroantegráfica das antenas das fêmeas *Chrysomya megacephala* para três compostos bioativos presentes no extrato de camarão em 48h de decomposição. 80

Figura 5: Expansão das respostas eletroantegráfica de *Chrysomya megacephala* frente aos compostos sintéticos previamente identificados no extrato de camarão 48 h , disponíveis no LPqRN. 80

Figura 6: Cromatograma representativo dos compostos voláteis coletados de extrato de camarão após 48h de decomposição. 81

Figura 7: Espectros de massas do fenol (composto 1). A) Espectro do composto presentes no extratos de camarão 48h. B) Espectro do fenol conforme a bibliotecas do CG-EM. 82

Figura 8: Espectros de massas do 2-nonanona (composto 2). A) Espectro do composto presentes no extratos de camarão 48h. B) Espectro do 2- nonanona conforme a bibliotecas do CG-EM. 83

Figura 9: Espectros de massas do dissulfeto de metila (composto 3). A) Espectro do composto presentes no extratos de camarão 48h. B) Espectro do dissulfeto de metila conforme a bibliotecas do CG-EM. 83

Figura 10: Percentual médio de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços ao odor fenol 84

Figura 11: Percentual médio de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços ao odor 2- nonanona 86

Figura 12: Percentual médio de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços ao odor dissulfeto de metila **Error! Bookmark not defined.**

Figura 13: Percentual média de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços aos odores das combinações binárias (fenol + dissulfeto de metila, fenol + 2- nonanona e dissulfeto de metila + 2- nonanona).**Error! Bookmark not defined.**

Figura 14: Percentual médio de atratividade moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços aos odores das combinações ternárias (fenol + dissulfeto de metila + 2- nonanona).....87

Figura 15: Número total de moscas adultas de *C. megacephala* coletadas nos tratamentos controle, extrato de camarão 48 h e solução ternária dos padrões sintéticos nas concentrações (50 e 100 ppm).....88

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

- Tabela 1: Valores médios dos parâmetros corpóreos avaliados em machos e fêmeas nas análises a morfométricas de *Chrysomya megacephala*. 50
- Tabela 2: Médias do comprimento e largura (μm) dos segmentos antenais de fêmeas e machos de *Chrysomya megacephala* (n = 16). 51
- Tabela 3: Média do comprimento e largura (em μm) de sensilla no escapo e pedicelo de *Chrysomya megacephala* (n = 16) ambos os sexos. 53
- Tabela 4: Média do comprimento e largura (em μm) das sensilas no flagelo antena e arista *Chrysomya megacephala*, ambos os sexos (n=16). 56

Capítulo 2

- Tabela 1: Descrição da escala de tempo utilizada na decomposição de fontes alimentares (carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa) para extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs). 69
- Tabela 2: Percentual médio de entradas de moscas fêmeas adultas de *Chrysomya megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de carne bovina, peixe sardinha, camarão rosa em diferentes períodos de decomposição, no olfatômetro de quatro braços. 78
- Tabela 3: Percentual médio de entradas de moscas machos adultas de *Chrysomya megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de carne bovina, peixe sardinha, camarão rosa em diferentes períodos de decomposição, no olfatômetro de quatro braços. 79
- Tabela 4: Tempo médio de permanência (s) adultos fêmeas de *Chrysomya megacephala* em cada braço do olfatômetro em respostas às amostras de carne bovina, peixe sardinha e camarão nos períodos de 0h, 24h, 48h e 72h. 79
- Tabela 5: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de camarão em 48h de decomposição. 81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes
IPM	Intervalo mínimo de morte
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISSO	International Standardization Organization
LACEN/AL	Laboratório Central de Alagoas
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
OFs	Organofosforados
OMC	Organização Mundial do Comércio
OMS	Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
1. INTRODUÇÃO GERAL	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 Aspectos gerais da espécie.....	21
2.2- Ciclo de vida de mosca varejeira, <i>Chrysomya megacephala</i>	22
2.3 Métodos empregados no controle de <i>Chrysomya megacephala</i>	24
2.3.1 Controle químico	24
2.3.2 Controle biológico.....	25
2.3.3 Produtos naturais (extrato de vegetais).....	26
2.3.4 Utilização de semioquímicos	27
2.4 Técnica de identificação taxonômica.....	28
2.5 Análise morfométricas.....	29
3 REFERÊNCIAS	30
CAPITULO 1: CARACTERIZAÇÃO E DIMORFISMO SEXUAL DA MOSCA VAREJEIRA, <i>Chrysomya megacephala</i> (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA:CALLIPHORIDAE).....	39
1 INTRODUÇÃO	41
2 MATERIAL E MÉTODOS	43
2.1 Coleta dos insetos	43
2.2 Caracterização morfológica	43
2.3 Análise morfométrica	43
2.4 Descrição do dimorfismo sexual	44
2.5 Caracterização morfológica das antenas	44
2.6 Análise estatística	45
3 RESULTADOS	46
3.1 Caracteres morfológicos da espécie.....	46
3.2 Presença de dimorfismo sexual.....	48
3.3 Avaliações morfométricas	49
3.4 Ultraestrutura das antenas e tipos de sensilas.....	50
4. DISCUSSÃO	57

5. CONCLUSÃO.....	59
6. REFERÊNCIAS	610
CAPÍTULO 2: IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA COMPORTAMENTAL DOS APNEUMÔNIOS EMITIDOS DE DIFERENTES FONTES ALIMENTARES FRENTE A <i>Chrysomya megacephala</i> (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA:CALLIPHORIDAE)	66
1. INTRODUÇÃO	68
2. MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1 Local do estudo e coletas	69
2.2 Extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) nas fontes alimentares.....	69
2.3 Bioensaios comportamental em olfatômetro de quatro braços	70
2.3.1. Avaliação da atratividade para os extratos naturais.....	70
2.3.2. Avaliação da atratividade para os padrões sintéticos	72
2.4 Bioensaios por Eletroantenografia	733
2.5 Análises químicas para identificação dos COVs.....	73
2.6. Testes de Campo	75
2.6.1. Experimentos realizados com extrato de camarão 48 h e padrões sintéticos...	75
2.7 Análises estatísticas.....	77
3. RESULTADOS	78
3.1 Respostas comportamentais em olfatômetros de quatro braços	778
3.2. Análises CG-DIC e CG-EM.....	81
3.2.1. Espectros de massas dos compostos do extratos de camarão 48h versus os espectros de massas dos compostos disponíveis nas bibliotecas do CG-EM.....	82
3.3 Avaliação da atividade biológica dos compostos sintéticos	84
3.3.1 Análises individualizadas	84
3.3.2 Análises em combinações binárias	86
3.3.3 Análises em combinações ternárias	86
3.4 Testes de atratividade a campo.....	87
4. DISCUSSÃO	89
5. CONCLUSÃO.....	92
6. PERSPECTIVAS.....	93
7. REFERÊNCIAS	94

APÊNDICE 1: ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS DE CAMARÃO EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DECOMPOSIÇÃO.	98
APÊNDICE 2: ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS DE CARNE BOVINA EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DECOMPOSIÇÃO.	102
APÊNDICE 3: ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS DE PEIXE SARDINHA EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DECOMPOSIÇÃO.	Error! Bookmark not defined.
CAPITULO 3: PATENTE: OLFATÔMETRO DE QUATRO BRAÇOS ADAPTADO PARA MOSCA VAREJEIRA	108
1- PATENTE: olfatômetro de quatro braços adaptado para mosca varejeira.	1098
RESUMO:	109
Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “Olfatômetro de Quatro Braços para moscas Varejeiras”	11099
2- Problemas que a invenção se propõe a resolver	1110
3- Estado da técnica	1110
4 - Descrições da abordagem do problema técnico resolver	111
4.1- Descrições das figuras	112
4.2 - Descrição da técnica	112
5 - Resultados obtidos:	113
6- Vantagens da patente	114
7- REFERÊNCIAS	115
CAPITULO 4: PATENTE: ISCA NATURAL COM ATRATIVIDADE PARA MOSCAS VAREJEIRAS COM AÇÃO SEMIOQUÍMICA (APNEUMÔNIOS) EFICAZ NO MONITORAMENTO E CONTROLE DA POPULAÇÃO ADULTA DE MOSCAS VAREJEIRAS, <i>Chrysomya megacephala</i> – (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE).....	121
PROBLEMAS QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER.....	143
CAMPOS DE ATUAÇÃO	143
ESTADO DA TÉCNICA	144
DESCRIÇÃO DA TÉCNICA	147
VANTAGENS DA PATENTE	152
DESCRIÇÃO DAS FIGURAS	152
REIVINDICAÇÕES.....	154
CONCLUSÃO GERAL	1610

1. INTRODUÇÃO GERAL

A mosca varejeira, *Chrysomya megacephala* (Fabricius 1794) pertence à família Calliphoridae. É originária da Austrália e foi introduzida casualmente no continente americano, provavelmente através de navios que traziam os refugiados do continente africano (GUIMARÃES et al. 1978, 1979).

Essa espécie é um inseto holometábolo, ou seja, possui metamorfose completa (ovo, larva, pupa e adulto). Nas fases de larvas provocam miíase secundária, doença causada ao invadirem os tecidos humanos e de outros animais de importância econômica significativa como suínos, bovinos, ovinos, entre outras (BRAGA et al. 2011; FERRAZ et al. 2011; VALVIESSE et al. 2014).

Os califorídeos desenvolvem-se em três fases larvais, as quais adquirem proteínas para a nutrição e desenvolvimento nos tecidos dos animais, como consequência causam lesões nos hospedeiros (RAFAEL et al. 2012), sendo que o nível de infestação das larvas no hospedeiro é avaliado a partir da gravidade destas lesões (HORENSTEIN et al. 2010; LINHARES, 2011).

Na fase adulta, a mosca varejeira tem grande importância médica por ser um inseto-vetor de diversos patógenos, entre esses, vírus, fungos, bactérias e helmintos (FURLANETTO et al. 1984). O comportamento sinantrópico, associado aos hábitos alimentares, permite que as moscas varejeiras transportem mecanicamente vários microrganismos patogênicos de substratos contaminados para seres humanos e outros animais (JUNQUEIRA et al. 2017).

Os prejuízos econômicos causados pelos ectoparasitas estão entre os principais fatores de decréscimo da produção animal, os quais provocam sérios danos ao setor agropecuário e consequentemente acarretam grandes prejuízos econômicos (MOYA; BORJA 2003).

No Brasil, a pecuária tem participação expressiva gerando emprego, renda e crescimento econômico para o país. Nesta cadeia, o rebanho bovino apresenta a maior lucratividade, pois proporciona o desenvolvimento de dois segmentos distintos: a cadeia produtiva de corte para produção de carne para o consumo humano e a cadeia produtiva de leite, para produção de leite e seus derivados (MAPA, 2015). No cenário nacional, estima-se que o agronegócio da pecuária de corte gerou em 2019 aproximadamente 618.50 bilhões, 3,5 acima dos 597.22 bilhões alcançados em 2018, o que evidencia a importância econômica e social da pecuária no país (ABIEC, 2020).

O estado de Alagoas, conforme o último censo agropecuário (2017), possui um efetivo bovino de 786.018 mil cabeças, sendo que, deste montante, 81.599 cabeças são de vacas ordenhadas garantindo uma produção média anual de mais de 18 milhões de litros com uma arrecadação média superior a 20 milhões de reais (IBGE, 2017). Estes dados indicam que o setor pecuarista brasileiro participa efetivamente da socioeconomia nacional, desta forma, fica clara a necessidade da mitigação dos fatores limitantes da produtividade, principalmente os provocados pela presença de insetos-praga.

No entanto, o tipo de criação predominante extensiva com grandes áreas ocupadas, associado as condições de clima no Brasil (altas temperaturas e umidade) favorecem a proliferação de vários parasitos, entre eles, *C. megacephala*, acarretando sérios prejuízos para a bovinocultura.

As perdas econômicas causadas pela presença dos parasitos, tanto interno com externo que acometem os bovinos, reduzem significativamente a rentabilidade da atividade pecuária, uma vez que reduz a produção de leite e carne, o índice de fertilidade e ainda causa estresse e perda de peso nos animais. Os prejuízos econômicos no Brasil com investimentos em medicamentos e pesticidas foram de, aproximadamente, R\$ 13,96 bilhões (GRISI et al. 2014).

Para o controle destes insetos, Sukontason et. al. (2005) e Torres et al. (2011) ressaltaram, que o uso de inseticidas sintéticos com aplicações em diferentes formas (spray, banho, brincos, etc.). Contudo, o uso contínuo destes produtos pode desenvolver resistência nos insetos, danos ambientais e atingir de forma negativa os organismos não-alvos, além da exposição inadequada do trabalhador ocasionando sérios riscos à saúde deste que, na sua grande maioria, não cumprem as normas recomendadas de aplicação.

Assim, devido aos prejuízos socioeconômicos, ambientais e para a saúde pública e ainda as exigências por alimentos de alta qualidade no mercado interno e internacional, é crescente a busca por métodos de controle que reduzam ou eliminem os problemas causados pelo uso contínuo de inseticidas. Neste viés, os semioquímicos apresentam-se como um excelente candidato para controle e monitoramento de insetos praga, mitigando os impactos ambientais, os problemas de saúde e econômicos.

Os semioquímicos são sinais químicos que permitem a comunicação entre organismos vivos (Blande, 2017). Esses sinais são utilizados como ferramentas eficientes no manejo integrado de pragas (Hansel et al. 2019; Stevens et al. 2019). Os quais, são classificados, conforme os indivíduos envolvidos nas interações que medeiam, quando os semioquímicos estão envolvidos em interações intraespecíficas são denominados de feromônios, quando os

semioquímicos estão envolvidos em interações interespecíficas são definidos como aleloquímicos. Um aleloquímico é classificado, conforme o ganho ou prejuízo ecológico que produz para o emissor e para o receptor, podendo ser classificado como alomônio, cairomônio ou sinomônio (Zarbin et al. 2009; Mori 2013). No grupo dos aleloquímicos encontra-se também os apneumônios, os quais se encontram em interações envolvendo materiais não vivos (NORDLUND; LEWIS, 1976)

Entre os semioquímicos, os apneumônios podem ser uma alternativa viável na utilização como iscas atrativas em armadilhas na captura de mosca varejeira, uma vez que são atraídas por compostos voláteis emitidos por matéria orgânica em decomposição como sitio de alimentação e oviposição. Os compostos voláteis liberados por diferentes fontes alimentares em períodos distintos de decomposição podem exercer influência no comportamento de *C. megacephala*. Desta forma, identificar as moléculas bioativas em fontes alimentares e propor formulações de iscas com potencial uso em armadilhas de monitoramento e controle de *C. megacephala*, constitui o objetivo dessa pesquisa.

Assim, esta tese está organizada em duas partes. A primeira parte constitui uma introdução geral, contendo uma revisão bibliográfica sobre aspectos gerais, ciclo reprodutivo e métodos de controle da espécie *C. megacephala* até agora em uso. A segunda parte está dividida em quatro capítulos. O **Capítulo 1**, intitulado “Caracterização e dimorfismo sexual da mosca varejeira *Chrysomya megacephala*” objetivou identificar e quantificar morfológica e morfometricamente as estruturas corporais da espécie, para auxiliar na identificação da mesma.

O **Capítulo 2**, cujo título é “Identificação e avaliação da influência comportamental dos apneumônios emitidos por diferentes fontes alimentares frente a mosca, *Chrysomya megacephala* Fabricius, 1794 (Diptera- Calliphoridae), propôs avaliar o potencial atrativo dos compostos orgânicos voláteis emitidos de três fontes alimentares, em diferentes períodos de decomposição, para fêmeas e machos de *C. megacephala*.

No **Capítulo 3**, está anexado um depósito de Patente de utilidade, “Olfatômetro de quatro braços adaptados para mosca varejeira” que descreve uma nova metodologia adequada para a realização de bioensaios com moscas, especificamente moscas varejeiras a partir de modificações em olfatômetro de quatro braços e, para finalizar, o **Capítulo 4**, apresenta um depósito de Patente de Invenção “Isca natural com atratividade para moscas varejeiras a base de apneumônios, eficaz no monitoramento e controle da população adulta de moscas varejeiras, *Chrysomya megacephala* – (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae)” referente a uma isca natural atraente para moscas varejeiras, a partir camarão em estágio de decomposição, 48h.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da espécie

A espécie *C. megacephala* (Fabricius 1794) (Diptera: Calliphoridae) encontra-se em toda a região biogeográfica, ou seja, apresenta distribuição cosmopolita. A família Calliphoridae está dividida em 11 subfamílias, 150 gêneros e aproximadamente 1.500 espécies caracterizadas (MARINHO et al. 2017; ELÁSQUEZ et al. 2017; ZHANG et al. 2016).

Acredita-se que a espécie foi introduzida no Sul do Brasil na década de 70, provavelmente através de navios que carregavam os refugiados que saíam da Angola para o Brasil acompanhados de seus animais domésticos, geralmente em péssimas condições de higiene (GUIMARÃES et al. 1979), proporcionando a expansão acelerada da espécie em toda a América do Sul (OLIVEIRA-COSTA, 2013) onde é conhecida popularmente por mosca varejeira (OLIVEIRA-COSTA, 2011).

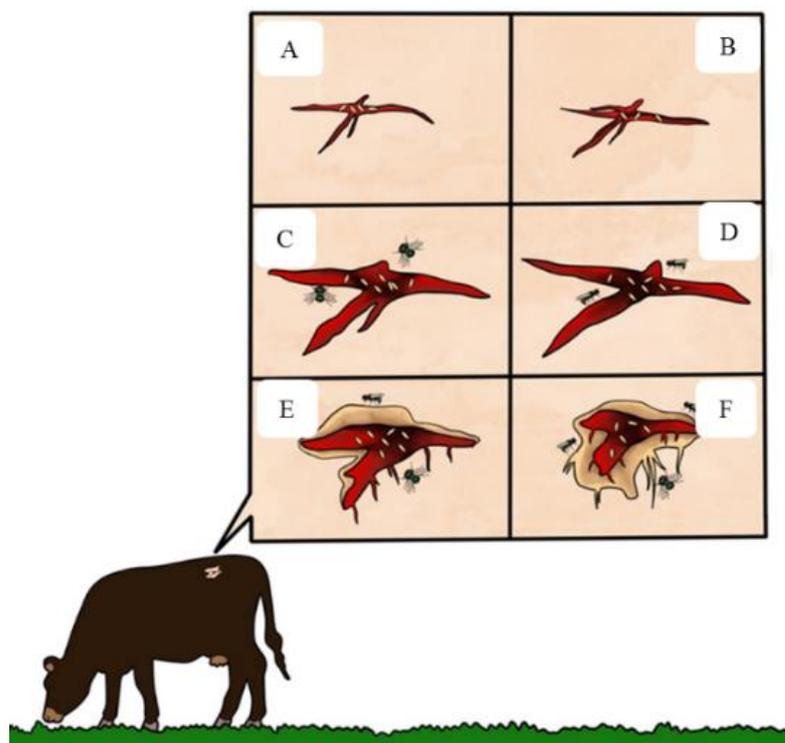
Os insetos adultos, são geralmente robustos com tamanho que variam de 4 a 16 mm de comprimento. Apresentam coloração que varia de azul a verde metálica em todo o tórax e abdômen e os seus olhos são compostos com uma grande quantidade de omatídios, que os confere tons vermelhos (CARVALHO; MELLO-PATIU, 2008; GOMES, 2010). Exibem antenas com aristas plumosas, genas com coloração alaranjada e apresentam dimorfismo sexual, sendo que os machos apresentam olhos holópticos enquanto que nas fêmeas estes são dicópticos (OLIVEIRA-COSTA, 2013).

Nas fases larvais desenvolvem-se geralmente em detritos orgânicos principalmente fezes e carcaças de animais mortos, mas também se desenvolver em tecidos de animais vivos, conforme os hábitos alimentares das larvas são consideradas parasitas obrigatórios e/ou facultativos (OLIVEIRA-COSTA et al. 2007).

Quando o desenvolvimento das larvas das moscas acontece nos tecidos do homem ou de outros animais vertebrados, há evidências de que os califorídeos se alimentam dos tecidos vivos ou mortos do hospedeiro, nos quais, adquiriram proteínas para a nutrição e desenvolvimento (RAFAEL et al 2012). Quando instaladas nos tecidos de bovinos, por exemplo, causam lesões na pele dos hospedeiros e como consequência geram perdas significativas na produção de leite, carne, danos na qualidade do couro e, dependendo do nível de infestação, pode levar o indivíduo a óbito (Figura 1).

A miíase, como é chamada esta infecção, pode acometer também o homem, provocando lesões dérmicas, resultando em pontos de entradas para infecções (GUIMARÃES et al. 1983).

Figura 1: Desenvolvimento das larvas de *Chrysomya megacephala* no hospedeiro. A) massa de ovos depositadas no hospedeiro. Larvas de diferentes instares se alimentado nos ferimentos do hospedeiro(A, B, C, D, E e F).



Adaptado de old-world screw-worm fly: a diagnostic manual (2017)

Essas moscas possuem enorme importância médica-sanitária, uma vez que suas larvas provocam miíases secundárias em animais e seres humanos, ou seja, suas larvas infectam áreas já ulceradas (SCHOLL et al. 2019). Já os adultos, são referenciados como insetos-vetores de vários tipos de patógenos, como; vírus, bactérias, helmintos entre outros (CARNEIRO et al. 2014).

2.2- Ciclo de vida de mosca varejeira, *Chrysomya megacephala*

Essa espécie é considerada holometábola, com o ciclo reprodutivo em quatro distintos estágios: ovo, larva (três instares), pupa e adulto (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2011). A

longevidade dessa espécie pode variar de um até dois meses (Figura 2) (GABRE et al. 2005; BARROS-CORDEIRO; PUJOL-LUZ, 2010).

Figura 2: Ciclo de vida mosca varejeira, *Chrysomya megacephala*



Fonte: Adaptado de old-world screw-worm fly: a diagnostic manual (2017)

Os ovos de *C. megacephala* são geralmente pequenos, translúcidos e apresentam estreitamentos nas duas extremidades, medem aproximadamente 0,52 mm de comprimento (DAVID; ROCHA; CAETANO, 2008).

As larvas de primeiro instar são caracterizadas por possuírem tamanho médio de 3,22 mm de comprimento, o corpo dividido em 12 segmentos e cada um destes apresentam fileiras de micro espinhos que podem variar em tamanho, forma e posição. Apresentam um par de antenas, um palpo e a crista oral e dentes supra bucais, com esqueleto cefalofaríngeano com pouca pigmentação e esclerotizado. Exibem um par de espiráculos posteriores com uma única abertura espiracular, e formação do peritrema com desenvolvimento incompleto. Este instar tem duração média 16 horas (BARROS-CORDEIRO; PUJOL-LUZ, 2010).

As larvas do segundo ínstar apresentam um maior desenvolvimento, com comprimento médio de 7,97 mm. Possuem, na região posterior do último segmento abdominal, um par de espiráculos com duas aberturas cada. O espiráculo e o peritrema apresentam desenvolvimento parcial e pigmentado com nove ou dez brânquias, têm esclerotização forte na maxila,

pigmentação e curva com ápice pontiagudo e a mandíbula apresenta-se fusionada à maxila (BARROS-CORDEIRO; PUJOL-LUZ, 2010).

Já as larvas de terceiro instar têm o comprimento médio de 15,51 mm, possuem esqueleto cefalofaríngeano totalmente formado, os epiráculos anteriores apresentam-se desenvolvidos e pigmentados. No último segmento abdominal os cada espiráculos posteriores encontram-se com três aberturas e peritrema incompleto com 10 a 12 brânquias (BARROS-CORDEIRO; PUJOL-LUZ, 2010).

Após o terceiro instar, as larvas atingem o máximo de crescimento, abandonam as lesões e migram para o solo, iniciando o processo de pupa (HINTON, 1946). As pupas se desenvolvem em um envoltório formado pelo endurecimento da cutícula da última fase larval. Tem forma arredonda com média de 9,34 mm comprimento e 3,34 mm de diâmetro, onde permanecem até a emergência do adulto (SIRIWATTANARUNGSEE et al. 2005).

2.3 Métodos empregados no controle de *Chrysomya megacephala*

Os métodos de controles da *C. megacephala* encontram-se baseados nos métodos tradicionais, os quais podemos citar: químico, mecânicos, biológico, e os oriundos de extratos de vegetais, e ainda tecnologia genética, que tem como objetivo a seleção de animais menos suscetível as infestações (FOIL; HOGSETTE, 1994; TELLAM; BOWLES, 1997; MALIK et al. 2007; SANDEMAN et al. 2014).

2.3.1 Controle químico

A estratégia clássica para o controle da mosca varejeira é através do uso de inseticidas, uma prática muito utilizado no setor agropecuário (VARGAS-TERBÁN et al. 2005). A aplicabilidade deste tipo de controle foram de maneira inadequada, provocaram sérios danos à saúde e ao meio ambiente, além de causarem grandes perdas econômicas ao setor agropecuário, em razão das inúmeras aplicações (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018).

O uso inapropriado dos produtos químicos para o controle de *C. megacephala*, sem o cumprimento das normas de aplicabilidade e segurança, pode ter como consequência acúmulo de resíduos químicos de (organofosforados e piretroídes), os quais podem ser encontrados nos alimentos como na carne e no leite (CORONEL, 2011). Todavia, mesmo assim o controle é realizado com este grupo químico, pois como relataram Mihara; Kurahashi (1991) e Sukontason et al. (2005) estes são os mais ativos em populações adultas de *C. megacephala*.

Os compostos organofosforados (OFs) são muito usados pela sua alta eficiência contra uma grande variedade de pragas, além de serem referenciados como o grupo de pesticidas com maior praticidade, uma vez que tem degradação rápida no meio ambiente, com um menor impacto ambiental (GUEVARA; PUEYO, 1995). O mecanismo de ação dos OFs ocorre pela inibição das enzimas esterases, acetilcolinesterase (AChE) nas sinapses nervosas (SILVA et al. 2010).

Golan (2009) e Katzung (2014) destacam que a acetilcolinesterase é uma enzima de grande atividade na degradação do neurotransmissor acetilcolina, que se encontra presente na fenda sináptica, que ocorre durante a transmissão do impulso nervoso. Os organofosforados ligam-se ao sítio ativo das enzimas, causando a inibição da sua ação. Como consequência ocorre acúmulo de acetilcolina nos colinoreceptores, gerando alta toxicidade ao organismo.

2.3.2 Controle biológico

Conforme Parra (2002), o controle biológico é definido como um fenômeno natural, onde um determinado número de animais pertencente a uma referida espécie é restringido pela ação de seus inimigos relacionados. O controle biológico pode ser utilizado de duas formas: de maneira natural (evento natural) sem a intervenção do homem e com a interferência humana, capaz de manipular e/ou introduzir organismo e controlar a praga de forma eficiente (PARRA, 2002).

O uso de microhimenópteros como parasitóides de *C. megacephala* já foi muito utilizado e comercializado no meio rural em diversos países. Carvalho et al. (2003) citam as espécies *Tachinaephagus zealandicus* (Encyrtidae), *Pachycrepoideus indemiae* (Pteromalidae) e *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) como o microhimenópteros parasitóides da mosca varejeiras. Carvalho et. al. (2004) avaliando a ação destes parasitóides verificaram um alto índice de parasitismo em pupas e larvas, demonstrando, serem promissores para o controle biológico.

O controle biológico com utilização de fungos também pode ser eficaz para a mosca varejeira. Um estudo realizado por Carramaschi et al. (2015) com cepas de *Brevibacillus laterosporus* demonstrou que estes possui ação larvicida com alta toxicidade. Esses resultados sugerem que *B. laterosporus* poderá ser utilizado para desenvolver bioinseticidas no controle de *C. megacephala*.

De acordo com Usta (2013), os métodos de controle biológico para a espécie *C. megacephala* a partir dos parasitoides *T. zealandicus*, *P. vindemiae*, *N. vitripennis* e dos fungos

entomopatogênicos *B. laterosporus* e *B. thuringiensis*, apresentam-se como uma alternativa promissora para a redução do uso de agroquímico, à medida que reduz os impactos ambientais, apresentam espectro de ação restrito a determinada praga, exposição de riscos reduzidos para o ser humano, além da redução dos resíduos químicos nos alimentos.

2. 3.3 Produtos naturais (extrato de vegetais)

Na busca por métodos de controle que proporcionem menor impacto ambiental, compatíveis com os programas de manejo integrado das pragas (MIP), as plantas com ação inseticidas e seus extratos são apontados como ferramentas importantes, pois apresentam propriedades toxicológicas favoráveis, minimização dos efeitos sobre os organismos não alvos, menor impacto ambiental, além da redução dos problemas de saúde para o homem e animal (VASCONCELOS et al. 2006).

As plantas estabeleceram uma importante estratégia de defesa a partir dos metabólitos secundários. Vários desses metabólitos podem interromper etapas fisiológicas dos insetos, relacionadas ao sistema neuroendócrino atingindo aspectos reprodutivos e da metamorfose, de maneira que constituem um importante método alternativo de controle (STOKA, 1987; GARCIA; AZAMBUJA, 2004).

Ao analisar o efeito fitotóxico do látex liofilizado de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) no desenvolvimento pós-embriônico de *C. megacephala*, Mendonça et al. (2011) verificaram que houve alteração nos períodos de desenvolvimento e nos pesos das pupas e em altas concentrações alteraram o ciclo reprodutivo do inseto.

O extrato de Nim (*Azadirachta indica*) é um produto natural bastante promissor no controle de *C. megacephala*. Deleito e Borja (2008) verificou redução acima de 90% de pupas na concentração de 0,06% de óleo de nim em condições de campo e laboratório. Siriwattananurongsee et al. (2008) verificaram que a azadiractina, presente nos extratos de nim, reduziu a emergência de adultos e ainda ocasionou a diminuição na fecundidade de geração subsequente.

A eficácia de outras espécies vegetais já foi comprovada para a mosca varejeira apresentando, inclusive, diferentes modos de ação, tais como, ação de repelência em óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* e *Carapa guianensis* (KLAUCK et al. 2015), ação larvicida e adulticida com óleos essenciais de *Citrus hystrix* (SUWANNAYOD et al. 2018), ação ovicida com *Anacardium occidentale* (FERREIRA DE CARVALHO et al. 2019) e ação

sinérgica com óleos essenciais de *Boesenbergia rotunda*, *Curcuma longa*, *Citrus hystrix* *Ocimum gratissimum* e *Zanthoxylum limonella* (SUWANNAYOD et al. 2019).

Tais estudos deixam evidentes que os compostos que se encontram nas plantas possuem propriedades que podem ser tóxicas, repelentes, deterrentes de alimentação e/ou oviposição, além das peculiaridades de inibidoras de crescimento e esterilizantes, as quais formam uma defesa química contra organismos que se alimentam de vegetais e outros insetos (GUPTA et al. 2001; SAAD et al. 2017).

2.3.4 Utilização de semioquímicos

Semioquímicos são compostos químicos liberados por muitas espécies como um meio de comunicação intra e interespecífica. Nos insetos, esses compostos químicos são identificados em seu sistema olfativo, que é extremamente aguçado, graças à complexidade das antenas, órgãos dedicados fundamentalmente à detecção de estímulos olfativos, mecânicos, térmicos ou hídricos. Além das sensilas presentes nas antenas, os insetos podem detectar odores mediante sensilas presentes nos palpos maxilares ou labiais. Essa comunicação química é necessária para garantir a sobrevivência da espécie, uma vez que é usada para encontrar parceiros para o acasalamento, localizar sítios de alimentação e oviposição, plantas hospedeiras e identificar situações de perigo (BREZOLIN et al. 2018; LIMA; BLANDE, 2017; LORENZO; MELO, 2012).

Esses sinais químicos podem ser intraespecíficos, ou seja, comunicação ocorre entre os indivíduos da mesma espécie e são chamados de feromônios. De acordo com a alteração provocada no comportamento, são classificados como sexual, de trilha, de alarme ou de agregação. Quando a comunicação ocorre entre indivíduos de espécies diferentes, os sinais químicos envolvidos mediam as relações interespecíficas e são denominados de aleloquímicos (ZARBIN et al. 2009; MORI, 2013). Os aleloquímicos são classificados a partir das vantagens ou prejuízo ecológico que provocam ao organismo emissor e/ou receptor, podendo ser classificado em alomônio, cairomônio ou sinomônio (ZARBIN et al. 2009; MORI, 2013).

Já os apneumônios são referenciados como aleloquímicos que estão associados à matérias não vivas, os quais formam interações entre organismos que são atraídos por sinais que se beneficiam a partir dessa fonte de matéria não viva, entretanto, os sinais são nocivos para outros organismos, de outras espécies, que se associem à matéria não viva (NORDLUND; LEWIS, 1976).

O fato dos semioquímicos desencadear mudanças nas respostas comportamentais dos insetos, faz com que esses compostos sejam apontados como uma ferramenta promissora para o monitoramento e controle de pragas (TREMATERRA, 2012). Os semioquímicos têm sido muito utilizados como estratégia eficiente no manejo integrado de pragas (MIP).

Conforme Smith (1986) os apneumônios são compostos voláteis emitidos no decorrer do estágio de decomposição das carcaças, que favorecem as moscas-varejeiras a encontrar locais para a alimentação de sua prole, para a oviposição e para encontrar parceiro sexual. Assim, entender os fatores que influenciam no comportamento das moscas para oviposição e alimentação podem auxiliar no desenvolvimento de ferramentas com aplicabilidade nas estratégias de monitoramento e controle de insetos- pragas (PATEL-HARDIK, GOHIL, 2014)

Para Richards et al. (2013) a utilização de carcaças de animais em diferentes estágios de decomposição para substrato de oviposição tem reflexo na velocidade de desenvolvimento, no período necessário para pupação e no tamanho do inseto adulto. Na concepção de Johansen et al. (2013) a partir dos perfis dos compostos voláteis pelas carcaças de diferentes animais, as moscas são capazes de perceber substratos com diferentes estágios de decomposição e a potencialidade como fontes para alimentação e oviposição, sem contato visual ou gustativo.

Alguns estudos propuseram a análise da utilização de carcaças de diferentes animais em estágios de decomposição como fontes atrativas e obtiveram alto índice de captura de moscas varejeiras. Vale citar os trabalhos de Moretti et al. (2008) com a atratividade da carcaça de camundongo (*Mus musculus*) e rato (*Rattus norvegicus*) e Biavati et al. (2010), Ortloff et al. (2012) e Alves et al. (2014) com carcaças de porco (*Sus scrofa*).

2.4 Técnica de identificação taxonômica

A identificação morfológica é realizada por meio de chaves de identificações alicerçadas nas características morfológicas de cada espécie sendo considerada muito segura. A identificação correta de um inseto é o princípio básico para solucionar problemas entomológicos e a biologia do inseto (FUJIHARA, 2011).

A organização de chaves para identificação foi de suma importância para a ciência que se iniciava no século XVII, visto que se tornou possível verificar rapidamente com segurança as características minuciosas de diversos organismos (WALTER, WINTERTON, 2007).

Dentre as principais formas de apresentação com diferenças pequenas estruturais e gráficas estão chaves pictóricas, dicotômicas e interativas (SELTMANN, 2004; FUJIHARA,

2008). No entanto, para processamento da identificação é necessário uma grande quantidade funcional de caracteres, que podem ser divididos em monotéticas ou politéticas, conforme a disposição dos elementos na chave (PAPAVERO, 1994)

De acordo com Seltsmann (2004) as chaves pictóricas apresentam imagens anexas que ilustram o caráter taxonômico, uma técnica que facilita o uso da chave e provavelmente resulta em um maior número de identificações corretas, sendo muito utilizadas em manuais e publicações semelhantes.

As chaves dicotômicas, também conhecidas como convencionais, são exemplos que se encaixam no tipo monotética, e possuem ilustrações, importantes em casos de descrição de novos táxon ou para auxiliar usuários não taxonomistas (PAPAVERO, 1994; DALLWITZ et al 2000; WALTER, WINTERTON, 2007)

As características morfológicas da espécie pesquisada estão descritas em chaves dicotômicas e pictóricas propostas por Mello et al (2003) e Grella et al (2015) para identificação das formas adultas da família Calliphoridae, incluindo a espécie *C. megacephala*.

2.5 Análises morfométricas

O uso da morfometria tradicional é uma ferramenta importante para complementar a identificação morfológica das espécies. Conceitualmente, a análise morfométrica é um estudo quantitativo de tamanho biológico e diferentes formas e variação nos espécimes correlacionando-os com fatores bióticos e abióticos (WEBSTER; SHEETS, 2010).

De acordo com Silva (2008) a morfometria é a expressão matemática das diferenças entre as formas. O estudo morfométrico pode ser aplicado como estratégia em estudo entomológico e auxiliar em diversos ramos (PIRES, 2006).

3 REFERÊNCIAS

ALVES, A. C. F. et al. Blowflies (Diptera, Calliphoridae) associated with pig carcasses in a Caatinga area, Northeastern Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 2, p. 122-126, 2014.

BARROS-CORDEIRO, K.B. & PUJOL-LUZ, J. R. Morfologia e duração do desenvolvimento pós embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 50, p. 709-717, 2010.

BAUTISTA, C. R., et al. Immunization of bovines with concealed antigens from *Haemato irritans*. **Anna Isof the New York Academy of Sciences**, v. 1026, p. 284-288, 2004.

BIAVATI, G. M.; DE ASSIS SANTANA, F.H.; PUJOL-LUZ, J. R. A checklist of *Calliphoridae blowflies* (Insecta, Diptera) associated with a pig carrion in Central Brazil. **Journal of Forensic Sciences**, v. 55, n. 6, p. 1603-1606, 2010.

BLANDE, J. D. Chapter Eleven-Plant Communication With Herbivores. *Advances in Botanical Research*, v. 82, p. 281-304, 2017.

BRAGA, L. B. F. et al. Miíase associada a erisipela bolhosa. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 3, p. 271-276, 2011.

BREZOLIN A. N. et al. Ferramentas para detectar semioquímicos de insetos: uma revisão . **Analytical and Bio analytical Chemistry**, v. 410, p. 4091 – 4108, (2018)

CARNEIRO, J. S. et al. Bacteria carried by *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) in Sinop, Mato Grosso, Brazil. **Scientific Electronic Archives**, v. 6, p. 18-22, 2014.

CARRAMASCHI, I. N. et al. Preliminary screening of the larvicidal effect of *Brevibacillus laterosporus* strains against the blowfly *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794)(Diptera: Calliphoridae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 4, p. 427-431, 2015.

CARVALHO, A. R., D'ALMEIDA, J. M., MELLO, R. P. Mortalidade de larvas e pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) e seu parasitismo por microhimenópteros na cidade do Rio de Janeiro, RJ. **Neotropical Entomology**, v.33, n.1, p. 505-509, 2004.

CARVALHO, A. R.; MELLO, R. P.; D'ALMEIDA, J. M.. Microhimenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala*. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, p. 810-812, 2003.

CARVALHO, C. J. B.; MELLO-PATIU, C. A. Key to the adults of hemost common forensic species of Diptera in South America. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 3, p. 390-406, 2008.

CARLA VANESSA A. LOPES; GUILHERME SOUZA C. DE ALBUQUERQUE. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde de bate** vol.42 no.117 Rio de Janeiro abr./jun. 2018.<http://dx.doi.org/10.1590/0103-1104201811714>.

CORONEL, P. F. **Análise filogeográfica da mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax***. 2011. 113 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2011.

DALLWITZ, M. J. et al. Principles of interactive keys. **Web-based document**. <http://biodiversity.uno.edu/delta>, v. 3, 2000.

DAVID, J. A. O.; ROCHA, T.; CAETANO, F. H. Ultramorphological characteristics of *Chrysomya megacephala* (Diptera, Calliphoridae) eggs and its eclosion. **Micron**, v. 39, n. 8, p. 1134 -1137, 2008.

DELEITO, C. S. R.; BORJA, G. E. M.. Nim (*Azadirachta indica*): uma alternativa no controle de moscas na pecuária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 6, p. 293-298, 2008.

FERRAZ, A. C. P.. Efeitos de borda em florestas tropicais sobre artrópodes, com ênfase nos dípteros ciclorrafos. **Oecologia Australis**, v. 15, n. 2, p. 189-198, 2011.

FERREIRA CARVALHO, G. H. **Caracterização química e avaliação do efeito inseticida de frações obtidas de *Anacardium occidentale* sobre vetores de doenças e insetos-pragas agrícolas**. 2018. 78 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

FOIL, L. D. et al. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. **Revue scientifique et technique-Office international des épizooties**, v. 13, n. 4, p. 1125-1158, 1994.

FUJIHARA, R. T. **Chave Pictórica de Identificação de Famílias de Insetos-Praga Agrícolas**. 2008. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

FUJIHARA, R.T. et al. **Insetos de importância econômica: guia ilustrado para identificação de famílias**. Botucatu, FEPAF Editora, 2011. 391p.

FURLANETTO, S. M. P. et al. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil. **Revista de Microbiologia**, v.15, p.170-174, 1984.

GABRE, R. M.; ADHAM, F. K.; CHI, H.. Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). **Acta oecologica**, v. 27, n. 3, p. 179-183, 2005.

GARCIA, E. S.; AZAMBUJA, P. Lignoids in insects: chemical probes for the study of ecdysis, excretion and *Trypanosoma cruzi*- triatomine interactions. **Toxicon**, v. 44, n. 4, p. 431-440, 2004.

GOLAN, D. et al. Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia. In: **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2009. 952 p.

GOMES, L. **Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais**. Editora: **Technical Books**, 2010. 523 p.

GRELLA, M. D. et al. Phenotypic polymorphism of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) may lead to species misidentification. **Acta tropica**, v. 141, p. 60-72, 2015.

GUEVARA, J.L.; PUEYO, V.M. Toxicología médica: clínica y laboral, Madrid: Interamericana, **McGraw-Hill**, 1995.

GUIMARÃES, J. H. et al. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 23, n. 4, p. 245-255, 1979.

GUIMARÃES, J.H., PRADO, A. P., LINHARES, X. Three newly introduced blow fly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 22, n. 1, p. 53-60, 1978.

GUPTA, A.; UPADHYAY, R.K.; SAXENA, P.N. Toxicity evaluation on certain blood biochemical parameters in *Passer domesticus*(Linn.). **Journal of Scientific and Industrial Research**, v.60, n.1, p.668-674, 2001.

HANSEN, E.M. et al. Advances in Semiochemical repellents to mitigate host mortality from the Spruce Beetle (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**. 112(5): 2253-2261. 2019.

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annual Review of Entomology**, v. 45, n. 1, p. 371- 391, 2000.

HINTON, H. E. Concealed phases in the metamorphosis of insects. **Nature**, v. 157, n. 3991, p. 552-553, 1946.

HORENSTEIN, M. B. Decomposição and dipteran succession in pig carrion in central Argentina: ecological aspects and their importance in forensic Science. **Medical and Veterinary Entomology**, v.24, p.16-25, 2010

JOHANSEN, H. et al. Blow fly responses to semiochemicals produced by decaying carcasses. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. 1, p. 26-34, 2014.

JUNQUEIRA, A. C. M., RATAN, A., ACERBI, E., DRAUTZ-MOSES, D. I., PREMKRISHNAN, B. N. V., COSTEA, P. I., ... SCHUSTER, S. C. (2017). The microbiomes of blowflies and houseflies as bacterial transmission reservoirs. **Scientific Reports**, 7(1). doi:10.1038/s41598-017-16353-x

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 991 p

LINHARES. A. X. Miiases e Entomologia Forense. In NEVES, D. P. **Parasitologia humana**, 12 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p.423-432.

LORENZO, M. G.; MELO, A. C. A. Olfacção e Comportamento. In: DA SILVA NETO, M. A. Ca.; WINTER, C.; TERMIGNONI, C. (Ed.). **Topicos Avançados em Entomologia Molecular: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**. Itabajara da Silva Vaz Junior, 2012.

MALIK, A.; SINGH, N.; SATYA, S. House fly (*Musca domestica*): a review of control strategies for a challenging pest. **Journal of environmental science and health**, v. 42, n. 4, p. 453-469, 2007.

MARINHO, M. A. T. et al. The first phylogenetic study of Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea) based on molecular data: clades and congruence with morphological characters. **Cladistics**, v. 33, n. 2, p. 134-152, 2017.

MARQUES, G. R. A M. et al. Água de abastecimento público de consumo humano e oviposição de *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 3, p. 579-587, 2012.

_____. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Bovinos e Bubalinos. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>. Acesso em: 14 de Setembro de 2020.

MELLO, R. P. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. **Entomologia y vectores**, v. 10, n. 2, p. 255-268, 2003.

MENDONÇA, P. M. et al. Effects of latex from “Amapazeiro” *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) on blowfly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) post-embryonic development. **Veterinary Parasitology**, v. 178, n. 3-4, p. 379-382, 2011.

MIHARA, M.; KURAHASHI, H. Base-line susceptibility of the oriental latrine fly, *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), to five insecticides. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 5, n. 1, p. 51-54, 1991.

MORETTI, T. C. et al. Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. **European Journal of Entomology**, v. 105, n. 4, p. 691-696, 2008.

MORI, K. Chemical Ecology. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, p.1-2, 2013.

MOYA, G.; BORJA, E. Erradicação ou manejo integrado das míases neotropicais das Américas?. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 131-138, 2003.

NORDLUND, D. A.; LEWIS, W. J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v. 2, n. 2, p. 211–220, 1976.

OLIVEIRA, V. C. et al. Enterobactérias associadas a adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1754) (Diptera: Calliphoridae) no Jardim Zoológico, Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 556 - 561, 2006.

OLIVEIRA-COSTA, J. et al. **Entomologia Forense - Quando os insetos são vestígios**. 2 ed.: Millenium. 2007. 420p.

OLIVEIRA-COSTA J.. **Insetos “Peritos”**: A Entomologia Forense no Brasil, 5. Ed. Millenium. 2013

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia forense: quando os insetos são vestígios**. 3 ed. São Paulo: Millenium, 2011. 520 p.

ORTLOFF, A.; PENA, P.; RIQUELME, M.. Preliminary study of the succession pattern of necrobiont insects, colonising species and larvae on pig carcasses in Temuco (Chile) for forensic applications. **Forensic Science International**, v. 222, n. 1-3, p. e36-e41, 2012.

PAPAVERO, N. **Fundamentos práticos de taxonomia zoológica: coleções, bibliografia, nomenclatura**. UNESP, 1994.

PARRA, J. R. P. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole Ltda, 2002.

PATEL-HARDIK, P. P.; GOHIL, P. V. Pheromones in Animal World: Types, Detection and its Application. **Scholars Academic Journal of Biosciences**, v. 2, n. 1, p. 22-26, 2014.

PIRES, E. M. **Estágios imaturos, morfologia interna e morfometria de *Plastyscytus decempunctatus* (Carvalho, 1945) (Heteroptera: Miridae)**. 2006. 72f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RAFAEL, J. A.; et al. **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Hollos, 2012. 810 p.

RICHARDS, C. S. et al. Decomposed liver has a significantly adverse affect on the development rate of the blowfly *Calliphora vicina*. **International Journal of Legal Medicine**, v. 127, n. 1, p. 259-262, 2013.

SANDEMAN, R. M. et al. Control of the sheep blowfly in Australia and New Zealand—are we there yet?. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 12, p. 879-891, 2014.

SELTMANN, K. **Building web-based interactive keys to the Hymenopteran families and superfamilies**. 2004. 73f. Dissertação (Master of Science in Entomology) – College of Agriculture, University of Kentucky. 2004.

SILVA, C. R. C. **Avaliação do processamento auditivo em trabalhadores rurais expostos ocupacionalmente a agrotóxicos organofosforados**. Dissertação (Programa de PósGraduação em Saúde Coletiva). Universidade do Rio de Janeiro. 2010.

SILVA, T. G. A.. **Caracterização morfológica e molecular de *Anastrepha bistrigata* Bezzi e *Anastrepha striata* Schiner (Díptera: Tephritidae)**. 2008. 65p. Dissertação (Mestrado).Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, Brasil, 2008.

SIRIWATTANARUNGSEE, S. et al. Morphology of the puparia of the housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) and blowfly, *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). **Parasitology Research**, v. 96, n. 3, p. 166-170, 2005.

SIRIWATTANARUNGSEE, S. et al. Efficacy of neem extract against the blowfly and housefly. **Parasitology Research**, v. 103, n. 3, p. 535, 2008.

STOKA, A. Ecdysteroids, juvenile hormones and metamorphosis in triatominae. In: BRENER, R. R.; STOKA, A. M. (Eds.). **Chagas' Disease Vectors (Anatomic and Physiological Aspects)**, v. 2, p. 71-99, 1987.

SUKONTASON, K. et al. Susceptibility of *Musca domestica* and *Chrysomya megacephala* to permethrin and deltamethrin in Thailand. **Journal of Medical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 812-814, 2005.

SUWANNAYOD, S. et al. Activity of kaffirlime (*Citrus hystrix*) essential oil against blow flies and house fly. **Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health**, v. 49, p. 32-45, 2018.

SUWANNAYOD, S. et al. Toxicidade sinérgica de óleos essenciais de plantas combinados com inseticidas piretróides contra moscas sopradas e mosca doméstica. **Insect**, v.10, n. 6, 2019,

SCHOLL, P. J.; COLWELL, D. D.; CEPEDA-PALACIOS, R.. Myiasis (Muscoidea, Oestroidea). In: *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press, 2019. p. 383-419.

STEVENS, M.M.; WOOD, R.M.; M.O, JH. Monitoring flight activity of *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera Laemophloeidae) in outdoor environments using a commercial pheromone lure and the kairomone 1-octen-3-ol. *Journal of Stored Products Research*. 83: 227-235.2019.

TELLAM, R. L.; BOWLES, V. M. Control of blowfly strike in sheep: current strategies and future prospects. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 3, p. 261-273, 1997.

TORRES, L. Functional genomics of the horn fly, *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758). *BMC Genomics*, v. 12, n. 105, p. 1-14, 2011.

TREMATERRA, P.. Advances in the use of pheromones for stored-product protection. **Journal of Pest Science**, v. 85, n. 3, p. 285-299, 2012.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Estudo dos Insetos**. Cengage Learning. 1984. 808p.

USTA, C. **Microorganisms in Biological Pest Control - A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors)**. Current Progress in Biological Research: INTECH. 2013.

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

VASCONCELOS, G. J. N. et al. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Ciencia Rural**, v.36, n., p.1353-1359, 2006.

WALTER, D. E.; WINTERTON, S.. Keys and the crisis in taxonomy: extinction or reinvention?. **Annual Review Entomology**, v. 52, p. 193-208, 2007.

WEBSTER, M. A. R. K.; SHEETS, H. D.. A practical introduction to landmark-based geometric morphometrics. **The Paleontological Society Papers**, v. 16, p. 163-188, 2010.

ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 722-731, 2009.

ZHANG, D. et al. Phylogenetic inference of calyptrates, with the first mitogenomes for Gasterophilinae (Diptera: Oestridae) and Paramacronychiinae (Diptera: Sarcophagidae). **International Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 5, p. 489, 2016.

**CAPITULO 1: CARACTERIZAÇÃO E DIMORFISMO SEXUAL DA MOSCA
VAREJEIRA, *Chrysomya megacephala* (FABRICIUS, 1794)
(DIPTERA:CALLIPHORIDAE)**

RESUMO

As moscas varejeiras são consideradas pragas de interesse à saúde pública e para o setor agropecuário, geralmente encontradas junto à matéria orgânica em decomposição. Esta associação com os hábitos alimentares, confere a estes insetos uma grande importância do ponto de vista médico e veterinário. Assim, a presente pesquisa objetivou caracterizar a morfologia, quanto morfometria, identificar os tipos e distribuição das sensilas presentes nas antenas e encontrar diferenças quantitativas que possibilitem sua diferenciação sexual. Para isso utilizaram-se diferentes técnicas. Para as avaliações, os espécimes foram coletados em dois municípios (Maceió e Rio-Largo, AL), através da coleta passiva, mediante a instalação de armadilhas. Os espécimes foram identificados baseados em chaves taxonômicas, com auxílio de microscópio estereoscópio com ocular graduada. Para as análises morfométricas foram utilizadas 100 moscas, 50% de ambos os sexos, um microscópio estereoscópico com ocular graduada, uma régua milimetrada e um paquímetro digital de marca, Stainlesshar dened. Para as análises morfofisiológicas das antenas, as avaliações dos tipos de sensilas distribuídas nos segmentos antenais e caracterização de dimorfismo sexual em *C. megacephala*, utilizou-se a técnica da Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV). Foram coletados 1562 espécimes, sendo que 743 identificadas como *C. megacephala* e 819 espécimes não foram identificados. Os resultados obtidos identificaram a espécie *C. megacephala* como predominante nos dois municípios coletados, essa espécie pertence ao gênero *Chrysomya* e família *Calliphoridae*. As análises morfométricas das estruturas corpóreas de *C. megacephala* permitiram ratificar a espécie e constatarem dimorfismo sexual presente na região da cabeça. Nas estruturas corpóreas entre os sexos foram observadas diferenças significativas na maioria das variáveis analisadas. Nas antenas de *C. megacephala* três segmentos foram observados (escapo, pedicelo, flagelo e arista, localizada dorso-lateralmente na antena), através das análises do comprimento e largura dos segmentos antenais, foram observadas diferenças significativas entre ambos os sexos no pedicelo, flagelo e na arista ao nível $P < 0,05$ pelo teste t (Student), observou-se dimorfismo sexual nesses segmentos. Diferenças significativas não foram observados nas sensilas de *C. megacephala* ao nível $P > 0,05$ pelo teste t (Student). As análises morfológicas das antenas das moscas machos e fêmeas de *C. megacephala* constatarem sensilas com distintas características morfológicas e funções, que provavelmente influenciaram o comportamento da referida espécie. Desta forma, este estudo identificou a espécie predominante nos municípios, proporcionou o conhecimento biológico de *C. megacephala* e possibilitará o desenvolvimento de métodos de controle e monitoramento eficientes para referida praga.

Palavras Chaves: Técnicas de identificações; Dimorfismo sexual; Segmentos antenais.

CHAPTER 1: FLY CHARACTERIZATION AND SEXUAL DIMORPHISM
VAREJEIRA, *Chrysomya megacephala* (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE)

ABSTRACT

Blowflies are considered pests of interest to public health and the agricultural sector, generally found together with decomposing organic matter. This association with eating habits gives these insects great importance from a medical and veterinary point of view. Thus, this research aimed to characterize the morphology as well as morphometry, identify the types and distribution of the sensillae present in the antennae and find quantitative differences that enable their sexual differentiation. For this it used different techniques. For the evaluations, the specimens were collected in two municipalities (Maceió and Rio-Largo, AL), by the use of passive collection, through the installation of traps. The specimens were determined in taxonomic keys and with the aid of a stereoscopic microscope with a graduated eyepiece. For the morphometric analyses, 100 flies were used, 50% of both sexes, a stereoscopic microscope with ocular grad, a millimeter ruler and a digital caliper of Stainlesshar dened brand. For the morphological analysis of the antennae, the evaluation of the types of sensiles distributed in the antennal segments and the presence of sexual dimorphism in *C. megacephala*, was used the technique of Scanning Electron Microscopy (SEM). 1562 species were collected, 743 identified as *C. megacephala* and 819 species were not identified. The results obtained identified the species *C. megacephala* as predominant in the two municipalities collected, this species belongs to the genus *Chrysomya* and family Calliphoridae. The morphometric analyses of the corporeal structures of *C. megacephala* made it possible to ratify the species and found sexual dimorphism in the head region. In the body structures between the sexes, significant differences were observed in most of the variables analyzed. In the antennae of *C. megacephala* three segments were observed (scape, pedicel, flagellum and the arista is located laterally on the antenna), through the analyses of the length and width of the antennal segments, significant differences were observed between both sexes in the pedicel, flagellum and in arista at level P0.05 by t test (Student), showing sexual dimorphism was observed in these segments. Significant differences were not observed in the sensilla of *C. megacephala* at $P > 0.05$ by t test (Student). Morphological analyses of the antennae of male and female flies of *C. megacephala* found sensilla with different morphological characteristics and functions, which probably influenced the behavior of this species. Thus, this study identified the predominant species in the municipalities, provided the biological knowledge of *C. megacephala* and will enable the development of efficient control and monitoring methods for this pest.

Keywords: Identification techniques; Sexual dimorphism; Antennal segments.

1 INTRODUÇÃO

As espécies de dípteros da família Calliphoridae são popularmente conhecidas como moscas varejeiras. Nesta família possuem 109 gêneros e 1500 espécies caracterizadas aproximadamente (THOMPSON, 2013). Quando adultas, as moscas possuem coloração que variam de azul, violeta, verde ou cobre, com reflexos metálicos, cujas cores são evidenciadas principalmente no tórax e abdome e possuem antenas do tipo aristada plumosas (VARGAS; WOOD, 2010).

Na fase larval, algumas espécies da família Calliphoridae estão associadas a ocorrência de miíase no homem e em outros animais. Etiologicamente, miíases é uma afecção causada pela presença destas larvas em órgãos e tecidos do qual se nutrem e evoluem como parasitos. Determinadas espécies são denominadas biontófogas, ou seja, são parasitas obrigatórias, enquanto outras são necrobiontófogas, uma vez que são parasitas facultativos e suas larvas se alimentam de tecidos necrosados (GUIMARÃES; PAPAVERO, 1999). Dependendo do nível de infestação, essa doença pode acarretar em sérios prejuízos econômicos ao setor agropecuário, os quais vão desde a perda da qualidade da carne, leite e couro, até a morte dos animais acometidos (GULLAN; CRANSTON, 2014).

Além disso, os insetos adultos são considerados vetores de vários patógenos, em razão da preferência alimentar dessas moscas por matéria orgânica em decomposição, sendo responsáveis por causar infestações em animais e nos seres humano, trazendo sérios riscos à saúde pública, tornando essa família de grande interesse médico e veterinário (CHAIWONG et al. 2014).

Nesse contexto, torna-se relevante a caracterização das espécies, uma vez que a identificação correta de inseto de interesse econômico é uma etapa crucial para entender o comportamento biológico dos insetos, possibilitando o desenvolvimento de programa de controle que minimize os impactos socioeconômico causados por essas moscas.

A identificação a partir da análise morfológica tem grande relevância para a classificação genética e para biodiversidade animal, sendo referenciada como caracterização muito eficiente e segura (FUJIHARA, 2011) Assim, em razão das semelhanças entre muitas espécies, faz-se necessário o uso de chaves taxonômicas e de taxonomistas qualificados, a fim de que alcance sucesso no processo de identificação (FUJIHARA, 2008)

Já a identificação a partir das análise morfométrica é um método aplicado na

entomologia, considerado de grande importância em vários segmentos desta ciência (CRUZ et al. 2000). Esse método possibilita um estudo de maneira quantitativa, através de métodos estatísticos das variações na morfologia de determinada estrutura nos organismos (KLINGENBERG, 2002).

O estudo morfológico das antenas, por exemplo, é muito importante nos trabalhos comportamentais com insetos. As antenas possuem diversos tipos de sensilas com funções variadas, capazes de influenciar o comportamento dos insetos, tais como busca de sítios para alimentação, acasalamento e oviposição (SETZU et al. 2011; ZHANG et al. 2013).

Segundo Shields (2010) os insetos utilizam as sensilas localizadas nas antenas para a percepção sensorial, como olfato, paladar, tato, visão, assim como a capacidade de reconhecer localizações, georrecepção, termorrecepção e higrorrecepção. De acordo com Da Silva et al. (2019) as sensilas olfativas são importantes para a detecção de moléculas odoríferas. Essas moléculas ao entrarem pelos poros da parede cuticular da sensila olfativa, são transportadas para a linfa sensilar via proteínas ligantes de odores até chegarem aos neurônios sensoriais olfativos que auxiliaram no reconhecimento molecular e induzem uma resposta comportamental do inseto.

Assim, este estudo teve como objetivo identificar morfológicamente a espécie, quantificar morfometricamente as suas estruturas corporais, de maneira que possibilite encontrar diferenças sexuais e caracterizar morfofisiologicamente as sensilas presentes nos segmentos antenais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta dos insetos

As coletas foram realizadas semanalmente, entre janeiro a julho de 2018, no período das 10h00min às 14h00min, nos municípios de Maceió e Rio - Largo, ambos localizados no Estado de Alagoas. No município de Maceió as coletadas foram feitas nas adjacências do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN), localizado no Campus A.C. Simões da Universidade Federal de Alagoas (9° 33' 10.65" S e 35° 46' 29.94" W). A coleta no município de Rio-Largo, foi realizada nas mediações do Centro de Ciências Agrárias (CECA) (9° 27' 57.37" S, 35° 49' 54.15" W).

Foi utilizado o método passivo com o uso de iscas atrativas. As iscas foram colocadas em armadilhas plásticas retangulares e transparentes, com capacidade de 25L. As iscas usadas foram camarão, peixe e carne bovina, as quais foram colocadas em potes plásticos transparentes de 250 mL, dentro da armadilha. As avaliações foram efetuadas durante 4 dias consecutivos, nos períodos de decomposição (0 h, 24 h, 48 h e 72 h). No final de cada coleta, às 16:30 h, os espécimes capturados foram contabilizados, colocados em tubos de ensaios com tampas contendo álcool, 70% para conservação, seguindo protocolo descrito por Almeida et al. (1998), para posterior identificação morfológica, morfométrica e caracterização sensilar.

2.2 Caracterização morfológica

Após a coleta, o material foi levado para Laboratório Central de Saúde Pública de Alagoas (LACEN), onde as moscas foram armazenadas, conforme a metodologia preconizada por Almeida et. al. (1998). A identificação taxonômica dos espécimes adultos foi baseada nos critérios estabelecidos pelas chaves propostas por Grella et al. (2015) para Calliphoridae. Para este procedimento foi utilizado um microscópio estereoscópico para as análises e fotografias dos exemplares (Modelo Olympus szx7zoom).

2.3 Análise morfométrica

Para a análise morfométrica foram utilizadas 100 moscas varejeiras proveniente das coletas. Estas foram sexadas e separados 50 indivíduos de cada sexo. A medição foi realizada

na escala em mm e as moscas foram fixadas em lâminas histológicas conforme metodologia preconizada por Almeida et al. (1998), com auxílio de um microscópio estereoscópico com ocular graduada, uma régua milimetrada e um paquímetro digital de marca Stainlesshar dened.

Os parâmetros avaliados foram: comprimento total do corpo (cabeça até o último segmento abdominal), cabeça (sem considerar estruturas provenientes das antenas), tórax (do pronoto até o final do metatórax) e abdômen. Cada segmento foi mensurado de acordo com os seguintes parâmetros: (i) largura e comprimento da cabeça; (ii) comprimento do tórax e pronoto; (iii) comprimento e largura do abdômen; (iv) comprimento e largura da asa direita.

2.4 Descrição do dimorfismo sexual

Para a descrição do dimorfismo sexual foi analisada a região ocular e das antenas, que se localizam entre os olhos compostos. As caracterizações do dimorfismo sexual e o estudo da morfologia sensilar foram realizados em Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV). Para tal, utilizou-se 16 moscas entre machos e fêmeas anestesiadas à temperatura de -18 °C.

A porção da cabeça foi lavada brevemente com solução salina (0,9%) repetidas vezes para remover resíduos, em seguida imersas em solução de glutaraldeído a 2,5% em fosfato de sódio 0.1 M tampão por 10 min. Em sequência, foram desidratadas com soluções de etanol nas concentrações de 50%, 70%, 80%, e 90% e, por fim, com etanol grau P.A. por 10 min. Após este processo, foram mantidas em papel filtro até a evaporação do solvente. Quando secas, as cabeças foram montadas nas posições ventral e dorsal da fita adesiva de sulfato de carbono e anexado ao stub (suporte de metal) para metalização (Q150R ES, Quorum). A metalização foi realizada por pulverização de ouro a 45 mV durante 200 segundos. A região da cabeça de machos e fêmeas foram examinadas sob um microscópio eletrônico de varredura (Tescan Mark, modelo VEGA3 LMU) com um feixe de elétrons a 5,0 kV. Esta análise foi realizada no laboratório do Instituto Federal de Alagoas - IFAL, Maceió-AL.

2.5 Caracterização morfológica das antenas e identificação das sensilas

As análises morfológicas das antenas de ambos os sexos foram estudadas a partir dos segmentos que as constitui. A identificação e a classificação morfológica das sensilas presentes em cada segmento foram conforme a morfologia visível. Os tipos morfo-funcionais das sensilas foram classificados a partir da terminologia, nomenclatura e da morfologia da espécie adulta

conforme as descrições de Mendonça (2012) e Zhang (2014).

Os parâmetros de comprimento e largura de 16 antenas (8 machos e 8 fêmeas) foram avaliados para observação de dimorfismo sexual. As imagens capturadas do microscópio eletrônico de varreduras foram editadas usando o Adobe Photoshop.

2.6 Análise estatística

Para as análises morfométricas, utilizou-se análise de variância de dois fatores e para a caracterização da antenas fez-se uma média do comprimento e largura dos segmentos que constituem cada segmento em cada sexo. Para as duas análises foram utilizadas o teste t de Student a nível de 5% de probabilidade e aplicando Genes software (CRUZ, 2013)

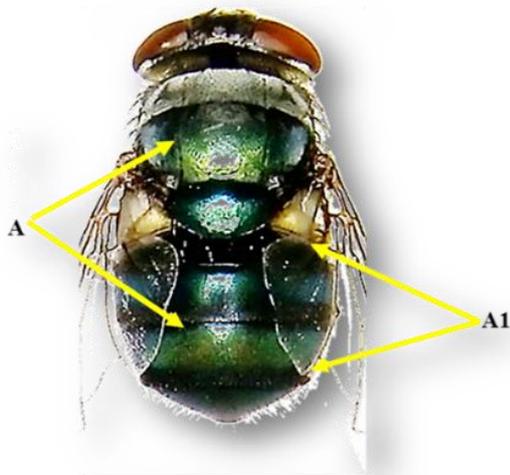
3 RESULTADOS

3.1 Caracteres morfológicos da espécie

Nas coletas, foram capturadas 1562 moscas, destas 743 espécimes apresentaram características morfológicas dos espécimes pertencentes ao gênero *Chrysomya*, família Calliphoridae e espécie *C. megacephala* (Fabricius 1974) de acordo com Grella et al. (2015).

Os espécimes coletados apresentavam as regiões abdominal e torácicas com cores que variam de verde a azul com brilho metálico com presença de faixas pretas transversais (Figura 1).

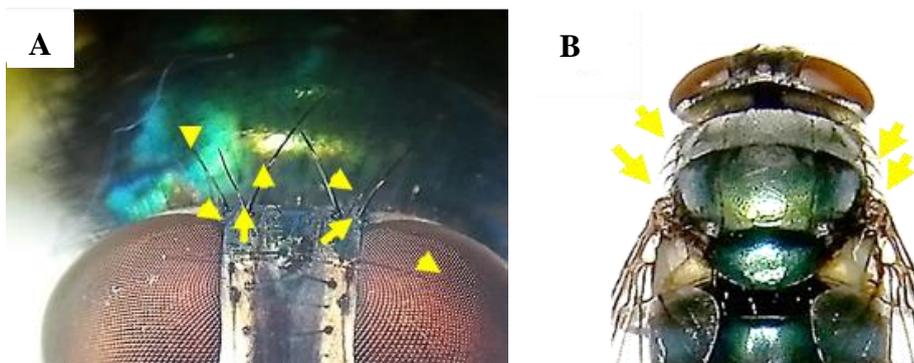
Figura 1: Vista frontal da mosca varejeira, *Chrysomya megacephala*, corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen de cores verde ou azul com reflexos metálicos. A) Tórax e abdômen. A1) Faixas transversais pretas.



Fonte: Autora, 2020

Analisando morfológicamente a espécie, constatou-se, nas regiões da cabeça e torácica a presença de cerdas oculares e acrosticais (Figura 2 A e B).

Figura 2: Vista frontal e dorsal de *Chrysomya megacephala*. A) vista dorsal mostrando a presença de cerdas oculares. B) Vista dorsal presença de cerdas na região torácica.



Fonte: Autora 2020

Observou-se na região torácica a presença de espiráculo anterior de cor marrom e na região abdominal caliptra inferior, também de cor marrom. Essas estruturas e a cor marrom caracterizaram a espécie, *C. megacephala*, como mostrado na Figura 3 A e 3B..

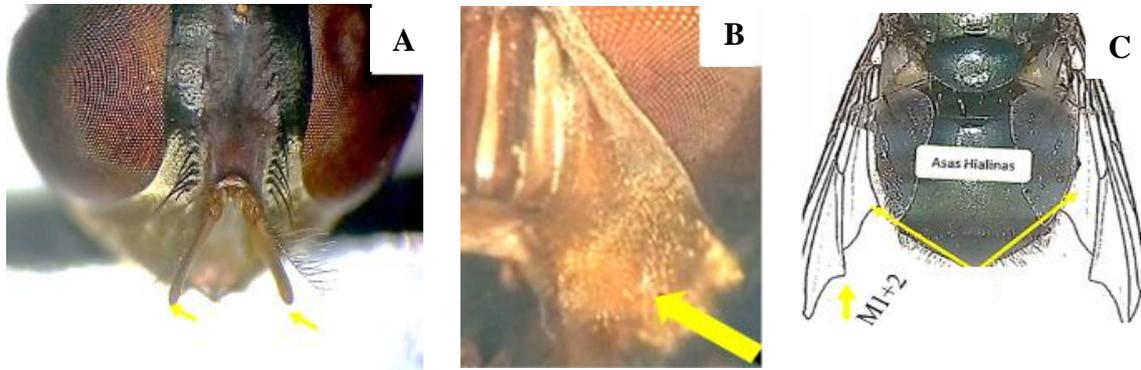
Figura 3: A espécie *Chrysomya megacephala* em vista lateral. A) seta indica o espiráculo anterior e B) seta indicam a caliptra inferior.



Fonte: Autora 2020

Evidenciou-se que os espécimes apresentaram antenas de cor amarelada, com arista perpendicular (Figura 4 A) e presença de gena avermelhada com dilatação genal na superfície com pelos amarelos brilhantes (Figura 4 B). Apresentaram ainda asas com veia-tronco com fileira de pelos e asas sem manchas, caracterizadas como hialinas, com a formação de um ângulo no ramo da veia M1 + 2 (Figura 4 C).

Figura 4: Espécimes de *Chrysomya. megacephala*. A) presença das antenas e aristas perpendicular entre os olhos compostos b) presença de gena com dilatação. C) Asas de *C. megacephala* hialinas com formação de ângulo na região M1+2.

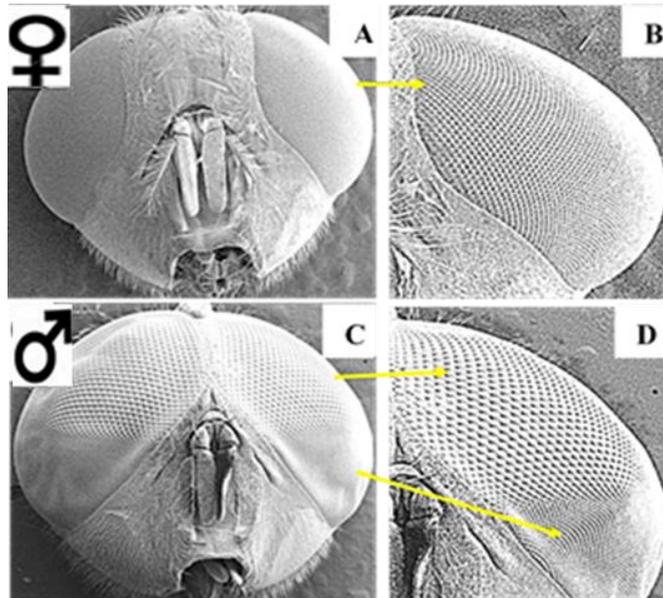


Fonte: Autora 2020

3.2 Presença de dimorfismo sexual

Observou-se que na região da cabeça as fêmeas possuem uma grande separação interocular (Figura 5 A) os omatídios com facetas de tamanhos homogêneos (Figura 5 B). Já os machos apresentaram uma discreta separação interocular (Figura 5 C). Os olhos compostos dos machos apresentaram numerosos omatídios, os quais apresentavam na região superior com grandes facetas e na região inferior com pequenas facetas (Figura 5 D).

Figura 5: Micrografia eletrônica de varredura da da região ocular das moscas fêmeas e machos de *Chrysomya megacephala*. A) Cabeça da fêmea com notória separação interocular. B) presença de omatídeos sem diferença de tamanhos nas fêmeas. C) cabeça do macho com discreta separação interocular. D) presença de omatídeos maiores na região superior dos olhos e na região inferior com pequenos tamanhos nos machos.



Fonte: Autora 2020

3.3 Avaliações morfométricas

Nas avaliações morfométricas foi possível observar diferenças significativas nas estruturas corpóreas de moscas fêmeas e machos de *C. megacephala*. As fêmeas foram maiores que os machos na maioria das variáveis analisadas ($P < 0,05$), com exceção do comprimento e largura da cabeça e largura da asa, que não diferiram entre ambos os sexos (Tabela 1).

Tabela 1: Valores médios dos parâmetros corpóreos avaliados em machos e fêmeas nas análises a morfométricas de *Chrysomya megacephala*.

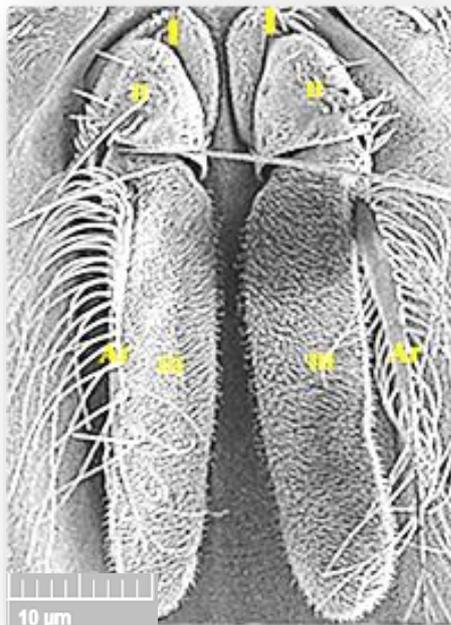
Variáveis analisadas	Fêmeas (mm)	Machos (mm)
Comprimento total do corpo	10,04 ± 1,66a	8,64 ± 0,93b
Comprimento da cabeça	1,72 ± 0,34a	1,58 ± 0,39a
Largura da cabeça	3,88 ± 0,56 a	3,37 ± 0,55a
Comprimento do Torax	4,18 ± 0,69a	3,35 ± 0,57b
Comprimento do abdome	4,09 ± 0,91a	3,14 ± 0,38b
Largura do abdome	4,03 ± 0,91a	3,18 ± 0,49b
Comprimento da asa	7,25 ± 0,73a	7,11 ± 0,92a
Largura da asa	3,13 ± 0,89a	2,09 ± 0,40b
Comprimento do pronoto	2,13 ± 0,14a	1,05 ± 0,09b
Largura do pronoto	3,25 ± 0,83a	2,28 ± 0,42b

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste t de Student a nível de 5% de probabilidade.

3.5 Ultraestrutura das antenas e tipos de sensilas

As antenas de machos e fêmeas de *C. megacephala*, localizam-se na parte central da cabeça entre os olhos compostos. São constituídas por três segmentos: o escapo (I), que se encontra localizado proximal a cabeça, o pedicelo (II) que está situado entre o escapo e o flagelo (III). Foram observadas sensilas em todos os segmentos antenais (Figura 6).

Figura 6: Micrografia eletrônica de varredura da região frontal da antena de *Chrysomya megacephala*. I- Escapo, II-pedicelo, III - flagelo. Barra 10 μm .



Fonte: Autora 2020

O escapo é o primeiro segmento antenal que se encontra junto à cabeça, considerado o menor segmento (Figura 6). O escapo da apresentou $106,69 \pm 12,61 \mu\text{m}$ de comprimento e $67,40 \pm 17,42 \mu\text{m}$ de largura nas fêmeas e $95,71 \pm 9,9 \mu\text{m}$ de comprimento e $51,28 \pm 3,73 \mu\text{m}$ de largura nos machos. Todavia o escapo não apresentou diferença significativa entre machos e fêmeas ($P > 0,05$) conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2: Médias do comprimento e largura (μm) dos segmentos antenais de fêmeas e machos de *Chrysomya megacephala* (n = 16).

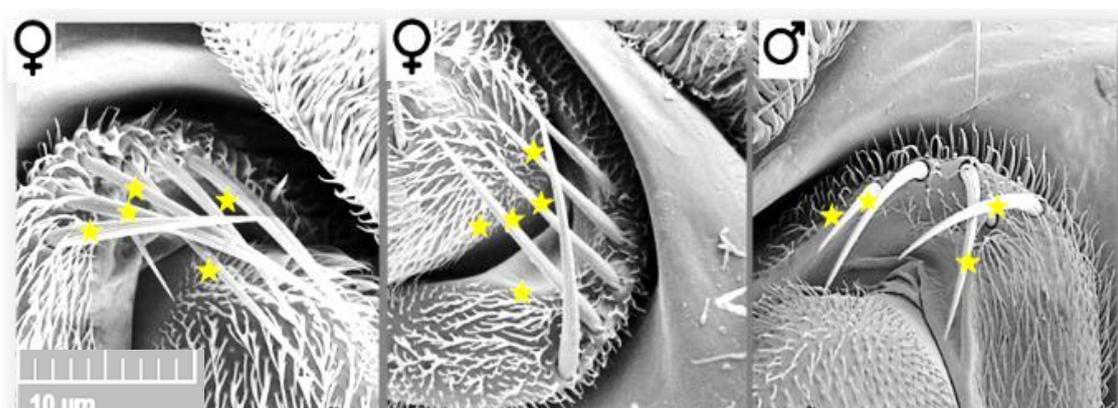
Antenas	Comprimento (μm)		Largura (μm)	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Sexos				
Escapo	$67,4 \pm 17,49a$	$51,28 \pm 3,22a$	$106,69 \pm 17,42a$	$95,71 \pm 9,99a$
Pedicelo	$122,78 \pm 19,14a$	$112 \pm 4,78a$	$121,77 \pm 23,81a$	$89 \pm 6,08b$
Flagelo	$415,00 \pm 31,50a$	$418,28 \pm 13,40a$	$102 \pm 9,31a$	$68,42 \pm 10,86b$
Arista	$427,98 \pm 1,84a$	$402 \pm 35,08a$	$48,84 \pm 10,58a$	$22,39 \pm 7,29b$

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente (teste t de Student a nível de 5% de probabilidade).

Na região do escapo foi observado, em ambos os sexos, unicamente sensilas caéticas. A superfície do escapo estava coberta por pequenos pelos. As sensilas possuíam tamanhos variados, as quais foram classificadas em Caética as pequenas e Caética I as de tamanho médios.

As sensilas caéticas (pequenas) apresentam cerdas longas, robustas e pontiagudas. A bases das sensilas encontravam-se encaixadas em soquetes arredondados e apresentavam sulcos em suas estruturas (Figura 7). Estas mediram aproximadamente $48,18 \pm 6,34 \mu\text{m}$ de comprimento e $5,34 \pm 5,6 \mu\text{m}$ de largura em fêmeas e $32,63 \pm 8,90 \mu\text{m}$ de comprimento e $7,92 \pm 2,4 \mu\text{m}$ de largura nos machos.

Figura 7: Microcopia eletrônica de varredura caracterizando o escapo das antenas de *Chrysomya megacephala*, em ambos os sexos. Estrela representa sensilas do tipo caética. Barra 10 μm .



Fonte: Autora 2020

As sensilas caéticas I (média) possuíam comprimento médio de $59,30 \pm 11,66 \mu\text{m}$ de comprimento e $10,24 \pm 15,36 \mu\text{m}$ de largura em fêmeas e $40,55 \pm 13,59 \mu\text{m}$ de comprimento aproximadamente e $8,88 \pm 3,42 \mu\text{m}$ de largura em machos. Diferenças significativas não foram observadas no comprimento e largura das sensilas caéticas entre ambos os sexos ($P > 0,05$) (Tabela 3).

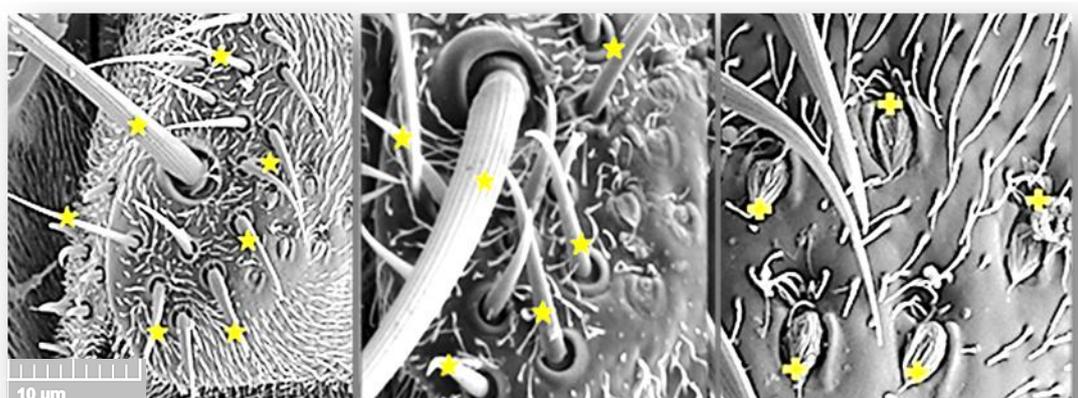
Tabela 3: Média do comprimento e largura (em μm) de sensilla no escapo e pedicelo de *Chrysomya megacephala* (n = 16) ambos os sexos.

Sensilas	ESCAPO				PEDICELO			
	Comprimento (μm)		Largura (μm)		Comprimento (μm)		Largura (μm)	
Sexos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Caéticas	48,18±6,34a	38,63±8,90a	5,34±5,6a	7,9±2,4a	49,83±11,54a	39,93±4,16a	5,76±1,82a	8,79±0,85a
Caéticas I	59,30±11,66a	40,55±13,59a	8,88±4,2a	10,24±15,36a	71,85 ± 16,11a	67,86±8,81a	7,41± 48a	5,70±1,90a
Caética II	-	-	-	-	293,39±92,52a	242,57±7,27a	15,24±3,01 a	11,4±1,72a

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente(teste t de Student a nível de 5% de probabilidade).

O pedicelo, segundo segmento antenal, localizado entre o escapo e o flagelo e mediram aproximadamente $122,78 \pm 19,14$ de comprimento e $121,77 \pm 23,81$ de largura nas fêmeas, e $121,71 \pm 4,78$ de comprimento e $86,00 \pm 6,08$ de largura nos machos. Diferença significativa foi observada entre ambos os sexos na largura do pedicelo ($P < 0,05$), conforme mostrado na Tabela 2. No pedicelo identificou-se 2 (dois) tipos de sensilas, sensilas caéticas de diferentes tamanhos que variavam em pequena (caética), média (caética I) e grande (caética II) e sensila estilocônica como mostram a Figura 8.

Figura 8: Microcopia eletrônica de varredura caracterizando o pedicelo das antenas de *Chrysomya megacephala*, ambos os sexos. Sensilas caéticas de vários tamanhos (estrelas) e sensilas estilocônica (+). Barra 10 μm .



Fonte: Autora 2020

Em relação ao tamanho, as sensilas caéticas mediram aproximadamente $49,83 \pm 11,54$ μm de comprimento e $5,76 \pm 1,82$ μm de largura nas fêmeas e comprimento de $29,93 \pm 4,16$ μm e largura de $8,79 \pm 0,85$ μm aproximadamente nos machos. As sensilas caéticas I mediram aproximadamente $71,85 \pm 16,11$ μm de comprimento e $7,41 \pm 0,48$ μm de largura nas fêmeas, nos machos o comprimento foi de $67,86 \pm 8,8$ μm e $5,70 \pm 1,90$ μm de largura. Já as sensilas caéticas II mediram cerca de $293,39 \pm 92,52$ μm de comprimento e $15,24 \pm 3,01$ μm de largura nas fêmeas. Nos machos $252,57 \pm 7,27$ μm de comprimento e $11,4 \pm 1,72$ μm de largura. Todavia, não foram encontradas diferenças estatísticas significativas nos tamanhos das sensilas do pedicelo entre os sexos, conforme mostrado na Tabela 3.

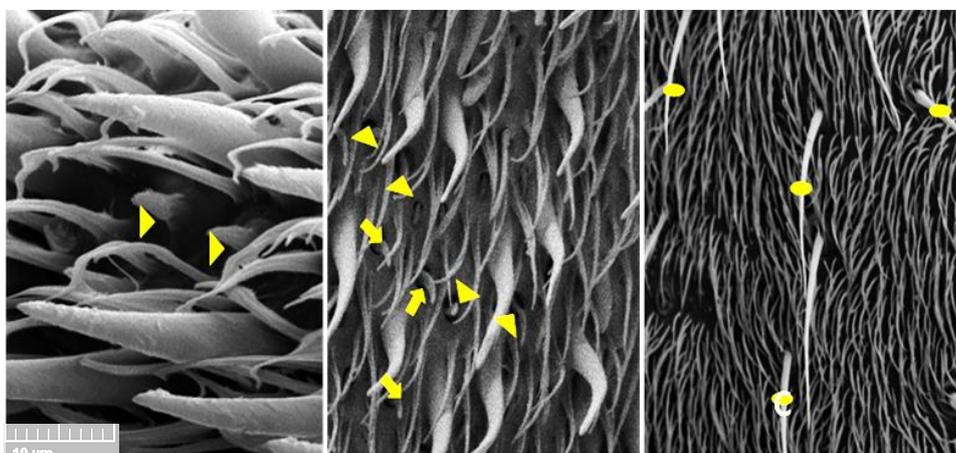
Ainda no pedicelo, observou-se sensilas estilocônicas na região central em ambos os sexos as quais eram encontradas em grupos que diversificava entre 4 a 6 sensilas. Essas sensilas morfologicamente eram arredondadas com uma haste bulbosa na região basal (Figura 8). As sensilas estilocônica mediram $11,59 \pm 3,58$ de comprimento e $6,67 \pm 2,03$ de largura nas fêmeas

e $11,90 \pm 3,87$ aproximadamente de comprimento e $6,7 \pm 1,42$ de largura nos machos. Diferenças estatísticas não foi observada nas sensilas estilocônicas em ambos os sexos ($P > 0,05$), como mostrado na Tabela 3.

O flagelo, o segmento mais longo e mais largo da antena, encontrou-se coberto por numerosos pelos em toda a sua superfície. Nas fêmeas, estas estruturas mediram aproximadamente $415,00 \pm 31,50 \mu\text{m}$ de comprimento e $102 \pm 9,31 \mu\text{m}$ de largura enquanto que nos machos os tamanhos médios foram de $418,28 \pm 13,40 \mu\text{m}$ de comprimento e $82,42 \pm 10,86 \mu\text{m}$ de largura. Verificou-se diferença estatística significativa somente com relação à largura do flagelo ($P < 0,05$), como mostrado na Tabela 2. As fêmeas apresentaram maior largura de flagelo em comparação aos machos.

No flagelo encontram-se maior diversidade de sensilas. Nesta região foram caracterizadas morfologicamente as sensilas tricoídes com diferentes tamanhos, sensilas basicônicas e coelocônicas. Nas aristas não foram observadas sensilas (Figura 9).

Figura 9: Microscopia eletrônica de varredura caracterizando o flagelo da antena de *Chrysomya megacephala*, em ambos os sexos. Sensilas tricoídes (triângulo), basicônicas (círculo) e coelocônica (seta) e numerosos pequenos pelos. Barra 10 μm .



Fonte: Autora 2020

As sensilas tricoídes foram as mais longas, finas e curvadas com superfície lisa e sem rachaduras, amplamente distribuída na superfície funicular. O tamanho variou de $15,33 \pm 1,64 \mu\text{m}$ de comprimento e $6,08 \pm 1,12 \mu\text{m}$ de largura nas fêmeas e de $14,51 \pm 1,23 \mu\text{m}$ de comprimento e $4,76 \pm 1,09 \mu\text{m}$ de largura nos machos. Não houve diferença significativa entre os sexos (Tabela 2). As sensilas basicônicas eram de menores comparadas às tricoídes, eram arredondadas e possuíam a superfície multiporosa. O tamanho médio variou de $5,50 \pm 2,53$

μm de comprimento $3,18 \pm 1,52$ de largura nas fêmeas, enquanto que nos machos o tamanho foi de $6,2 \pm 0,96$ μm de comprimento e $2,02 \pm 0,37$ μm de largura, porém sem diferenças significativas. Diferença significativa não foi observada entre ambos o sexo ($P > 0,05$), como demonstrado na Tabela 4. Já as sensilas coliocônicas mediram $5,1 \pm 2,05$ μm de comprimento e $2,94 \pm 0,52$ μm de largura nas fêmeas, e nos machos apresentaram $3,02 \pm 0,52$ μm de comprimento e de largura $1,33 \pm 0,21$ μm . Diferença significativa não foi observada entre os sexos ($P > 0,05$), como mostrado na Tabela 4.

Tabela 4: Média do comprimento e largura (em μm) das sensilas no flagelo antena e arista *Chrysomya megacephala*, ambos os sexos (n=16).

Sensilas	Comprimento (μm)		Largura(mm)	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Sexos				
Tricoídes	$15,33 \pm 1,64a$	$14,51 \pm 1,23a$	$6,08 \pm 1,12a$	$4,76 \pm 1,09a$
Basicônicas	$5,50 \pm 2,53a$	$6,2 \pm 0,96a$	$3,18 \pm 1,52a$	$2,02 \pm 0,37a$
Coliocônicas	$5,1 \pm 2,05a$	$3,02 \pm 0,52a$	$2,94 \pm 0,52a$	$1,33 \pm 0,21a$

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste t de Student a nível de 5% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

As análises morfológicas e morfométricas confirmaram a espécie como sendo *C. megacephala* (Fabricius 1974) e esta foi predominante nos municípios pesquisados, assim como relatado por Grella et al. (2015). Os espécimes possuíam as regiões abdominal e torácica com cores que variaram de verde e azul com brilho metálico e presença de faixas pretas transversais e os indivíduos possuíam tamanho médio de 8 mm a 10,5 mm de comprimento. E estas características estão de acordo com o relatado por Oliveira-Costa et al. (2007) e Carvalho et. al (2000) para a espécie. As antenas apresentaram-se de cor amarelada e a gena de cor laranja com dilatação genal e constatou-se que as asas de *C. megacephala* são hialinas, assim como verificado por Al-Shareef (2016), para espécies de moscas necrófagas.

A presença de cerdas na região torácica e abdominal contribuíram para diferenciação das espécies. De acordo com Whitworth (2006) e Kosmann et al. (2013) as cerdas, principalmente as torácicas são usadas em várias chaves para determinação da espécie. Shewell, (1987), relata que o brilho e a coloração das regiões do tórax e abdômen são caracteres peculiares na identificação da família Calliphoridae.

Na região do abdômen localizava-se o espiráculo anterior e na região torácica mostrou-se a caliptra inferior, ambos de cor marron e este aspecto escuro dessas estruturas auxiliaram na identificação da espécie. Segundo Lutz et al. (2018) as cores do espiráculo torácico anterior e caliptra inferior são caracteres de grande importância utilizados na diferenciação morfológica entre as espécies.

Na região da cabeça da espécie *C. megacephala* constatou-se diferenciações sexuais, principalmente na separação existente entre os olhos compostos e os tamanhos dos omatídeos. Essas diferenciações observadas na região ocular em *C. megacephala* auxiliaram no processo de sexagem. O dimorfismo sexual na região ocular para a espécie já foi relatada por Badenhorst; Villet (2018). Conforme Kurahashi (1982), o dimorfismo ocular na mosca macho é uma característica do processo de evolutivo da espécie que possibilitou sobrevivência em ambientes antropogênicos.

Os resultados das medidas morfométricas mostraram que na maioria das variáveis analisadas, as fêmeas foram maiores que os machos. De acordo com Wang et.al. (2009) insetos maiores propendem a apresentar maior longevidade, além do mais, possuem maior biomassa corpórea que poderá estar correlacionado com a fecundidade. Além disso, o tamanho corporal

é uma característica quantitativa importante pode interferir na capacidade reprodutiva e em algumas habilidades de sobrevivência (SCHMIDT- NIELSEN 1984). Ao analisar a morfologia de diferentes insetos Day (1985) e Johnson; Bubbell, (1984) observaram diferença significativa nos tamanhos entre ambos os sexos, e as fêmeas maiores possuem maior longevidade e alto nível de fecundação.

Neste estudo, a largura das asas das moscas fêmeas foi maior que a dos machos e acredita-se que o tamanho das asas pode interferir no acasalamento. Em um estudo comportamental, Svensson; Petersson (1988) relatam, que as asas dos machos que acasalaram com fêmeas maiores sofreram menores danificações indicando, portanto, que o acasalamento ocorreu sem maiores esforços.

Na análise da morfologia das antenas verificou-se que as antenas da espécie *C. megacephala* é formada por três segmentos (escapo, pedicelo e flagelo e uma arista) e a superfície sensilar são cobertas por pequenos poros. Tais características já foram relatadas por Hore et al. (2017) em antenas de *Hemipyrellia ligurriens* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Calliphoridae) e por Zhang et al.(2014) em antenas de *Triceratopyga calliphoroides* Rohdendorf (Diptera: Calliphoridae).

Nos segmentos pedicelo e flagelo foi possível constatar um discreto dimorfismo sexual. Esses dois segmentos são os mais largos nas moscas fêmeas em comparação aos machos. O flagelo foi o segmento de maior largura e o maior número e tipos de sensilas e acredita-se que esta esteja relacionada com a presença de numerosos poros e o grande número de sensilas basicônicas presentes no flagelo das fêmeas, as quais possibilitam as fêmeas encontrarem sítios para oviposição (KEIL et al. 2001).

As aristas possuíam semelhanças quanto ao comprimento, porém uma diferença considerável na largura. Fêmeas apresentaram aristas maiores que os machos. Tal diferença já havia sido relatada por Foelix et al. (1989) e que concluíram que as fêmeas possuem aristas maiores em razão da necessidade de encontrar sítios para oviposição e a arista ajudam na escolha desses sítios, uma vez que a arista no diptero é relatada com função higrorreceptora (CARRICO et al. 2015).

Nos três segmentos, observou-se distribuídos um total de 5 (cinco) tipos de sensilas, entre as quais citam-se as sensilas caéticas de vários tamanhos (caéticas , caéticas I e caéticas II), sensilas estilocônicas, sensilas tricoídes, sensilas basicônicas e sensilas coelônicas, além de numerosos pequenos poros. As sensilas encontrados nos segmentos antenais de *C. megacephala* estão em conformidade com as relatadas anteriormente para outras espécies pertencentes a

família dos Calliphoridae (SUKONTASON et al. 2004; SETZU et al. 2011; ZHANG et. al. 2013; ZHANG et. al. 2016; HORE et al. 2017; HORE et al. 2017)

As sensilas de diferentes tipos exercem diferentes funções que podem influenciar o comportamento das moscas (SUKONTASON et al. 2004). A influência comportamental depende da capacidade dos insetos detectarem os sinais ambientais, os quais possuem relações direta com a abundância de receptores de sinal, assim como os mecanismos de recebimentos das células neurais que entrar em contato com as sensilas (KURAUCHI, et al. 2011). Em um estudo com com *Dermatobia hominis* (L. Jr., 1781) (Diptera: Cuterebridae), Fernandes et al. (2002) observaram que as sensilas tricoídes possuíam função mecanorreceptora. Já a sensila coelocônica em moscas varejeiras podem exercer função olfativa (ROUX et al. 2005), quimiorreceptora, termorreceptora e higrorreceptivas (ZHANG et al. 2012).

Neste estudo, não foi verificado de dimorfismo nas sensilas relacionado ao comprimento e largura nas sensilas caéticas, caéticas I e caéticas II e estilocônicas, tricoídes, basicônicas e coleocônicas. Todavia, Hore et al. (2017) constataram diferença significativa no comprimento das sensilas cáéticas e sensilas caéticas II entre machos e fêmeas de *Ophyra capensis* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Muscidae), no entanto, não se observou diferença significativa no comprimento e na largura nas sensilas basicônicas entre os sexos, assim como neste estudo.

Em suma, comparando as características morfológicas observadas para identificação de *C. megacephala* neste estudo, constatou -se caracteres análogos em pesquisas anteriores na identificação das espécies do gênero *Chrysomya*, entre as quais citam-se Irish et al. (2014); Akbarzadeh et al. (2015); Caleffe et al. (2015) e Badenhorst; Villet, (2018).

5. CONCLUSÃO

A análise morfológica, possibilitou identificar a espécie *C. megacephala* como predominante nos municípios coletados.

O estudo morfométrico das estruturas corpóreas de *C. megacephala* permitiu ratificar a espécie e constatar dimorfismo sexual presente na região da cabeça .

As análises morfológicas das antenas das moscas machos e fêmeas de *C. megacephala* constatarem sensilas com distintas características morfológicas e funções, que provavelmente influenciaram o comportamento da referida espécie. E as análises morfométricas dos segmentos antenais, identificaram dimorfismo sexual no pedicelo, flagelo e arista.

6. REFERÊNCIAS

AKBARZADEH, K. et al. Species identification of Middle Eastern blowflies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance. *Parasitology Research*, v. 114, n. 4, p. 1463-1472, 2015.

ALMEIDA, L. M.; RIBEIRO-COSTA, C. S.; MARINONI, L. Manual de coleta, conservação, montagem e identificação de insetos. In: **Manual de coleta, conservação, montagem e identificação de insetos**. 2003. p. 78-78.

AL-SHAREEF L. A. H. Species identification of forensic important blowflies (Diptera, Calliphoridae) that occur in Jeddah, Kingdom of Saudi Arabia. **Global Journal Nursing & Forensic Studies**. v.1, n.3, p. 1-8, 2016.

BADENHORST, R.; VILLET, M. H. The uses of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) in forensic entomology. **Forensic sciences research**, v. 3, n. 1, p. 2-15, 2018.

BUTLIN, R. K.; DAY, T. H. Adult size, longevity and fecundity in the seaweed fly, *Coelopa frigida*. **Heredity**, v. 54, n. 1, p. 107-110, 1985.

CARRIÇO, C. et al. Ultrastructural studies of some character of Diptera (Muscidae) of forensically importance. **Acta tropica**, v. 142, p. 96-102, 2015.

CARVALHO, L. M. L. et al. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 1, p. 135-38, 2000.

CHAIWONG, T. et al. The blow fly, *Chrysomya megacephala*, and the house fly, *Musca domestica*, as mechanical vectors of pathogenic bacteria in Northeast Thailand. **Tropical Biomedicine**, v. 31, n. 2, p. 336-46, 2014.

CRUZ, I. B. M. et al. Morfologia do aparelho reprodutor e biologia do desenvolvimento. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 55-66.

DA SILVA, et al. Morphology and distribution of antennal sensilla of *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae). **Micron**, v. 123, n. 102682, p. 11, 2019.

DALY, H. Insect morphometrics. **Annual Review Entomology**, v. 30, p. 4-15, 1985.

FOELIX, R. F.; STOCKER, R. F.; STEINBRECHT, R. A. Fine structure of a sensory organ in the arista of *Drosophila melanogaster* and some other dipterans. **Cell and Tissue Research**, v. 258, n. 2, p. 277-287, 1989.

FUJIHARA, R. T. **Chave Pictórica de Identificação de Famílias de Insetos-Praga Agrícolas**. 2008. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio De Mesquita Filho. Botucatu. 2008

FUJIHARA et al. **Insetos de importância econômica: guia ilustrado para identificação de famílias**. Botucatu, FEPAF Editora, 2011. 391p.

GARIMA H. et al. Scanning electron microscopic studies on antenna of *Hemipyrellia ligurriens* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Calliphoridae) - A blow fly species of forensic importance. **Acta Tropica**, v. 172, p. 20-28, 2017.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. Myiasis in man and animals in the neotropical region: bibliographic database. **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, Brazil**, 1999.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **The insects: an outline of entomology**. John Wiley & Sons, 2014.

GRELLA, M. D. et al. Phenotypic polymorphism of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) may lead to species misidentification. **Acta tropica**, v. 141, p. 60-72, 2015.

IRISH, S.; LINDSAY, T.; WYATT, N. Key to adults of Afrotropical species of the genus *Chrysomya* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae). **African Entomology**, v. 22, n. 2, p. 297-306, 2014.

JOHNSON, L. K.; HUBBELL, S. P. Male choice. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 15, n. 3, p. 183-188, 1984.

KEIL, T.A. et al. The microwaves of insect eyes. **Nature and Science**. v. 54, p. 519-525, 2001.

KLINGENBERG, C. P. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. **Gene**, v. 287, n. 1-2, p. 3-10, 2002.

KOSMANN, C. et al. A list of current valid blow fly names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with key to the Brazilian species. **EntomoBrasilis**, v. 6, n. 1, p. 74-85, 2013.

KRISHNAN, A. et al. The neural mechanisms of antennal positioning in flying moths. **Journal of Experimental Biology**, v. 215, n. 17, p. 3096-3105, 2012.

KURAHASHI H. Possível origem de uma mosca sinantrópica *Chrysomya megacephala* na Nova Guiné (Diptera: Calliphoridae). **Monographiae Biologicae**, v. 42, p. 2689-698, 1982.

KURAUCHI, Toshiaki et al. Distribution of mechanoreceptive sensilla and their functions in the defensive behavior of tenebrionid beetle pupae. **Open Access Insect Physiology**, v. 3, p. 13-25, 2011.

LUTZ, L. et al. Species identification of adult African blowflies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance. **International journal of legal medicine**, v. 132, n. 3, p. 831-842, 2018.

MENDONÇA, P. M.; DOS SANTOS-MALLET, J. R.; DE CARVALHO QUEIROZ, M. M. Ultrastructure of larvae and puparia of the blowfly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). **Microscopy Research And Technique**, v. 75, n. 7, p. 935-939, 2012.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia Forense - Quando insetos são vestígios**. 2. ed., Rio de Janeiro, RJ: Millennium, 2007.448p.

ROUX, Olivier et al. Antennal structure and oviposition behavior of the *Plutella xylostella* specialist parasitoid: *Cotesia plutellae*. **Microscopy research and technique**, v. 68, n. 1, p. 36-44, 2005.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Scaling: Why is animal size so important?** Cambridge, Cambridge e University Press, 1984. 256p.

SETZU, M. D.; PODDIGHE, S.; ANGIOY, A. M. Sensilla on the antennal funiculus of the blow fly, *Protophormia terraenovae* (Diptera: Calliphoridae). **Micron**, v. 42, n. 5, p. 471-477, 2011.

SHEWELL, G. E. Calliphoridae. In: MCALPINE, J. F et al. (eds.) **Manual of Nearctic Diptera**. Ottawa, Monograph/Agriculture Canada, v. 2, p. 1113-1145, 1987.

SHIELDS, V. D. C. High resolution ultrastructural investigation of insect sensory organs using field emission scanning electron microscopy. **Microscopy: science, technology, applications and education.**, p. 321-328, 2010.

SUKONTASON, K. et al. Sensilla of the antenna and palp of *Hydrotaea chalcogaster* (Diptera: Muscidae). **Micron**, v. 38, n. 3, p. 218-223, 2007.

SUKONTASON, K. et al. Antennal sensilla of some forensically important flies in families Calliphoridae, Sarcophagidae and Muscidae. **Micron**, v. 35, n. 8, p. 671-679, 2004.

SVENSSON, B. G.; PETERSSON, E. Non-random mating in the dance fly *Empis borealis*: the importance of male choice. **Ethology**, v. 79, n. 4, p. 307-316, 1988.

THOMPSON, C. R. et al. Bacterial interactions with necrophagous flies. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 106, n. 6, p. 799-809, 2013.

VARGAS, J.; WOOD, D. M. Calliphoridae. **Manual of Central American Diptera**, v. 2, p. 1297-1304, 2010.

WANG, X. G. et al. Larger olive fruit size reduces the efficiency of *Psytalia concolor*, as a parasitoid of the olive fruit fly. **Biological Control**, v. 49, n. 1, p. 45-51, 2009.

WHITWORTH, T. Keys to the genera and species of blowflies (Diptera: Calliphoridae) of America North of Mexico. **Proceed in gsof Entomological Society of Washington**, v.108, n. 689. 2006.

ZHANG, D. et al. Sensilla on the antenna of blow fly, *Triceratopyga calliphoroides* Rohdendorf (Diptera: Calliphoridae). **Parasitology Research**, v. 113, n. 7, p. 2577-2586, 2014.

ZHANG, D. et al. Sensilla on antenna and maxillary palp of predaceous fly, *Lispe neimongola* Tian et Ma (Diptera: Muscidae). **Micron**, v. 49, p. 33-39, 2013.

ZHANG, D. et al. Sensory organs of the antenna of two *Fannia* species (Diptera: Fanniidae). **Parasitology Research**, v. 112, n. 6, p. 2177-2185, 2013.

ZHANG, D. et al. Sensilla on the antenna of blow fly, *Triceratopyga calliphoroides* Rohdendorf (Diptera: Calliphoridae). **Parasitology research**, v. 113, n. 7, p. 2577-2586, 2014.

ZHANG, D. et al. Phylogenetic inference of calyptrates, with the first mitogenomes for Gasterophilinae (Diptera: Oestridae) and Paramacronychiinae (Diptera: Sarcophagidae). **International Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 5, p. 489, 2016.

CAPÍTULO 2: IDENTIFICAÇÃO E INFLUÊNCIA DA ATRATIVIDADE DOS APNEUMÔNIOS EMITIDOS DE FONTES DE ALIMENTOS PARA *Chrysomya megacephala* (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

RESUMO

Chrysomya megacephala (Fabricius 1794) (Diptera:Calliphoridae) é considerada uma das mais importantes pragas da pecuária, pois nas fases larvais acometem várias espécies de animais, impactando negativamente ao setor agropecuário. Essas moscas são atraídas a longas distâncias por matérias orgânicas em decomposição, através do uso de sinais químicos de compostos orgânicos voláteis (COVs). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial atrativo dos (COVs) emitidos de fontes alimentares em diferentes períodos de decomposição frente aos adultos de moscas *C. megacephala*. Para isso, a partir da técnica de aeração os compostos voláteis foram extraídos das fontes alimentares(carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa).em diferentes períodos de decomposição. Por bioensaios comportamentais, em condições de olfatômetro de quatro braços, foram avaliadas influências comportamentais das moscas *C. megacephala* frente aos extratos alimentares. As análises químicas dos extratos foram avaliadas por Cromatografia Gasosa Acoplada ao Detector de Ionização de Chamas (CG-FID) e por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). A partir das análises Eletroantenográficas (EAG) foram avaliadas a bioatividade do extrato de camarão (48 h) e dos padrões sintético pelo sistema olfativo de *C. megacephala*. Testes de campo foram realizados com armadilhas iscadas com extrato de camarão (48 h), mistura dos padrões sintéticos nas concentrações de (50 ppm e 100 ppm) e hexano como tratamento-controle. Os bioensaios comportamentais, demonstraram que o extrato de camarão (48 h) desencadeou maior atração em adultos de *C. megacephala*, com diferença significativa na atração exibida por machos e fêmeas. Observou-se ainda que, os machos foram mais atraídos para o tratamento-controle, sugerindo repelência. As análises eletroantenográficas revelaram que as antenas das fêmeas apresentaram bioatividade para três compostos presentes no extrato de camarão (48 h), os quais foram confirmados pelo uso de padrões sintéticos. As identidades destes compostos foram reveladas através de análises por CG-FID e CG-EM, os quais foram identificados como: fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila. Os bioensaios comportamentais com fêmeas frente aos padrões sintéticos, demonstraram que os compostos testados individualmente, e combinações binárias não diferiram significativamente do tratamento-controle. Já os testes realizados com os compostos sintéticos em combinação ternária diferiram significativamente ao comparar com o tratamento-controle. Durante os testes de campo, coletou-se um total de 324 moscas, das quais 220 foram identificadas como *C. megacephala*. Do total de moscas capturadas 303, eram fêmeas, equivalentes 93,5% e machos equivalentes a 6,5%. Constatou-se, que o tratamento camarão 48 h foi mais atrativos para as moscas fêmeas ao comparar com os tratamentos soluções sintéticas a (50ppm e 100 ppm) e tratamento-controle, para os machos sugerem-se repelências. Baseando-se nos resultados desta pesquisa vislumbra-se a possibilidade da utilização da solução no controle de *C. megacephala*.

Palavras chaves: Praga da pecuária; Semioquímicos; Influência comportamental.

.

**CHAPTER 2 IDENTIFICATION AND INFLUENCE OF THE
ATTRACTIVENESS OF APNEUMONES ISSUED FROM FOOD SOURCES TO
Chrysomya megacephala (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)**

ABSTRACT

Chrysomya megacephala (Fabricius 1794) (Diptera:Calliphoridae) is considered the most important pests in the livestock market, because in the larval phases they affect several animal species, negatively impacting the agricultural sector. These flies are attracted to long distances by decomposing organic matter through the use of chemical signals from volatile organic compounds (Vocs). Thus, the objective of this study was to evaluate the attractiveness of the (Vocs) emitted from food sources in different periods of decomposition in relation to adults of *C. megacephala* flies. For this, from the aeration technique the volatile compounds were extracted from food sources (beef, sardine fish and pink shrimp). Using behavioral bioassays, with a four-arm olfactometer, the behavioral influence of extracts against flies was analyzed. The analyses extracts were evaluated by gas chromatography coupled to the flame ionization (CG-FID) and Gas Chromatography coupled to Spectrometry of Masses (CG-EM). Based on the electroantennographic analyzes (EAG),the bioactivity of 48 h shrimp extract and synthetic patterns by the system olfactory of *C. megacephala*. Field tests were performed with baited traps with shrimp extract 48 h, mixture of synthetic standards in concentrations of (50 ppm and 100 ppm) and hexane as treatment - control. Behavioral bioassays demonstrated that the 48h shrimp extract triggered greater attraction in adults of. Behavioral bioassays under four-arm olfactory conditions evaluated behavioral influences of *C. megacephala* flies against food extracts. The chemical analyses of the extracts were evaluated by gas chromatography coupled to the flame ionization detector (CG-FID) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (CG-EM). From the electroantennographic analyses (EAG) the bioactivity of the shrimp extract (48 h) and the synthetic patterns by the olfactory system of *C. megacephala* were evaluated. Field tests were carried out with bait traps with shrimp extract (48 h), mixture of synthetic patterns in concentrations of (50 ppm and 100 ppm) and hexane as treatment control. The behavioral bioassays demonstrated that shrimp extract (48 h) triggered greater attraction in adults of *C. megacephala*, with significant difference in attraction exhibited by males and females. It was also observed that males were more attracted to treatment-control, suggesting repellency. The electroantennographic analyses revealed that the antennae of the females presented bioactivity for three compounds present in the shrimp extract (48 h), which were confirmed by the use of synthetic patterns. The identities of these compounds were revealed through analyses by CG-FID and CG-EM, which were identified as phenol, 2-nonanone and methyl disulfide. The behavioral bioassays with females against synthetic standards, demonstrated that the compounds tested individually. and binary combinations did not differ significantly from treatment-control. On the other hand, the tests performed with synthetic compounds in ternary combination differed significantly when comparing with the treatment - control. During the field tests, a total of 324 flies were collected, of which 220 were identified as *C. megacephala*. Of the total number of flies captured 303, they were females, equivalent 93.5% and males equivalent to 6.5%. It was found that the 48 h shrimp treatment was more attractive for the female flies when comparing with the synthetic solutions treatments a (50ppm and 100 ppm) and treatment-control, for males it is suggested repellences. Based on the results of this research, it is possible to use the solution in the control of *C. megacephala*.

Keywords: Pest of livestock; Semiochemicals; Behavioral influence.

1. INTRODUÇÃO

Chrysomya megacephala (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), é conhecida no Brasil como mosca-varejeira. É originária da Austrália e foi introduzida no país de maneira acidental a partir de navios que traziam os imigrantes em péssimas condições sanitárias (GUIMARÃES et al. 1978).

Nas fases larvais podem causar miíase secundária aos animais. Nos bovinos, por exemplo, essas infestações provocam estresse, falta de apetite e perda de peso, resultando em decréscimo da qualidade da carne e leite, podendo levar os animais a morte. Na fase adulta, devido ao alto grau de sinantropia e seus hábitos alimentares essas moscas são vetores mecânicos de vários patógenos (BARBOSA et al. 2014; CARRIÇO et al. 2014).

No Brasil, o principal método de controle para mosca-varejeira, é realizado, principalmente, pelo uso de inseticidas com formulações a base de organofosforados e piretroídes (BERNARDINO et al. 2019). Em razão do uso contínuo dos compostos pertencentes às referidas formulações, pode provocar resistência nos insetos, danos ambientais e ainda, problemas de saúde para a população (DEL PUERTO et al. 2014).

Desta forma, considerando os prejuízos socioeconômicos de *C. megacephala*, fica claro a necessidade de buscar métodos de controles eficientes que minimizem as perdas provocadas por este inseto, principalmente no estado de Alagoas, onde a pecuária tem suma importância para a economia, na geração de emprego e renda. A pecuária, contribui para o desenvolvimento econômico do Estado, com um efetivo rebanho de bovinos de 786.018 mil cabeças distribuídos entre os 102 municípios (IBGE-2017).

Assim, uma alternativa promissora para o controle deste inseto é baseado nos semioquímicos, os quais possibilitam desenvolver novos produtos para serem utilizados em estratégias de manejo integrados (monitoramento e captura) de pragas. Desta forma, o presente estudo objetivou verificar a atratividade de *C. megacephala* para diferentes fontes alimentares (carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa) em distintos estágios de decomposição (0 h, 24 h, 48 h e 72 h), buscando caracterizar os compostos orgânicos voláteis atrativos, a fim de viabilizar a elaboração de iscas com potencial de aplicabilidade no manejo integrado deste inseto-praga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do estudo e coletas

As áreas experimentais utilizadas para as coletas das moscas adultos de *C. megacephala* ocorreram nas adjacências do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN), localizado no Campus A.C. Simões da Universidade Federal de Alagoas (9°33'10.65" S e 35°46'29.94" W) em Maceió, AL e nas mediações do Centro de Ciências Agrárias (CECA) (9°27'57.37" S, 35°49'54.15" W), município de Rio-Largo, AL.

A sexagem e identificação dos insetos e os bioensaios foram realizados no Laboratório de Pesquisa e Recursos Naturais (LPqRN), do CECA, da Universidade Federal de Alagoas - UFAL. Os testes de campo foram realizados no núcleo de produção e melhoramento animal, localizado no Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio-Largo – AL (9°27'57.37" S e 35.49'54.15"W).

2.2 Extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) nas fontes alimentares

Para a extração dos compostos voláteis em diferentes períodos de decomposição da carne bovina, peixe sardinha (*Sardinella brasiliensis*) e do camarão rosa (*Farfantepenaeus subtilis*), definiu-se a escala de tempo conforme características do material como demonstrado na tabela 1. Segundo Campobasso et al. (2001) os fenômenos de transformação e destruição constituem o processo de decomposição, o qual se caracteriza pela degradação dos tecidos por bactérias orgânicas aeróbias presentes no meio ambiente e anaeróbicas presente na matéria orgânica.

Tabela 1: Descrição da escala de tempo utilizada na decomposição de fontes alimentares (carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa) para extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) (CAMPOBASSO, et al . 2001).

Escala de Tempo (h)/Tratamento	Características do material
0 h	Material fresco
24 h	Material em decomposição, estágio 1
28 h	Material em decomposição, estágio 2
72 h	Material em decomposição, estágio 3

As extrações dos COVs foram realizadas pelo uso da técnica de aeração. Para tanto, 100 g de cada fonte alimentar foi depositado no interior de câmeras de vidro com 16 cm de altura e 26 cm de largura, totalizando três repetições por tratamento e um tratamento-controle (hexano bidestilado) (grau HPLC, Sigma-Aldrich). As extrações foram realizadas por um período de 2 h a partir do intervalo 0 h e posteriormente a cada 24 h, durante três dias consecutivos.

Previamente ao processo de aeração, as câmeras de vidro foram lavadas com água e sabão e secas em temperatura ambiente. A superfície interna das câmeras foi limpa com hexano bidestilado (grau HPLC, Sigma-Aldrich) e esterilizadas em estufa à 100°C, por um período de 2 h. Todas as conexões do sistema de aeração foram confeccionadas com tubos flexíveis de politetrafluoroetileno (PTFE), criando um sistema de pressão positiva, conforme descrito por Moraes et al. (2005).

No sistema de aeração, o ar fornecido por uma bomba compressora com fluxo de ar de 0,6 L/min, previamente purificado pela passagem em um filtro de cartão ativado, entrava nas câmeras, misturando-se com os compostos voláteis liberados pelas fontes alimentares e na saída das câmeras passava por um tubo de vidro contendo o polímero adsorvente Porapak Q (0,06 g), nos quais os COVs eram adsorvidos na superfície do biopolímero e extraídos pela passagem de 500 µL de hexano bidestilado. Os extratos obtidos foram colocados em vials (vidro de borossilicato, 2 mL) e armazenados em freezer a -20 °C até serem usados nas análises químicas e nos bioensaios comportamentais.

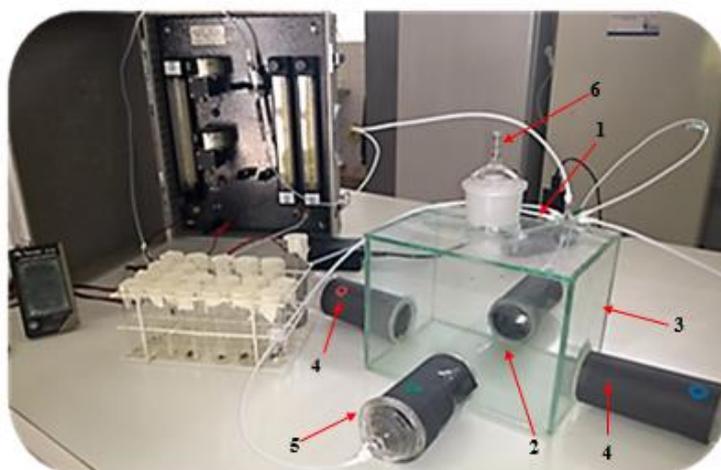
2.3 Bioensaios comportamental em olfatômetro de quatro braços

2.3.1. Avaliação da atratividade para os extratos naturais

Para avaliar a resposta comportamental de *C. megacephala*, frente aos compostos voláteis emitidos pelas diferentes fontes alimentares: Carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa, nos estágios de decomposição (0 h, 24 h, 48 h e 72 h), foram conduzidos experimentos comportamentais em olfatômetro de quatro braços, descrito na patente depositada junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI, nº BR1020190045663). Este modelo de olfatômetro de quatro vias utilizado na presente pesquisa, foi uma adaptação baseada no modelo de olfatômetro descrito por Petterson (1970).

O olfatômetro de quatro braços é de vidro e possui uma arena com formato retangular, cujas dimensões da região frontal foi 20 cm de comprimento x 15 cm de altura x 15 cm de altura; as laterais mediam 15 cm de comprimento x 15 cm de largura x 15 cm de altura e a área central mediam 10,5 cm de comprimento x 4,3 cm de diâmetro (Figura 1). Os quatro braços de vidro foram conectados à área central e a extremidade interna de cada braço possuía um conector de 4,2 cm de diâmetro e uma abertura de 2 cm de comprimento, onde foram colocados os pedaços de papel filtro (2 x 2 cm) impregnados com 10 µL de diferentes amostras dos extratos provenientes das três fontes alimentares em diferentes períodos de decomposição e com igual volume do hexano bidestilado (tratamento-controle) (Figura 1). Os padrões sintéticos foram testados da mesma maneira.

Figura 1: Olfatômetro de quatro braços usado nos bioensaios comportamentais com adultos de mosca-varejeira. 1) arena, 2) frente, 3) lado, 4) braços, 5) conector e 6) conector central para a dispersão de ar.



Fonte: Autora 2020

O ar introduzido no olfatômetro foi previamente filtrado com carvão ativado e bombeado para dentro do sistema, utilizando um fluxo contínuo de 0.8 L/min aproximadamente em cada braço, ao mesmo tempo que o ar foi dispersado para o ambiente externo foi através de um conector central com dimensões de 4,2 cm de diâmetro interno com uma abertura de 2 cm de comprimento e de 0,5 cm de diâmetro situado na parte superior do olfatômetro.

Os braços do olfatômetro foram cobertos com cartolina preta para impedir interferência da luz da sala, que permaneceu acesa durante os testes, sobre o comportamento das moscas, uma vez que estas são atraídas pela luz (MORAES et. al. 2003).

Em cada braço continha um conector onde foi colocado o pedaço de papel de filtro (2 x 2 cm) impregnados com 10 µL dos extratos de carne bovina, peixe sardinha, camarão rosa e tratamento-controle (hexano HPLC), baseado na metodologia de Vuts et al. (2016).

Os testes foram realizados durante o período de maior atividade da espécie *C. megacephala*, ou seja, das 09:00 às 16:00 horas (BYRD; CASTNER, 2010). A temperatura da sala foi mantida a 30°C±1°C com umidade relativa do ar de 60%±1%.

Um macho ou fêmea de *C. megacephala* foi introduzido na base do olfatômetro e o seu comportamento foi observado durante 11 min, sendo que o primeiro minuto foi considerado como tempo de adaptação ambiental da mosca e os 10 minutos restantes para a avaliação do comportamento exibido pelo inseto. A resposta foi registrada quando a mosca caminhava contra o fluxo de ar até o final do braço que continha a fonte de odor. As moscas que não caminharam contra o fluxo de ar e/ou não tocaram nenhuma das fontes de odores durante os 10 min observados foram excluídas da análise estatística (LOPES et al. 2012). Os comportamentos observados nos bioensaios foram os seguintes: tempo para entrada nos braços do olfatômetro, número de entradas nos braços do olfatômetro e tempo de permanência nos braços do olfatômetro.

Para cada experimento, foram testados, pelo menos 40 insetos sendo 20 machos e 20 fêmeas. Cada inseto testado foi considerado como uma repetição. A fonte de odor foi trocada a cada mosca testada. A cada 4 minutos trocava-se a posição do olfatômetro e a cada inseto avaliado, trocava-se o olfatômetro por outro limpo e esterilizado em estufa a 150 °C.

2.3.2. Avaliação da atratividade para os padrões sintéticos

Os bioensaios empregando padrões sintéticos foram realizados em etapa subsequente a identificação dos compostos voláteis do camarão no estágio de decomposição (48 h) empregando o olfatômetro descrito no subitem 2.3.1. Os padrões sintéticos testados foram adquiridos comercialmente. Os experimentos para testar atratividade para *C. megacephala* foram realizados com os compostos testados individualmente, (i) fenol; (ii) 2- nonanona; (iii) dissulfeto de metila, em combinação binária; (iv) fenol + 2- nonanona; (v) fenol + dissulfeto de metila); (vi) 2- nonanona + dissulfeto de metila, (vii) solução dos 3(três) padrões sintéticos (Fenol, 2- nonanona e dissulfeto de metila).

2.4 Análises Eletroantenográficas

Para realização dos bioensaios em eletroantenografia GC-EAG, as antenas de fêmeas de *C. megacephala* foram testadas utilizando extrato de camarão 48 h e a solução dos padrões sintéticos identificados como atrativos para mosca fêmeas de *C. megacephala* disponíveis no LPqRN. Para realização dos bioensaios, as fêmeas foram anestesiadas em baixa temperatura (-10°C) por um minuto, em seguida, com o uso de tesoura entomológica, a antena foi removida e fixada no eletrodo de prata do sistema EAG. O ápice da antena colocado no eletrodo de trabalho e a base da mesma fixada no eletrodo de referência. Um gel condutor de eletricidade (Sigma Gel; Parker Laboratories, Inc., Fairfield, NJ) foi utilizado para cobrir as extremidades da antena no eletrodo.

Uma alíquota de 2µL dos extratos obtidos na aeração e a mistura dos padrões sintéticos foram injetadas em um cromatógrafo a gás acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC) modelo Shimadzu QP-2010, operado com divisão de fluxo no modo “split”, contendo coluna capilar RTX-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm) (RESTEK Chromatography Products), onde o efluente da coluna foi dividido em duas partes, uma parte foi direcionada para o detector de ionização em chamas (DIC) e a outra para detector eletroantenográfico (EAG).

As zonas de aquecimento do instrumento foram programadas para operar nas seguintes temperaturas: injetor: 280 °C, detector (DIC:) e forno: temperatura inicial de 50 °C, a qual foi mantida por 5 minutos, com velocidade de aquecimento de 8°C/min até atingir 250 °C aumentando 10°C por minuto até atingir a temperatura final de 280°C. O nitrogênio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1L/min.

Os sinais obtidos foram registrados pela passagem em um amplificador de alta impedância (IDAC4, Syntech 2004, Hilversum, The Netherlands). As saídas do amplificador de EAG e do DIC foram monitoradas simultaneamente e analisados usando o pacote de software Autopike, Syntech (2008). Os compostos resultantes das análises no GC foram considerados ativos quando apresentaram atividade no EAG em duas ou mais análises. Apenas as amostras que apresentaram atratividade nos bioensaios comportamentais foram analisadas por CG-EAG.

2.5 Análises químicas para identificação dos COVs

As amostras obtidas foram analisadas por cromatografia gasosa acoplado a detector de ionização em chamas (CG-DIC) e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de

massas (CG-EM). Para realização das análises cromatográficas, os extratos obtidos nas aerações foram retirados do freezer e mantidos em temperatura ambiente por um período de aproximadamente 5 minutos. Em seguida, uma alíquota de 1 µL de cada extrato foi introduzida no cromatógrafo gasoso acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC), modelo Shimadzu QP-2010 2 com uma coluna Nist-05 (5% Fenil, 95% Dimetilpolisiloxano) com (30 md. 0,25 mm). As condições de análises empregadas no GC-DIC e no CG-EM foram as mesmas descritas no item 2.4, exceto pela coluna Nist-01 (100% Dimetilpolisiloxano) (30 md. 0,25 mm). Como gás de arraste nas análises por CG-DIC utilizou-se o nitrogênio com fluxo de 1 mL/min. e nas análises por CG-EM (modelo QP 2010 Ultra (Shimadzu), empregou-se o hélio com fluxo de 1 mL/min.

Os espectros de massa foram obtidos com o CG-EM operando no modo de ionização por impacto de elétrons a 70eV. Os compostos voláteis presentes nas amostras analisadas foram identificados da seguinte forma: análise de fragmentação de cada composto, comparação de espectro de massa de cada composto presente na amostra com aqueles compilados nas bibliotecas de referência (NIST 08s; NIST 27; NIST 147; e WILEY 229), comparação do Índice de Retenção Linear (IRL) com aqueles disponíveis na literatura e em bancos de dados específicos (<pherobase.com> e em <pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), empregando o índice de similaridade e, quando disponível mediante coinjeção de padrões sintéticos. Utilizando ainda as informações sobre o índice de retenção linear obtido nas análises no CG-DIC e comparação com padrões sintéticos, quando possível.

Os compostos voláteis, presentes no extrato de camarão no estágio de decomposição de 48 h, foram quantificados pelo uso do método de normalização de áreas, empregando tetradecano (C14) como padrão interno. As percentagens relativas destes compostos foram determinadas com base na metodologia descrita por Geerliet et al. (1997), na qual a divisão da área correspondente a cada pico no cromatograma dividida pela área total de todos os picos dos compostos identificados na amostra corresponde a contribuição de cada composto na mistura de voláteis analisada.

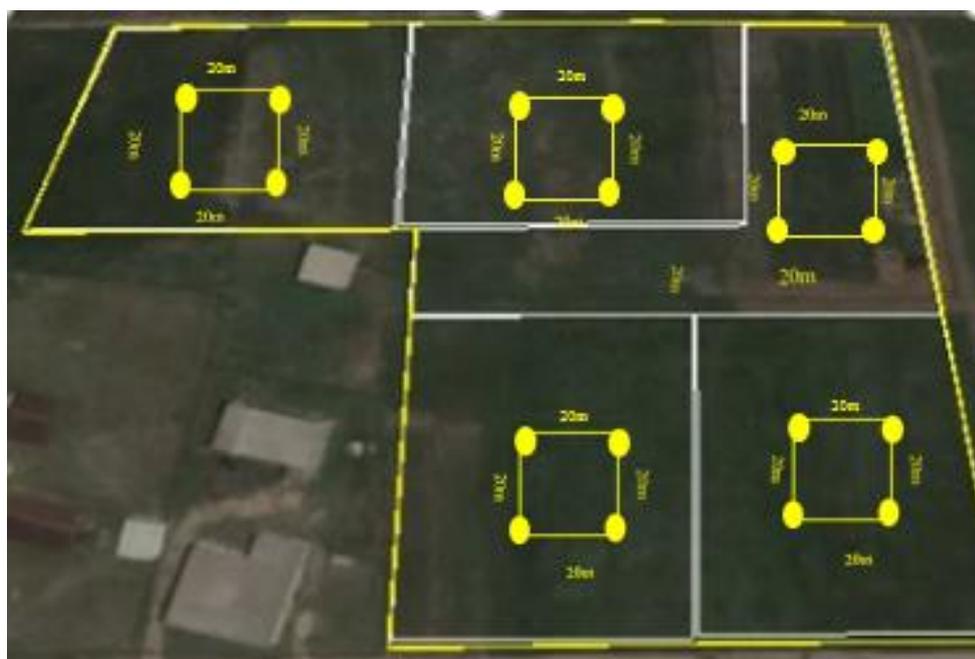
Para confirmar a identidade dos compostos presentes no extrato de camarão com 48 h de decomposição, foram preparadas soluções dos padrões analíticos comerciais (Sigma-Aldrich, Brasil), identificados no item 2.4. As soluções destes padrões, em hexano bidestilado (grau HPLC, Vetec) foram preparadas na concentração de 1000 ppm, a qual foi considerada como solução estoque. A partir desta solução foram obtidas outras soluções com as concentrações desejadas para a realização dos testes.

2.6. Testes a Campo

2.6.1 Experimentos realizados com padrões sintéticos e extrato de camarão 48 h.

A pesquisa foi conduzida no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, na área experimental núcleo de produção e melhoramento animal. A área experimental possuía 5.000 m² (100 x 50 m) e desta área foram subtraídos 10 m lineares como bordaduras para os quatro lados (10 m a área limite). A área experimental escolhida apresenta as seguintes coordenadas geográficas 9°27'57.37" S e 35.49'54.15" e as seguintes variáveis climáticas: temperatura variando entre 29 a 31 °C e umidade relativa do ar variando entre 58% a 60%. O experimento foi conduzido durante o período de 11 a 27 de novembro de 2019 (Figura 2).

Figura 2: Área experimental com área com um total de 2,5 ha, dividida em cinco áreas. Esquema de distribuição das armadilhas cada armadilha com aproximadamente 20 m de distância uma da outra.



Fonte: Autora 2020

O experimento foi conduzido com 4 tratamentos e 5 repetições (cada área foi considerada uma repetição). Os tratamentos testados foram os seguintes: tratamento 1 (controle); tratamento 2 (extrato de camarão 48 h); tratamento 3 (solução dos padrões sintéticos na concentração de 50 ppm) e tratamento 4 (solução dos padrões sintéticos na concentração de 100 ppm).

As armadilhas utilizadas nesses testes consistem em depósitos de composição plástica transparentes com capacidade de 3L, nas quais foram colocados pisos adesivos, contendo o septo de borracha com um tratamento. As iscas contendo os tratamentos foram colocadas nos pisos das armadilhas e afixadas a 5m do solo e com distância aproximada de 20 m entre cada tratamento com distribuição ao acaso, seguindo as recomendações descritas por Orth et. al. (1986) (Figura 3).

Os septos de borracha foram utilizados como liberadores de voláteis, impregnados com doses de aproximadamente 3 μ L conforme preconizado por Kovaleskii et al. (2003). Estes septos foram impregnados com extrato de camarão no estágio de decomposição 48 h e com a mistura sintética que continha fenol, 2-nonanona e disulfeto de metila nas concentrações de 50 ppm e 100 ppm. O septo de borracha impregnado com hexano foi o tratamento-controle.

A cada três dias, 3 μ L de cada tratamento, foram acrescentados nos septos de borrachas que se encontravam dentro das armadilhas. O hexano (tratamento-controle) era adicionado diariamente, em razão da sua alta volatilidade. As avaliações foram realizadas diariamente, no período de 16:30 às 17h, por um período de 15 dias, sendo efetuada a contagem dos insetos no término de cada dia de experimento. Em seguida, as moscas eram acondicionadas em tubos de ensaios e congeladas para posterior identificação. Após cada avaliação as armadilhas foram rotacionadas .

Figura 3: Armadilhas de composição plástica, com piso adesivos e com septos de borrachas impregnadas com hexano (controle), solução do padrão sintético a 50 ppm e solução do padrão sintético a 100 ppm e extrato natural do camarão 48 h.



Fonte: Autora 2020

2.7 Análises estatísticas

Os dados da resposta de machos e fêmeas para os diferentes tratamentos em olfatômetro foram analisados utilizando-se o teste Qui-quadrado através do Software Genes (CRUZ, 2013). Já os dados das avaliações do potencial atrativo das iscas naturais, carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa, nos períodos distintos de decomposição e para avaliar os dados da atratividade do extrato de camarão 48 h e a solução dos padrões sintéticos nas concentrações de (50 e 100 ppm) para moscas *C. megacephala* no teste de campo foram tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA) e analisados utilizando-se teste de Tukey, e o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2016) com intervalo de confiança de 95%. Os dados para o tempo de permanência das moscas nos braços do olfatômetro de quatro braços foram tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA) usou-se teste de Skott Knott, utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2016) com intervalo de confiança de 95%.

3. RESULTADOS

3.1 Respostas comportamentais em olfatômetros de quatro braços e eletroantenografia

Os resultados em bioensaios comportamentais em condições de olfatômetros de quatro braços, demonstraram que o extrato de camarão 48 h atraiu um maior número de fêmeas (54%), sendo detectada uma diferença significativa ($P < 0.05$) quando este tratamento foi comparado aos outros tratamentos, como pode ser visto na tabela 2.

Tabela 2: Média percentual de entradas de moscas fêmeas adultas de *Chrysomya megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de carne bovina, peixe sardinha, camarão rosa em diferentes períodos de decomposição, no olfatômetro de quatro braços.

Amostra	0 horas	24 horas	48 horas	72 horas
Camarão	44	39	54	17
Carne	22	28	20	28
Peixe	11	11	11	22
Controle	22	22	15	33
χ^2 Calculado	15,80**	16,4**	35,76**	5,84n.s.
χ^2 Tabelado 3G.L e 5%	7,81			
χ^2 Tabelado 3G.L. 1%	11,30			

(**) dados significativos a 5% e (*) dados significativos 1%, pelo teste de Qui-Quadrado e NS denota que não houve atividade significativa.

Por sua vez, os machos foram mais atraídos para o tratamento-controle ($P < 0,05$) quando comparado aos demais extratos, conforme pode ser visto na tabela 3, indicando que houve uma provável repelência para as moscas machos.

Tabela 3: Média percentual de entradas de moscas machos adultas de *Chrysomya megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de carne bovina, peixe sardinha, camarão rosa em diferentes períodos de decomposição, no olfatômetro de quatro braços.

Amostra	0 horas	24 horas	48 horas	72 horas
Camarão	18	19	18	12
Carne	12	19	12	19
Peixe	12	12	12	19
Controle	59	50	58	50
χ^2 Calculado	61,72**	34,64**	59,04**	34,64**
χ^2 Tabelado 3G.L e 5%	7,81			
χ^2 Tabelado 3G.L. 1%	11,30			

(**) dados significativos a 5% e (*) dados significativos 1%, pelo teste de Qui-Quadrado e NS denota que não houve atividade significativa.

Quanto ao tempo de permanência das fêmeas no olfatômetro, constatou-se que o braço com os extratos de camarões em todos os tempos de decomposição, desencadeou maior tempo de permanência na fonte de odor quando comparada aos demais extratos ($P < 0,05$), excetuando-se o extrato de camarão 72 h (Tabela4).

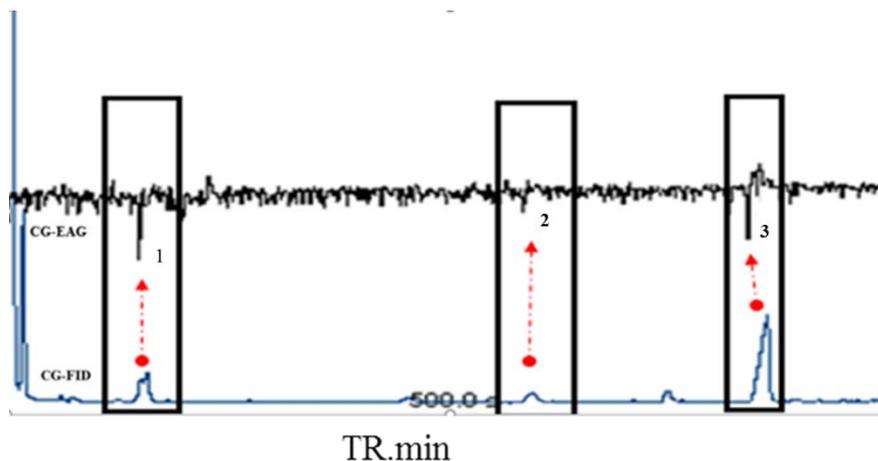
Tabela 4: Tempo médio de permanência (s) adultos fêmeas de *Chrysomya megacephala* em cada braço do olfatômetro em respostas às amostras de carne bovina, peixe sardinha e camarão nos períodos de 0h, 24h, 48h e 72h.

Amostra\Tempo	0h	24h	48h	72h
Controle	12,35±7,15d	10,80±7,88c	2,90±2,85c	94,30±29a
Peixe	62,20±34,13c	56,45±30,94b	27,00±18,69b	81,00±37,89a
Carne	104,90±42,05b	80,05±37,39b	34,65±19,04b	101,00±41,55a
Camarão	177,40±50,82a	219,35±50,82a	322,00±54,70a	38,75±21,73b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si a um intervalo de confiança ao nível de 5% de probabilidade ou $P < 0,05$ pelo teste de Skott Knott.

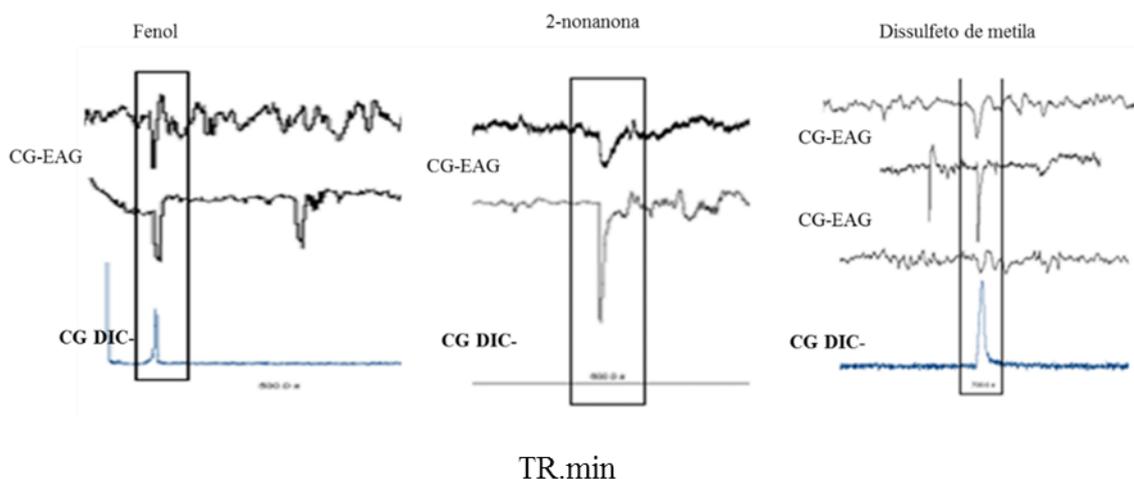
As análises por CG-EAG revelaram que três compostos presentes no extrato de camarão em 48h de deposição, elicitaram despolarização nas antenas de fêmeas de *C. megacephala*, indicando que estes compostos possuem receptores específicos nas antenas de fêmeas (Figura 4).

Figura 4: Respostas eletroantenográfica das antenas das fêmeas *Chrysomya megacephala* para três compostos bioativos presentes no extrato de camarão em 48h de decomposição.



Dentre os três compostos bioativos, observou-se que o terceiro composto (TR=11.321 min) é o componente majoritário, ao passo que o primeiro composto (TR=5.567 min) apresenta proporção intermediária e o segundo composto (TR=10.429 min) é o menos abundante dos três compostos (Figura 5).

Figura 5: Expansão das respostas eletroantenográfica de *C. megacephala* frente aos compostos sintéticos previamente identificados no extrato de camarão 48 h, disponíveis no LPqRN.



3.2. Análises CG-DIC e CG-EM

Seis compostos foram identificados nas análises por Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chamas e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) dos extratos de aeração de camarão no estágio de decomposição (48 h).

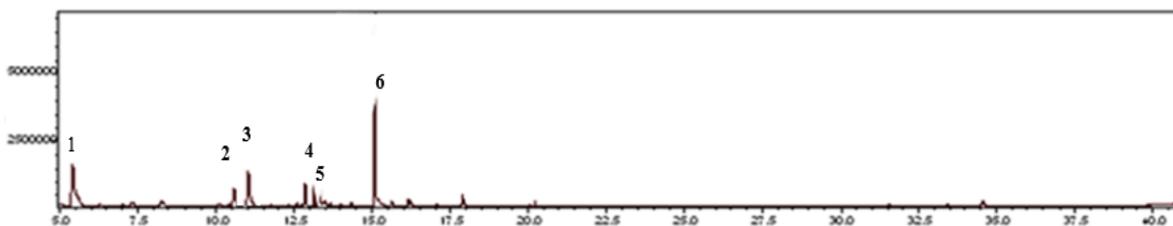
As substâncias identificadas pertencem as seguintes classes: álcool, composto sulfurado, cetonas e amina. Dentre os seis compostos identificados, os três constituintes que elicitaram despolarização nas antenas de fêmeas foram identificados como sendo fenol, 2-nonanona e disulfeto de metila. Os demais compostos não desencadearam respostas antenais nas fêmeas (Tabela 6, Figura 6).

Tabela 6: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de camarão em 48h de decomposição.

COMPOSTOS	GC EAG		GC-FID		GC-MS		Coluna DB-1	GC-MS
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E	COMPOSTOS
1	5.567	979	5.484	978	5.486	978	978	FENOL
2	10.429	1075	10.509	1076	10.697	1080	1075	2- NONANONA
3	11.321	1094	11.335	1094	11.221	1092	1094	DISSULFETO DE METILA

TR = Tempo de Retenção nas análises por CG-DIC; LRI = Índice de Retenção Linear, calculado a partir de uma equação linear baseada nos tempos de retenção dos compostos identificados em relação a uma série homóloga de n-alcenos C7-C30 (Sigma-Aldrich) injetada nas mesmas condições das amostras. IRL_C = Índice de Retenção Linear Calculado, IRL_E = Índice de Retenção Linear Encontrado no Banco de dados da web [The pherobase (EL-SAYED, 2020)].

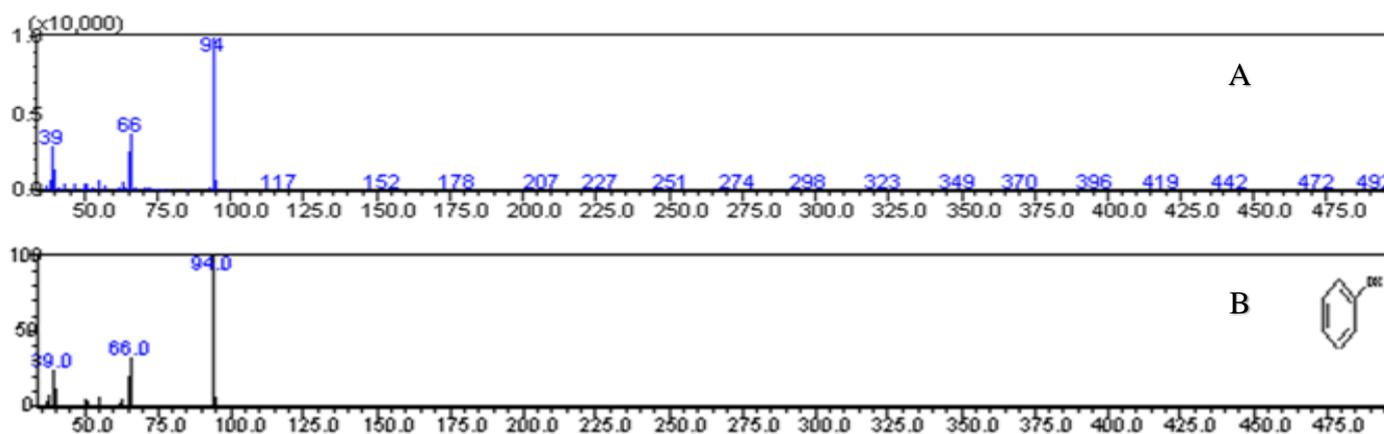
Figura 6: Cromatograma representativo dos compostos voláteis coletados de extrato de camarão após 48h de decomposição.



3.2.1. Espectros de massas dos compostos do extratos de camarão 48h versus os espectros de massas dos compostos disponíveis nas bibliotecas do CG-EM.

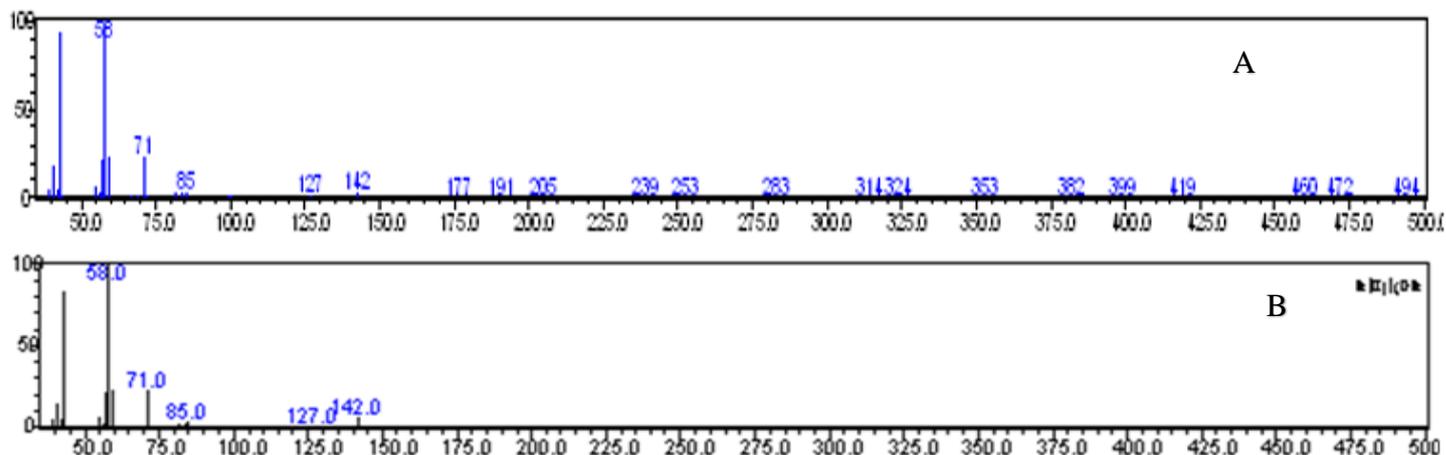
O espectro de massas do fenol (composto 1) (Figura 7 A) é caracterizado por um pico do íon molecular de massa 94, o qual também é o fragmento mais abundante do espectro, sendo caracterizado como o pico básico. O fragmento de massa m/z 66 corresponde a um fragmento iônico, derivado da decomposição do íon molecular, pela perda de 28 unidades de massas, correspondente a perda de uma molécula de eteno. A análise comparativa do espectro de massas do composto 1 com o disponível na biblioteca do CG-EM revelou um percentual de similaridade acima de 90% entre os dois espectros, como pode ser observado na Figura 7 B.

Figura 7: Espectros de massas do fenol (composto 1). A) Espectro do composto presentes no extratos de camarão 48h. B) Espectro do fenol conforme a bibliotecas do CG-EM.



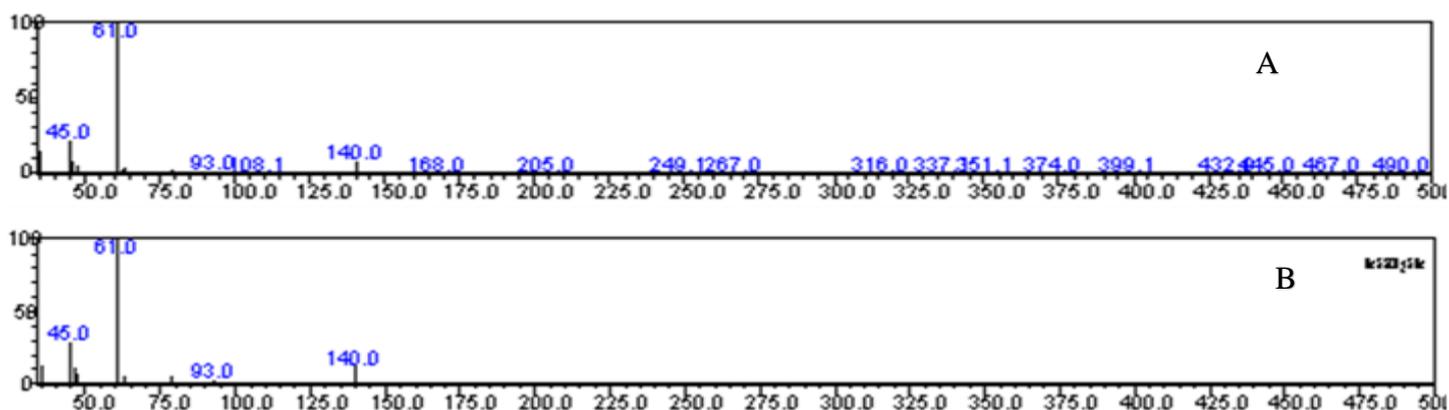
O espectro de massas da 2-nonanona (composto 2) (Figura 8A), é caracterizado pela presença de um fragmento de massa 142 correspondente ao íon molecular e um fragmento de massa m/z 58, que é o íon mais abundante do espectro, o qual é derivado do íon molecular pela perda de 84 unidades de massa, através de rearranjo de McLafferty para cetonas. Comparando-se o espectro do composto 2 com o espectro da 2-nonanona disponível na biblioteca do CG-EM (Figura 8B), observa-se que a similaridade entre eles é superior a 90%.

Figura 9: Espectros de massas do 2-nonanona (composto 2). A) Espectro do composto presentes no extratos de camarão 48h. B) Espectro do 2- nonanona conforme a bibliotecas do CG-EM.



Uma análise comparativa entre o espectro de massas do composto 3 (Figura 9A) com o espectro do dissulfeto de metila, disponível na biblioteca do instrumento (Figura 9B), demonstrou que a similaridade entre ambos é superior a 90%.

Figura 9: Espectros de massas do dissulfeto de metila (composto 3). A) Espectro do composto presentes no extratos de camarão 48h. B) Espectro do dissulfeto de metila conforme a bibliotecas do CG-EM.

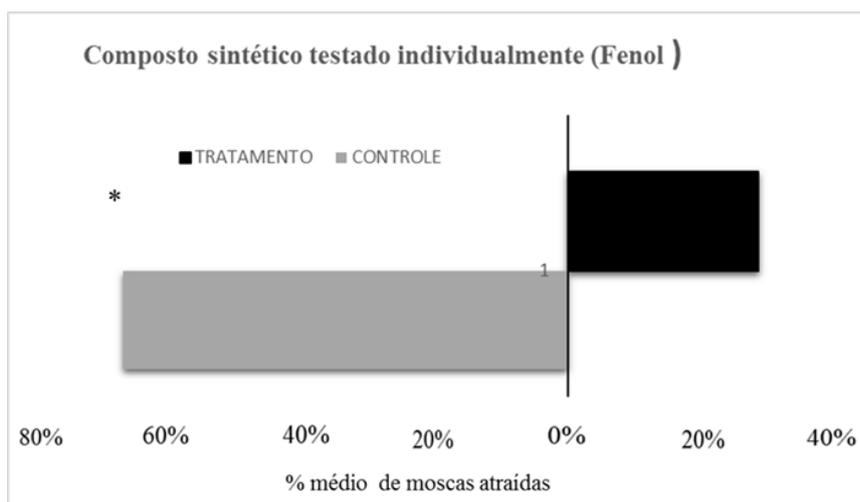


3.3 Avaliação da atividade biológica dos compostos sintéticos

3.3.1 Análises individualizadas dos compostos sintéticos

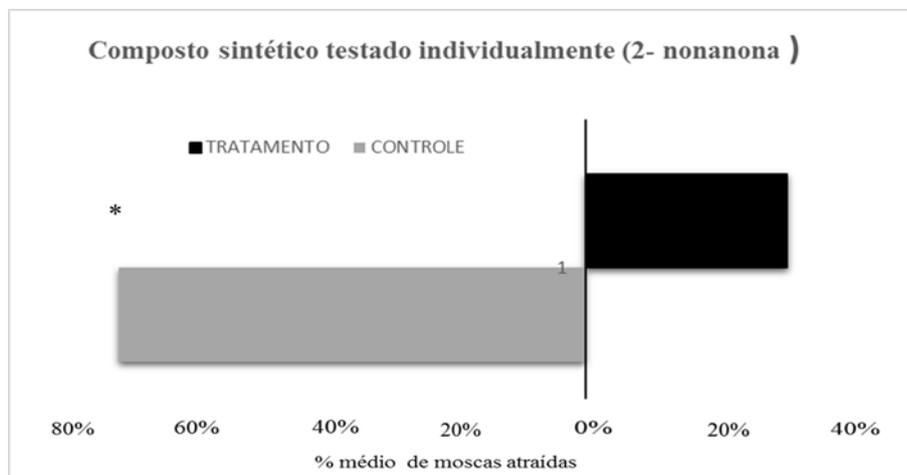
Nos bioensaios, em condições de olfatômetro de quatro braços, na avaliação da atratividade das moscas fêmeas, *C. megacephala*, para os compostos sintéticos testados individualmente, fenol, 2- nonanona e dissulfeto de metila, não apresentaram diferenças significativas na atratividade para as moscas fêmeas, quando comparado ao tratamento - controle ($P > 0,01$). No entanto, as moscas fêmeas foram mais atraídas para o tratamento- controle ($P < 0,01$) (Figuras 10,11 e 12).

Figura 10: Percentual médio de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços ao odor fenol



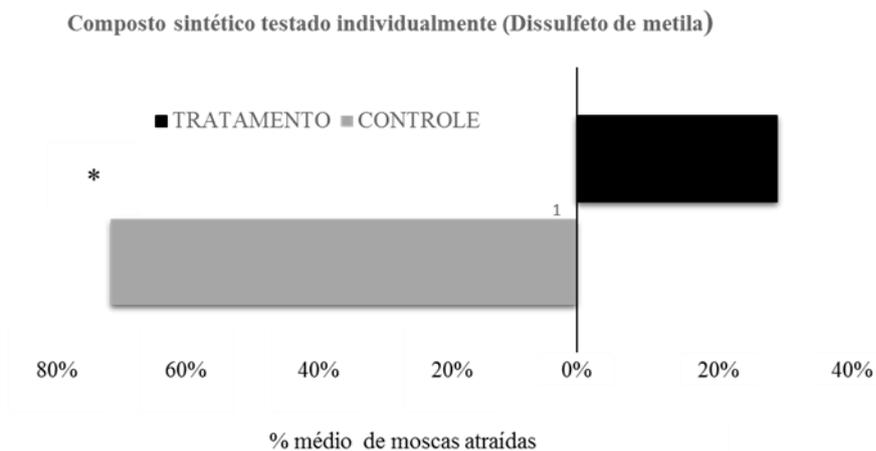
(*) Significancia a 1% de probabilidade .

Figura 11: Percentual médio de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços ao odor 2- nonanona.



(*) Significancia a 1% de probabilidade .

Figura 12: Percentual médio de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços ao odor dissulfeto de metila

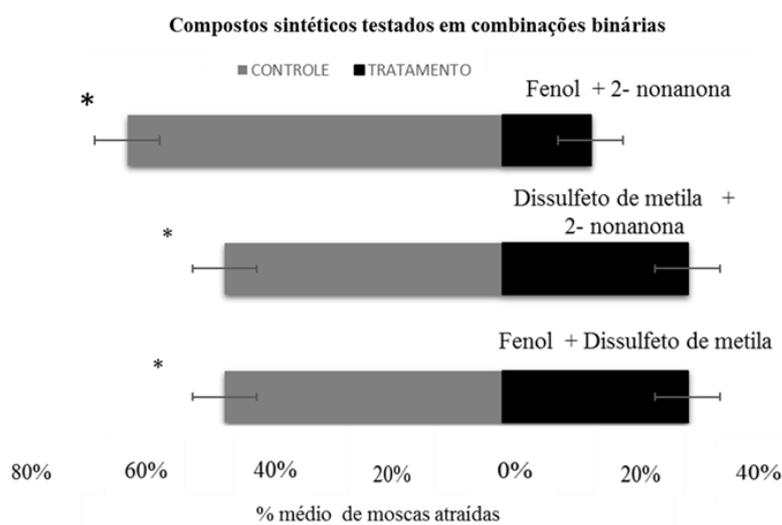


(*) Significancia a 1% de probabilidade

3.3.2 Análises em combinações binárias dos compostos sintéticos para *C. megacephala*

Nos bioensaios, nas condições de olfatometro de quatro braços, na avaliação da atratividade de moscas fêmeas, *C. megacephala*, para os odores em combinações binárias, fenol + dissulfeto de metila, fenol + 2- nonanona e dissulfeto de metila + 2- nonanona, as moscas fêmeas não apresentaram diferenças significativas para atratividade ao comparar com o tratamento controle ($P > 0,01$). Entretanto, as moscas fêmeas foram mais atraídas para o tratamento- controle ($P < 0,01$) (Figuras 13).

Figura 13: Percentual média de atratividade de moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços aos odores das combinações binárias (Fenol + dissulfeto de metila, fenol + 2- nonanona e dissulfeto de metila + 2- nonanona).

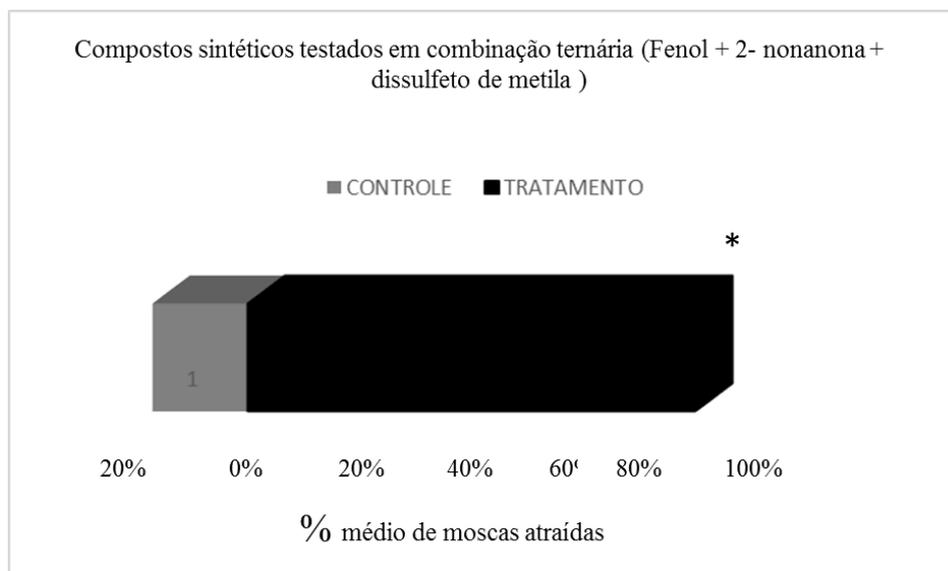


(*) Significancia a 1% de probabilidade ..

3.3.3 Análises em combinação ternária dos compostos sintéticos

Nos bioensaios, nas condições de olfatômetro de quatro braços, na avaliação da atratividade de moscas fêmeas, *C. megacephala*, para os odores em combinação ternária, fenol + 2- nonanona + dissulfeto de metila, as moscas fêmeas foram mais atraídas para mistura ternária ao comparar com tratamento-controle ($P < 0,01$) (Figuras 14).

Figura 14: Percentual médio de atratividade moscas fêmeas de *Chrysomya megacephala*, em condições de olfatômetro de quatro braços aos odores das combinação ternária (Fenol ++ 2- nonanona + dissulfeto de metila).



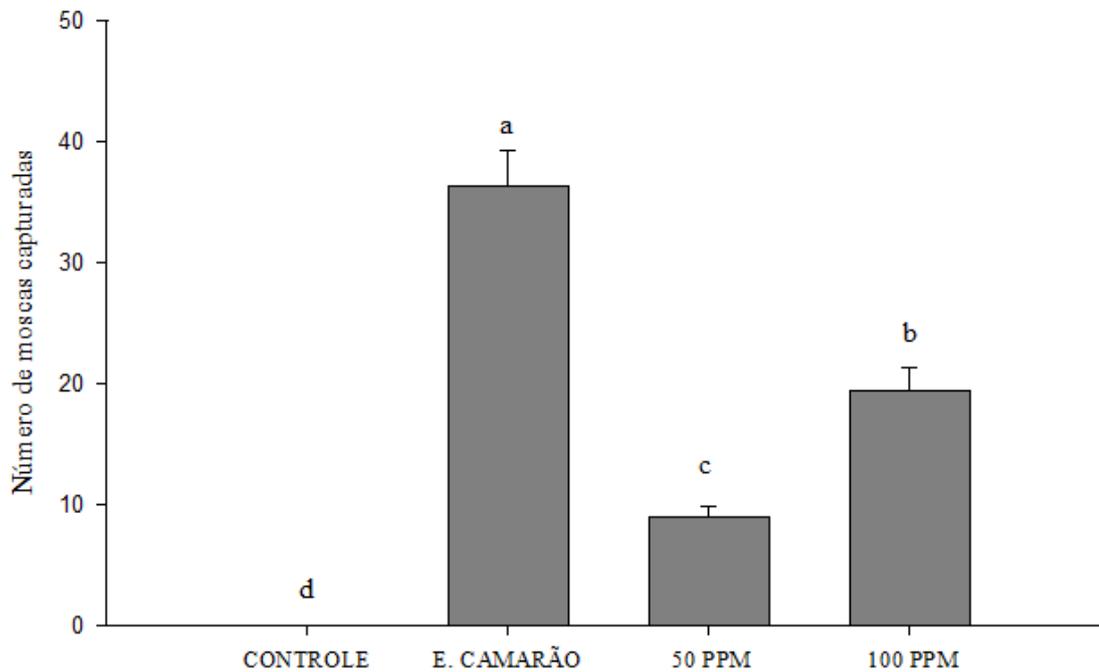
(*) Significancia a 1% de probabilidade .

3. 4. Teste de atratividade a campo

Durante os testes experimentais a campo capturou-se um total de 324 (trezentos e vinte quatro) espécimes, das quais 219 (duzentos e dezenove) foram identificadas como *C. megacephala*, conforme as chaves propostas por Grella et al. (2015). Do total de moscas 93,5% foram fêmeas e 6,5% foram machos.

Observou-se ainda que, as soluções dos padrões sintéticos nas concentrações 50 ppm e 100 ppm, mostraram-se menos atrativos para as moscas ao comparar com o extrato de camarão 48 h, conforme os resultados dos testes a campo(Figura-15). Pôde-se, constatar diferenças significativas quanto a atratividade para esses odores, quando comparados ao tratamento-controle (Figura 15). Neste caso, o tratamento extrato de camarão 48 h, diferiu significativamente ($P < 0,05$) quanto a atratividade para os odores soluções dos padrões sintéticos(50 ppm e 100 ppm) e tratamento-controle (Hexano).

Figura 15: Número total de moscas adultas de *C. megacephala* coletadas nos tratamentos controle, extrato de camarão 48 h e soluções ternárias dos padrões sintéticos nas concentrações (50 e 100 ppm).



Médias seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, observou-se que o tempo de decomposição das fontes alimentares tem relação direta com concentrações relativas e liberação destes compostos e conseqüentemente tem influencia na atratividade, assim, acredita-se que, os resultados alcançados nas condições de olfatômetro de quatro braços para moscas fêmeas *C. megacephala*, frente ao extrato de camarão 48 h, estão relacionados às concentrações desses compostos (fenol, 2-nonanona e dissulfeto de meila) e conseqüentemente influenciando o comportamento das fêmeas, uma vez que foi observado que 54% das fêmeas foram atraídas para a fonte de odor contendo o extrato de camarão 48 h.

Os resultados obtidos, demonstraram que o aumento da concentração resultou no aumento da atratividade de fêmeas (ver apêndice 1), ou seja, que atração de fêmeas para a fonte de odor é diretamente proporcional a concentração do estímulo testado..

Em um estudo similar a este, Frederickx et al. (2012) avaliaram as respostas de *Lucilia sericata* Meigen (Diptera: Calliphoridae) frente aos compostos orgânicos voláteis emitidos durante o processo de decomposição da carcaça de suínos, constataram que os compostos sulfurosos e butan-1-ol atraíram fortemente as moscas e as concentrações influenciaram nas respostas comportamentais, todavia a super dosagem do compostos não apresentaram qualquer tipo de atratividade. Da mesma forma Liu et al. (2016) avaliaram respostas comportamentais de *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) aos compostos voláteis resultante de decomposição microbiana de meios larvais, observaram que as respostas comportamentais dessas moscas dependem das concentrações de cada composto testado.

O tempo de decomposição provavelmente seja o fator que influencia na concentração dos compostos nos extratos, portanto, verificou-se que o extrato de 48 h foi o período de maior concentração dos voláteis de camarão em decomposição. Johansen et al (2013) observaram que diferentes estágios de decomposição proporcionaram aumento nas concentrações de voláteis liberados de carcaças de camundongos, aumentando sua atratividade, principalmente para que fêmeas que buscam sítios para oviposição (LIU et al. 2016; CHAUDHURY et al. (2010).

No que se refere, tempo de permanência das fêmeas de *C. megacephala*, os resultados demonstraram que os braços em que se encontravam os extratos de camarão em diferentes períodos de decomposição, apresentaram maiores tempos de permanência. Este resultado reafirma que a atratividade desses compostos tenha correlação com a concentração (Ver apêndices 1, 2, 3 e 4), como foi reportado por Silva (2005) e Oliveira et al. (2013).

Ao analisar o extrato com a fonte de maior atratividade, ou seja, camarão 48 h, verificou-se que três compostos eliciaram despolarização nas antenas de fêmeas de *C. megacephala* e estes foram caracterizados como sendo fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila. As classes de compostos liberados pelo extrato de camarão 48 h também foram encontradas por Brasseur et al. (2012) na mistura de compostos voláteis extraídos nas carcaças de suínos em processo de decomposição, os quais identificaram as seguintes classes de compostos: aromáticos, oxigenados, sulfurados e heterocíclicos. Estes compostos foram encontrados anteriormente em outros organismos com atratividade para moscas, principalmente pertencentes à família Calliphoridae (DEKEISSCHIETER et al. 2009; CABLK et al. 2012; OLIVEIRA-COSTA et al. 2013; PACZKOWSKI et al. 2015).

Zhu et al. (2017), reportaram que o dissulfeto de metila, trissulfeto de dimetila, fenol, p-cresol e indol são compostos capazes de eliciar atratividade em moscas da família Calliphoridae. Archer; Elgar (2003) ressaltaram que os compostos de enxofre liberam um cheiro característico de matéria orgânica em decomposição utilizados como atrativos de longa distância para moscas em buscas de sítios para oviposição, assim como também observado por Chaudhury et al. (2014) e Recinos-Aguilar et al. (2020).

De acordo com Ashworth; Wall (1994) várias espécies pertencentes a família Calliphoridae, são orientadas para os sítios de alimentação e/ou oviposição por intermédio de compostos voláteis ricos em enxofre produzidos por infecções provocadas por bactérias no hospedeiro. Da mesma forma, Ignell; Hansson (2005) evidenciaram que as fêmeas de moscas varejeiras são atraídas por compostos voláteis, oriundos de matéria orgânica em decomposição, principalmente compostos voláteis de enxofre, objetivando encontrar sítios de alimentação e depositar os seus ovos em locais favoráveis para o desenvolvimento de sua prole.

Todavia, os resultados obtidos em nossa pesquisa, demonstraram que os compostos: fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila testados individualmente e em combinação binária não atraíram significativamente fêmeas de *C. megacephala*, sugerindo que os compostos testados individualmente e em combinação binária podem provocar repelência nestes insetos. No entanto, em combinação terciária dos padrões sintéticos observou-se diferença significativa da solução desses padrões frente a *C. megacephala*.

Esse resultado, explica-se no fato que cada composto apresenta em sua composição moléculas com funções específicas, atuando na comunicação das espécies de forma diferente, provavelmente, ocorreram interações sinérgicas entre os constituintes bioativos do extrato de camarão 48 h, que resultou na potencialização da atratividade para mistura terciária, quando

comparado com os compostos isolados e em combinação binária, de maneira a influenciar o comportamento das fêmeas desta espécie, de maneira semelhante foi observado em outro diptero (SCALERANDI et al. 2018).

Assim como, Sulston et al. (2014) avaliaram os efeitos sinérgicos de iscas sintéticas na captura de moscas tsé-tsé (Diptera: Glossina). Isca sintética constituída dos compostos voláteis extraídos das feridas dos gados, composto identificado: 2-mercaptoetanol e POP isca sintética compostas por: 4-metilfenol, 3-propilfenol e 1-octen-3-ol, identificados a partir de voláteis de odor ativos de boi. Os autores constataram que as misturas das iscas proporcionaram interações sinérgicas, resultando no aumento das capturas de moscas tsé-tsé no campo.

Em relação ao efeito sinérgico da mistura frente ao comportamento de insetos, Dhinakaran et al. (2019) demonstraram que o total de seis combinação de terpeno, exibiram efeito sinérgico no controle de larvas de mosquitos, sem produzir efeito antagônico. Esse efeito sinérgico ou antagônico das moléculas está relacionado com a estrutura das moléculas, posição e natureza funcional das proporções das misturas. Desta forma, evidencia a importância dos compostos em combinações para aumentar a eficiência no controle dos artrópodes.

Nos testes de campo observou-se que *C. megacephala* é a espécie predominante no meio rural. Esse resultado corrobora a constatação de Moura (2004) e Leandro; D’Almeida (2005), no teste de campo. Das espécies registradas, pôde-se verificar que *C. megacephala* foi a de maior predominância quantitativa em relação às demais espécies constatadas no ambiente rural, exposto às condições atmosféricas.

Nestes testes, verificou-se que as armadilhas com iscas de extrato de camarão 48 h capturaram um número maior de moscas que as armadilhadas iscadas com as soluções dos compostos sintéticos em diferentes concentrações, esse resultado indica que as diferenças se devam as concentrações e as variáveis climáticas predominantes no ambiente rural.

As interferências abióticas foram observadas, principalmente em relação à temperatura, umidade e ação do vento, agem alterando o processo de liberação e dispersão dos compostos voláteis, assim como na densidade populacional das moscas, de maneira a afetar nas diferenças quantitativas das capturas das moscas. Estudos exploratórios constataam as interferências dos fatores climáticos na abundância de insetos (FERREIRA et al. 2006; PINHEIRO et al. 2008; ROSA et al. 2011) e na liberação e dispersão dos compostos voláteis (NI et al. 2012; LLUSIA et al. 2013), resultados estes que corroboram com os constatados nesta pesquisa. .

5. CONCLUSÃO

As moscas adultas de *C. megacephala* fêmeas são atraídas por compostos voláteis presentes nas fontes alimentares. Essa atração é mediada por compostos orgânicos voláteis liberados pela fonte alimentar camarão 48h, referenciadas como semioquímicos(apneumônios).

As análises por cromatografia gasosa acoplada à eletroantenografia e espectrometria de massas permitiram a identificação de 3(três) compostos orgânicos voláteis no extrato de camarão 48 h capazes de desencadear resposta eletrofisiológica nas antenas de *C. megacephala*: Fenol 2- nonanona e dissulfeto de metila.

Nos bioensaios comportamentais nas condições de olfatômetro de quatro braços, o extrato de camarão 48 h obteve a maior percentagem de entradas, mostraram atratividade para as moscas fêmeas. Para os machos coespecíficos não foram atrativos.

Nos bioensaios comportamentais das moscas fêmeas com os compostos sintéticos, foram observados que as moscas fêmeas responderam significativamente frente a mistura ternárias (fenol, 2- nonanona e dissulfeto de metila). Em contrapartida, as moscas fêmeas não responderam significativamente para os compostos individuais e para as misturas binárias.

No teste de campo, o extrato natural de camarão 48 h e as soluções sintéticas mostraram-se atrativas frente as moscas fêmeas *C. megacephala*. Para os machos, os testes de campo sugerem repelências para todos os tratamentos testados.

Diante do exposto, conclui-se que a solução (camarão 48 h) é atrativo para *C. megacephala*, revelando potencial para ser utilizado como isca em armadilhas para monitoramento e controle da referida espécie. Esse resultado tem grande importância para a saúde pública, setor pecuarista e ao meio ambiente, à medida que, proporcionará a redução das perdas socioeconômicas provocadas por *C. megacephala*.

6. PERSPECTIVAS

É necessário mais estudo sobre o comportamento de moscas adultas *C. megacephala*, frente aos extratos de camarão 48 h, assim como atividade de repelência dos compostos liberados pelo extrato de camarão 48 h para as moscas machos.

Dentro desta perspectiva faz-se necessário mais pesquisas sobre a influência dos fatores abióticos, principalmente temperatura e o vento, no tempo de liberação dos compostos voláteis, assim como a influência da concentração na atratividade para *C. megacephala*.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. M.; RIBEIRO-COSTA, C. S.; MARINONI, L. Manual de coleta, conservação, montagem e identificação de insetos. In: **Manual de coleta, conservação, montagem e identificação de insetos**. 2003. p. 78-78.

ARCHER, M. S.; ELGAR, M. A. Effects of decomposition on carcass attendance in a guild of carrion-breeding flies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 17, n. 3, p. 263-271, 2003.

ASHWORTH, J. R.; WALL, R. Responses of the sheep blowflies *Lucilia sericata* and *L. cuprina* to odour and the development of semiochemical baits. **Medical and veterinary entomology**, v. 8, n. 4, p. 303-309, 1994.

BARBOSA, L. S. et al. Muscidae, Sarcophagidae, Calliphoridae e Mesembrinellidae (Diptera) da Estação Biológica de Santa Lúcia (Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil). **Boletim do Museu Biológico Mello Leitão**, v. 33, p. 131-140, 2014.

BERNARDINO H. H. U. et al. Uso de plaguicidas en el cultivo de maíz en zonas rurales del Estado de Oaxaca, México. **Revista de Salud Ambiental**, v. 19, n. 1, p. 23-31, 2019.

BRASSEUR, C. et al. Comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry for the forensic study of cadaveric volatile organic compounds released in soil by buried decaying pig carcasses. **Journal of Chromatography A**, v. 1255, p. 163-170, 2012.

BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. **Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations**. 2 ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010. 681p.

CABLK, M. E.; SZELAGOWSKI, E. E.; SAGEBIEL, J. C. Characterization of the volatile organic compounds present in the headspace of decomposing animal remains, and compared with human remains. **Forensic Science International**, v. 220, n. 1-3, p. 118-125, 2012.

CAMPOBASSO, C.P.; DI VELLA, G.; INTRONA, F. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science International**, v. 120, p. 18-27, 2001.

CARRIÇO, César et al. Biological activity of *Pouteria sapota* leaf extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 3, p. 304-308, 2014.

CHAUDHURY, M. F. et al. Volatiles emitted from eight wound-isolated bacteria differentially attract gravid screwworms (Diptera: Calliphoridae) to oviposit. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 3, p. 349-354, 2010.

CHAUDHURY, M. F. et al. Volatiles from waste larval rearing media attract gravid screwworm flies (Diptera: Calliphoridae) to oviposit. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 3, p. 591-595, 2014.

DEKEIRSSCHIETER, J. et al. Cadaveric volatile organic compounds released by decaying pig carcasses (*Sus domesticus* L.) in different biotopes. **Forensic Science International**, v. 189, n. 1-3, p. 46-53, 2009.

DEL PUERTO RODRÍGUEZ, A. M.; TAMAYO, S. S.; ESTRADA, D. E. P. Effects of pesticides on health and the environment. **Revista Cubana de Higiene y Epidemiología**, v. 52, n. 3, p. 372-387, 2014.

DHINAKARAN, S. R.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Synergistic terpene combinations as larvicides against the dengue vector *Aedes aegypti* Linn. **Drug Development Research**, v. 80, n. 6, p. 791-799, 2019.

FERREIRA, P. S. F. et al. Seasonal abundance and sexual variation in morphometric traits of *Oxelytrum discicolle* (Brulle, 1840) (Coleoptera: Silphidae) in a Brazilian Atlantic Forest. **Biota Neotropica**, v. 6, n. 2, p. 0-0, 2006.

FREDERICKX, C. et al. Responses of *Lucilia sericata* Meigen (Diptera: Calliphoridae) to cadaveric volatile organic compounds. **Journal of Forensic Sciences**, v. 57, n. 2, p. 386-390, 2012.

GRELLA, M. D. et al. Phenotypic polymorphism of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) may lead to species misidentification. **Acta tropica**, v. 141, p. 60-72, 2015.

GUIMARAES, J. H.; DOPRADO, A. P.; LINHARES, A. X. Three newly introduced blowfly species in southern Brazil (Diptera, Calliphoridae). 1978.

IGNELL, R.; HANSSON, B. Insect olfactory neuroethology-an electrophysiological perspective. In: **Methods in insect sensory neuroscience**. CRC Press, 2004. p. 319-347.

JOHANSEN, H. et al. Blow fly responses to semiochemicals produced by decaying carcasses. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. 1, p. 26-34, 2014.

LEANDRO, M. J. F; D'ALMEIDA, J. M. Levantamento de Calliphoridae, Fanniidae, Muscidae e Sarcophagidae em um fragmento de mata na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 95, n. 4, p. 377-381, 2005.

LIU, W. et al. Responses of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) to compounds from microbial decomposition of larval resources. **Animal Behaviour**, v. 115, p. 217-225, 2016.

LLUSIA, Joan et al. Seasonal variations in terpene emission factors of dominant species in four ecosystems in NE Spain. **Atmospheric Environment**, v. 70, p. 149-158, 2013.

LOPES, A. P. S. et al. Defesas induzidas por herbívora e interações específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v. 47, p.875-878, 2012.

MORAES, M. C. B. et al. **Metodologia para estudos de semioquímicos e sua aplicação no manejo de pragas**: A influência de voláteis de soja no comportamento do parasitóide *Telenomus podisi*. Brasília - DF: Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003 (Circular Técnica No. 24).

MOURA, M. O. Variação espacial como mecanismo promotor da coexistência em comunidades de insetos necrófagos. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 3, p. 409-419, 2004.

NI, J. Q. et al. Volatile organic compounds at swine facilities: A critical review. **Chemosphere**, v. 89, n. 7, p. 769-788, 2012.

OLIVEIRA-COSTA, J.; OLIVEIRA, R. G.; BASTOS, C. S. Diptera Calliphoridae de importância forense no município do Rio de Janeiro. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 16, n. 16, p. 41-52, 2013.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos de origem animal**, v. 2. São Paulo: Artmed; 2005.

PACZKOWSKI, S. et al. Volatile Emission of Decomposing Pig Carcasses (*Sus scrofa domestica* L.) as an Indicator for the Postmortem Interval. **Journal of Forensic Sciences**, v. 60, p. S130-S137, 2015.

PETTERSSON, Jan. An aphid sex attractant. **Insect Systematics & Evolution**, v. 1, n. 1, p. 63-73, 1970.

PINHEIRO, F. et al. Seasonal pattern of insect abundance in the Brazilian cerrado. **Austral Ecology**, v. 27, n. 2, p. 132-136, 2002.

R CORE TEAM R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018.

RECINOS-AGUILAR, Y. M. et al. The succession of flies of forensic importance is influenced by volatiles organic compounds emitted during the first hours of decomposition of chicken remains. **Journal of Medical Entomology**, v.57, n. 5, p. 1411-1420, 2020.

ROSA, T. A. et al. Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, n. 3, p. 424-434, 2011.

SCALERANDI, E. et al. Understanding synergistic toxicity of terpenes as insecticides: Contribution of metabolic detoxification in *Musca domestica*. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1579, 2018.

SILVA, F. B. P.; QUEIROZ, P. R. **Entomologia Forense: suas principais aplicações as técnicas de caracterização molecular de insetos**. 2005. Monografia (Graduação em Biologia), Centro Universitário de Brasília, UniCEUB, 2005.

SULSTON, E. C. J. et al. Combining cattle and wound-derived synthetic attractants, POC and Bezzilure B, for sampling *Chrysomya bezziana* in Indonesia. **Acta tropica**, v. 138, p. S69-S75, 2014.

VUTS, J. et al. Responses of the two-spotted oak buprestid, *Agrilus biguttatus* (Coleoptera: Buprestidae), to host tree volatiles. **Pest Management Science**, v. 72, n. 4, p. 845-851, 2016.

APÊNDICE 1: ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS DE CAMARÃO EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DECOMPOSIÇÃO.

Figura 1: Cromatograma da análise química do extrato de camarão rosa no estágio de decomposição 0 h por CG-EM.

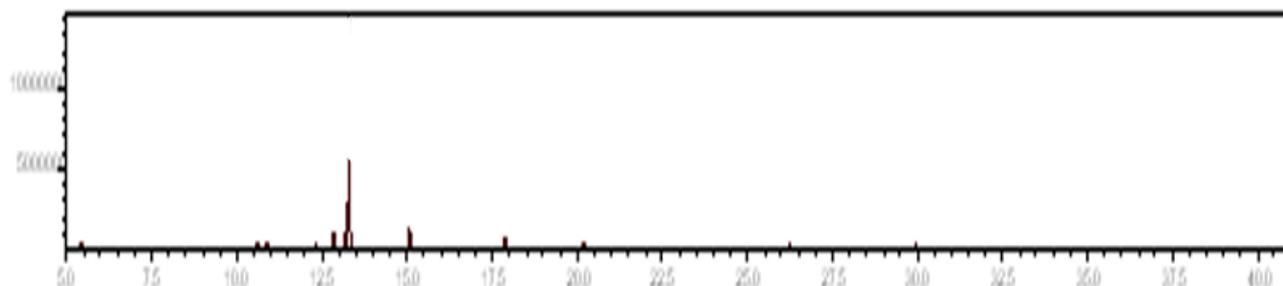


Figura 2: Cromatograma da análise química do extrato de camarão rosa no estágio de decomposição 24 h por CG-EM.

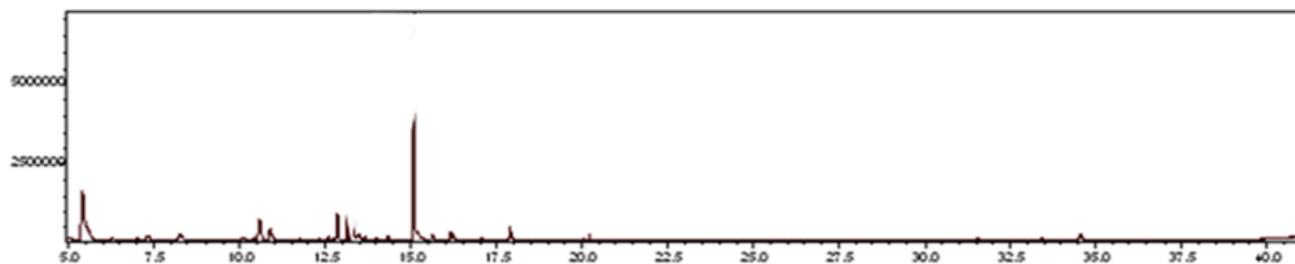


Figura 3: Cromatograma da análise química do extrato de camarão rosa no estágio de decomposição 48 h por CG-EM.

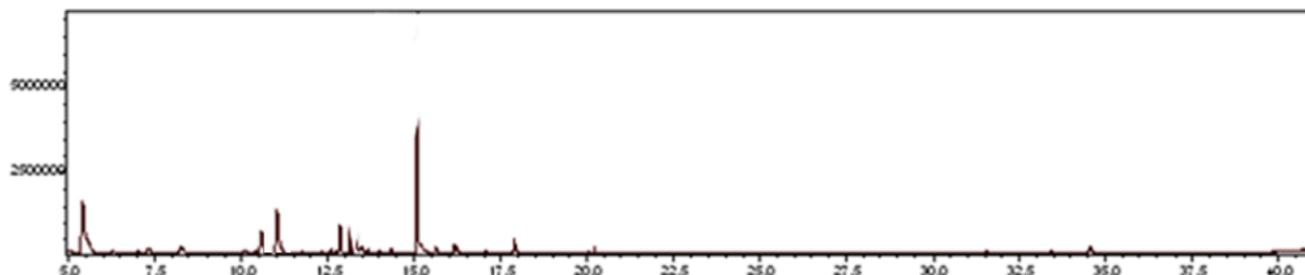


Figura 4: Cromatograma da análise química do extrato de camarão rosa no estágio de decomposição 72 h por CG-EM

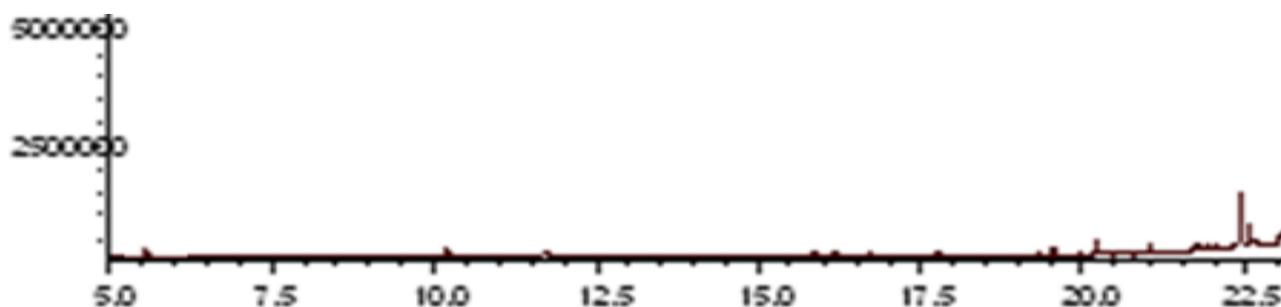


Tabela 1. Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de camarão rosa no estágio de decomposição (0h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1	GC-MS
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E	COMPOSTO
1	5.567	979	5.489	978	978	FENOL
2	10.534	1077	10.669	1080	1075	2- NONANONA
3	11.328	1094	10.979	1090	1094	DISSULFETO DE METILA

Tabela 2: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de camarão rosa no estágio de decomposição (24 h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1	GC-MS
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E	COMPOSTOS
1	5.578	979	5.779	980	978	FENOL
2	10.511	1077	10.682	1080	1075	2- NONANONA
3	11.326	1094	11.242	1092	1094	DISSULFETO DE METILA

Tabela 3: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de camarão rosa no estágio de decomposição (48 h).

COMPOSTOS	GC EAG		GC-FID		GC-MS		Coluna DB-1	GC-MS
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E	COMPOSTOS
1	5.567	979	5.484	978	5.486	978	978	FENOL
2	10.429	1075	10.509	1076	10.697	1080	1075	2- NONANONA
3	11.321	1094	11.335	1094	11.221	1092	1094	DISSULFETO DE METILA

Tabela 4: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de camarão rosa no estágio de decomposição (72 h).

COMPOSTOS	GC EAG		GC-FID		GC-MS		Coluna DB-1	GC-MS
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E	COMPOSTO
1	5.569	979	5.548	979	5.778	982	978	FENOL
2	10.345	1073	10.358	1073	10.296	1072	1075	2- NONANONA

Tabela 5. Cálculos das concentrações dos compostos bioativos presentes nos extratos de camarão em diferentes períodos de decomposições.

(Camarão) Períodos Decomposições	Fenol	2- nonanona	Dissulfeto de metila
0 h	2,71 ppm	6,44 ppm	8,37 ppm
24 h	3,93 ppm	10,8 ppm	18,73ppm
48 h	7,49 ppm	17,5 ppm	61,77 ppm
72 h	1,54 ppm	2,16 ppm	-

APÊNDICE 2: CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO EXTRATO DE CARNE BOVINA EM DIFERNTES ESTÁGIOS DE DECOMPOSIÇÃO

Figura 1: Cromatograma da análise química do extrato de carne bovina no estágio de decomposição (0 h) por CG-EM

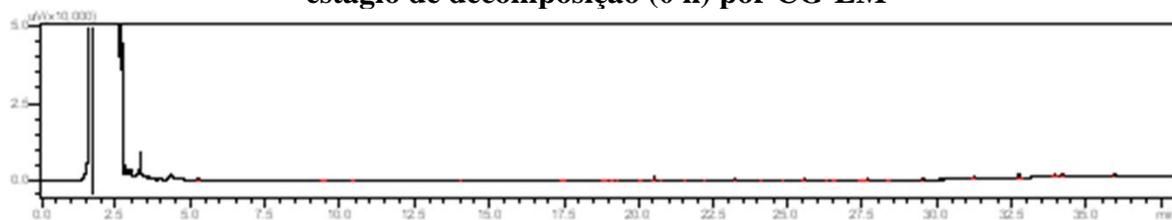


Figura 2: Cromatograma da análise química do extrato de carne bovina no estágio de decomposição (24 h) por CG-EM.

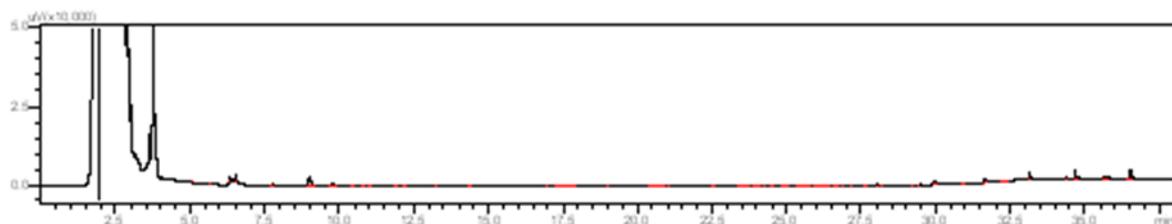


Figura 3: Cromatograma da análise química do extrato de carne bovina no estágio de decomposição (48 h) por CG-EM

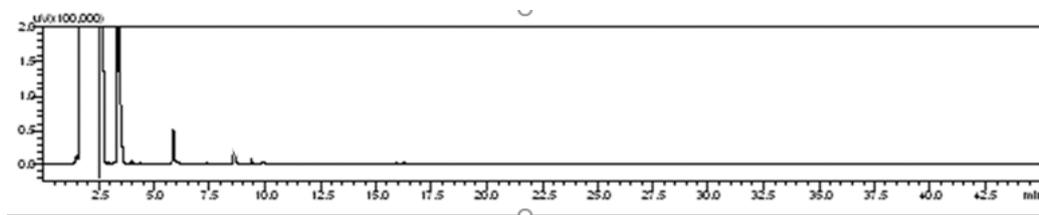


Figura 4: Cromatograma da análise química do extrato de carne bovina no estágio de decomposição (72 h) por CG-EM

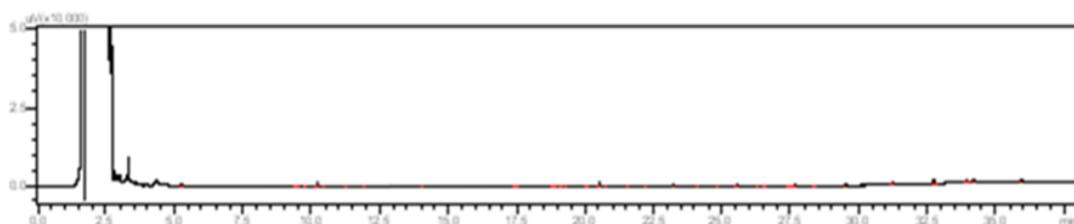


Tabela 1: Compostos identificados no extrato de aeração de carne bovina no estágio de decomposição (0 h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E
1	5.547	979	5.497	978	978
2	10.364	1073	10.467	1075	1075

Tabela 2: Compostos identificados no extrato de aeração de carne bovina no estágio de decomposição (24 h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E
1	5.545	979	5.489	978	978
2	10.367	1073	10.467	1075	1075

Tabela 3: Compostos identificados no extrato de aeração de carne bovina no estágio de decomposição (48 h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E
1	5.650	980	5.893	983	978
2	10.421	1074	10.196	1070	1075

Tabela 4: Compostos identificados no extrato de aeração de carne bovina no estágio de decomposição (72 h).

COMPOSTOS	GC - FID		GC-MS		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	KI _C	KI _E
1	5.287	975	5397	976	978
2	10356	1073	10463	1075	1075

APÊNDICE 3: CROMATOGRAMA DA ANÁLISE DO EXTRATO DE PEIXE SARDINHA EM DIFERNTES ESTÁGIOS DE DECOMPOSIÇÃO

Figura 1: Cromatograma da análise química do extrato de peixe sardinha no estágio de decomposição (0 h) por CG-EM.

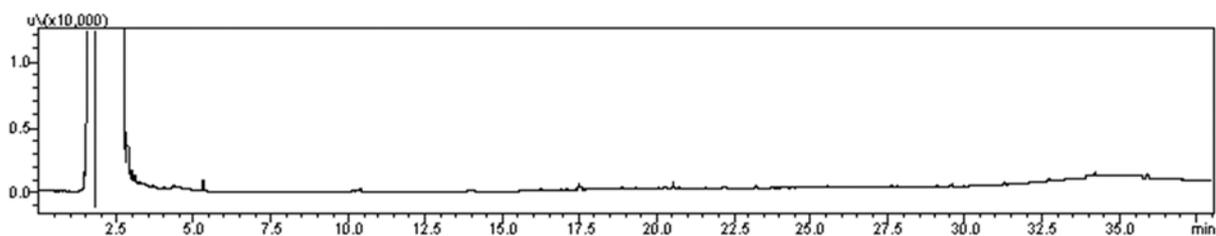


Figura 2: Cromatograma da análise química do extrato de peixe sardinha no estágio de decomposição (24 h) por CG-EM.

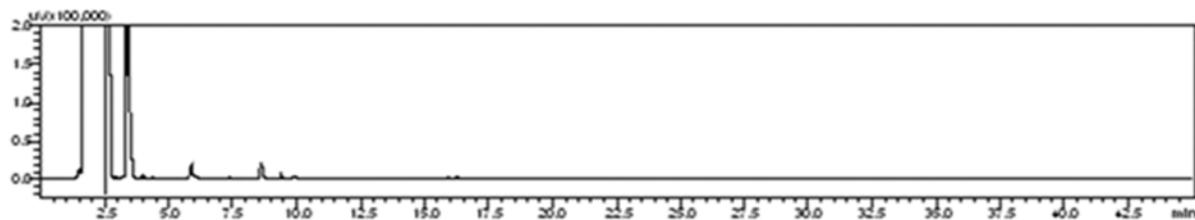


Figura 3: Cromatograma da análise química do extrato de peixe sardinha no estágio de decomposição (48 h) por CG-EM.

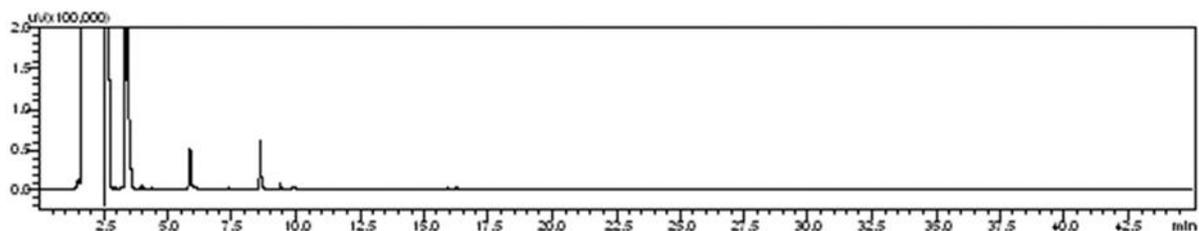


Figura 4: Figura 2: Cromatograma da análise química do extrato de peixe sardinha no estágio de decomposição (72 h) por CG-EM.

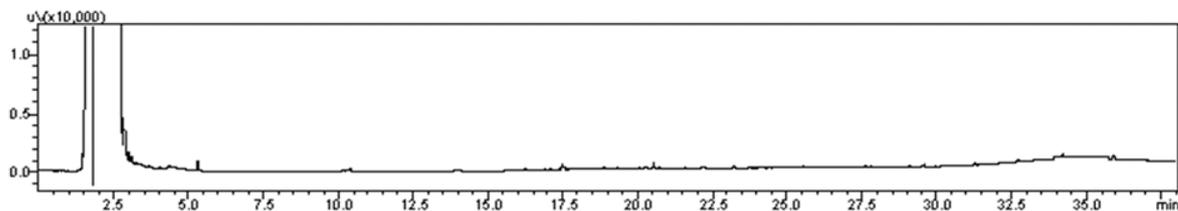


Tabela 1: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de peixe sardinha no estágio de decomposição (0 h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E
1	5.547	979	5.457	978	978
2	10.368	1073	10.471	1075	1075

Tabela 2: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de peixe sardinha no estágio de decomposição (24 h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E
1	5.650	980	5.724	981	978
2	10.421	1074	10.181	1070	1075

Tabela 3: Compostos bioativos identificados no extrato de aeração de peixe sardinha no estágio de decomposição (48h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E
1	5.650	980	5.810	982	978
2	10.421	1074	10.178	1070	1075

Figura 4: Perfil cromatográfico do extrato de aeração obtidos na análise de CG-DIC com injetor splitless. Extrato de peixe sardinha no estágio de decomposição (72 h).

COMPOSTOS	GC- FID		GC-EM		Coluna DB-1
	TR _{min}	IRL _C	TR _{min}	IRL _C	IRL _E
1	5.650	980	5.489	978	978
2	10.421	1074	10.452	1075	1075

CAPITULO 3: PATENTE: OLFATÔMETRO DE QUATRO BRAÇOS ADAPTADO PARA MOSCA VAREJEIRA



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 004566 3

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24464109000148

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57072-970

País: Brasil

Telefone: 82-3214-1064

Fax: 82-3214-1035

Email: nit@propep.ufal.br

1- PATENTE: olfatômetro de quatro braços adaptado para mosca varejeira.

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de

Utilidade (54):

Olfatômetro de Quatro Braços para moscas Varejeiras

RESUMO: A presente invenção refere-se a uma nova metodologia adequada para realizar bioensaios com moscas, especificamente moscas varejeiras (*Chrysomya megacephala*), a partir de modificações em olfatômetro de quatro braços de Petterson (1970). Os resultados obtidos constataram que as moscas fêmeas obtiveram respostas comportamentais significativa frente a diferentes fontes de odores, onde a amostra de camarão e o tempo de 48 horas obteve a melhor resposta. Já as moscas machos, apesar de responder a metodologia não respondeu de forma significativa as diferentes fontes de odores. Diante disto, essa nova metodologia mostrou-se como uma importante ferramenta para avaliar as respostas comportamentais de insetos que voam, de forma particular moscas varejeiras .

Figura a publicar: 01

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “Olfatômetro de Quatro Braços para moscas Varejeiras”

[01] A presente patente tem por objetivo desenvolver uma metodologia para realizar bioensaios com moscas, especificamente, moscas varejeiras (*Chrysomya megacephala*) a partir de modificações do olfatômetro de Petterson (1970), o qual inventou um olfatômetro de quatro vias para testar a existência de um feromônio sexual no pulgão (*Schizaphis borealis*). Posteriormente, (Vet *et al.*, 1983) foram adicionadas algumas modificações à versão original de Petterson. O nosso olfatômetro sofreu algumas modificações a partir dos citados acima, dentre elas: foi ampliado, é constituído todo de vidro e com formato retangular, as adaptações levaram em considerações as características e comportamentos dessa espécie. De acordo com Mendesil *et al.*, 2009, diversos estudos laboratoriais com vários tipos de olfatômetros foram executados, no entanto, adaptando apenas às necessidades de cada pesquisa, sem analisar a

aplicabilidade, no tocante das características e comportamento dos insetos. Essa inovação nos permitiu desenvolver uma metodologia específica para moscas, a partir das modificações realizadas.

2- Problemas que a invenção se propõe a resolver

[02] Bioensaio é um método de avaliação de respostas comportamentais, as quais auxiliam na identificação de moléculas bioativas, e baseadas nessas moléculas é possível produzir um inseticida, afim de que a densidade populacional excessiva seja controlada, uma vez que essas referidas moscas causam sérios danos aos animais e aos seres humanos causando miíases secundárias, além de ser vetores mecânicos de vários patógenos. Sabe-se que os diferentes tipos de olfatômetros são utilizados para avaliação comportamental de diferentes insetos, dentre eles citam-se: olfatômetro em Y e o de Petterson, no entanto, para testar as respostas comportamentais com moscas, especialmente a *Chrysomya megacephala*, observa-se que estes olfatômetros não consideravam alguns aspectos comportamentais importantes para essa espécie, dentre eles: o voo, como também a atratividade pela luz. Visando resolver as lacunas deixadas por diferentes tipos de olfatômetros, desenvolveu-se um método específico para moscas, obedecendo as suas características físicas, biológicas e comportamentais.

3- Estado da técnica

[03] Pesquisas realizadas recentemente sobre respostas comportamentais olfativas de moscas varejeiras (*Chrysomya megacephala*), a partir das modificações em olfatômetro de Petterson, buscaram identificar, dentre as diferentes fontes alimentares, qual delas possui maior influência no comportamento das moscas. Os resultados obtidos mostraram que essa ferramenta científica auxilia significativamente na identificação das moléculas bioativas, proporcionando uma maior precisão nas respostas. Em pesquisa realizada em endereços de busca específicos, foram encontrados (03) registros de patentes.

[04] A patentes CN201813741U, intitulada Mult-Am Behavior Determinator, de forma geral o modelo de utilidade, refere-se a um determinador de comportamento de múltiplos braços, em particular o equipamento observa os comportamentos de pequenos animais tais como insectos, ácaros, aranhas e semelhantes. Patente WO20008117094 intitulada Modified Olfactometer Petterson, para comparar os compostos voláteis, esses voláteis foram colocados em câmara de frascos. A extremidade exterior de cada braço foi fixada a um filtro e a

extremidade interior de cada braço foi fixada a uma entrada para a arena do olfatômetro.

[05] A patente GB0705765DO intitulada Modified Four-Arm Petterson Olfactometer, para comparar os compostos voláteis substituíram os frascos por garrafas, que eram equipadas com rolhas de borrachas de dois orifícios. Essa foi praticamente toda modificação. As referidas patentes buscaram adequar às respostas comportamentais dos insetos. Diante do exposto constatamos que as referidas patentes, a pesar das modificações terem como base o olfatômetro de Petterson(1970), assim como a nossa, observam-se que as modificações foram distintas, na nossa Patente as fontes de odores foram colocadas nas extremidades interna de cada braço, que são acoplados a uma câmara de vidro, cujos braços são proporcionalmente maiores e foram cobertos de cartolina preta impedindo a incidência da luz, já que as varejeiras são atraídas pela luz (Moraes 2003). O nosso olfatômetro tem forma retangular e proporcionalmente maiores que os referidos anteriormente, nossa olfatômetro, além de permitir o movimento das moscas, proporcionam que as moscas o voem, viabilizando a busca dos sítios de oviposição e alimentação. Enquanto o de Petterson tem a necessidade de que o ar interno seja sugado, o nosso tem na parte central um conector de 4,2 cm de diâmetro e uma pequena abertura de 2,0 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro na parte superior para dispersão do ar para o meio ambiente. As modificações executadas proporcionaram respostas eficientes para mosca varejeiras, que possibilitou sanar as lacunas deixadas pelos olfatômetros referenciados.

4 - Descrições da abordagem do problema técnico resolver

[06] Bioensaios é um dos métodos de respostas dos insetos frente à semioquímicos, que a partir das respostas comportamentais, podem-se identificar moléculas bioativas, e por meio dessas respostas desenvolver um inseticida eficiente para o controle desses insetos, que causam sérios danos a múltiplas espécies de animais, ao homem e também ao meio ambiente. Para avaliar as respostas comportamentais utilizam-se diferentes tipos de olfatômetro, o em Y, ou olfatômetro de Petterson, no entanto a presente metodologia visa resolver lacunas deixadas por esses diferentes tipos de olfatômetros. Desta forma essas modificações do olfatômetro de Petterson proporcionam um método específico para moscas varejeiras, a partir das avaliações das respostas comportamentais, obedecendo às características físicas e biológicas do inseto a ser estudado. Sabe-se que a referida espécie para localizar sítios de oviposição e alimentação necessita voar, e a partir desse comportamento pode-se avaliar as repostas olfativas frentes a diferentes fontes atrativas.

O método para avaliação comportamentais para moscas por meio das alterações executadas permite que as moscas movimentem-se e voem sem indução da escolha, proporcionando uma escolha mais assertiva, além de proporcionar o confronto de vários odores de forma simultâneas, uma vez que é possível testar até 4 amostras distintas, e ter maior precisão quanto a atividade que determinada amostra induz no inseto.

4.1- Descrições das figuras

[07] Figura 01 - Modificações de Olfatômetro de quatro braços, desenvolvimento de metodologia para realizar bioensaios com moscas varejeiras, *Chrysomya megacephala*. As Frentes (A) possuem 20 cm de comprimento, 15 cm de altura, 15 cm de largura, em cada frente. Os Lados (B) possuem 15 cm de comprimento, 15 cm de altura e 15 cm de largura, em cada lado. Os Braços (C) possuem 10,5 cm de comprimento e 4,3 de diâmetro e uma abertura de 2,0 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro. (D) se refere aos Conectores, (E) o Teflon e (F) as Aberturas.

[08] Figura-2 Olfatômetro de quatro braços, utilizado para avaliação comportamental de moscas varejeiras, os quatro braços foram cobertos por cartolina preta, os compostos voláteis das amostras alimentares de camarão, carne, e peixe, foram colocados em cada braço, avaliando os melhores tempos e atraentes. Cada braço foi etiquetado e avaliado nas seguintes formas, cores: vermelho – camarão 0h, carne 0h – azul e Peixe 0h-Verde e em seguida (24h, 48h e 72 horas). (A) apresenta os Braços cobertos de cartolina preta.

[09] Figura 03 – Percentagem de entradas de moscas fêmeas em cada fonte de atração em diferentes tempos.

[10] Figura 04 – Percentagem de entradas de moscas machos em cada fonte de atração em diferentes tempos.

4.2 - Descrição da técnica

[11] O olfatômetro tem forma retangular, a arena é constituída de vidro, as frentes 20 cm de comprimento com 15 cm de altura, 15 cm de largura, os lados 15 cm de comprimentos, 15 cm de altura, 15 cm de largura, a área central conectada com quatro (4) braços de vidro, com 10,5 cm de comprimento e 4,3 cm de diâmetro cada, onde na extremidade interna de cada braço possui um conector de 4,2 cm de diâmetro e uma abertura de 2 cm de comprimento, onde são

colocadas as fontes de odores (camarão rosa , carne bovina e peixe) as quais foram extraídos os compostos voláteis pelo processo de aeração, e colocadas em pedaços de papel de filtro (2 x 2 cm) impregnado com 10 µL das diferentes amostras e 10 µL de hexano (controle), em cada braço há uma entrada de ar filtrado em carvão ativo, através de um tubo de teflon que é o meio condutor desses compostos para área central onde se encontra a mosca. A entrada do ar foi conectada por uma bomba de ar comprimido. A bomba de ar tem como objetivo controlar a temperatura e a umidade do ar, o qual operou com fluxo contínuo de 0,8 L/min. A dispersão do ar interno era feita a partir de um conector central com 4,2 cm de diâmetro interno e com uma abertura de 2 cm de comprimento e de 0,5 cm de diâmetro na parte superior do olfatômetro. As diferentes amostras foram identificadas por diferentes cores. Assim como, os braços do olfatômetro eram cobertos com cartolina preta, para impedir a interferência da luz sobre o comportamento das moscas, pois elas são atraídas pela luz (Moraes et. al, 2003). Um inseto foi utilizado em cada corrida. Utilizou-se para cada análise 20 machos e 20 fêmeas. Um macho ou fêmea era introduzido na base do tubo principal do olfatômetro e seu comportamento foi observado durante 11 minutos, sendo 1 minuto para adaptação ambiental e 10 para avaliação comportamental. Após esse período obteve-se a resposta comportamental do inseto, considerando resposta final quando o inseto escolheu um dos braços contendo fontes atraentes ou controle. A cada indivíduo testado trocava-se a fonte de odor. A cada 4(quatro) minutos era modificada a posição dos braços e a cada inseto trocava-se o olfatômetro por um limpo e esterilizado em estufa a 150°C.

5 - Resultados obtidos:

[12] A nossa metodologia foi desenvolvida especificamente para moscas varejeiras, da espécie *Chrysomya megacephala*, a partir das modificações do olfatômetro de Petterson, onde obtivemos resultados excepcionais. As amostras utilizadas (camarão, carne e peixe) os compostos voláteis foram extraídos pelo processo de aeração, as extrações foram feitas a partir de 0h, depois e em uma sequência 24h, 48h e 72h de decomposição. Foram realizados 12 bioensaios para observar e avaliar às respostas comportamentais das moscas varejeiras frente às diferentes fontes de odores. Para distinguir as diferentes fontes de odores utilizaram-se cores. Camarão – Vermelho Carne – azul, Peixe – verde e Controle –Amarelo. Utilizando em cada avaliação 40 insetos (*Chrysomya megacephala*), sendo 20 machos e 20 fêmeas. Os braços

foram cobertos por cartolina preta, para impedir a interferência da luz nas respostas comportamentais das moscas. Os bioensaios foram realizados nos períodos de 11h às 17h, por serem consideradas diurnas e parcialmente inativa à noite. Os resultados estatísticos nos indicam que as fêmeas responderam significativamente frente às diferentes fontes de odores. Onde se observou que a fonte de odor camarão foi que obteve a melhor resposta entre as diferentes fontes, no entanto com relação à avaliação do melhor tempo, 48 horas nos indicou a melhor resposta. Observou que a metodologia aplicada foi excelente para avaliar as respostas comportamentais de moscas varejeiras, a partir das modificações executadas (Figura -03).

[13] Em relação às respostas dos machos os resultados estatísticos nos sugerem que os machos não responderam significativamente frente às diferentes fontes de odores, indicando repelência. No entanto com relação às respostas da metodologia aplicada houve respostas excelentes (Figura -04).

[14]. Nesse sentido, o nosso método desenvolvido para avaliação comportamental de moscas varejeiras (*Chrysomya megacephala*) mostrou-se eficiente para avaliação de respostas desses insetos frente a diferentes fontes alimentares. Avaliamos também o custo benefício do olfatômetro para o Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN), o qual mostrou-se bem acessível para o laboratório.

6- Vantagens da patente

[15]. As principais vantagens da nossa metodologia em relação a já existente reside no fato de que, as modificações permitem uma maior exploração da arena, proporcionando respostas comportamentais excepcionais, pois oportunizou o confronto simultâneo dos insetos frente as diferentes fontes de odores. E a partir dessa exposição escolher a fonte de maior atração, além de proporcionar as moscas e\ou insetos, além da movimentação, o voo, pois para espécie estudada o voo é um fator de suma importância, uma vez que, para buscar sítios de oviposição e\ou alimentação essa espécie necessita voar, e o nosso olfatômetro permite o voo, pois a área central do nosso olfatômetro é muito maior, tanto em comprimento como em altura, possibilitando para os insetos voadores a exploração simultânea de vários campos de odores. Enquanto o olfatômetro de Petterson é circular o nosso é retangular. Os braços do nosso olfatômetro são cobertos por cartolina preta, a fim de evitar a interferência da luz na escolha da mosca, haja vista elas serem atraídas pela luz, no entanto, caso o inseto utilizado não tenha atração, pode-se não cobrir. O olfatômetro de Petterson tem seus braços acoplados a uma câmara de vidro, no qual se coloca as fontes de odores. No olfatômetro aqui apresentado os

braços são proporcionalmente maiores e as fontes de odores são colocadas na extremidade interna de cada braço. Enquanto o de Petterson tem a necessidade de que o ar interno seja sugado, o nosso tem na parte central e superior do olfatômetro um conector de 4,2 cm de diâmetro e uma pequena abertura de 2 cm comprimento e de 0,5 cm de diâmetro onde ocorreu a dispersão do ar para o meio ambiente.

7- REFERÊNCIAS

[16] GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO N. Myiasis in man and animals in the Neotropical region. São Paulo: Pleiade/FAPESP, 1999. 308 p.

[17] M. P. OYARZU¹, R. PALMA,²E. ALBERTI, E. HORMAZABAL,²F. PARDO, M. A. BIRKETT, AND A. QUIROZ² BEHAVIOR, CHEMICAL ECOLOGY, Olfactory Response of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) to Cattle-Derived Volatile Compounds, *J. Med. Entomol.* (2009).

[18] MENDESIL., E.; BRUCE, T.J.A; WOODCOCK, C.M.; CAULFIELD, J.C.; SEYOUM, E; PICKETT, J.A. Semiochemicals Used in Host Location by the coffee Berry borer, *Hypothenemus hampei*, *Journal of Chemical Ecology*, Dordrecht, v,35, p 944-950, 2009.

[19] MORAES, M. C. B.; SOUSA, L. M. P. de; LAUMANN, R.; BORGES, M. Metodologia para estudos de semioquímicos e a sua aplicação no manejo de pragas: a influência de voláteis de soja no comportamento do parasitóide *Telenomus podisi*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, v. 6, p. 24, 2003.

[20] PETTERSSON, J. An aphid sex attractant. 1. Biological studies. *Entomologica Scandinavica*, v.1, p.63-73, 1970

[21] physicians, veterinarians and zoologists. London, Butterworths, 1965

[22] RONALDO ROBERTO TAIT CALEFFE¹, STEFANY RODRIGUES DE OLIVEIRA¹, SATIKO NANYA, HELIO CONTE, Calliphoridae (diptera) of forensic interest with occurrence in Maringá-PR-BRAZIL, *Revista UNINGÁ* Vol.43, pp.10-15 (Jan - Mar 2015).

[23] Vet, L. E. M.; Van Lenteren, J. C.; Heymans, M.; Meelis, E. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small

insects. *Physiol. Entomol.* 8: 97-106. 1983.

[24] Zumpt, F. Myiasis in man and animals in the Old World. A textbook for

[25] RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. *Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia*. Ribeirão Preto: Hollos, 2012. 810 p.

REIVINDICAÇÕES

1- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIOS COM MOSCA,

caracterizado por, ser constituído de uma arena de forma retangular com as seguintes dimensões: duas frentes de 20 cm de comprimento, 15 cm de largura e 15 cm de altura, e dos lados 15 cm de comprimentos, 15 cm de altura, 15 cm de largura (Figura 01- A e B) e cada lado da arena são conectadas com quatro braços de vidro com 10,5 cm de comprimento e 4,3 cm de diâmetro cada (Figura 02 - A), onde na extremidade interna de cada braço possui um conector de 4,2 cm de diâmetro, onde são colocadas as fontes de atração internamente, possui uma abertura externa de 2,0 cm de comprimento, e de 0,5 cm de diâmetro (Figura 01- D) que são interligados com tubos de teflon, cuja função é a condução do ar (Figura 01- E) emitido pela bomba compressora, esse ar é filtrado em carvão ativo, na parte externa e central do olfatômetro possui um conector de 4,2 cm de diâmetro com um pequeno orifício de 2,0 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro (Figura- 01 -) por onde é realizada a dispersão do ar para o meio ambiente, devendo definir cores para etiquetar os braços para identificar as distintas amostras.

2- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIO COM MOSCAS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela arena ser toda de vidro temperados e transparentes e seus respectivos lados e frentes.

3- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIO COM MOSCAS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelos braços de vidros ser transparentes e temperados com 10,5 cm de comprimento e 4,3 cm de diâmetro e coberto de preto.

4- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIO COM MOSCAS, conforme a reivindicação 1, caracterizado pelos conectores serem todo de vidros transparentes e temperados, com uma abertura externa de 2 cm de comprimento 0,5 cm de diâmetro conectados de forma removível.

5- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIO COM MOSCAS,

conforme

reivindicação 1, caracterizado por serem interligados com tubos de teflon.

6- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIO COM MOSCA, conforme reivindicações 1 e 5, caracterizado por serem conectados a uma bomba de ar comprimido e com um tubo de carvão ativado.

7- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIO COM MOSCA, conforme a reivindicação 1, caracterizado pelo conector de vidro ser transparente e temperado na parte central e superior do olfatômetro conectados de forma removível.

8- EQUIPAMENTO PARA REALIZAR BIOENSAIO COM MOSCAS, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por deve-se codificar os braços com etiquetas adesivas para identificar as diferentes amostras, essas etiquetas dever ser coloridas.

FIGURA – 01

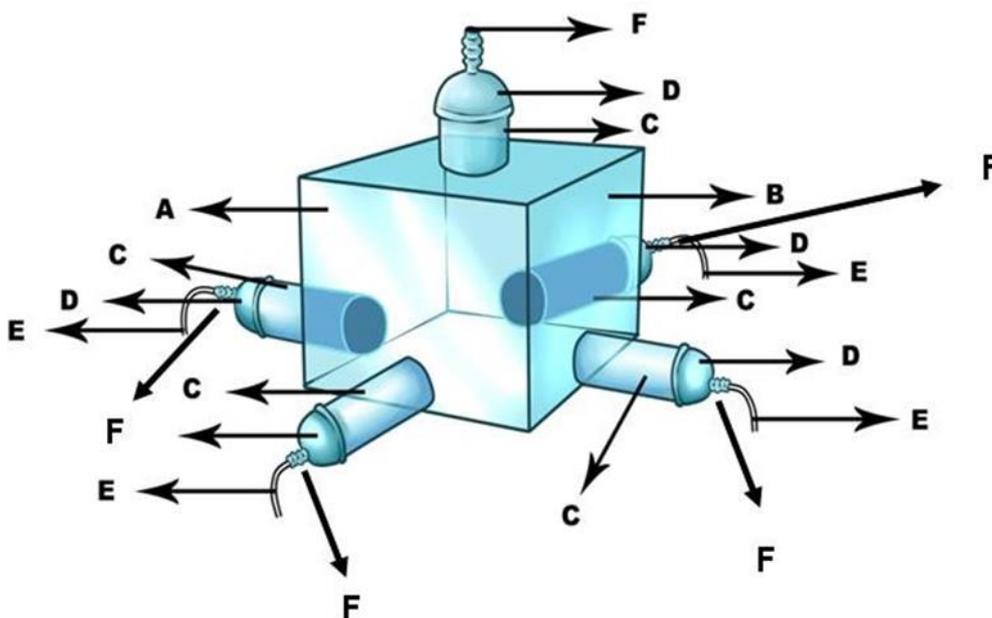


FIGURA – 02



FIGURA 03

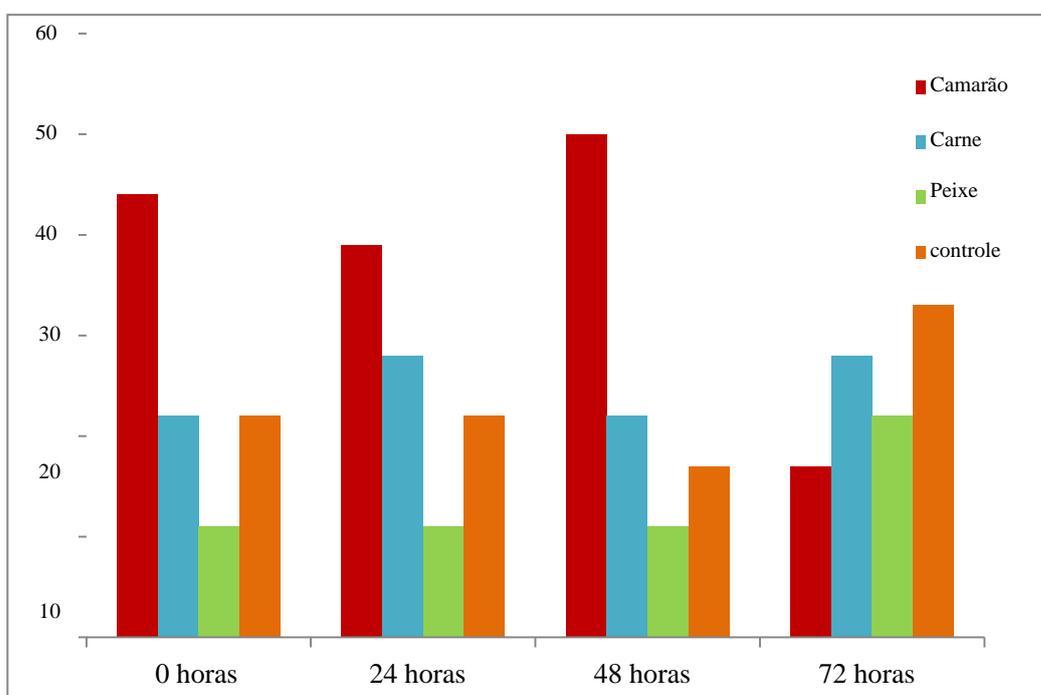


FIGURA 03

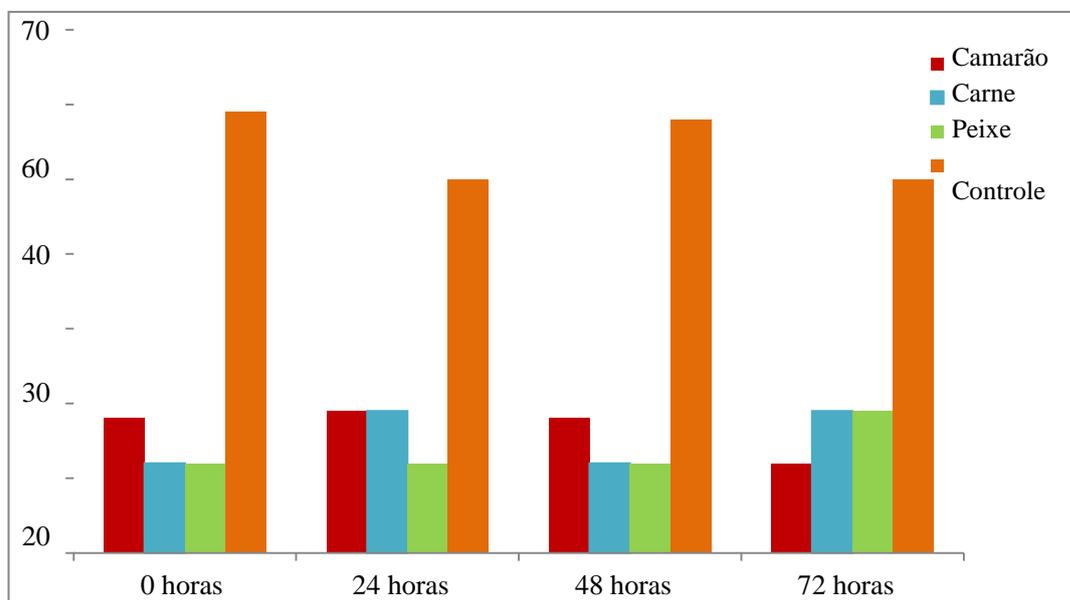
X²calculado 15,80**

16,4**

35,77**

5,84 n.s.

FIGURA 04



X² 61,72** 34,64** 59,04** 34,64**

RESUMO

Olfatômetro de Quatro Braços para moscas Varejeiras

A presente invenção refere-se a uma nova metodologia adequada para realizar bioensaios com moscas, especificamente moscas varejeiras (*Chrysomya megacephala*), a partir de modificações em olfatômetro de quatro braços de Petterson (1970). Os resultados obtidos constataram que as moscas fêmeas obtiveram respostas comportamentais significativa frente a diferentes fontes de odores, onde a amostra de camarão e o tempo de 48 horas obtive a melhor resposta. Já as moscas machos, apesar de responder a metodologia não respondeu de forma significativa as diferentes fontes de odores. Diante disto, essa nova metodologia mostra-se como uma importante ferramenta para avaliar as respostas comportamentais de insetos que voem, de forma particular moscas varejeiras (*Chrysomya megacephala*)

CAPITULO 4: PATENTE: ISCA NATURAL COM ATRATIVIDADE PARA MOSCAS VAREJEIRAS COM AÇÃO SEMIOQUÍMICA (APNEUMÔNIOS) EFICAZ NO MONITORAMENTO E CONTROLE DA POPULAÇÃO ADULTA DE MOSCAS VAREJEIRAS, *Chrysomya megacephala* – (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

870200076542

19/06/2020

11:17



29409161919739652

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2020 012493 5

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24464109000148

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57072-970

País: Brasil

Telefone: 82-3214-1064

Fax: 82-3214-1035

Email: nit@propep.ufal.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 19/06/2020
às 11:17, Petição 870200076542

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Isca natural com atratividade para moscas varejeiras com ação Utilidade (54): semioquímica (apneumônios) eficaz no monitoramento e controle da população adulta de moscas varejeiras, *Chrysomya megacephala* – (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae)

Resumo: A presente invenção faz referência a um atraente natural extraído da fonte alimentar camarão em estágio de decomposição 48 h eficiente no monitoramento e controle da população adulta de *C. megacephala*, praga causadora de doença provocada por larvas de moscas (miiase) acometem várias espécies de animais, impactando significativamente na econômica, devido à presença desses insetos estarem diretamente correlacionados com o decréscimo da produtividade no setor agropecuarista. A influência comportamental do extrato de camarão 48 h foi realizada por olfatômetro de quatro braços, observou-se que o atraente natural exerce influência comportamental sobre as moscas fêmeas *C. megacephala*. As análises por Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector Eletroantegráfico (CG-EAG) revelaram que três compostos presentes no extrato de camarão 48 h que elicitaram respostas nas antenas de fêmeas de *C. megacephala*, indicando que estes compostos possuem receptores específicos nas antenas de fêmeas. A identificação dos compostos foi por CG-EM que se constatou três compostos - Fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila presentes no extrato de camarão. O teste de atratividade experimental no campo comprovou a atração da isca natural extrato de camarão 48 h frente ao inseto-praga, *C. megacephala*, validando o potencial da invenção para a utilização no manejo integrado de inseto-praga *C. megacephala* responsável por causar miiase secundária.

Figura a publicar: 1

sta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 19/06/2020 às 11:17, Petição 870200076542

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 13

Nome: ANALICE FERREIRA DA SILVA

CPF: 04786140473

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Rua Senador Rui Palmeira. 260 m, Edifício Cadore ,
Apto. 903

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57035-250

País: BRASIL

Telefone: (82) 999 096832

Fax:

Email: Analice_14@outlook.com.br

Inventor 2 de 13

Nome: ELLEN REBECCA DE OLIVEIRA

CPF: 07725761497

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Rua Antenor Carlota da Silva, nº 14

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57073-716

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: rebek_ta@hotmail.com

Inventor 3 de 13

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 19/06/2020 às 11:17, Petição 870200076542

Nome: REGINA DA SILVA ACÁCIO

CPF: 09490041467

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Av.Menino Marcelo, 140.Condomínio Park Shopping, bl
05,. Apto 608,

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57073-470

País: BRASIL

Telefone: (82) 915 64276

Fax:

Email:

Inventor 4 de 13

Nome: THYAGO FERNANDO LISBOA RIBEIRO

CPF: 06355237445

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Avenida Poeta Luiz Gonzaga Barroso, nº 450

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57071-010

País: BRASIL

Telefone: (82) 918 79131

Fax:

Email: tflribeiro@gmail.com

Inventor 5 de 13

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 19/06/2020
às 11:17, Petição 870200076542

Nome: MIGUEL ANGEL MARTINEZ GUTIERREZ

CPF: 71773138421

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: AV.ENG.CORINTHO CAMPELO DA PAZ, 256

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email:

Inventor 6 de 13

Nome: JAKELINE MARIA DOS SANTOS

CPF: 06076828412

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: CONJUNTO LUIZ PEDRO 3, RUA CACAUEIRO, 19. B.
BENTES 2

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57085-310

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: jackbilu@hotmail.com

Inventor 7 de 13

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 19/06/2020
às 11:17, Petição 870200076542

Nome: VIVIANE ARAUJO DALBON

CPF: 08901612755

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Rua Senador Rui Palmera, 150, apart.: 102

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57035-250

País: BRASIL

Telefone: (82) 982 159811

Fax:

Email: vida-molina@hotmail.com

Inventor 8 de 13

Nome: HENRIQUE FONSECA GOULART

CPF: 03797757433

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Sandoval Arroxela 58 apto 903

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57036-000

País: BRASIL

Telefone: (82) 999 828097

Fax:

Email: fonsecagoulart@gmail.com

Inventor 9 de 13

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em
19/06/2020 às 11:17, Petição 870200076542

Petição 870200076542, de 19/06/2020, pág. 6/31

Nome: ANTONIO EUZEBIO GOULART SANTANA

CPF: 11867760649

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Sandoval Arroxela 58 apto 903

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57035-380

País: BRASIL

Telefone: (82) 988 506526

Fax:

Email: aegs@ceca.ufal.br

Inventor 10 de 13

Nome: JOSE GOMES CHAVES

CPF: 13989570463

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Av.Rua Senador Rui Palmeira , 260, apto. 903 , edifício
:Cadore

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57035-250

País: BRASIL

Telefone: (82) 996 444029

Fax:

Email: jgomeschaves@hotmail.com

Inventor 11 de 13

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 19/06/2020
às 11:17, Petição 870200076542

Nome: GUILHERME BENJAMIN BRANDÃO PITTA

CPF: 34764186420

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Desportista Humberto, Edf. Barroca Ponta Verde

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57035-030

País: BRASIL

Telefone: (82) 999 812037

Fax:

Email:

Inventor 12 de 13

Nome: JANINE RAPHAEL GOMES FÉLIX

CPF: 04810712451

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Av. Guararapes ,39, Jardim atlântico

Cidade: Olinda

Estado: PE

CEP: 53040-160

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: janinefelix.arq@gmail.com

Inventor 13 de 13

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 19/06/2020 às 11:17, Petição 870200076542

Nome: MARIA CLLARA FERREIRA BATISTA DOS SANTOS

CPF: 07248529486

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Outras ocupações não especificadas anteriormente

Endereço: Coronel Adauto Gomes Barbosa, nº700, Residencial Jatiuca II

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57025-263

País: BRASIL

Telefone: (82) 996 392669

Fax:

Email:

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	comprovante.pdf
Relatório Descritivo	Relatorio descritivo.pdf
Reivindicação	REIVINDICAÇÕES (Correta) Enviar .pdf
Desenho	desenhos.pdf
Resumo	resumo Analice - Rodrigo corrigido QUE.pdf



Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 19/06/2020 às 11:17, Petição 870200076542

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “Isca natural com atratividade para moscas varejeiras com ação semioquímica (apneumônios) eficazes no monitoramento e controle da população adulta de moscas varejeiras, *Chrysomya megacephala* – (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae).

- [1] A presente invenção refere-se a uma isca natural atraente para moscas varejeiras *C. megacephala* obtida a partir de fonte alimentar camarão em estágio de decomposição 48h, os compostos voláteis presentes no extrato de camarão 48h contêm os seguintes compostos fenol, 2- nonanona e dissulfeto de metila.
- [2] A mosca varejeira, *C. megacephala*, pertencente à família (Diptera: Calliphoridae) responsável por causar miiase secundária a diversas espécies de animais e ao ser humano, a principal forma de controle é a partir de inseticidas químicos, que provocam sérios danos ao homem, animal e meio ambiente (BARBOSA et al. 2014; CARRIÇO et al. 2014).
- [3] A nossa isca atraente se trata de semioquímicos, caracterizado como um sinal químico, o qual pode ser volátil ou não volátil, que permite a comunicação entre os organismos vivos. Os insetos entre os organismos vivos formam o grupo de animais onde a comunicação química é de suma importância para que eles sobrevivam e garantam a preservação da espécie. Os insetos usam essa comunicação química para encontrar parceiros para o acasalamento, localizar sítios de alimentação e oviposição, plantas hospedeiras e identificar situações de perigo (DELLA-LUCIA, 2001; WYATT, 2014; LIMA; BLANDE, 2017).
- [4] Esse atraente natural entre os semioquímicos - aleloquímico é referenciado como apneumônios que são voláteis emitidos durante o estágio de decomposição de matéria orgânica que oportunizam as moscas-varejeiras encontrar sítios para a alimentação, oviposição e parceiro sexual (SMITH, 1986).

[5] A nossa isca com atratividade para moscas *C. megacephala* apresenta-se como uma forte candidata em oposição ao uso de agrotóxicos em razão das suas vantagens entre as quais citam -se: são biodegradáveis, redução dos danos para saúde e meio ambiente, ação restrita a praga alvo e não provoca resistência nos insetos.

[6] Os resultados comportamentais das moscas varejeiras *C. megacephala* frente às diferentes fontes alimentares carne bovina, peixe e camarão em diferentes estágios de decomposição (0, 24, 48 e 72 h) foram avaliados a partir dos bioensaios comportamentais em olfatômetros de quatro braços (INPI, nº: BR1020190045663). Os resultados obtidos mostraram que as fontes alimentares exercem influências comportamentais sobre as moscas fêmeas *C. megacephala* e para os machos não foram estatisticamente significativos. (Figura 1 e 2). O estágio de decomposição 48 h obteve a melhor atratividade (Tabela 1).

[7] **Tabela 1-** Média e desvio padrão do tempo de permanência (segundos) de *C. megacephala* conforme as amostras em intervalo de diferentes estágios de decomposição (0,24,48 e 72 h)

Amostra\Tempo	0h	24h	48h	72h
Controle	12,35±7,15d	10,80±7,88c	2,90±2,85c	94,30±29a
Peixe	62,20±34,13c	56,45±30,94b	27,00±18,69b	81,00±37,89a
Carne	104,90±42,05b	80,05±37,39b	34,65±19,04b	101,00±41,55a
Camarão	177,40±50,82a	219,35±50,82a	322,00±54,70a	38,75±21,73b

[8] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

[9] Por bioensaios comportamentais em Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector Eletroantegráfico (CG-EAG) revelaram que três compostos presentes no extrato de camarão 48 h elicitaram despolarização nas antenas de fêmeas de *C. megacephala*, indicando que estes compostos possuem receptores específicos nas antenas de fêmeas (Figura-3) os três compostos bioativos, nesses observou-se que o composto 3 (TR=11,281 min) é o componente majoritário, ao passo que o composto 1 (TR=5,5 min) apresenta proporção intermediária e o composto 2 (TR=10,434 min) é o menos abundante dos três compostos.

[10] Seis compostos foram identificados nas análises por Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chamas e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) dos extratos de aeração de camarão no estágio de decomposição (48 h)(Figura – 4) As caracterizações destes compostos foram baseadas em comparações e avaliações de seus espectros de massas com aqueles disponíveis nas bibliotecas do CG-EM e com os bancos de dados da web [The pherobase (EL-SAYED, 2020) e NIST – National Institute of Standards and Technology] (Figuras – 5, 6 e 7). As substâncias identificadas pertencem as seguintes classes de compostos: álcool, composto sulfurado, cetonas e amina. Dentre os seis compostos identificados, os três constituintes que eliciaram despolarização nas antenas de fêmeas foram identificados como sendo fenol, 2-nonanona e disulfeto de metila. Os demais compostos não desencadearam respostas antenais em fêmeas.

[11] A avaliação e comparação do espectro de massas do fenol (composto 1, Figura 5a) é caracterizado por um pico do íon molecular de massa 94, o qual também é o fragmento mais abundante do espectro, sendo caracterizado como o pico básico. O fragmento de massa m/z 66 corresponde a um fragmento iônico, derivado da decomposição do íon molecular, pela perda de 28 unidades de massas, correspondente a perda de uma molécula de eteno. A análise comparativa do espectro de massas do composto 1 com o disponível na biblioteca do CG-EM revelou um percentual de similaridade acima de 90% entre os dois espectros, como pode ser observado na figura 5b.

No espectro de massas da 2-nonanona (composto 6, figura 6A), caracteriza-se pela presença de um fragmento de massa 142 correspondentes ao íon molecular e um fragmento de massa m/z 58, que é o íon mais abundante do espectro, o qual é derivado do íon molecular pela perda de 84 unidades de massa, através de rearranjo de McLafferty para cetonas. Comparando-se o espectro do composto 2 com o espectro da 2-nonanona disponível na biblioteca

do CG-EM (Figura 6B), observa-se que a similaridade entre eles é superior a 90%.

[13] Uma análise comparativa entre o espectro de massas do composto 3 com o espectro do dissulfeto de metila, disponível na biblioteca do instrumento, demonstra que a similaridade entre ambos é superior a 90%, como pode ser visto na Figura.7

[14] Durante os testes experimentais capturou-se um total de 324(trezentos e vinte quatro) espécimes, das quais 219 (duzentos e oito) foram identificadas com *C. megacephala*, conforme as chaves propostas por Grella et al. (2015). As 105(cento e

cinco) moscas restantes foram apenas contabilizadas. Do total de moscas capturadas 94,5% aproximadamente eram fêmeas e 5,5 % machos.

[15] Observou-se ainda que tanto as armadilhas iscadas de extrato de camarão (48h) como por soluções dos padrões sintéticos nas concentrações de 50 e 100 ppm testadas foram eficazes na atratividade e captura de *C. megacephala* (Figura -8).

[16] Essa isca atraente exerce influência comportamental para a espécie *Chrysomya megacephala*, que é considerada uma praga responsável por provocar grandes perdas econômicas ao setor agropecuário, em sua fase larval causa miiase secundária em diversas espécies de animais, principalmente,

“bovinos”. Na fase adulta é inseto vetor de vários patógenos. Ao causar miiase secundária, conseqüentemente ocasiona estresse nos animais, perda de peso, danos na qualidade do couro, redução na produção de leite e carne.

[17] Em razão das perdas econômicas causados pelos ectoparasitas deve-se controlar a população excessiva de *C. megacephala* que é referenciada como fator limitante da produção de carne e leite, os quais provocam sérios danos aos animais e conseqüentemente grandes prejuízos econômicos para o setor agropecuário. O aumento da produtividade está correlacionado com o manejo sanitário eficiente, resultando em redução dos custos, além do aumento na

produtividade, garantindo a produção de alimentos saudáveis sem resíduos nocivos à saúde.

[018] A referida isca, extrato natural de camarão 48 h, comprovou ter efetiva atratividade tanto para os testes laboratório como no campo, podendo ser utilizado monitoramento, controle e associada nas estratégias do MIP, com aplicação em meio urbano e rural.

PROBLEMAS QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER

[19] O principal método de controle da referida espécie na atual conjuntura baseia-se no método químico a partir de peritroídes (deltrametrina e permetrina), e os organofosforados, cujo uso sem cumprimento da Normas de aplicabilidade acarreta em sérios danos ambientais e problemas de saúde para os seres humanos (CALDAS e SOUZA, 2000; LAABS et al., 2002; GRUTZMACHER et al., 2008).

[20] A presente invenção se propõe a resolver os problemas enfrentados pela saúde pública, meio ambiente, e o setor agropecuário, principalmente os pequenos criadores de múltipla espécie, em especial “os bovinos”. Ocasionalmente por doenças (miíase) provocadas por larvas de mosca varejeira, *C. megacephala*.

CAMPOS DE ATUAÇÃO

[21] A presente invenção refere-se a uma isca natural extraída da fonte alimentar camarão 48 h, que será utilizada como iscas em armadilhas no monitoramento e controle da população adulta de inseto-praga *C. megacephala*, atuará nas seguintes áreas: Zootecnia, Medicina veterinária, Agroecologia e no setor agropecuário. Essa isca constitui um método efetivo para o monitoramento e controle da espécie adulta *C. megacephala*, associado ao Manejo Integrado de Pragas (MIP), o controle comportamental utilizando aleloquímicos, pode ser associado a outros métodos já em uso consolidados no controle de *C. megacephala* e aplicação não somente no Brasil, como em todas as fazendas de múltiplas espécies no mundo com a incidência da referida inseto-praga.

[22] Os semioquímicos têm sido referenciados como um excelente método alternativo para ser utilizado na estratégia de controle de inseto-praga. Entre as principais vantagens destacam -se: ecologicamente sustentável, com espectro restrito de alcance a uma

determinada praga, proporcionando a mitigação ou não uso de inseticida, contribuindo de maneira inquestionável no aumento da produção e produtividade do setor agropecuária, assim como na redução e \ou eliminação dos resíduos de agrotóxicos nos alimentos.

ESTADO DA TÉCNICA

[23] A mosca, *Chrysomya megacephala*, (Fabriciu 1794) pertence a ordem – Dípteras, família Calliphoridae, gênero *Chrysomya*, é popularmente conhecida como mosca varejeira, essa mosca possui um alto grau sinantrópico, na fase adulta pode habitar residências, tem preferência para alimentar e\ou ovipositar em frutas, excremento humano, matéria orgânico em decomposição, devido o hábito alimentar é referenciada como inseto vetor de vários patógenos, tais como: *Toxoplasma Gondii*, e muitas bactérias, além de ovos de vermes helmintos parasitas.

[24] Na fase de larval pode provocar miiase secundária em diversas espécies de animais e ao ser humano. Tem importância para a ciência forense, a partir do estágio que se encontrar (ovo, larvas, pupas e adultos) é possível determinar o intervalo mínimo de morte (mPMI) (Tomberlin et. al. 2011).

[25] O mercado de agrotóxico em todo o mundo encontra-se em expansão, principalmente no Brasil, que se encontra entre os maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (Nações Unidas para Alimentação e Agricultura) (FAO). Atualmente os países são submetidos aos inseticidas químicos tradicionais, especificamente por sprays de amplo espectro de piretroides e organofosforados.

[26] Apesar de outros métodos de controles como: o uso de extratos vegetais

e controle biológicos serem citados com promissores, no entanto, necessitam ainda de mais estudos, principalmente nas consequências do uso contínuo no solo.

[27] Já os semioquímicos são referenciados como promissores, através de uma composição natural em interação com indivíduos que transmitem informações e uma determinada resposta comportamental ou fisiológica, que pode ter resultado benéfico ou não (TRIGO et al. 2000).

[028] Entre os semioquímicos referenciam-se os aleloquímicos que são classificados conforme a vantagem de determinado organismo sobre o outro (ZABIN, 2009). Quando a vantagem é conferida ao organismo emissor, o químico é denominado alomônio (REED, 1998), se a vantagem é constatada ao receptor é conceituado como cariomônios

(OLDHAM; BOLAND, 1996), quando confere vantagem para ambos, é chamado de sinomônios (NORDLUND; LEWIS, 1976).

[29] Em nossa isca contém compostos voláteis extraído pelo o processo de aeração, de fonte alimentar de camarão, após 48 h exposto em ambiente atmosférico, sendo referenciados como aleloquímicos, especificamente os presentes na relação ente mosca varejeira e camarão 48 h são definidos como

“apneumônios”, os quais formam interações entre organismos que são atraídos por sinais que os beneficiam a partir de uma matéria não viva, porém, os sinais são maléficos para outros organismos, de outras espécies que possam se encontrar correlacionados com matérias não vivas (NORDLUND; LEWIS, 1976).

[30] Em busca utilizando as bases WIPO, Patent Inspiration, LATIPAT e Spacenet, duas patentes foram localizadas com busca pelo termo “semioquímicos” and blowflies.

[31] A patente com classificação WO2016077492A no IPC, são Composições e métodos para atrair mosquitos e repelir flebotomíneos. Composições e métodos para afetar parasitas hematófagos dipteranos. As composições contém pelo menos um semiquímico de dipterano e pelo menos um fagostimulante. As composições podem ainda incluir um pesticida. O semioquímico pode ser um atrativo floral e os fagostimulantes podem ser à base de açúcar. As composições podem ser úteis para atrair mosquitos e / ou repelir moscas de areia. Este semioquímicos sua formulação pode ser empregada em uma ampla gama de meios, incluindo uma atração monolítica e adesiva impregnado de atrativo a ser implantado nas armadilhas de monitoramento e uma formulação líquida que pode ser misturada com inseticida para criar um produto de atração e morte passível de aplicação por pulverização.

[32] A patente com classificação US10230593A no IPC: Referencia-se a utilização de composições baseadas de cetona, álcool e Schiff para repelir artrópodes e aparelhos de alimentação de sangue para determinar a repelência e atracção de semioquímicos contra e para os artrópodes hematófagos. Essa invenção é composta de cetona, KOAVONE.RTM., O álcool, KOAVOL DH.RTM. e a base schiff, LYRAME.RTM para repelir artrópodes de alimentação de sangue, espécies de mosquitos, moscas domésticas e mosquitos, bem como aparelhos para determinar repelência e atração de semioquímicos,

como o álcool cetônico e base schiff acima mencionados contra e para esses artrópodes de alimentação de sangue.

[33] As cetonas e os álcoois são conhecidos por repelir insetos e a técnica anterior contém muitas referências referentes aos mesmos. Assim, a utilização de 1-nonen-3-ol como repelente é divulgada na Pat. 4.759.228, emitida em 26 de julho de 1988, como repelente de moscas domésticas (*Musca doméstica* L. (Diptera muscidae)). Outras cetonas e um álcool são revelados na repelência de mosquitos (*Aedes aegypti*), bem como de moscas domésticas (*Musca doméstica* L. (Diptera muscidae)), em pedido de Patente de Letras dos EUA, Ser. 589.016 depositada em 27 de setembro de 1990.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

[34] A área experimental utilizada para as coletas dos insetos adultos de *C. megacephala*, Universidade Federal de Alagoas, (Latitude: 09°28'29.1" S, Longitude: 035° 49'43,6. W ") e no Núcleo de Produção e Melhoramento Animal, localizado Centro de Ciências Agrárias (CECA- UFAL), município de Rio Largo. Os insetos foram transportados para o Laboratório Central de Alagoas (LACEN) para contagem e identificação.

[35] Para a extração dos compostos voláteis em diferentes períodos de decomposição definiu-se a seguinte escala de tempo: 0h, para o material fresco, seguida de 24, 48 e 72h como estágios do processo de decomposição da matéria orgânica animal.

[36] Segundo Campobasso et al. (2001) os fenômenos de transformação e destruição constituem o processo de decomposição, o qual se caracteriza pela degradação dos tecidos por bactérias orgânicas aeróbias presentes no meio ambiente e anaeróbicas presentes na matéria orgânica.

As extrações dos COVs foram realizadas pelo uso da técnica de aeração

[37] Para tanto, 100 g da fonte alimentar foi depositado no interior de câmeras de vidro com 16 cm de altura e 26 cm de largura, uma por sistema, totalizando três repetições por tratamento e um tratamento-controle hexano bidestilado (grau HPLC, Sigma-Aldrich.). As extrações foram realizadas por um período de 2 h a partir do intervalo (0 h) e posteriormente a cada 24 h, durante três dias consecutivos.

[38] Previamente, antes do início do processo de aeração, as câmeras de vidro foram lavadas com água e sabão e secadas em temperatura ambiente. A superfície interna das câmeras foi limpa com hexano bidestilado (grau HPLC, Sigma-Aldrich) e esterilizadas em estufa à 100°C, por um período de 2 horas. Todas as conexões do sistema de aeração foram confeccionadas com tubos flexíveis de politetrafluoroetileno (PTFE), criando um sistema de pressão positiva, conforme descrito por Moraes et al., (2005).

No sistema de aeração, o ar fornecido por uma bomba compressora com fluxo de ar de 0,6 L/min, previamente purificado pela passagem em um filtro de cartão ativado, entrava nas câmeras, misturando-se com os compostos voláteis liberados pelas fontes alimentares e na saída das câmeras passava por um tubo de vidro contendo o polímero adsorvente Porapak Q (0,06 g), onde os COVs eram adsorvidos na superfície do biopolímero e

dissolvidos pela passagem de 500 µL hexano bidestilado pelo tubo contendo o adsorvente. Os extratos obtidos foram colocados em vials (vidro de borossilicato, 2 mL) e armazenados em freezer a -20 °C até serem usados nas análises químicas e nos bioensaios comportamentais.

Bioensaios comportamentais em olfátometro de quatro braços

[40] A resposta comportamental de adultos de *C. megacephala* para os compostos voláteis presentes em fontes alimentares (carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa) em quatro estágios de decomposição (0, 24, 48 e 72 h) foi avaliada em bioensaios comportamentais usando um ‘olfátometro de quatro braços, descrito na patente depositada junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI, nº: BR1020190045663). Este modelo de olfátometro de quatro vias é uma adaptação do olfátometro descrito por Petterson (1970), o qual inventou um olfátometro de quatro vias para testes envolvendo o pulgão, *Schizaphis borealis* (Hemiptera –Aphididae).

Bioensaios por Eletroantenografia

[041] para realização dos bioensaios em eletroantenografia GC-EAG as antenas das moscas fêmeas *C. megacephala* foram testadas utilizando extrato de camarão 48 h e a solução dos padrões sintéticos identificados como atrativos para mosca fêmeas *C. megacephala* disponíveis no LPqRN. Para realização dos bioensaios os exemplares das moscas foram anestesiados em baixa temperatura (-10°C) por um minuto, em seguida, com o uso de tesoura entomológica, a antena foi removida e fixada no eletrodo de prata do sistema EAG, o ápice da antena colocado no eletrodo de trabalho e a base da mesma fixada no eletrodo de referência). Um gel condutor de eletricidade (Sigma Gel; Parker Laboratories, Inc., Fairfield, NJ) foi utilizado para cobrir as extremidades da antena no eletrodo.

[42] Uma alíquota de 2µL dos extratos obtidos na aeração e a mistura dos padrões sintéticos foram injetadas em um cromatógrafo a gás acoplado ao detector por ionização de chama (DIC) modelo Shimadzu QP-2010, operado no modo “split”, contendo coluna capilar RTX-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm) (RESTEK Chromatography Products), onde o efluente da coluna foi dividido em duas partes: uma parte foi direcionada para o detector DIC e a outra para a antena do inseto. As condições de análises foram as seguintes: o

Cromatografo Gasoso operou no modo split”, (com divisão da amostra). As zonas de aquecimento do instrumento foram programadas para operar nas seguintes temperaturas: injetor: 280 °C, detector (DIC:) e forno: temperatura inicial de 50 °C, a qual foi mantida por 5 minutos, com velocidade de aquecimento de 8°C/min até atingir 250 °C aumentando 10°C por minuto até atingir a temperatura final de 280°C. Nitrogênio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1L/min,

[43] Os sinais obtidos foram registrados pela passagem em um amplificador de alta impedância (IDAC4, Syntech 2004, Hilversum, The Netherlands). As saídas do amplificador de EAG e do DIC foram monitoradas simultaneamente e analisados usando o pacote de software Autopike, Syntech (2008). Os picos resultantes das análises no GC foram considerados ativos quando apresentaram atividade no EAG em duas ou mais corridas. Apenas as amostras que apresentaram atratividade nos bioensaios comportamentais foram analisadas por CG-EAG.

Análises químicas para identificação dos compostos (CG-DIC e CG -EM)

[44] As amostras obtidas foram analisadas por cromatografia gasosa acoplado a detector por ionização em chama (CG-DIC) e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Para realização das análises cromatográficas, os extratos obtidos nas aerações foram retirados do freeze e mantidos em temperatura ambiente por um período de aproximadamente 5 minutos. Em seguida, uma alíquota de 1 µL de cada extrato foi introduzida no cromatógrafo gasoso acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC), modelo Shimadzu QP-2010 2 com uma coluna Nist-05 (5% Fenil, 95% Dimetilpolisiloxano) com (30 md. 0,25 mm).

[45] As condições de análises empregadas no GC-DIC e no CG-EM foram as mesmas descritas no item [043], exceto pela coluna Nist-01 (100% Dimetilpolisiloxano) com (30 md. 0,25 mm). Pelo gás de arraste que, nas análises por CG-DIC utilizou-se o nitrogênio e nas análises por CG-EM (modelo

QP 2010 Ultra Os espectros de massa foram obtidos com o CG-EM operando no modo de ionização por impacto de elétrons a 70 e V.

[46] Os compostos voláteis presentes nas amostras analisadas foram identificados da seguinte forma: análise de fragmentação de cada composto, comparação de espectro de massa de cada composto presente na amostra com aqueles compilados nas bibliotecas de referência(NIST 08s; NIST 27; NIST 147; e WILEY 229), comparação do índice de

retenção calculado (Índice de Retenção Linear) com aqueles disponíveis na literatura e em bancos de dados específicos (<pherobase.com> e em <pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), empregando o índice de similaridade e, quando disponível mediante coinjeção de padrões sintéticos.

[47] Os compostos voláteis presentes no extrato de camarão no estágio de decomposição (48 h), foram quantificados pelo uso do método de normalização de áreas, empregando tetradecano (C14) como padrão interno. As percentagens relativas destes compostos foram determinadas com base na metodologia descrita por Geerliet et al. (1997), na qual a divisão da área correspondente a cada pico no cromatograma dividida pela área total de todos os picos dos compostos identificados na amostra corresponde a contribuição de cada composto na mistura.

[48] Para confirmar a identidade dos compostos, presentes no extrato de camarão no estágio de decomposição de (48 h), foram preparadas soluções dos padrões analíticos comerciais (Sigma-Aldrich®, Brasil). As soluções destes padrões, em hexano bidestilado (grau HPLC, Vetec ®) foram preparadas na concentração de 1000 ppm, a qual foi considerada como solução estoque. A partir desta solução foram obtidas outras soluções com as concentrações desejadas para a realização dos testes.

Análises Estatísticas

[49] Os dados da resposta de machos e fêmeas para os diferentes tratamentos em olfátômetro foram analisados utilizando-se o teste Qui-quadrado através do Software Genes (CRUZ, 2013).

[50] Os testes de campo foram realizados no Núcleo de Produção e Melhoramento Animal, localizado no Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio-Largo – AL. A área experimental escolhida possui 5.000 m² (100 x 50 m) e desta área foram subtraídos 10 m lineares como bordaduras para os quatro lados (10 m a área limite). A área experimental escolhida apresenta as seguintes coordenadas geográficas 9°28'29, 1" S e 35.49'43, 6" e as seguintes variáveis climáticas: temperatura variando entre 29 a 31 °C e umidade relativa do ar variando entre 58% a 60%. O experimento foi conduzido durante o período de 11 a 27 de novembro de 2019.

[51] Os septos de borracha impregnados com doses de aproximadamente 3 µL (KOVLESKII et al. 2003) foram utilizados liberadores dos apneumônios. Estes septos foram impregnados com as diferentes amostras – isca natural de extrato de camarão (48 h) – Solução sintética que continha fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila nas concentrações de 50ppm e 100 ppm – Tratamento testemunha hexano.

[52] O experimento foi conduzido em delineamento aleatório, com 4 tratamentos e 5 repetições (cada área foi considerada uma repetição). Os tratamentos testados foram os seguintes: tratamento 1: controle testemunha (hexano); tratamento 2: extrato de camarão 48 h; tratamento 3: solução dos padrões sintéticos na concentração de 50 ppm) e tratamento 4: solução dos padrões sintéticos na concentração de 100 ppm). As armadilhas utilizadas nesses testes consistem em depósitos de plásticos transparentes com capacidade de 3L, nas quais foram colocados pisos adesivos e, em cada septo

de borracha foi adicionado um tratamento. As iscas contendo os tratamentos foram colocadas nos pisos das armadilhas e afixadas a 5m do solo e com distância aproximada de 20 m entre cada tratamento com distribuição ao acaso, seguindo as recomendações descritas por (ORTH et. al. 1986).

[53] A cada 3 (três) dias 3 µl (três) das soluções dos padrões sintéticos nas concentrações de 50 e 100 ppm e da amostra de extrato de camarão 48 h eram acrescentados nos septos de borrachas que se encontravam fixados dentro das

armadilhas. O controle testemunha (hexano) era adicionado diariamente, em razão da sua alta volatilidade.

[54] As avaliações foram realizadas diariamente, no período de 16:30 às 17h, sendo efetuada a contagem dos insetos no término de cada dia de experimento. Em seguida, as moscas eram acondicionadas em tubos de ensaios e congeladas para posterior identificação no Laboratório Central de Saúde de Alagoas (LACEN). Após cada avaliação as armadilhas eram rotacionada.

[55] Os dados da atratividade do extrato de camarão 48 h e a solução dos padrões sintéticos nas concentrações de (50 e 100 ppm) para moscas *C. megacephala* no teste de campo foram tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA) e analisados utilizando-se teste de Tukey, e o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2016) com intervalo de confiança de 95%.

VANTAGENS DA PATENTE

[56] A nossa Isca atrativa para mosca varejeiras, *C. megacephala*, é proveniente de fonte natural de camarão em estágio de decomposição 48 h, sendo referenciada como semioquímicos apresentando inúmeras vantagens ao comparar com inseticida químico, entre as quais citam-se: biodegradáveis, redução dos impactos ambientais, não desenvolvem resistências nos insetos, espectro restrito de atuação.

[57] A Isca natural (extrato de camarão 48 h) é referenciada como aleloquímicos (apneumônios) utilizada com eficiência para monitoramento e controle de *C. megacephala*, além das inúmeras vantagens é de fácil aquisição e preço acessível.

[58] Outra vantagem é a durabilidade da atividade biológica do produto no campo, diminuindo os custos com aplicações sucessivas e mão de obra. O uso do atraente natural (extrato de camarão 48 h) como isca em armadilhas captura uma percentagem elevada da mosca alvo, acarretando no decréscimo da geração seguinte de *C. megacephala*.

[59] Redução de problema de saúde, minimização da contaminação do produtor rural e consumidor final, alimentos saudáveis e redução dos impactos ambientais estão entre as principais vantagens.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[60] Figura 01. Média percentual de atratividade de moscas fêmeas de *C. megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de diferentes fontes - carne bovina, peixe sardinha e camarão rosa em condições de olfatômetros de quatro braços. A partir da análise estatística Qui- quadrado.

[61] Figura 02. Média percentual de atratividade de moscas Machos de *C. megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de diferentes fontes - carne bovina, peixe, camarão em condições de olfatômetros de quatro braços. A partir da análise estatística Qui- quadrado.

[62] Figura 03. As antenas das fêmeas *C. megacephala* apresentaram respostas eletroantegráfica para três picos presentes no extrato de camarão 48h.

[63] Figura 04. Cromatograma representativo dos compostos voláteis coletados de extrato de camarão 48h.

[64] Figuras 05 (A e B) espectros de massas do fenol composto 1

[65] Figuras -06 (A e B) espectros de massas do 2- nonanona composto 2

[66] Figuras - 07 (A e B) espectros de massas do Dissulfeto de metila composto

[67] Figura – 08 Número total de moscas adultas de *C. megacephala* coletadas no período de 11 a 27 de novembro de 2019, amostradas nos tratamentos controle, extrato de camarão 48 h e solução terciária dos padrões sintéticos testados nas concentrações (50 e 100 ppm). Na área experimental núcleo de produção e melhoramento animal, localizado no Centro de Ciências Agrárias (CECA).

[68] Médias seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

REIVINDICAÇÕES

1- Formulação de uma isca semioquímicos (apneumônios), eficaz no controle de moscas varejeiras, *Chrysomya megacephala*, (Diptera:Caliphoridae) caracterizado pela constituição: Fenol, 2-nonanona, dissulfeto de metila , que pelo menos, 3.

2- Isca, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que os referidos apneumônios provêm de extrato de camarão 48 (exposto a um ambiente atmosférico por um período de 48 horas).

3- Isca de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada por** compreender pelo menos três dos apneumônios (Fenol, 2- nonanona e dissulfeto de metila) possuem atividade de atração sobre o inseto- praga *C.megacephala*

4. Isca, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores 2 ou 3 caracterizada pelo fato de que os apneumônios do extrato de camarão 48, exposto em ambiente atmosférico por um período de 48 horas.

5. Isca de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por um aleloquímico e cada um dos apneumônios estarão presentes na isca no mesmo distribuidor

6. A Isca caracterizada **por** compreender em qualquer uma das reivindicações 1 a 5 anteriores.

7. A Isca, de acordo com a reivindicação 6 caracterizada por um uso combinado dos aleloquímicos, com pelo menos três compostos, fenol, 2 nonanona, dissulfeto de metila, apneumônios que atraem a referida espécie, proporcionando o monitoramento e controle de *C. megacephala*.

DESENHOS

Figura-01

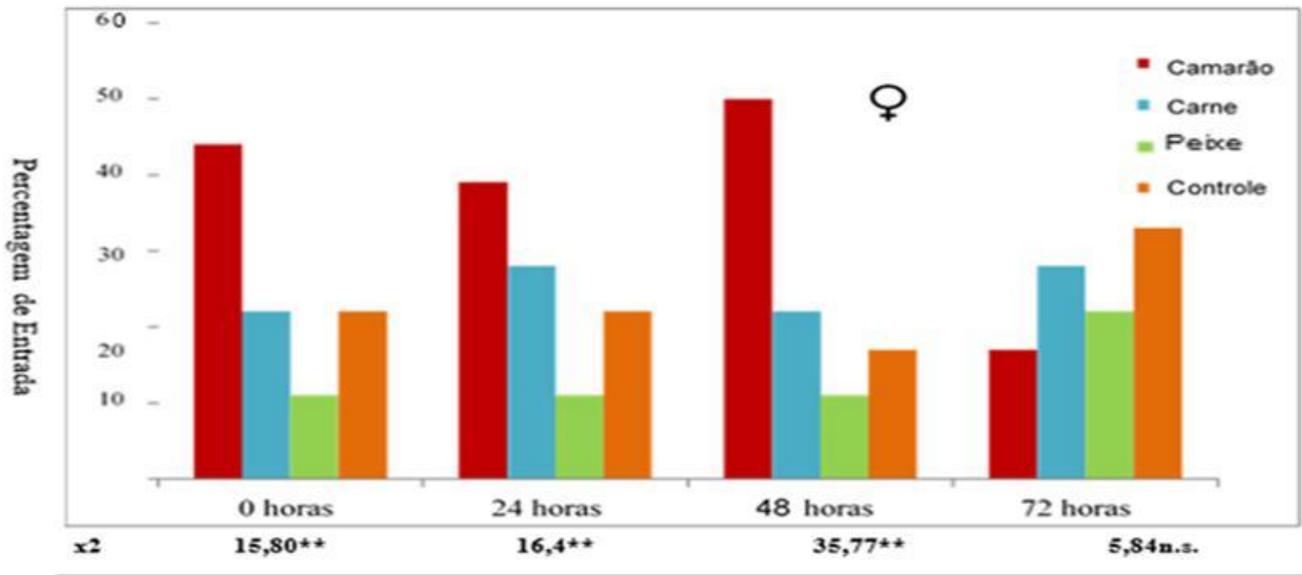


Figura-02

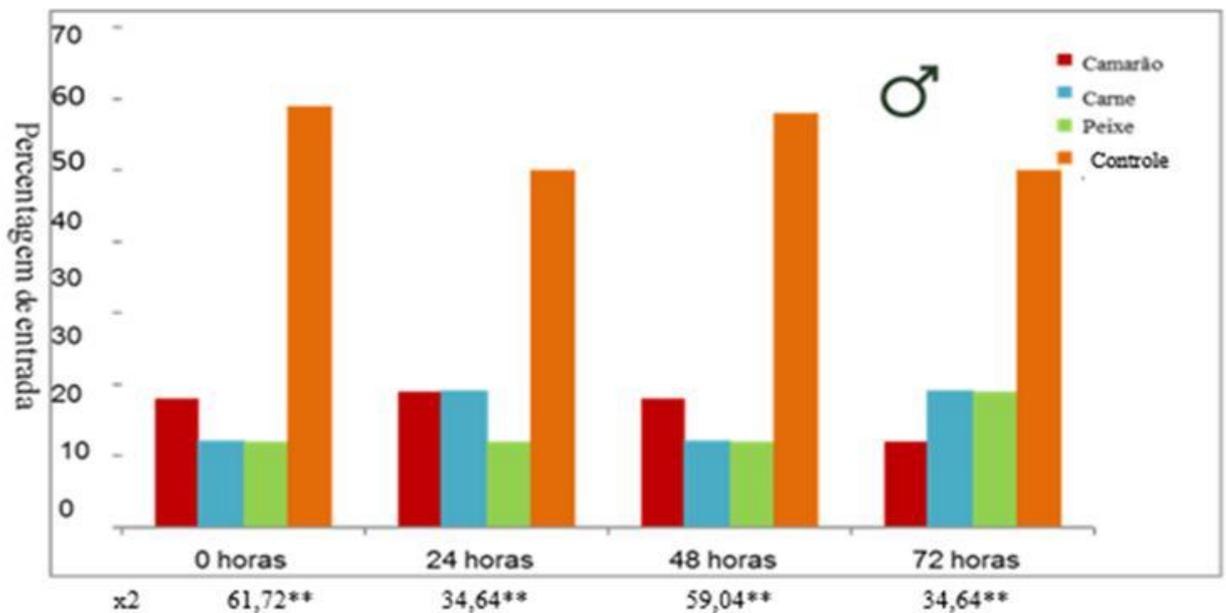


Figura - 03

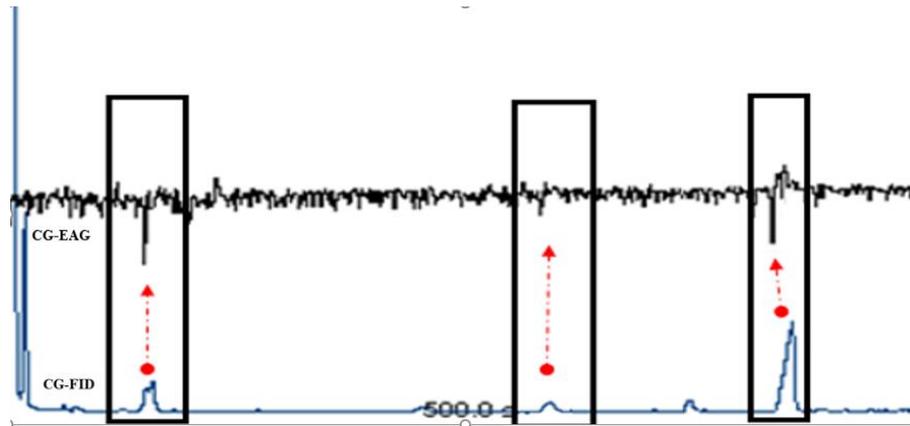


Figura - 04

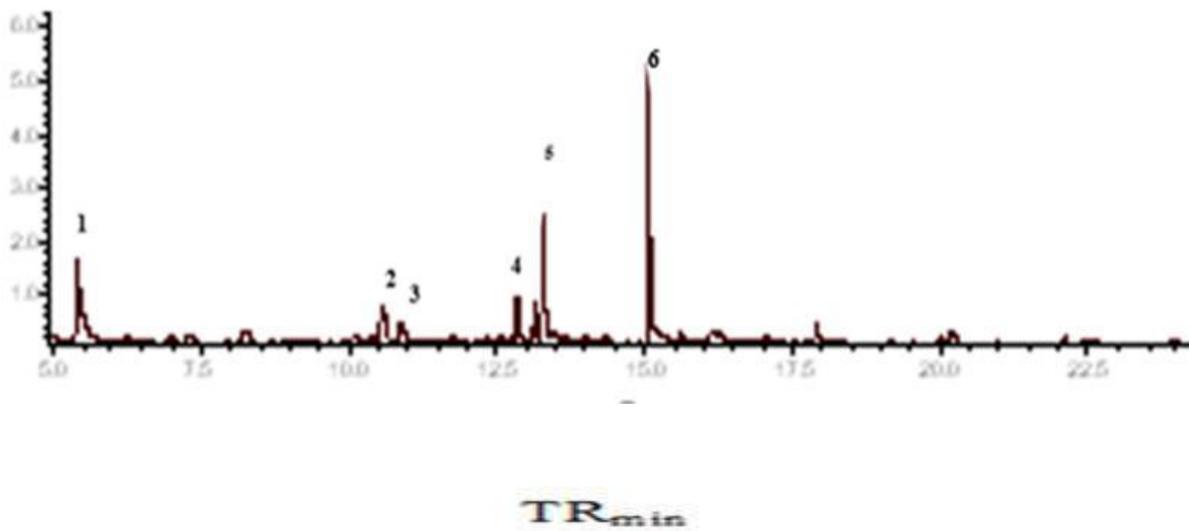
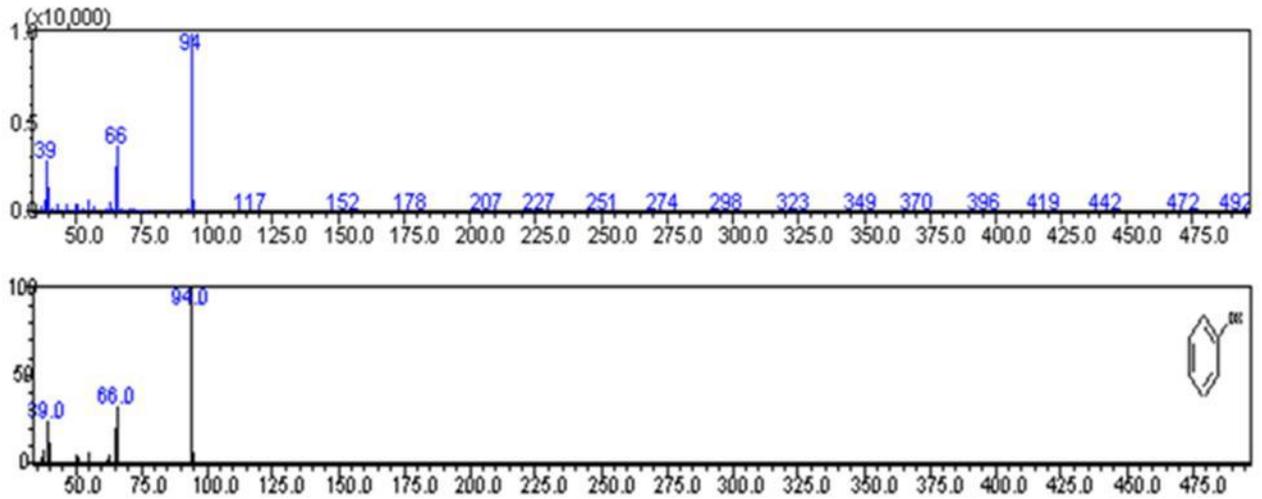
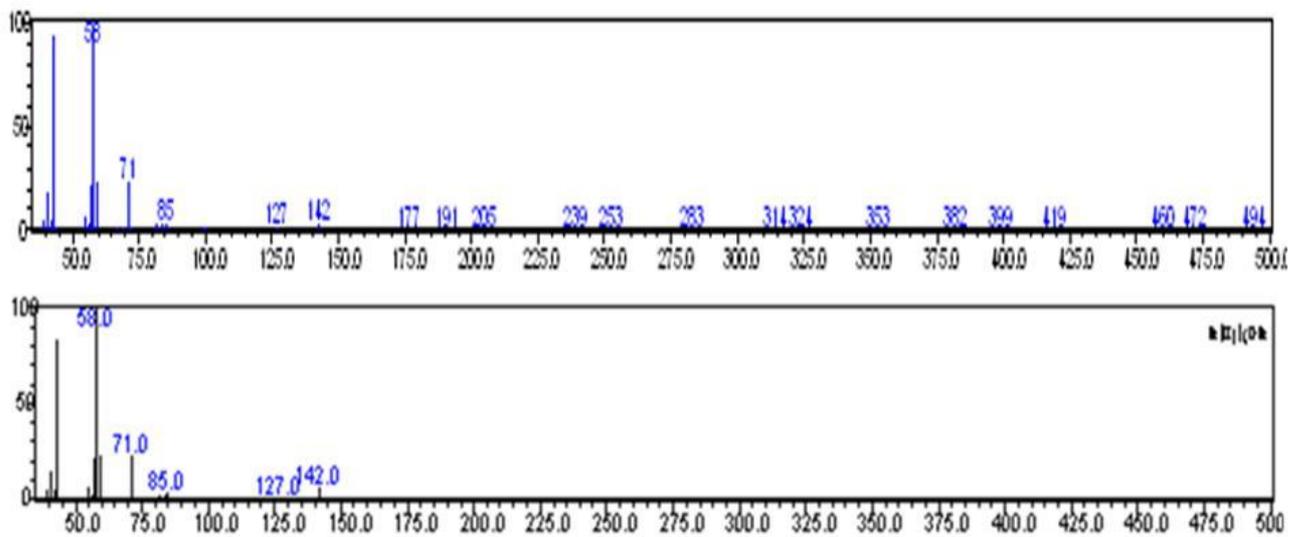


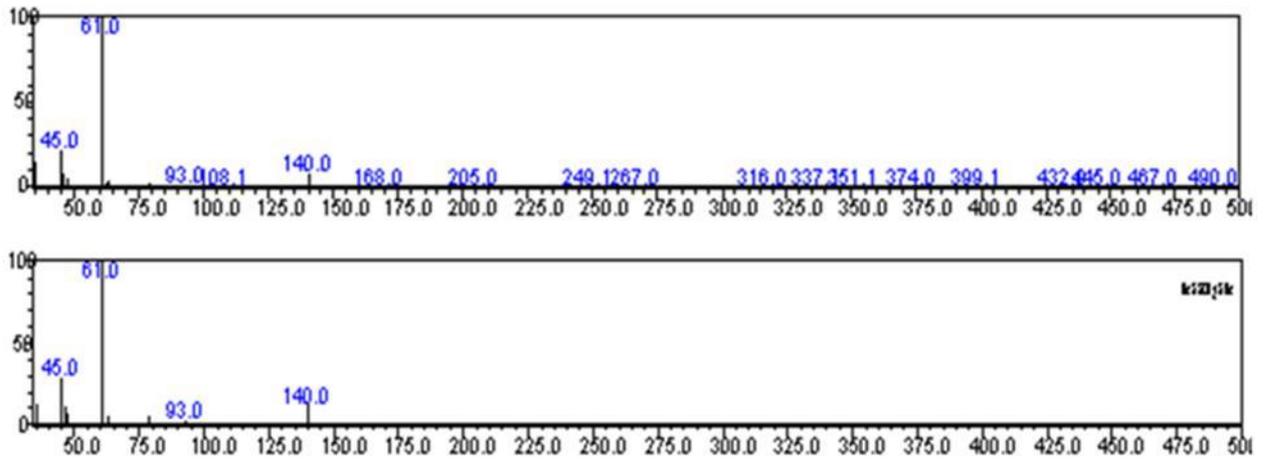
Figura-05



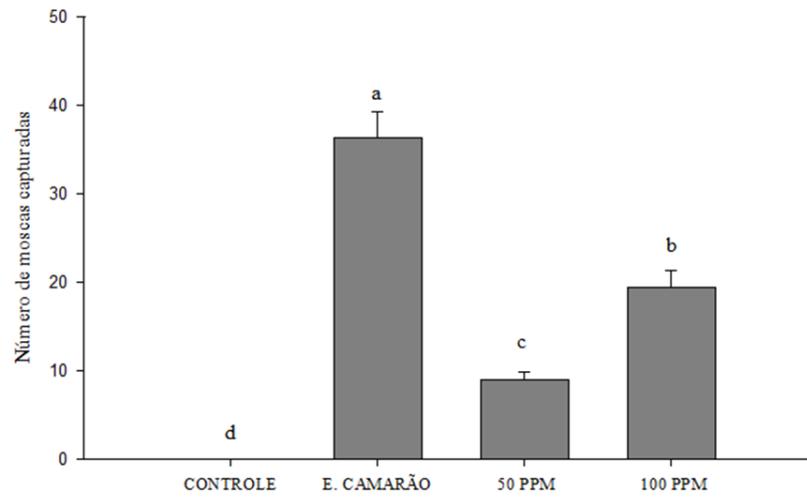
Figuras-06



Figuras - 07



Figuras – 08



RESUMO

Isca natural com atratividade para moscas varejeiras com ação semioquímica (apneumônios) eficazes no monitoramento e controle da população adulta de moscas varejeiras, *Chrysomya megacephala* – Fabricius, 1794 (Diptera: Calliphoridae)

A presente invenção faz referência a um atraente natural extraído da fonte alimentar camarão em estágio de decomposição 48 h eficiente no monitoramento e controle da população adulta de *C. megacephala*, praga causadora de doença provocada por larvas de moscas (miíase) acometem várias espécies de animais, impactando significativamente na econômica, devido à presença desses insetos estarem diretamente correlacionados com o decréscimo da produtividade no setor agropecuarista. A influência comportamental do extrato de camarão 48 h foi realizada por olfatômetro de quatro braços, observou-se que o extrato natural exerce influência comportamental sobre as moscas fêmeas *C. megacephala*. As análises por Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector Eletroantegráfico (CG-EAG) revelaram que três compostos presentes no extrato de camarão 48 h elicitaram respostas nas antenas de fêmeas de *C. megacephala*, indicando que estes compostos possuem receptores específicos nas antenas de fêmeas. A identificação dos compostos foi por CG-EM que se constatou três compostos - Fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila presentes no extrato de camarão. O teste de atratividade experimental no campo comprovou a atração da isca natural extrato de camarão 48 h frente ao inseto-praga, *C. megacephala*, validando o potencial da invenção para a utilização no manejo integrado de inseto-praga *C. megacephala* responsável por causar miíase secundária.

CONCLUSÃO GERAL

Os procedimentos metodológicos desenvolvidos em laboratório voltado para a identificação da espécie possibilitaram a identificação de *C. megacephala* como predominante nos municípios coletados da região de Alagoas.

As avaliações morfométricas confirmaram a identificação de *C. megacephala*. Pôde-se observar que as moscas fêmeas *C. megacephala* são maiores que os machos coespécíficos.

As análises antenais de *C. megacephala* a partir da Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV), possibilitaram identificar três segmentos (escapo, pedicelo, flagelo e uma arista perpendicular) nos quais se encontravam inúmeras sensilas e pelos distribuídos nesses segmentos, as sensilas foram caracterizadas em cinco tipos (caéticas, estelôcônicas, tricoídes, basicônicas e coelocônicas) com diferentes funções. Pôde-se observar dimorfismo sexual nos segmentos antenais (pedicelo, flagelo e arista). No entanto, nas sensilas não se observou dimorfismos sexual.

A comunicação química entre moscas *C. megacephala* é mediada pela presença de semioquímicos denominado apneumônios. Os compostos bioativos presentes no extrato de camarão 48 h influenciaram o comportamento de *C. megacephala*, constatando uma maior atratividade para moscas fêmeas, em contrapartida, os machos foram mais atrativos para o tratamento controle, sugerindo repelência.

Os três compostos bioativos presente nos extratos de camarão 48 h foram identificados como dissulfeto de metila (majoritário), 2- nonanona (intermediário) e fenol (minoritário).

As avaliações comportamentais de *C. megacephala* frente aos compostos sintéticos, identificados como bioativos no extrato de camarão 48 h, em condições de olfatometro de quatro braços, demonstraram que esses compostos promoveram ação sinérgica, potencializando a atratividade de *C. megacephala*.

Os testes de campo confirmaram que os extratos de camarão 48h e a solução dos padrões sintéticos têm atratividade sobre as moscas *C. megacephala*, observou-se também que houve uma maior atratividade de moscas fêmeas cerca de 93,5%, ao comparar com os machos cerca de 6,5%.

Deste modo, os resultados obtidos demonstraram que esta substância, apneumônios, mediarão o comportamento atrativo de *C. megacephala*, permitindo-se afirmar que a solução possui atratividade sobre a mosca *C. megacephala*, com potencial a serem utilizados para uso no monitoramento e controle da referida praga. Esses resultados têm grande relevância no

contexto socioeconômico, à medida que essa solução poderá ser utilizadas no Manejo Integrado de Praga (MIP), reduzindo as perdas econômicas para o mercado agropecuário e à saúde pública.