

AGRADECIMENTOS

A autora expressa seu reconhecimento e sinceros agradecimentos:

- Ao orientador deste trabalho, Professor Dr. Aloísio J. Antunes.
- Ao Professor Dr. Ângelo Pires do Prado.
- Ao Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da UNICAMP.
- Aos Técnicos e Funcionários da FEA.
- À CAPES pelo auxílio financeiro.
- Ao Carlos
- Aos meus demais colegas e amigos.

Classif.	<u>I</u>
Autor	<u>64732</u>
V.	Ex.
Ex.	
Tombo ECI	<u>3625</u>

CM-00035140-5

ÍNDICE

	página.
RESUMO.....	ix
SUMMARY.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. MÉTODOS BIOLÓGICOS.....	3
2.1.1. "Biological Value" (BV).....	3
2.1.2. "Protein Efficiency Ratio" (PER).....	4
2.1.3. "Net Protein Utilization" (NPU).....	6
2.1.4. "Net Protein Ratio" (NPR).....	7
2.1.5. "Relative Nutritive Value" (RNV).....	8
2.2. MÉTODOS QUÍMICOS.....	9
2.2.1. "Chemical Score" (CS).....	10
2.2.2. "Avaliable Lysine Value" (ALV).....	12
2.3. MÉTODOS ENZIMÁTICOS.....	13
2.4. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS.....	14
2.5. MÉTODOS APLICÁVEIS A SERES HUMANOS.....	17
2.6. ENSAIOS COM INSETOS.....	18
2.7. CARACTERÍSTICAS GERAIS DE DÍPTEROS.....	19

2.7.1. CARACTERÍSTICAS DOS DIVERSOS ESTÁGIOS..	22
2.7.2. DIETAS ARTIFICIAIS.....	23
2.7.3. NECESSIDADES NUTRICIONAIS DA LARVA.....	24
2.7.3.1. CARBOIDRATOS.....	25
2.7.3.2. LIPÍDIOS.....	26
2.7.3.3. PROTEÍNAS.....	27
2.7.3.4. VITAMINAS.....	28
2.7.3.5. ÁGUA.....	29
2.7.3.6. SAIS MINERAIS.....	29
2.7.3.7. ÁCIDOS NUCLEICOS.....	30
2.7.3.8. MICROORGANISMOS.....	30
2.7.4. NECESSIDADES NUTRICIONAIS DOS ADULTOS..	31
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1. MATERIAL.....	33
3.2. MÉTODOS.....	33
3.2.1. ANÁLISES QUÍMICAS.....	33
3.2.1.1. PROTEÍNA.....	34
3.2.1.2. METIONINA.....	34
3.2.2. FORMULAÇÃO.....	39
3.2.2.1. PREPARO DAS DIETAS.....	39

3.2.3. MÉTODOS DE CULTURA	52
3.2.3.1. SALA DE CRIAÇÃO	52
3.2.3.2. PROCEDIMENTO PARA A OBTENÇÃO DE ADULTOS	53
3.2.3.3. MANUSEIO DOS OVOS PARA OS EN - SAIOS	54
3.2.4. ENSAIOS	54
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5. CONCLUSÕES	90
6. BIBLIOGRAFIA	92
7. ANEXO	106

ÍNDICE DE TABELAS

página.

TABELA 1. - CONTEÚDO DE PROTEÍNA BRUTA DOS PRODUTOS UTILIZADOS NOS ENSAIOS (N x 6,25).....	35
TABELA 2. - CONTEÚDO DE PROTEÍNA BRUTA DAS DIFERENTES DIETAS (N x 6,25)	36
TABELA 3. - TEORES DE METIONINA DAS AMOSTRAS DE FEIJÃO, SOJA E CASEÍNA	37
TABELA 4. - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE LEITE EM PÓ.....	40
TABELA 5. - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE LEITE EM PÓ E LEVEDURA.....	41
TABELA 6. - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE CASEÍNA	42
TABELA 7. - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE CASEÍNA E LEVEDURA.	43
TABELA 8. - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE CASEÍNA E ÁCIDO RIBONUCLEICO	44
TABELA 9. - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE FEIJÃO E SOJA.....	45
TABELA 10.- COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE ARROZ	46
TABELA 11.- COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE MILHO	47
TABELA 12.- COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE TRIGO	48

TABELA 13. - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DE OVO INTEGRAL	49
TABELA 14. - COMPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO DE VITAMINAS	50
TABELA 15. - COMPOSIÇÃO DA MISTURA DE SAIS MINERAIS ...	51
TABELA 16. - COMPARAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS PARA O HOMEM, RATO E 3 ESPÉCIES DE LARVAS DE DÍPTEROS	56
TABELA 17. - DURAÇÃO DOS DIVERSOS ESTÁGIOS DE DESENVOL- VIMENTO DE C.CHLOROPYGA.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

	página
FIGURA 1. - CURVA GERAL DE CRESCIMENTO DE LARVAS DE DÍPTEROS	22
FIGURA 2. - CURVA PADRÃO DE METIONINA	38
FIGURA 3. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NA DIETA DE STOFFOLANO E EM CARÇAÇA	58
FIGURA 4. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. albiceps</i> NA DIETA DE STOFFOLANO E EM CARÇAÇA	60
FIGURA 5. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. megacephala</i> NA DIETA DE STOFFOLANO E EM CARÇAÇA	61
FIGURA 6. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 2% DE LEITE EM PÓ E 2% DE LEITE EM PÓ E LEVEDURA	63
FIGURA 7. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 4% DE LEITE EM PÓ E 4% DE LEITE EM PÓ E LEVEDURA	64
FIGURA 8. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 6% DE LEITE EM PÓ E 6% DE LEITE EM PÓ E LEVEDURA	65
FIGURA 9. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 2% DE CASEÍNA E 2% DE CASEÍNA E LEVEDURA ..	67

FIGURA 10. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 4% DE CASEÍNA E 4% DE CASEÍNA E <u>LE</u> VEDURA.....	68
FIGURA 11. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 6% DE CASEÍNA E 6% DE CASEÍNA E <u>LE</u> VEDURA.....	69
FIGURA 12. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 8% de CASEÍNA E 8% DE CASEÍNA E <u>LE</u> VEDURA.....	70
FIGURA 13. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 10% DE CASEÍNA E 10% DE CASEÍNA E LEVEDURA.....	71
FIGURA 14. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 2% DE CASEÍNA E 2% DE CASEÍNA E ÁCIDO RIBONUCLEICO.....	73
FIGURA 15. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE 4% DE CASEÍNA E 4% DE CASEÍNA E ÁCIDO RIBONUCLEICO.....	74
FIGURA 16. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 6% DE CASEÍNA E 6% DE CASEÍNA E ÁCIDO RIBONUCLEICO.....	75
FIGURA 17. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 8% DE CASEÍNA E 8% DE CASEÍNA E ÁCIDO RIBONUCLEICO.....	76

FIGURA 18. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS 10% DE CASEÍNA E 10% DE CASEÍNA E ÁCIDO RIBONUCLEICO.....	77
FIGURA 19. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE 4% DE FEIJÃO (CRÚ, AUTOCLAVADO , COM E SEM METIONINA).....	80
FIGURA 20. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE 6% DE SOJA (CRUA, AUTOCLAVADA, COM E SEM METIONINA).....	81
FIGURA 21. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE 4% DE FEIJÃO E SOJA CRUS (COM E SEM METIONINA).....	83
FIGURA 22. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE ARROZ.....	84
FIGURA 23. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE MILHO.....	85
FIGURA 24. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE TRIGO.....	86
FIGURA 25. - CURVA DE CRESCIMENTO DE <i>C. chloropyga</i> NAS DIETAS DE OVO INTEGRAL.....	89

RESUMO

As larvas das espécies *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya chloropyga* e *Chrysomya megacephala* foram inicialmente utilizadas neste estudo. A espécie *C. chloropyga*, foi selecionada por seu comportamento semelhante em dieta natural (carcaça) e na dieta de leite e levedura (STOFFOLANO, 1974).

Verificou-se inicialmente, o efeito de diferentes níveis de proteína na dieta, no desenvolvimento das larvas, utilizando-se como fonte proteica leite em pó integral, leite em pó integral combinado com levedura, caseína e caseína combinada com levedura, nos níveis de 2, 4, 6, 8 e 10%. Nas dietas de leite e de leite e levedura, as porcentagens de ganho de peso foram proporcionais ao nível de proteína das dietas nos níveis 2 e 4%. Nos níveis 6, 8 e 10%, não houve crescimento, provavelmente devido à alta concentração de sólidos nas dietas.

Com a utilização de caseína e caseína combinada com levedura, obtivemos respostas de crescimento proporcionais ao nível de proteína das dietas até o nível 8% para as dietas de caseína e levedura e até o nível 10%, para as dietas de caseína. Como as dietas contendo levedura apresentaram resultados superiores aos obtidos somente com leite ou caseína como fontes proteicas e, sendo levedura uma fonte rica em ácido ribonucleico, este substituiu a levedura nas dietas de caseína, obtendo-se resultados superiores aos até então obtidos. A série de

dietas contendo caseína e RNA foi por este motivo utilizada como padrão nos ensaios subseqüentes.

Verificamos então, respostas das larvas quando proteínas de diferentes origens eram adicionadas às dietas. No primeiro grupo de dietas as farinhas das leguminosas feijão e soja foram utilizadas, testando-se também o efeito de tratamento térmico e o de suplementação com metionina no desenvolvimento das larvas. A suplementação de feijão cru com metionina não aumentou a porcentagem de ganho de peso das larvas, o que ocorreu após o tratamento térmico e também com a suplementação da farinha tratada. Nas dietas com farinha de soja crua, quando suplementadas com metionina, as larvas apresentaram porcentagem de ganho de peso maior do que as dietas não suplementadas. O tratamento térmico também melhorou a qualidade das dietas.

Os cereais arroz, milho e trigo foram utilizados como fonte proteica para verificar efeitos de suplementação com aminoácidos e complementação de proteínas. Os ensaios de complementação deram resultados superiores aos obtidos com dietas contendo cereal como única fonte proteica, para milho e trigo. A suplementação das dietas com aminoácidos limitantes produziu resultados superiores ou próximos aos obtidos com as dietas complementadas.

Um último ensaio foi realizado utilizando-se ovo integral liofilizado como fonte proteica, obtendo-se resultados bastante satisfatórios, embora as dietas não contivessem RNA adicionado, confirmando que o desempenho da dieta depende do balan

ço adequado de nutrientes.

SUMMARY

The growth of *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya chloropyga* and *Chrysomya megacephala* larvae toward a natural (mice carcass) and milk-yeast diets was studied. The larva of *C. chloropyga* was selected because of its identical growth in both diets.

Experiments were carried out to study the effect of different protein levels and different protein sources as well. Four protein sources were utilized in this study: 1) dried whole milk, 2) dried whole milk-plus-yeast, 3) casein and 4) casein combined with yeast. The protein levels were 2, 4, 6, 8 and 10% for each one of the diets.

In the dried whole milk and dried whole milk-plus-yeast the gain in body weight was proportional to the protein content of the diets, at the levels of 2 and 4%. At 6, 8 and 10% the growth was impaired, probably due to the high solid concentration in the diets.

When the casein and the casein-plus-yeast diets were utilized, the growth was proportional to the protein content of the diets up to the level of 8%, in the case of the casein-plus-yeast diet, and up to 10% for the casein diet. When yeast was incorporated to the diets, the growth rates were always higher than those obtained without it. This result was not surprising since yeasts are a good natural source of ribonucleic acid. The addition of RNA to the casein diet showed even better

results, in terms of growth, than the casein-plus-yeast diet. For this reason, the casein diet to which RNA was added, was taken as the standard diet throughout this study.

The effect of different protein sources on the growth rates of *C. chloropyga* larvae was investigated in another set of experiments. The ability of bean (*Phaseolus vulgaris*) and soy-bean (*Glycine max*) proteins to support growth as well as the effect of heat treatment and L-methionine supplementation were studied. The larvae did not respond to the supplementation of the unheated bean protein with L-methionine, however the growth rates were higher when the flour was heat-treated and when the heated-treated flour was supplemented with L-methionine. In the case of unheated soy flour, there was a better growth response after L-methionine addition; heated soy flour supported higher growth rates than the unheat flour both with and without L-methionine addition.

Rice, corn and wheat were also testes as proteinsources for the *C. chloropyga* larvae. Corn and wheat when supplemented with limiting amino acids elicited a better growth response than the unsupplemented sources. Supplementation of corn, rice and wheat with bean and soy-bean protein was beneficial to the growth of *C. chloropyga* laryae. Dried whole egg was also tested, giving higher growth rates when compared with any other protein source.

1. INTRODUÇÃO

Várias técnicas para avaliar a utilização ou eficiência proteica foram desenvolvidas neste século, baseadas em balanço de nitrogênio, crescimento, métodos químicos, enzimáticos, microbiológicos e ensaios com insetos.

Um ensaio adequado deveria ser rápido, razoavelmente acurado e reprodutível, barato, possuir técnica simples o suficiente para ser utilizado rotineiramente a nível técnico e ser aplicável a uma larga faixa de alimentos (ANDERSON, 1978). Nenhum dos ensaios até agora propostos reúne todos estes atributos e seu uso não é, portanto considerado totalmente satisfatório.

Apesar dos dípteros serem bastante utilizados em pesquisa biológica, em estudos genéticos, bacteriológicos, fisiolôgi-
cos e outros, por possuírem algumas características adequadas ,
tais como rápido desenvolvimento e baixo custo de manutenção,
e também de haver estudos confirmando que os princípios de nutrição destes insetos são qualitativamente semelhantes aos da
nutrição animal, nenhum estudo foi realizado para verificar a
sua possível utilização na avaliação de qualidade de proteínas.

O presente trabalho foi realizado com os seguintes objetivos:

- 1 - medir a duração dos diferentes estágios de desenvolvimento do inseto.
- 2 - Comparar o crescimento das larvas em dieta merídica

e em carcaça.

- 3 - verificar qual o efeito que diferentes níveis de proteína na dieta têm sobre o crescimento das larvas.
- 4 - verificar a resposta das larvas, quando diferentes fontes proteicas são adicionados às dietas.
- 5 - verificar qual o efeito que tratamento térmico, suplementação com aminoácidos limitantes e complementação com diferentes proteínas têm sobre o desenvolvimento das larvas.

Com estes resultados, esperamos obter dados que possam contribuir para o estabelecimento de um método de avaliação de qualidade proteica que utilize larvas de *C. chloropyga*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Uma das funções das proteínas na dieta é fornecer uma mistura adequada de aminoácidos para a síntese e manutenção de proteínas dos tecidos corporais. Esta função pode ser avaliada direta ou indiretamente por vários métodos desenvolvidos para estimar o valor nutritivo de proteínas. O metabolismo de proteínas é bastante complexo, e parte dele, ou seja, a utilização de proteínas, depende não somente de sua composição em aminoácidos e digestibilidade mas também da composição e adequação da dieta como um todo, quantidade de proteína na dieta, condições ambientais, idade e estado fisiológico do organismo considerado (FAO/OMS, 1973).

Técnicas para avaliar a utilização ou eficiência proteica foram desenvolvidas no início deste século, baseadas em balanço de nitrogênio, crescimento e índice químico.

2.1. MÉTODOS BIOLÓGICOS

2.1.1. Biological Value (BV)

O conceito de balanço de nitrogênio foi introduzido por THOMAS (1909, apud BLOCK & MITCHELL, 1946) e empregado para determinar valor biológico de proteínas em pessoas adultas.

MITCHELL (1924) adaptou este método para ratos adultos e em crescimento. O valor biológico mede a porcentagem de nitrogênio absorvido que é retida no organismo. No cálculo do valor biológico são consideradas as perdas de nitrogênio de origem endôgena ou metabólica, através do emprego de dieta aprotéica. Normalmente os animais teste e controle recebem a dieta por 7 a 10 dias. O método foi revisto por McLAUGHLAN (1972): os principais problemas associados a este método são o extremo cuidado necessário para efetuar coleta de urina e fezes e impedir a contaminação das mesmas com o alimento. Além disto, se assume que o nitrogênio metabólico da urina e das fezes é o mesmo para animais consumindo ou não dieta proteica. O BV é afetado também pelo nível de proteína na dieta (MITCHELL, 1924) e pela idade dos ratos (HENRY & KON, 1957; CHAPMAN, CASTILLO & CAMPBELL, 1959). O método é trabalhoso para ser utilizado rotineiramente e tem problemas de erros acumulados que diminuem sua precisão (MILLER & LACHANCE, 1977).

O crescimento contribui para a retenção de nitrogênio no organismo. A avaliação de proteínas ou aminoácidos através do crescimento é, portanto, um dos mais rigorosos métodos pois integra a maioria das funções de proteínas (aminoácidos) em uma medida. A extensão deste meio de avaliação torna difícil padronizá-lo e interpretá-lo (ALLISON, 1949).

2.1.2. Protein Efficiency Ratio (PER)

A medida de eficiência proteica através de ganho de

peso é um dos mais simples e difundidos métodos disponíveis. O PER relaciona ganho de peso à proteína consumida. Foi desenvolvido por OSBORNE, MENDEL & FERRY (1919) e suas condições experimentais padronizadas no Canadá (CHAPMAN, CASTILLO & CAMPBELL, 1959) e nos Estados Unidos (DERSE, 1962). No trabalho original, OSBORNE, MENDEL & FERRY (1919) reconhecem que a taxa de crescimento é influenciada pela ingestão de alimento e que isto deveria ser considerado em qualquer ensaio para medir o valor nutritivo de proteínas. Os procedimentos padronizados indicam que se deve usar ratos machos desmamados com vinte e um dias de idade em dietas contendo 10% de proteína, por um período de 4 semanas, sendo os resultados relativos à uma dieta controle de caseína. Apesar de seu amplo uso, e de ser o método oficial no Canadá e nos Estados Unidos, o PER é adotado com algumas restrições (MITCHELL, 1944). Suas desvantagens (BLOCK & MITCHELL, 1946; MITCHELL 1944; BENDER & DOELL, 1957) podem ser resumidas em: a) assumir que o ganho de peso é um índice de síntese de proteínas não é necessariamente válido; b) os resultados variam com a quantidade de alimento ingerido e com o nível de proteína na dieta; c) proteínas que não suportam crescimento não podem ser avaliadas; d) não é um método adaptado para fração proteica adicionada à dieta que apresente alto conteúdo de umidade, conteúdo de gordura maior do que conteúdo proteico, alta quantidade de substâncias minerais, baixo conteúdo de proteína (STAUB, 1978; STEINKE, 1977) ou que contenha carboidratos não usuais, que interferem nos resultados (STEINKE, 1977); os valo

res são geralmente mais altos se a aceitabilidade da dieta é maior (BENDER & DOELL, 1957; HEGSTED & CHANG, 1956).

O PER tem a vantagem de revelar possíveis efeitos tóxicos em alimentos proteicos, pois o crescimento é extremamente suscetível à ação tóxica de diversas origens (MAURON, 1973). Esta técnica pode ser utilizada para comparar diferenças na qualidade proteica de amostras do mesmo produto processadas por várias técnicas diferentes ou comparar mudanças devido à variação genética de plantas, desde que estas alterações afetem o amino ácido limitante ou eliminem inibidores de crescimento.

2.1.3. Net Protein Utilization (NPU)

Em 1953, BENDER & MILLER modificaram o BV, propondo novo método, no qual a porcentagem de nitrogênio retida pelo animal era medida por análise da carcaça, ao invés de diferença entre ingestão e excreção de nitrogênio. A retenção de nitro-gênio era obtida pela diferença entre o grupo teste e um grupo de animais em dieta aprotéica. Isto evitava um grande número de determinações de nitrogênio e reduzia o tempo de ensaio (10 a 14 dias). A equação proposta para o cálculo do NPU relaciona nitrogênio retido a nitrogênio consumido.

Como a análise de nitrogênio corporal é um procedimen-
to trabalhoso e pode afetar a precisão do método (MILLER &
LACHANCE, 1977), tentativas de utilizar água corporal como um
indicador de nitrogênio corporal foram sugeridas por MILLER &

BENDER (1955) que mostraram que a relação nitrogênio/água varia com a idade dos ratos de maneira previsível. O método foi criticado por STUKI & HARPER (1962), SCRIMSHAW (1962) e HENRY (1965) que demonstraram haver diferenças significativas na relação nitrogênio/água em ratos alimentados com diferentes dietas. Foi mostrado por KABA (1971, apud PELLET, 1973) que se duas relações nitrogênio/água fossem usadas, uma para os animais em dieta aprotéica e outra para os animais em dieta teste, a correlação seria alta, podendo então ser utilizada para o cálculo do NPU. MILLER & PAYNE (1961) propuseram o uso de NPU padronizado (NPU determinado em um nível de proteína próximo ao de manutenção) e NPU operacional (determinado em outros níveis de proteína).

2.1.4. Net Protein Ratio (NPR)

Uma modificação do PER foi introduzida por BENDER & DOELL (1957) para resolver alguns problemas teóricos associados a ele. O ensaio tem a duração de 10 dias e um grupo de ratos em dieta aprotéica é incluído, tornando os resultados independentes da quantidade de alimento ingerido. Além disto, proteínas que não suportam crescimento podem ser avaliadas. Há um grupo alimentado com proteína padrão, e os resultados são expressos como porcentagem do valor correspondente ao padrão. BENDER & DOEL (1957) compararam NPR e PER para 35 proteínas e misturas proteicas. As repetições dos ensaios de PER tiveram

grande variação mas o NPR apresentou resultados relativamente constantes. Na prática, o NPR é idêntico ao NPU (PELLETT, 1978). McLAUGHLAN & KEITH (1975) mostraram que acima do nível de ma nutenção, a eficiência de incorporação proteica não é linear; quando não há desvio muito grande da linearidade, o método pode ser utilizado para medir diferenças entre fontes proteicas diferentes e classificá-las.

2.1.5. Relative Nutritive Value (RNV)

ALLISON (1959) sugeriu que coeficiente angular da re ta correlacionando variação de balanço de nitrogênio e absorç ão, poderia ser utilizado para comparar proteínas. Uma série de trabalhos (HEGSTED & CHANG, 1965a,b; HEGSTED, NEFF & WORCESTER, 1968; SAID & HEGSTED, 1969; HEGSTED & NEFF, 1970) descreveram um método para determinar o índice que foi chamado RNV. O método envolve a medida da resposta desejada (peso, água ou nitrogênio corporal) em três níveis de proteína na dieta teste e na dieta padrão (lactoalbumina). O coeficiente ang ular da curva resposta da proteína teste é comparado com o obtido na curva padrão e a relação entre os coeficientes angula res é chamada de RNV. Mais tarde, tornou-se aparente que a suposição na qual se baseava o método, de que todas as curvas resposta eram lineares e tinham uma intersecção comum não era correta (McLAUGHLAN & KEITH, 1975). Os desvios da linearidade ocorrem principalmente com proteínas de baixa qualidade e as

deficientes em lisina (McLAUGHLAN, 1972). O método foi modificado, eliminando-se o uso de dieta aprroteica, passando a ser denominado RPV (Relative Protein Value) (SAMONDS & HEGSTED, 1977). No RPV é calculada a curva de regressão do ganho de peso. O erro resultante da dependência de quantidade de alimento ingerido é menor no ensaio RPV do que nos ensaios BV ou NPU, pois o teste é baseado em vários níveis de proteína e o coeficiente angular obtido não é totalmente dependente da intersecção no ponto zero. Apesar disto, o ensaio pode ser considerado válido se os dados utilizados estão na porção linear da curva resposta. A principal dificuldade do RPV é a seleção da porção linear da curva resposta (HACKLER, 1977b). As doses múltiplas aumentam o custo deste ensaio.

2.2. MÉTODOS QUÍMICOS

Proteína total geralmente é determinada quimicamente pelo método de Kjeldahl (A.O.A.C., 1975) para ensaios biológicos ou químicos de valor nutritivo. Parte do nitrogênio pode estar na forma não proteica (como ácidos nucleicos, carboidratos nitrogenados, alcalóides, lipídeos nitrogenados, porfirinas ou pigmentos contendo nitrogênio) (LILLEVIK, 1970) e, por via indireta ser utilizado na síntese proteica tanto quanto o nitrogênio de proteínas. Na prática, a determinação da porcentagem proteica, com certas exceções, tais como proteína unice

lular, que contém altos níveis de ácidos nucleicos, é feita através da determinação de nitrogênio e o resultado expresso como proteína bruta (nitrogênio x fator).

Uma nova fase na pesquisa de valor nutritivo de proteínas foi iniciada com os estudos realizados por ROSE (1938, 1949) que demonstraram que os sistemas vivos não têm habilidade para sintetizar alguns dos aminoácidos em quantidade suficiente para as suas necessidades. Estes aminoácidos devem ser supridos pela dieta, e foram denominados essenciais. ROSE (1939, 1949) determinou as necessidades de aminoácidos para manutenção e crescimento de ratos e do homem. A essencialidade dos aminoácidos está relacionada com o sistema vivo particular estudado e com a função medida neste sistema. As necessidades de nitrogênio para os sistemas vivos, que eram estimadas principalmente em termos de proteínas integrais puderam ser estudadas em função de sua composição em aminoácidos.

2.2.1. Chemical Score (CS)

MITCHELL & BLOCK (1946) e BLOCK & MITCHELL (1946) fizeram um extenso estudo da correlação entre composição de aminoácidos nas proteínas e seu valor nutritivo. Duas medidas são necessárias: a composição química da proteína a ser analisada e a de um padrão. A proteína de ovo integral foi escolhida como padrão, por ter um valor biológico de aproximadamente 100 para animais e para o homem. A concentração de cada aminoáci

do essencial (g/16g de nitrogênio) no alimento foi expressa como porcentagem da concentração do mesmo aminoácido em ovo integral. Desde que o aminoácido limitante determina o valor da proteína da dieta como um todo, o valor percentual mais baixo obtido era denominado índice químico da proteína do alimento.

BLOCK & MITCHELL (1946) discutiram as causas de discordância entre determinações químicas e biológicas de valor nutritivo de proteínas: se os aminoácidos não estão disponíveis para o organismo, a correlação entre composição de aminoácidos de uma proteína e seu valor nutritivo vai ser muito baixa. Nos anos seguintes, a FAO propôs outros padrões, baseados em estimativas das necessidades de aminoácidos para o homem (FAO, 1957, 1973). Estas estimativas têm uma margem de segurança, o que reflete a falta de dados mais precisos sobre necessidades nutricionais e também que há considerável variação entre grupos populacionais (HACKLER, 1977a), bem como entre indivíduos.

OSER (1951) sugeriu uma modificação no CS, pois achava mais razoável basear a classificação de proteínas em todos os aminoácidos e não somente no primeiro aminoácido limitante. OSER(1951) propôs o Essential Amino Acid Index (EAAI), com base em 11 aminoácidos. MITCHELL (1954, apud MITCHELL, 1964) modificou este índice, denominando-o Modified Essential Amino Acid Index (MEAAI). No MEAAI, arginina foi omitida por não ser essencial e tirosina e fenilalanina foram incluídas juntas no cálculo, como também metionina e cisteína.

O principal problema associado ao cálculo do CS, é que

não se leva em consideração disponibilidade de aminoácidos. A análise química de aminoácidos é feita após hidrólise ácida da proteína, que libera todos os aminoácidos presentes. Como triptofano é destruído por hidrólise ácida, hidrólise alcalina é geralmente empregada na sua determinação, sendo esta hidrólise de uso limitado, pois ocorre extensiva decomposição de outros aminoácidos (DAVIES & THOMAS, 1973).

Em alimentos aquecidos ou estocados, os aminoácidos podem formar ligações que não são hidrolisadas durante a digestão, embora o sejam por ácido. Estes aminoácidos são portanto biologicamente indisponíveis e a análise química pode dar resultados errôneos. A presença de outras substâncias, como inibidores de enzimas digestivas e fibras pode afetar o uso de determinado alimento, não sendo também detectados por este método (HACKLER, 1977a).

2.2.2. Available Lysine Value (ALV)

Lisina é um aminoácido que tem sido bastante investigado pois seu ϵ -amino grupo pode se combinar com grupos redutores, tais como os presentes em açúcares, tornando-se indisponível. O método ALV, proposto por CARPENTER (1960) é o procedimento químico mais amplamente utilizado para determinar lisina quimicamente disponível. O ALV está baseado na reação entre dinitrofluorbenzeno e o ϵ -amino grupo da lisina. Este procedimento fornece informações a respeito de alimentos proteicos

que contenham lisina como o primeiro aminoácido essencial limitante e também é útil para seguir efeitos de processamento térmico, disponibilidade deste aminoácido e qualidade final de proteínas. O método não pode ser utilizado em alimentos proteicos ricos em carboidratos (BODWELL, 1977) e portanto não é aplicável a cereais.

2.3. MÉTODOS ENZIMÁTICOS

MELNICK, OSER & WEISS (1946) fizeram um estudo sobre a taxa de digestão enzimática de proteínas e sugeriram que para uma ótima utilização de alimentos proteicos, todos os aminoácidos devem não somente ser disponíveis, mas também ser liberados durante a digestão in vivo a taxas que permitam suplementação mútua. Acreditavam que diferenças no valor nutritivo de proteínas podiam ser causadas por diferentes taxas de liberação de aminoácidos individuais no trato gastrointestinal.

A digestão enzimática in vitro tem procurado imitar a ação enzimática do sistema digestivo de mamíferos. Tem sido usada com sucesso, especialmente em produtos de leite para avaliar danos por aquecimento (MAURON, 1961, apud MAURON, 1973). A digestão é geralmente feita com pepsina seguida por pancreatina. A separação entre o material não digerido e os aminoácidos e pequenos peptídeos é feita por diálise, filtração em gel ou filtração em membrana. A determinação dos aminoácidos é

feita por coluna cromatográfica ou ensaio microbiológico.

Há uma técnica recente, muito rápida, na qual uma mistura multienzimática é adicionada à suspensão de proteínas em um pH específico e mede-se a mudança de pH após 10 minutos ; os resultados mostraram boa correlação com digestibilidade em ratos (PELLETT, 1978). Os métodos de digestão enzimática têm tido um papel importante na solução de alguns mecanismos envolvidos na digestibilidade de proteínas mas têm pouco sucesso na determinação rotineira de aminoácidos disponíveis, pois a digestão enzimática in vitro nunca é completa e é necessário o uso de um padrão (MAURON, 1973). Embora se obtenha alguns resultados promissores, eles devem ser utilizados com cautela , pois as técnicas geralmente envolvem moagem preliminar da amostra, o que pode afetar a digestibilidade (PELLETT, 1978).

2.4. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

Os testes microbiológicos são, se comparados aos testes utilizando animais, mais rápidos e baratos, além do que, um grande número de amostras pode ser testado simultaneamente. Estes testes são utilizados principalmente na determinação de qualidade proteica através do desenvolvimento de condições pelas quais o aminoácido a ser determinado é o único fator limitante no crescimento do microorganismo empregado. Em um meio basal, deficiente em um aminoácido e completo com respeito aos

outros nutrientes, o crescimento dos microorganismos é, dentro dos limites, uma função da quantidade do aminoácido ausente no meio. A resposta de crescimento pode ser seguida pela determinação da taxa de crescimento, antes do máximo de crescimento ser alcançado ou por medida do crescimento total da colônia (BENDER, 1969; LILLEVIK, 1970; HAENEL & KHARATYAN, 1973).

HALEVY & GROSSOWICZ (1953) propuseram o uso de *Streptococcus faecalis* para determinar qualidade proteica em um meio de cultura onde a proteína teste era previamente hidrolisada com pancreatina sendo o crescimento estimado fotometricamente após 20 a 24 horas de incubação a 37°C. Caseína ou uma mistura adequada de aminoácidos era utilizada como padrão e comparada com o crescimento na proteína teste. Embora *Streptococcus faecalis* necessite dos mesmos aminoácidos essenciais que o homem e animais superiores, sua necessidade por lisina é quantitativamente maior, o que pode produzir resultados incorretos a respeito do valor nutritivo de proteínas, pois lisina é limitante em muitos alimentos. Este microorganismo pode também ser usado na determinação de aminoácidos individuais disponíveis (DVORÁK, 1968).

FORD (1960, 1962) propôs o uso de *Streptococcus faecalis* var. *zymogenes*, para medir arginina, histidina, leucina, isoleucina, valina, metionina e triptofano disponíveis. Lisina não pode ser determinada pois não é essencial para este microorganismo (HAENEL & KHARATYAN, 1973). Embora *Streptococcus faecalis* var. *zymogenes* seja proteolítico, o processo de hidrô

lise é relativamente lento e o ensaio é melhorado se uma pré-digestão das amostras é feita com papaina. O crescimento dos microorganismos é medido após 48 horas de incubação, por densidade óptica ou quantidade de ácido produzido durante a incubação (BOYNE, PRICE, ROSEN & STOTT, 1964; SHORROCK & FORD, 1973).

O protozoário *Tetrahymena pyriformis* W tem sido bastante investigado como indicador de qualidade proteica em ensaios para verificar diferenças no tratamento térmico e efeito de tempo de estocagem de alimentos. Serina é essencial a este microorganismo, mas os outros aminoácidos essenciais são os mesmos necessários ao homem. Podem existir diferenças também na utilização de pequenos peptídeos (HAENEL & KHARATYAN, 1973).

A proteína a ser testada, deve ser pré-digerida com papaina, bromelina, tripsina ou enzimas pancreáticas e as amostras devem ser autoclavadas para evitar crescimento microbiano. A autoclavagem pode reduzir significativamente o valor nutritivo da proteína, devendo ser evitada ou reduzida se possível. Os ajustes de pH aumentam a força iônica do meio, o que pode afetar o crescimento (ROLLE, 1973, apud DRYDEN, KENDRICK, SCHROEDER & BLOCK, 1977). ROLLE (1973) sugeriu também que a gordura deve ser extraída dos alimentos a serem testados pois muitos ácidos graxos reduzem o crescimento deste microorganismo. LANDERS (1975, apud LANDERS & ASHTON, 1977) reconhecendo que a extração de proteínas com solventes orgânicos podia afetar a sua utilização, usou amostras não extraídas obtendo bons resultados, comparados ao PER. O tempo de incubação das cultu

ras é de 96 horas a 25°C. A principal desvantagem do uso de *Tetrahymena pyriformis* é a contagem de células, que é muito trabalhosa, consome tempo e está sujeita a erros (SHORROCK & FORD, 1973; HACKLER, 1977; EVANCHO, HURT; DELVIN, LANDERS & ASHTON, 1977).

Os detalhes experimentais dos testes microbiológicos são muito importantes, pois pequenas mudanças na composição do meio de cultura, na aeração, temperatura de incubação ou idade do inóculo podem afetar seriamente os resultados.

2.5. MÉTODOS APLICÁVEIS A SERES HUMANOS

Os métodos para avaliação de qualidade de proteína utilizando seres humanos estão baseados nos mesmos princípios aplicados aos ensaios correspondentes com animais, mas necessitam de algumas modificações para serem aplicáveis ao homem. Os principais métodos utilizam como critério crescimento ou balanço de nitrogênio, ou ainda a combinação destes parâmetros com análises bioquímicas de aminoácidos do plasma (LONGNECKER & HAUSE, 1959), nitrogênio da uréia do sangue (EGGUM, 1973) ou excreção urinária de creatinina (MURLIN, SZYMANSKI & NASSET, 1948). Uma avaliação ideal usando técnicas de balanço de nitrogênio envolve ensaios com vários níveis de ingestão de proteínas. Dificuldades técnicas e os custos associados a este tipo de estudo tornam inviável determinações em um grande número

ro de proteínas ou alimentos proteicos. A avaliação de vários parâmetros bioquímicos pode ser utilizada em estudos com seres humanos como índices potenciais de valor nutritivo de proteínas (YOUNG, RAND & SCRIMSHAW, 1977).

2.6. ENSAIOS COM INSETOS

O crescimento de larvas de *Tenebrio molitor* foi proposto em 1965 por LECLERQ & DeBAST para determinar valores nutricionais comparativos de proteínas. Tem sido mostrado (LECLERQ & LOPEZ-FRANCOS, 1964; DAVIS, 1975) que este organismo necessita dos mesmos aminoácidos que os vertebrados para o seu crescimento, e que alanina, cisteína, prolina e ácido aspártico são semi-essenciais. Para o ensaio são preparadas dietas contendo 10% de proteína, balanceadas para todos os outros nutrientes. Amostras contendo 1g de dieta são colocadas em frascos contendo uma larva e o ganho de peso, após 4 semanas, é determinado (DAVIS & SOSULSKI, 1973; DAVIS, 1974). DAVIS (1969) utilizava 10 larvas em cada dieta, ocorrendo canibalismo em algumas delas. O canibalismo não está limitado a dietas de baixa qualidade nutricional e deve ser considerado um resultado do estado fisiológico da larva usada.

Há somente uma pequena quantidade de dados sobre este ensaio, sendo difícil determinar correlação entre o crescimento de *Tenebrio molitor* e outras espécies de animais de labora-

tório. O método parece vantajoso, pois requer pequenas quantidades de amostra e um grande número de ensaios pode ser realizado simultaneamente, sendo contudo muito longo o tempo total do ensaio.

Insetos são organismos adequados à pesquisa biológica, pois apresentam muitas vantagens sobre outros animais experimentais. São facilmente coletados, grande número de insetos pode ser criado em espaço reduzido a um baixo custo de manutenção, têm um ciclo de vida curto e desenvolvem-se rapidamente (PATTON, 1963; ROMOSER, 1973). Várias espécies da ordem Díptera vêm sendo utilizadas em estudo genéticos, bacteriológicos, fisiológicos, comportamentais, ecológicos e principalmente no teste e desenvolvimento de novos inseticidas e repelentes (RICHARDSON, 1932; DORMAN, HALE & HOSKINS, 1938; TRAGER, 1947; HILL, BELL & CHADWICK, 1947; BRUST & FRAENKEL, 1955; NAGASAWA & ASANO, 1963).

2.7. CARACTERÍSTICAS GERAIS DE DIPTEROS

Este trabalho foi realizado com dípteros da família calliphoridae, pertencentes ao gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy, moscas de cor variando de bronze a púrpura, com tamanho corporal de 6 a 10 mm. A introdução destas espécies originárias da África e Australásia, no sul do Brasil, ocorreu após 1974 (GUIMARÊS, PRADO & LINHARES, 1978). IMBIRIBA, IZUTANI, MILHORETTO & LUZ (1977) descreveram

a introdução da espécie *Chrysomya chloropyga* (Wiedmann) em Curitiba, Paraná. Esta e duas outras espécies, *Chrysomya albiceps* (Wiedmann) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius) foram encontradas no Estado de São Paulo por GUIMARÃES, PRADO & LINHARES (op. cit.).

O gênero *Chrysomya* é muito importante do ponto de vista médico e sanitário, desenvolvendo-se em matéria orgânica de origem animal (carcaça e excrementos), podendo ser produtora de miíases (GREENBERG, 1971).

O crescimento de insetos ocorre de maneira descontínua, e é geralmente acompanhado por mudanças em sua forma e hábitos. Seu revestimento corporal ou tegumento é um sistema complexo com estrutura e funções diversas. O papel mais evidente do tegumento é o de sustentação que, ao contrário dos vertebrados, está localizado no exterior do corpo. Este exoesqueleto é rígido ou esclerotizado, servindo também como proteção (ROMOSER, 1973; BURSEL, 1974). O tegumento pode ser dividido em três partes básicas: uma camada celular (epiderme) e duas camadas não celulares (membrana e cutícula). A epiderme secreta a cutícula tendo maior atividade durante o processo de apó-lise. A cutícula é formada por diferentes camadas, sendo endocutícula, exocutícula e epicutícula as principais. Sua rigidez é devida à esclerotização de proteínas que ocorre após a eclosão (emergência do estágio imaturo do ovo) ou ecdise (mudança do tegumento acionada pelo hormônio da ecdise) e subsequente expansão do inseto. A periódica perda e renovação da cutí-

cula é uma solução para o problema de crescimento criado pelo tegumento pouco flexível.

Células e glândulas da epiderme estão envolvidas nos processos de apólise e ecdise. Durante a apólise, as células epidérmicas separam-se da antiga cutícula e começam a secretar uma nova. Ao mesmo tempo, estas células secretam um fluido contendo quitinase e protease, capazes de digerir a endocutícula. Exo e epicutícula são resistentes à ação deste fluido, constituindo a porção do tegumento que é perdida no processo de ecdise. Sua substituição é em parte feita a partir do material digerido da endocutícula. A sucessão de apólises e ecdises divide a vida dos insetos em diversos ínstares (ROMOSER, 1973 ; BURSEL, 1974; HINTON, 1976).

O desenvolvimento dos processos pelos quais a larva dos dípteros é transformada em adulto, através de várias mudanças, é denominado holometabolia, isto é, um tipo de metamorfose completa que compreende os estágios de ovo, larva, pupa e adulto (ROMOSER , 1973; BURSELL, 1974).

A curva de crescimento de todas as espécies de larvas de mosca tem forma sigmóide (Fig. 1) e pode ser dividida em três secções, uma fase inicial, onde a larva se ajusta à dieta, seguida por uma fase exponencial ou logarítmica, onde ocorre um crescimento extremamente rápido e finalmente uma fase estacionária, na qual a larva já alcançou seu tamanho adequado, ditado por sua constituição genética (LEVOT, BROWN & SHIPP, 1979).

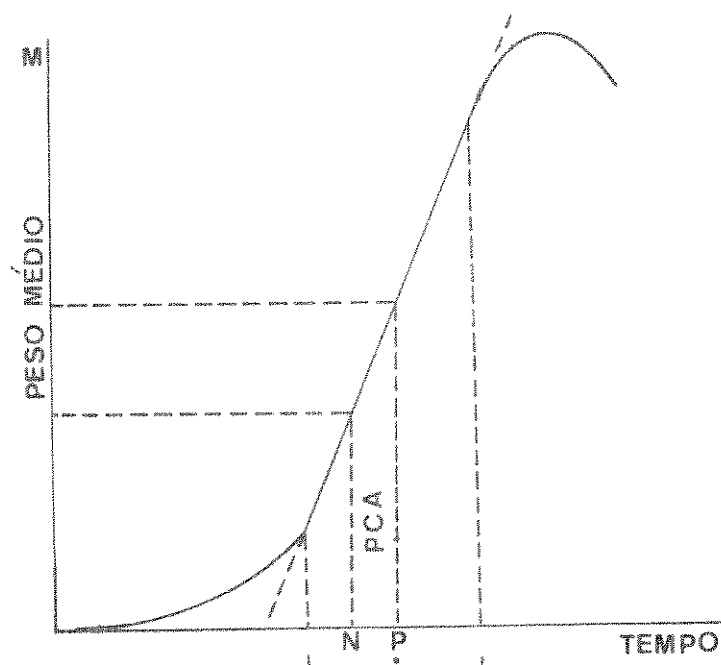


Fig. 1. Curva geral de crescimento de larvas. M : peso larval máximo; N e P : início e fim do período crítico de ali mentação; * período de crescimento mais rápido (Fonte: LEVOT, BROWN & SHIPP, 1979).

A eficiência de alimentação, metabolismo e assimilação, reflete-se no aumento de peso durante o período de crescimen- to. O período crítico de alimentação se inicia no tempo míni- mo necessário para que a primeira pupa viável se forme e termi- na quando o número máximo de pupas viáveis é formado (LEVOT , BROWN & SHIPP, 1979).

2.7.1. Características dos Diversos Estágios

O ovo é, biologicamente, a fase pós-fecundação até a

primeira divisão, quando se inicia a fase embrionária. Os ovos são postos em grupos de 100 a 300, a intervalos de 3 a 4 dias, após a segunda semana de vida da fêmea. Têm cor branca e forma cilíndrico alongada, medindo aproximadamente 1mm.

O estágio larval é a primeira fase pós-embrionária. As larvas se alimentam em grupos, sendo o local de alimentação ocupado por um grande número de larvas. A alimentação e a locomoção continuam ininterruptamente, exceto por períodos momentâneos até que as larvas deixem a dieta preparando-se para pupariar (HILL, BEL & CHADWICK, 1947; BROOKES & FRAENKEL, 1958).

O estágio pupal é aparentemente inativo, pois a pupa não se alimenta nem se locomove. Neste estágio processa-se a histólise e a histogênese, isto é, a dissolução e reconstrução dos tecidos, causando completa transformação nos hábitos e aspectos externo do inseto. O pupário é ovóide e a eclosão se dá por uma abertura circular em uma de suas extremidades.

2.7.2. Dietas Artificiais

O uso de dietas artificiais para a criação de insetos, foi desenvolvido a partir de 1950, pois para vários experimentos em laboratório precisava-se manter estoques regulares e uniformes, sob condições constantes, para comparar e reproduzir resultados e, também para evitar mau cheiro e outras características indesejáveis associadas à carne em decomposição. A literatura sobre dietas artificiais é volumosa e o tipo de die

ta proposto bastante variado: desde dietas compostas por alimentos naturais (oligídicas), dietas não completamente definidas (merídicas), até às quimicamente definidas (holídicas) (PATTON, 1963; SINGH, 1977). As dietas holídicas são caras e geralmente técnicas assépticas (cultura axênica) são necessárias para o seu uso (SINGH, 1977).

A técnica mais comum para obter formulações artificiais ainda é o teste de alimentação, que envolve o uso de dietas nas quais uma substância específica é adicionada ou omitida, ou ainda na qual varia-se a quantidade de determinado nutriente (HOUSE, 1974).

2.7.3. Necessidades Nutricionais da Larva

Os princípios de nutrição de insetos são essencialmente os mesmos da nutrição animal, pois a maioria dos insetos e animais superiores necessita dos mesmos nutrientes essenciais. Ambos retiram estes nutrientes do meio ambiente para os mesmos objetivos - crescimento e manutenção dos processos metabólicos normais. Devido às características próprias de cada espécie, o total ingerido e as proporções dos vários nutrientes essenciais variam quantitativamente (PATTON, 1963; HOUSE, 1974).

Não há nenhuma evidência de que a seletividade de algumas espécies de mosca em ovipor num determinado tipo de matéria orgânica esteja ligada às necessidades nutricionais desta espécie. Portanto, a maioria dos dípteros pode ser criada em

laboratório em dietas semelhantes (SPILLER, 1964).

Há muito tem sido sugerido que os dípteros ingerem seu alimento em solução, sendo o processo digestivo externo, resultante de enzimas excretadas no meio (WOLLMAN, 1922; HOBSON, 1931). Há evidências de que a liquefação do meio ocorre durante a alimentação da larva, o que pode ser observado pela mudança de viscosidade do mesmo. Por outro lado, observações do conteúdo intestinal in vivo não sugerem que somente soluções sejam ingeridas. O alimento no trato digestivo tem a mesma aparência (cor e consistência) do meio circundante na larva alimentada em dieta holídica ou em sua dieta natural. A presença de colesterol livre, uma substância insolúvel, também sugere que partículas sólidas são ingeridas (BROOKES & FRAENKEL, 1958).

2.7.3.1. Carboidratos

Os carboidratos em geral, não são necessários ao desenvolvimento de larvas de mosca e, em alguns casos inibem seu crescimento (BROOKES & FRAENKEL, 1958; SPILLER, 1964; BRUST & FRAENKEL, 1955; LEVINSON & BERGMANN, 1957; MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN, 1956).

Para *Musca domestica* e *Phormia regina*, BROOKES & FRAENKEL (1958) e MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN (1956) encontraram que os polissacarídeos amido e glicogênio têm um efeito inibidor muito pequeno, relacionado à quantidade de proteí-

na da dieta: a inibição é mais pronunciada em dietas contendo menor quantidade de proteína. Segundo BRUST & FRAENKEL (1955), em experimentos com *Phormia regina*, o efeito inibidor do amido não pode ser atribuído somente ao seu papel como nutriente, pois ele torna a dieta pastosa, devido à sua gelificação, impedindo a gelificação normal do agar.

Soluções de glicose e sacarose causam inibição moderada do crescimento (BROOKES & FRAENKEL, 1958). Frutose, ribose e rafinose têm efeito inibidor maior do que glicose e sacarose (BROOKES & FRAENKEL, 1958; SPILLER, 1964). Lactose não foi testada (BROOKES & FRAENKEL, 1958).

2.7.3.2. Lipídios

Os insetos diferem dos vertebrados em suas necessidades por lipídios. O único fator lipossolúvel necessário às espécies até agora estudadas é o colesterol, que os animais superiores sintetizam (HOUSE, 1974; TRAGER, 1947; SPILLER, 1964; SILVERMAN & LEVINSON, 1954; LEVINSON & BERGMANN, 1957; HOBSON, 1935; BRUST & FRAENKEL, 1955; BROOKES & FRAENKEL, 1958). O colesterol pode ser substituído por outros esteróis (TRAGER, 1947; SILVERMAN & LEVINSON, 1954) tais como stigmasterol e sitosterol, de plantas, ou ergosterol, de levedura (SPILLER, 1964).

A função dos esteróis na nutrição de dípteros é ainda controvertida. Parece estar relacionado à síntese e ao trans-

porte de proteínas (SPILLER, 1964), agindo ainda como promotor de crescimento larval, da ovogênese e na formação do pupário (SILVERMAN & LEVINSON, 1954; LEVINSON & BERGMANN, 1957; PATTON, 1963). Aumenta também a resistência da larva às infecções bacterianas (HOBSON, 1935).

2.7.3.3. Proteínas

Apesar de concordarem que os aminoácidos essenciais são provavelmente os mesmos para insetos e vertebrados (TRAGER, 1947; HAYS & AMERSON, 1966; MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN, 1956; SEDEE, 1954) poucos autores fizeram experimentos para determinar as necessidades de larvas de mosca para estes nutrientes. SEDEE (1954) e MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN, (1956) determinaram as necessidades qualitativas, em *Calliphora erythrocephala* e *Phormia regina*, respectivamente. Nove dos dez aminoácidos considerados essenciais são iguais para as duas espécies: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina. Para *C. erythrocephala*, o décimo aminoácido essencial é metionina, enquanto que para *P. regina* é prolina. Estes aminoácidos são essenciais para o crescimento da larva, e se qualquer um deles é omitido na dieta, as larvas morrem logo após a eclosão dos ovos (MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN, 1956).

O valor biológico de proteínas de diferentes origens é desconhecido (SPILLER, 1964). Na maioria das dietas holídicas

e merídicas a fonte proteica é caseína (ou leite em pó que a contem). SPILLER (1964) e BRUST & FRAENKEL (1955) tentaram a substituição de caseína por um hidrolisado enzimático da mesma o que causou a morte das larvas nos primeiros estágios de desenvolvimento, sugerindo a ausência de algum peptídeo essencial ou então a produção de algum componente tóxico no hidrolisado.

Segundo BROOKES & FRAENKEL (1958), as deficiências das formulações holídicas e merídicas são devidas a um balanço inadequado de nutrientes ou então às propriedades físicas da dieta. Com exceção de aminoácidos, estes autores testaram todos os nutrientes, em vários níveis, incluindo-os em suas formulações, em quantidades superiores às necessidades mínimas dos mesmos.

2.7.3.4. Vitaminas

Seis vitaminas do grupo B são essenciais ao crescimento (HOUSE & BARLOW, 1958; BRUST & FRAENKEL, 1955; BROOKES & FRAENKEL, 1958; MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN, 1956; SEDEE, 1953 e 1954; PATTON, 1963): tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, ácido pantotênico e biotina. Quando não estão presentes na dieta, impedem o crescimento, causando alta mortalidade nos primeiros estágios de desenvolvimento. Seu excesso não causa efeitos adversos (BROOKES & FRAENKEL, 1958; BRUST & FRAENKEL, 1955; SEDEE, 1953). O ácido fólico é neces-

sário se a dieta é deficiente em purina ou pirimidina (BROOKES & FRAENKEL, 1958). A necessidade por colina foi apontada (HOUSE & BARLOW, 1958; MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN, 1956; SEDEE, 1954; HODGSON, DAUTERMAN, MEHENDALE, SMITH & KHAN, 1969) mas não confirmada (BRUST & FRAENKEL, 1955; BROOKES & FRAENKEL, 1958). Biotina e ácido fólico, estão provavelmente presentes como impurezas nas dietas, sendo difícil quantificá-las ou determinar as necessidades (BRUST & FRAENKEL, 1955).

2.7.3.5. Água

As necessidades estritamente nutricionais são provavelmente pequenas e facilmente obtidas nas dietas (SPILLER, 1964). A quantidade de água que deve estar presente na dieta, no en tanto, é de extrema importância (BRUST & FRAENKEL, 1955; SHIPP & OSBORN, 1967; SPILLER, 1964): se a dieta contém muito pouca água, torna-se extremamente dura e, por isto indisponível para a larva. No outro extremo, quando há excesso, forma-se uma camada espessa de água e agar, que constitui uma barreira en tre a larva e os nutrientes da dieta, retardando o seu crescimento. A dieta deve conter, no mínimo, 60% de água (BRUST & FRAENKEL, 1955).

2.7.3.6. Sais Minerais

Não foram feitos estudos sobre as necessidades de sais

minerais individuais e nem de suas quantidades. Por falta de maiores informações, misturas de sais são adicionadas às dietas de larvas empiricamente (PATTON, 1963). BRUST & FRAENKEL (1955) utilizaram a mistura de sais McCOLLUM DAVIS nº 185 (1918); variaram a quantidade desta mistura na dieta, para encontrar o nível mais adequado, que era de 0,21% do peso da mesma. Observaram que quantidades muito menores do que esta tornavam o crescimento irregular.

2.7.3.7. Ácidos Nucleicos

As necessidades por ácidos nucleicos e purina, para larvas de mosca, foram examinadas em dois trabalhos (com larvas de *M. domestica* e *P. regina*) e os resultados são contraditórios. BRUST & FRAENKEL (1955), concluíram que a presença destas substâncias não afeta o crescimento de larvas de *P. regina* mas impede a eclosão dos adultos. BROOKES & FRAENKEL (1958), demonstraram a necessidade de ácido ribonucleico e das bases adenina, guanina e uracil para as larvas de *M. domestica*, sem as quais, o crescimento é consideravelmente retardado e não emergem adultos dos pupários.

2.7.3.8. Microorganismos

Na maioria das dietas holídicas, o crescimento é mais vagaroso e os adultos são menores do que em dietas merídicas

(BROOKES & FRAENKEL, 1958; CHANG & WANG, 1958; HOUSE & BARLOW, 1958). Provavelmente isto é devido a excesso de água ou ventilação inadequada das dietas (SPILLER, 1964). Pode ser também um efeito de temperatura: como nestas dietas usa-se um número pequeno de larvas, há menor calor metabólico, o qual pode aumentar, em massas padrão de cultura até 12°C acima da temperatura ambiente (SPILLER, 1964).

Para a maioria dos objetivos, criar larvas em dieta axênica é uma preocupação desnecessária e, aparecem dificuldades quando um grande número de insetos é necessário continuamente, por longos períodos (DORMAN, HALE & HOSKINS, 1938).

A flora predominante em carcaça é de bacilos aeróbicos não proteolíticos (HOBSON, 1932). As larvas não dependem necessariamente da presença destes organismos na dieta (MICHELbacher, HOSKINS & HERMS, 1932; HOBSON, 1932; BRUST & FRAENKEL, 1955). A principal contribuição de bactérias seria a possível síntese de algumas vitaminas (BRUST & FRAENKEL, 1955).

2.7.4. Necessidades Nutricionais de Adultos

Não há dificuldade na manutenção de adultos em labora-
tório. Pode-se manter a vida adequadamente com glicose ou ou
tros açúcares e água. Várias populações apresentam fêmeas com
ovários não desenvolvidos logo após a emergência, as quais ne
cessitam de uma dieta proteica para o desenvolvimento dos ovos
(HILL, BELL & CHADWICK, 1947; HAMMEN, 1956; BRUST & FRAENKEL,

1955; DORMAN, HALE & HOSKINS, 1938; MACKERRAS, 1933; MCGINNIS, NEWBURGH & CHELDELIN, 1956; RASSO & FRAENKEL, 1954; SPILLER, 1964). Este tipo de comportamento, é denominado anautógeno , em contraste com o comportamento autógeno de algumas populações, nas quais as fêmeas não necessitam de proteína para a primeira oviposição, após a emergência (SPIELMAN, 1971; BAXTER, MJENI & MORRISON, 1973; SPRADBERRY, TSCHWEIZER, 1979). Leite em pó ou fígado são fontes proteicas comumente utilizadas. Não é necessário nenhum suprimento de vitaminas do complexo B, pois as necessidades por estas vitaminas são provavelmente obtidas parcialmente pela flora intestinal e/ou da reserva armazenada quando do estágio larval (SPILLER, 1964; RASSO & FRAENKEL, 1954).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

Leite em pó integral (Nestlé), fermento biológico (Fleischmann) caseína técnica (Difco), caseína comercial (Taccrigy) e ovo integral foram utilizados como fontes proteicas neste trabalho, como também cereais integrais (arroz de variedade IAC-20, milho da variedade Normal e trigo da variedade Jupateco) e leguminosas (feijão Rosinha G-2 e soja desengordurada variedade Santa Rosa).

Ovo integral foi congelado e liofilizado (liofilizador Virtis, 1955) por 48 horas, moído, passado por peneira de 100 mesh e autoclavado à 121°C por 10 min.

Os grãos dos cereais foram inicialmente selecionados e então moídos e passados por peneira de 100 mesh.

As amostras de leguminosas foram obtidas já moídas. Metade das mesmas foi autoclavada à 121°C por 10 min.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. ANÁLISES QUÍMICAS

3.2.1.1. PROTEÍNA

O teor de proteína bruta ($N \times 6.25$) dos produtos em pregados (Tabela 1), assim como das dietas prontas (Tabela 2), foi determinado pelo método micro Kjeldahl (A.O.A.C., 1975). A porcentagem de proteína foi obtida multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio total pelo fator 6,25 (A.O.A.C., 1975).

3.2.1.2. METIONINA

Utilizou-se o método colorimétrico de LUNDER (1973) para determinar a quantidade de metionina em caseína e nas farinhas de feijão e soja. O método baseia-se na reação de metionina com nitroprussiato de sódio, em meio ácido e determinação colorimétrica a um comprimento de onda de 520 nm (colorímetro Bauch & Lomb Spectronic 20).

As amostras foram inicialmente hidrolisadas com ácido clorídrico 20% a 100°C por 20 horas. O hidrolisado foi filtrado em presença de carvão ativado e a reação feita com ácido fosfórico.

Os teores de metionina das amostras analisadas (Tabela 3) foram determinados utilizando-se curva padrão (Fig. 2) com concentrações crescentes de metionina, de 0,0 a 2,0 mg/ml.

TABELA 1. Conteúdo de proteína bruta dos produtos utilizados nos ensaios (N x 6.25).

PRODUTO	% de PROTEÍNA
Leite em pó	24,4
Levedura	36,8
Caseína comercial	86,8
Caseína técnica	82,9
Farinha de feijão	24,4
Farinha de soja	44,8
Farinha de arroz	9,9
Farinha de milho	11,7
Farinha de trigo	15,1
Ovo integral liofilizado	48,8

TABELA 2. Conteúdo de proteína bruta das diferentes dietas nos ensaios (N x 6.25).

DIETA	% DE PROTEÍNA	DIETA	% DE PROTEÍNA
2% de leite	2,1	4% de feijão	4,6
4% de leite	4,3	4% de feijão + MET	4,4
6% de leite	6,4	6% de soja	6,4
2% de leite + levedura	2,3	6% de soja + MET	6,5
4% de leite + levedura	4,5	4% de soja	4,1
6% de leite + levedura	6,8	4% de soja + MET	4,3
2% de caseína	2,5	2% de arroz	2,3
4% de caseína	4,1	2% de arroz + LIS + TRE	2,4
6% de caseína	6,3	2% de trigo	2,5
8% de caseína	8,1	2% de trigo + LIS	2,3
10% de caseína	10,3	2% de milho	2,1
2% de caseína + levedura	2,2	2% de milho + LIS	2,4
4% de caseína + levedura	4,2	2% de arroz + feijão	2,2
6% de caseína + levedura	6,6	2% de milho + soja	2,5
8% de caseína + levedura	8,4	2% de trigo + soja	2,3
10% de caseína + levedura	10,7	2% de ovo integral	2,6
2% de caseína + RNA	2,4	4% de ovo integral	4,3
4% de caseína + RNA	4,1	6% de ovo integral	6,0
6% de caseína + RNA	6,8	8% de ovo integral	8,6
8% de caseína + RNA	8,3	10% de ovo integral	10,2
10% de caseína + RNA	10,5		

MET - L-METIONINA

LIS - L-LISINA

TRE - D,L-TREONINA

TABELA 3. Teores de metionina das amostras de feijão, soja e caseína.

AMOSTRA	Abs (520 nm)	mg MET/g N	FAO (1970)
feijão	0,115	81,84	66
soja	0,183	72,63	79
caseína	0,680	136,89	178

ABSORVÂNCIA (523 nm)

0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0

0,5

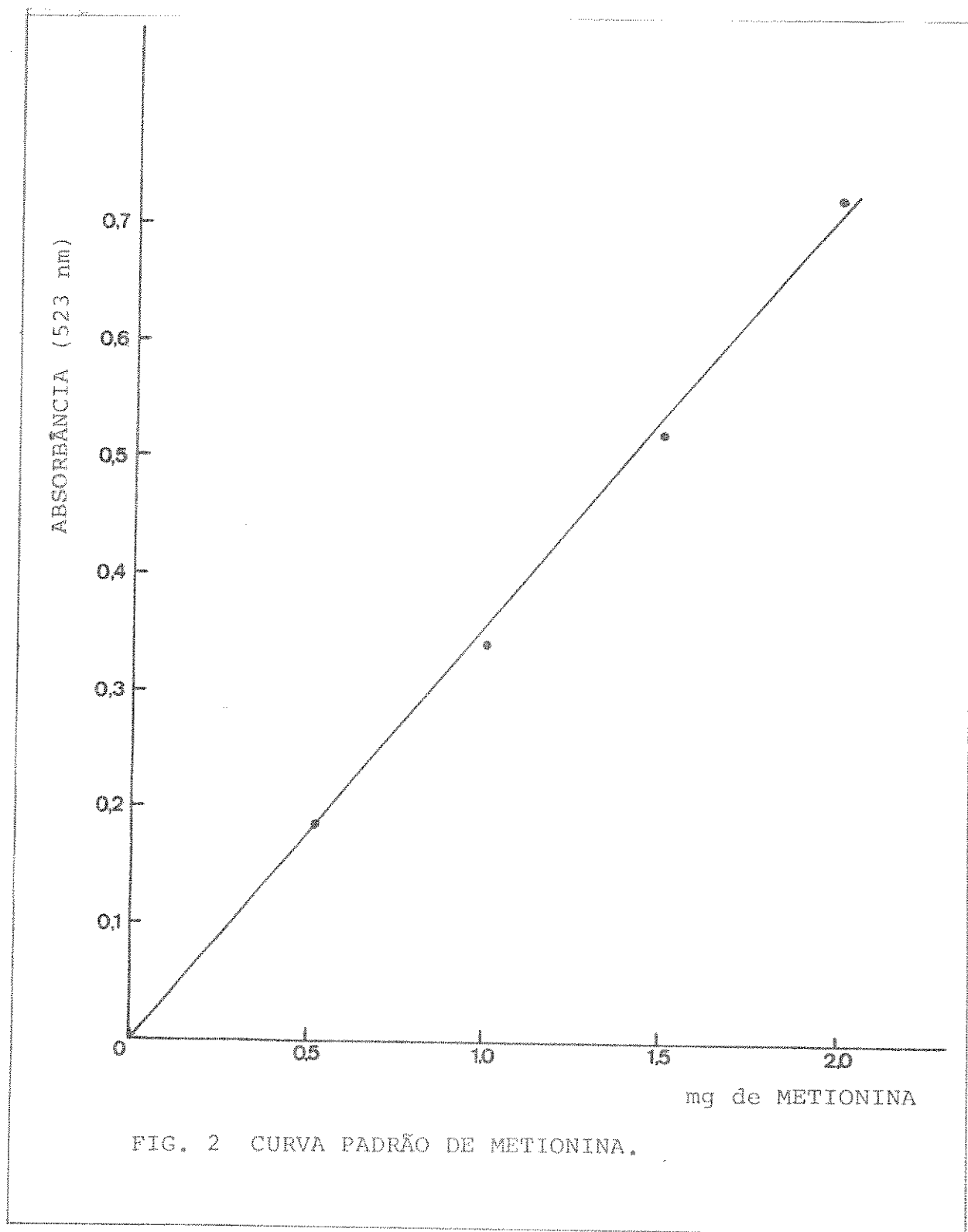
1,0

1,5

2,0

mg de METIONINA

FIG. 2 CURVA PADRÃO DE METIONINA.



3.2.2. FORMULAÇÃO

Na formulação das dietas, as concentrações de todos os componentes, exceto proteína, água e agar foram mantidas cons tantes.

Onze diferentes grupos de dietas foram utilizados nes te estudo e a composição das mesmas está esboçada nas Tabelas 4 a 13.

A formulação das dietas foi baseada em BRUST E FRAENKEL (1955) e BROOKES & FRAENKEL (1958), modificadas do seguinte mo do:

- a) Foi modificada a concentração e a fonte proteica.
- b) A quantidade de água e agar foi modificada em função da concentração de proteína utilizada.
- c) Em algumas das dietas foi adicionada mais de uma fonte pro teica e/ou aminoácidos.

A composição da solução de vitaminas e sais minerais empregadas nas dietas (Tabelas 14 e 15) está baseada em BRUST & FRAENKEL (1955) e McCOLLUM & DAVIS (1918) (apud BRUST & FRAENKEL , 1955).

3.2.2.1. PREPARO DAS DIETAS

O volume adequado de água destilada é colocado em um becker e aquecido até próximo à ebulição, quando então o agar é adicionado. A mistura água-agar é aquecida tempo suficiente para dissolver o agar. Os outros componentes, previamente pe

TABELA 4. Composição das dietas de leite em pó utilizadas no ensaio para verificar o efeito de concentração proteica.

compo- sição	% de pro- teína	2	4	6	8	10
LEITE EM PÓ	(g)	8,20	16,41	24,61	32,81	41,02
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
FUNGICIDA*	(g)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
SOLUÇÃO DE VI						
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
AGAR	(g)	1,00	0,90	0,81	0,72	0,63
ÁGUA	(ml)	87,43	79,32	71,21	63,10	54,98
TOTAL	(g)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

* Nipagin

TABELA 5. Composição das dietas de leite em pó e levedura utilizadas no ensaio para verificar o efeito de concentração proteica.

% de proteína composição		2	4	6	8	10
LEITE EM PÓ	(g)	3,53	7,06	10,54	14,07	17,60
LEVEDURA	(g)	3,10	6,20	9,33	12,44	15,54
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
FUNGICIDA	(g)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
SOLUÇÃO DE VITAMINAS						
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
AGAR	(g)	1,01	0,94	0,86	0,79	0,72
ÁGUA	(ml)	88,99	82,43	75,90	69,33	62,77
TOTAL	(g)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

TABELA 6. Composição das dietas de caseína utilizadas no en
saio para verificar o efeito de concentração proteii
ca.

% de pro- teína compo sição		2	4	6	8	10
CASEÍNA	(g)	2,30	4,61	6,92	9,22	11,53
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
FUNGICIDA	(g)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
SOLUÇÃO DE VI						
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
AGAR	(g)	1,06	1,04	1,01	0,98	0,96
ÁGUA	(ml)	93,27	90,98	88,70	86,43	84,14
TOTAL	(g)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

TABELA 7. Composição das dietas de caseína e levedura utilizadas no ensaio para verificar o efeito de concentração proteica.

% de proteína compo- sição		2	4	6	8	10
CASEÍNA	(g)	0,99	1,98	2,96	3,95	4,94
LEVEDURA	(g)	3,10	6,20	9,33	12,44	15,54
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
FUNGICIDA	(g)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
SOLUÇÃO DE VI						
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
AGAR	(g)	1,04	1,00	0,95	0,90	0,86
ÁGUA	(ml)	91,50	87,45	83,39	79,34	75,29
TOTAL	(g)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

TABELA 8. Composição das dietas de caseína e ácido ribonucleiico utilizadas no ensaio para verificar o efeito de concentração proteica.

% de proteína compo sição		2	4	6	8	10
CASEÍNA	(g)	2,30	4,61	6,92	9,22	11,53
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
FUNGICIDA	(g)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
RNA	(g)	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
SOLUÇÃO DE VI						
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
SOLUÇÃO DE BA						
SES NITROGENA						
DAS	(ml)	12,30	12,30	12,30	12,30	12,30
AGAR	(g)	0,92	0,89	0,87	0,84	0,82
ÁGUA	(ml)	80,60	78,32	76,03	73,76	71,47
TOTAL	(g)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

TABELA 9. Composição das dietas de feijão e soja utilizadas no ensaio para verificar o efeito do tratamento térmico e suplementação com metionina.

compo- sição.	proteínas	4% FEIJÃO	4% FEIJÃO + L-MET.	4% SOJA	4% SOJA + L-MET	6% SOJA	6% SOJA + L-MET
		16,37	16,37	8,94	8,94	13,41	13,41
FARINHA (g)	(g)	16,37	16,37	8,94	8,94	13,41	13,41
COLESTEROL (g)	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
MISTURA DE SAIS (g)	(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
FUNGICIDA (g)	(g)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
RNA (g)	(g)	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
SOLUÇÃO DE VI							
TAMINAS (ml)	(ml)	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
SOLUÇÃO DE BA							
SES NITROGENA							
DAS (ml)	(ml)	12,30	12,30	12,30	12,30	12,30	12,30
AGAR (g)	(g)	0,76	0,76	0,84	0,84	0,79	0,79
ÁGUA (ml)	(ml)	66,69	66,66	74,04	74,04	69,62	69,56
L-METIONINA (g)	(g)	-----	0,0353	-----	0,0411	-----	0,0617
TOTAL (g)	(g)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

TABELA 10. Composição das dietas de arroz utilizadas no ensaio para verificar os efeitos de complementação com feijão e suplementação com lisina e treonina.

compo- sição	proteínas 2%	ARROZ + FEIJÃO			ARROZ + 0,2% L-LIS + 0,2% DL-TRE	
		ARROZ			ARROZ	0,2% DL-TRE
ARROZ	(g)	20,12	12,07		20,12	
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21		0,21	
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21		0,21	
FUNGICIDA	(g)	0,35	0,35		0,35	
RNA	(g)	0,51	0,51		0,51	
SOLUÇÃO DE VI						
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60		2,60	
SOLUÇÃO DE BA						
SES NITROGENA						
DAS	(ml)	12,30	12,30		12,30	
AGAR	(g)	0,72	0,77		0,71	
ÁGUA	(ml)	62,98	67,71		62,59	
L-LISINA	(g)	-----	-----		0,20	
DL-TREONINA	(g)	-----	-----		0,20	
FEIJÃO	(g)	-----	3,27		-----	
TOTAL	(g)	100,00	100,00		100,00	

TABELA 11. Composição das dietas de milho utilizadas no ensaio para verificar os efeitos de complementação com soja e suplementação com lisina.

compo- sição	proteínas 2%		MILHO	MILHO + SOJA	MILHO + 0,2% L-LIS
MILHO	(g)	17,11	10,26	17,11	
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21	0,21	
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21	0,21	
FUNGICIDA	(g)	0,35	0,35	0,35	
RNA	(g)	0,51	0,51	0,51	
SOLUÇÃO DE VI					
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60	2,60	
SOLUÇÃO DE BA					
SES NITROGENA					
DAS	(ml)	12,30	12,30	12,30	
ACAR	(g)	0,75	0,75	0,75	
ÁGUA	(ml)	65,96	65,76	70,96	
L-LISINA	(g)	-----	-----	0,20	
SOJA		-----	1,79	-----	
TOTAL	(g)	100,00	100,00	100,00	100,00

TABELA 12. Composição das dietas de trigo utilizadas no ensaio para verificar os efeitos de complementação com soja e suplementação com lisina.

compo- sição	proteínas 2%			
		TRIGO	TRIGO + SOJA	TRIGO + 0,1% L-LIS
TRIGO	(g)	13,22	7,27	13,22
COLESTEROL	(g)	0,21	0,21	0,21
MISTURA DE SAIS	(g)	0,21	0,21	0,21
FUNGICIDA	(g)	0,35	0,35	0,35
RNA	(g)	0,51	0,51	0,51
SOLUÇÃO DE VI				
TAMINAS	(ml)	2,60	2,60	2,60
SOLUÇÃO DE BA				
SES NITROGENA				
DAS	(ml)	12,30	12,30	12,30
AGAR	(g)	0,80	0,84	0,80
ÁGUA	(ml)	69,80	73,70	69,70
L-LISINA	(g)	-----	-----	0,10
SOJA	(g)	-----	2,01	-----
TOTAL	(g)	100,00	100,00	100,00

TABELA 13. Composição das dietas de ovo integral utilizadas no ensaio para verificar o efeito de concentração proteica.

compo- sição	% de proteí- na	2					4			6			8			10		
OVO INTEGRAL (g)		4,10					8,20			12,31			16,41			20,51		
COLESTEROL (g)		0,21					0,21			0,21			0,21			0,21		
MISTURA DE SAIS (g)		0,21					0,21			0,21			0,21			0,21		
FUNGICIDA (g)		0,35					0,35			0,35			0,35			0,35		
SOLUÇÃO DE VI																		
TAMINAS (ml)		2,60					2,60			2,60			2,60			2,60		
AGAR (g)		1,04					1,00			0,95			0,90			0,86		
ÁGUA (ml)		91,49					87,43			83,37			79,32			75,26		
TOTAL (g)		100,00					100,00			100,00			100,00			100,00		

TABELA 14. Composição da solução de vitaminas¹ utilizada nas dietas.

COMPONENTE	QUANTIDADE (gramas)
Tiamina	0,0530
Riboflavina	0,0268
Ácido nicotínico	0,1060
Hidrocloreto de piridoxina	0,0266
Pantotenato de cálcio	0,0530
Ácido fólico	0,0054
Cloreto de colina	0,0706
Água até completar	100,00 ml

1 Conforme Brust & Fraenkel (1955).

TABELA 15. Componentes da mistura de sais¹ utilizada nas dietas

COMPONENTE	QUANTIDADE (gramas)
Lactato de cálcio . 5 H ₂ O	35,2
Bifosfato de cálcio . 1 H ₂ O	14,6
Fosfato de potássio (mono)	25,8
Fosfato de sódio (mono)	9,4
Cloreto de sódio	4,8
Sulfato de magnésio anidro	7,2
Citrato férrico	3,2

1 Segundo McCollum & Davis (1918), apud BRUST & FRAENKEL (1959)

sados, são então adicionados e o conteúdo do becker é transferido para um liquidificador, onde a dieta é homogenizada por 2 a 3 min. Aproximadamente, 50g de dieta são colocados nos respectivos frascos (7,0 x 6,0 cm), que são levados ao congelador, até atingir uma temperatura de aproximadamente 4°C e são então transferidos para geladeira até sua utilização. Nas dietas em que se usou levedura, esta foi dissolvida à parte, com metade de água total utilizada na dieta.

3.2.3. MÉTODOS DE CULTURA

As populações de *Chrysomya chloropyga*, *Chrysomya mega-cephala* e *Chrysomya albiceps* usadas neste trabalho, foram obtidas no laboratório de Entomologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

3.2.3.1. SALA DE CRIAÇÃO

Os adultos foram mantidos em sala com temperatura controlada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), dentro de gaiolas trapezoidais com as dimensões 34x20x26x50 cm. A umidade relativa era aproximadamente 80% e o fotoperíodo de 12 horas.

3.2.3.2. PROCEDIMENTO PARA A OBTENÇÃO DE ADULTOS

O estoque de adultos foi mantido por coleta semanal de ovos, feita em carcaça de camundongo. Após a coleta, a carcaça e os ovos eram removidos para frascos de vidro contendo uma camada de areia recoberta com papel absorvente para evitar excesso de umidade. Mais carcaça era adicionada aos frascos para assegurar que o alimento não era fator limitante no desenvolvimento das larvas. Os frascos eram então recobertos com um tecido fino, preso por meio de elástico para evitar a saída das larvas e a entrada de outros insetos.

Um modo alternativo para a obtenção de adultos, era retirar os ovos da carcaça, após a coleta e colocá-los em uma dieta de leite e levedura (100g de leite em pó integral, 100g de fermento biológico, 4,25g de fungicida, 20g de agar em 1 litro de água destilada) proposta por STOFFOLANO (1974).

À medida que as larvas deixavam o alimento, preparando-se para pupariar, eram removidas para outro frasco, contendo areia seca. Após a eclosão dos adultos, estes eram transferidos para gaiolas.

A alimentação dos adultos consistia de uma mistura de leite em pó integral e açúcar em partes iguais e aproximadamente 10% de levedura. Água era fornecida em frascos separados, contendo uma tira de gaze na borda para facilitar o seu consumo.

3.2.3.3 MANUSEIO DOS OVOS PARA OS ENSAIOS

Após a coleta, os ovos eram retirados da carcaça com o auxílio de pinça e pincel, lavados com água destilada e colocados em pequenas placas de Petri forradas com papel de filtro úmido. As placas eram então colocadas em estufa de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ até a eclosão dos ovos. O tempo de eclosão dos ovos foi determinado em todos os experimentos.

3.2.4 ENSAIOS

Logo após a eclosão dos ovos, 30 larvas eram pesadas em balança analítica (Sartorius, 2463) e as restantes distribuídas em grupos de 200 a 300 nos frascos contendo aproximadamente 50g de dieta. Os frascos eram então colocados em estufa a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ onde eram mantidos durante todo o experimento. A intervalos de aproximadamente 8 horas, 10 larvas de cada dieta eram retiradas, com o auxílio de pinça, lavadas com água destilada, secas com papel absorvente e pesadas em balança analítica. Somente larvas vivas eram pesadas. As pesagens em cada ensaio eram feitas até aproximadamente 125 horas. Em todos os ensaios, uma parte das larvas era colocada em carcaça, e o peso destas larvas determinado como explicado anteriormente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum dos ensaios até agora proposto para avaliar qualidade de proteínas é totalmente satisfatório. Os métodos biológicos, mais utilizados, são muito demorados, consomem grande quantidade de material e necessitam da criação e manutenção de animais, o que aumenta o custo geral dos ensaios e limita o número de amostras a serem avaliadas. Nos métodos quíímicos, mais rápidos, um fator importante na avaliação (digestibilidade de proteínas) não é considerado, o que limita seu uso. Os ensaios microbiológicos constituem-se em técnicas sofisticadas para uso rotineiro e, como são relativamente recentes, necessitam de maiores estudos.

As larvas de mosca apresentam várias características favavoráveis, para uma possível utilização em ensaios de avaliação de qualidade de proteínas: têm necessidade por aminoácidos semelhantes às dos animais de laboratório e do homem (Tabela 16), rápido desenvolvimento (Tabela 17), baixo custo de manutenção e tamanho adequado, o que facilita o manuseio e permite análises químicas na carcaça.

A espécie *Chrysomya chloropyga* foi escolhida para este estudo, por ter comportamento semelhante na sua dieta natural (carcaça) e na dieta de leite e levedura, alcançando, após 75 horas 79% do peso das larvas em carcaça (Figura 3). Outras duas espécies da mesma família (*Chrysomya albiceps* e *Chrysomya*

TABELA 16. Comparação dos aminoácidos essenciais para o homem, rato e 3 espécies de larvas de dípteros.

Aminoácidos	homem ₁	rato ₂	<i>P.regina</i> ₃	<i>C.erythrocephala</i> ₄	<i>M.domes-tica</i> ₅
alanina	-	-	-	-	-
arginina	-	+	+	+	+
ácido aspartico	-	-	-	-	-
cisteina	-	-	-	-	-
ácido glutâmico	-	-	-	-	-
glicina	-	-	-	-	-
histidina	+	+	+	+	+
isoleucina	+	+	+	+	+
leucina	+	+	+	+	+
lisina	+	+	+	+	+
metionina	+	+	-	+	+
fenilalanina	+	+	+	+	+
prolina	-	-	±	-	-
treonina	+	+	+	+	+
triptofano	+	+	±	+	+
tirosina	-	-	-	-	-
valina	+	+	+	+	+
serina	-	-	-	-	-

+ essencial

- não essencial

± duvidoso

1 FAO/OMS (1975)

2 ROSE (1938)

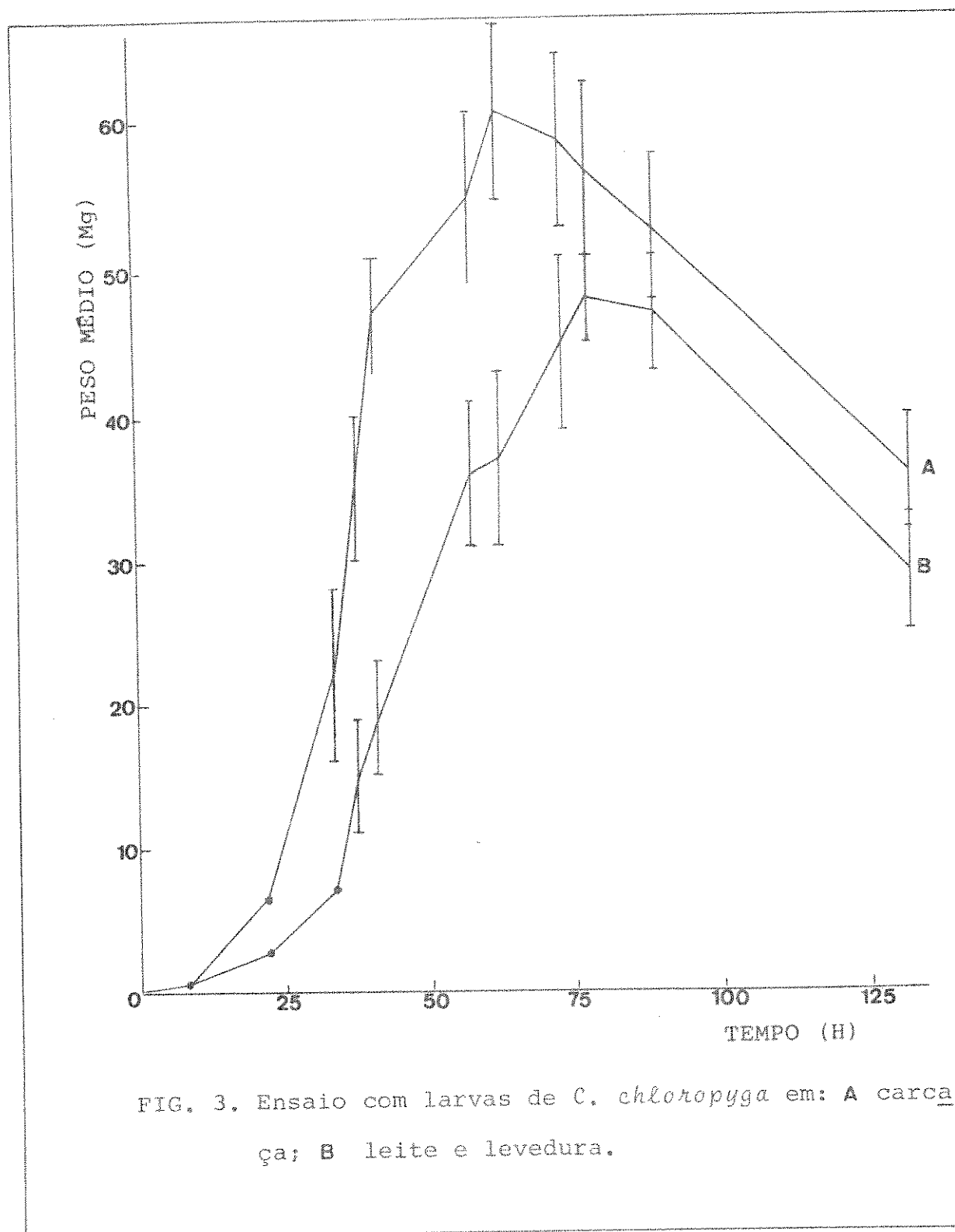
3 MCGINNIS et al (1956); KASTING et al (1958)

4 SEDEE (1954)

5 CHANG et al (1958)

TABELA 17. Duração dos diversos estágios de desenvolvimento de *C. chloropyga* a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Oviposição	14 dias após a eclosão do adulto
Eclosão dos ovos	12 ± 1 hora
L_1 a L_2	13 ± 1 hora
L_2 a L_3	28 ± 1 hora
L_3 a pupa	65 ± 1 hora
Pupa	7 ± 1 dia
Adulto	60 dias



megacephala) foram também testadas, apresentando na dieta de leite e levedura comportamento bastante diferente do comportamento em carcaça, respectivamente, após 75 horas 3,2 e 38% do peso em carcaça (Figuras 4 e 5). Essas diferenças de comportamento na dieta de leite e levedura e em carcaça, podem ser explicadas pela ausência de algum nutriente essencial à larva ou devido a um balanço inadequado de nutrientes. A presença de uma flora bacteriana, causando intensa fermentação na carcaça pode também produzir determinados compostos como poliaminas (cadaverina, putrescina, tiramina, histamina, indoletilamina, etc.) que podem ter variado efeito fisiológico, além do que, devido à fermentação, a temperatura usual de incubação pode aumentar em até 12°C (BROOKES & FRAENKEL, 1958; SPILLER, 1964). Principalmente no caso de *Chrysomya albiceps* e *Chrysomya megacephala*, as diferenças poderiam ser devidas também à presença de enzimas proteolíticas específicas em seu trato gastro intestinal, o que justificaria a dispersão e distribuição destas três espécies no país (GUIMARÃES, PRADO & BURALLI, 1980).

As dietas das Tabelas 4 a 8, foram utilizadas para determinar o efeito de diferentes níveis de proteína no desenvolvimento das larvas, e também para obter um padrão.

Foram utilizadas concentrações de proteína de 2, 4, 6, 8 e 10% nas dietas. A escolha destes níveis baseou-se nos seguintes fatores: os ensaios biológicos, normalmente utilizam 8 a 10% de proteína, e o uso destas mesmas concentrações facilitaria comparações de resultados. Além disso, as proteínas de

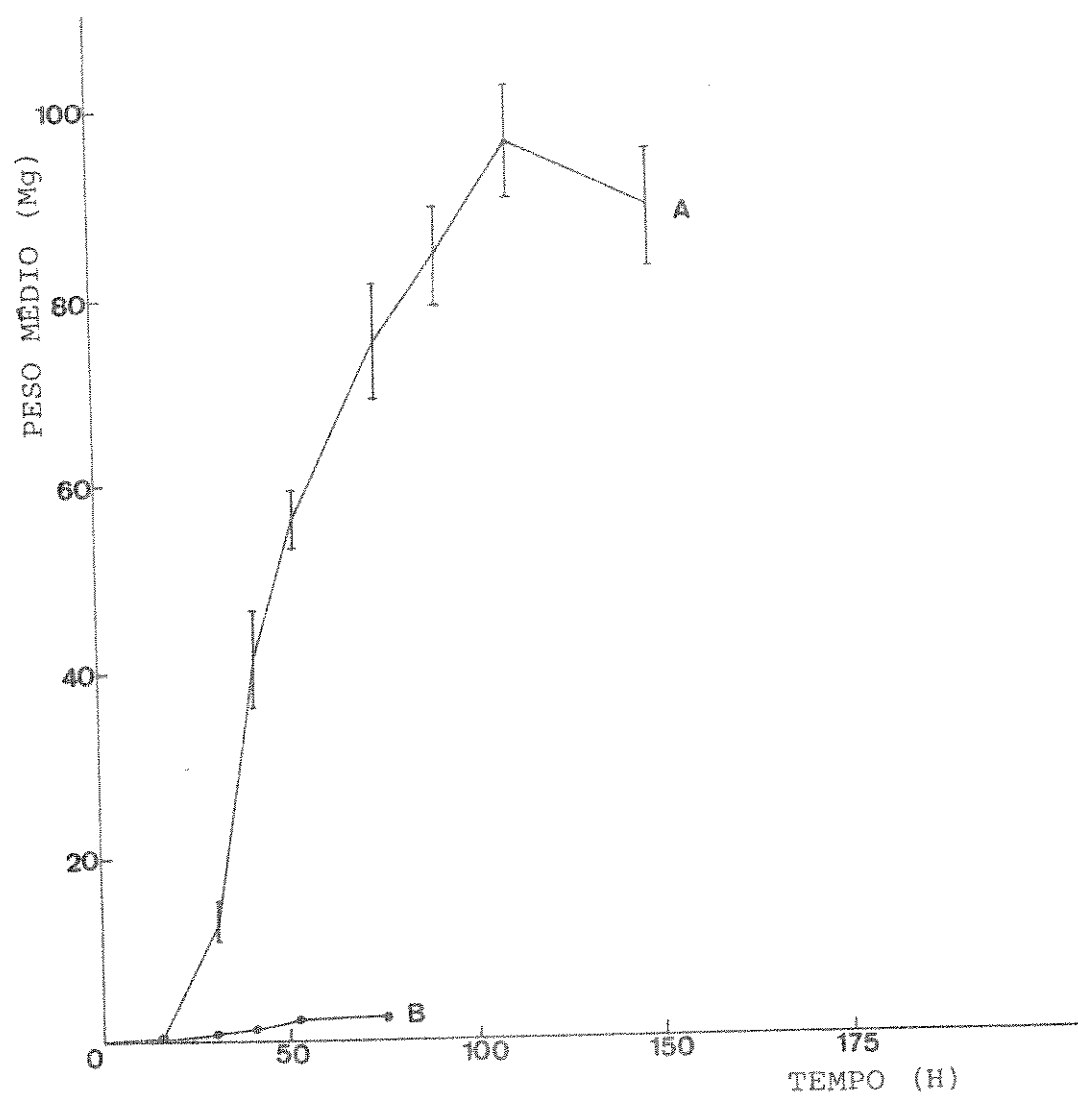


FIG. 4. Ensaio com larvas de *C. albiceps* em: A carcaça; B leite e levedura.

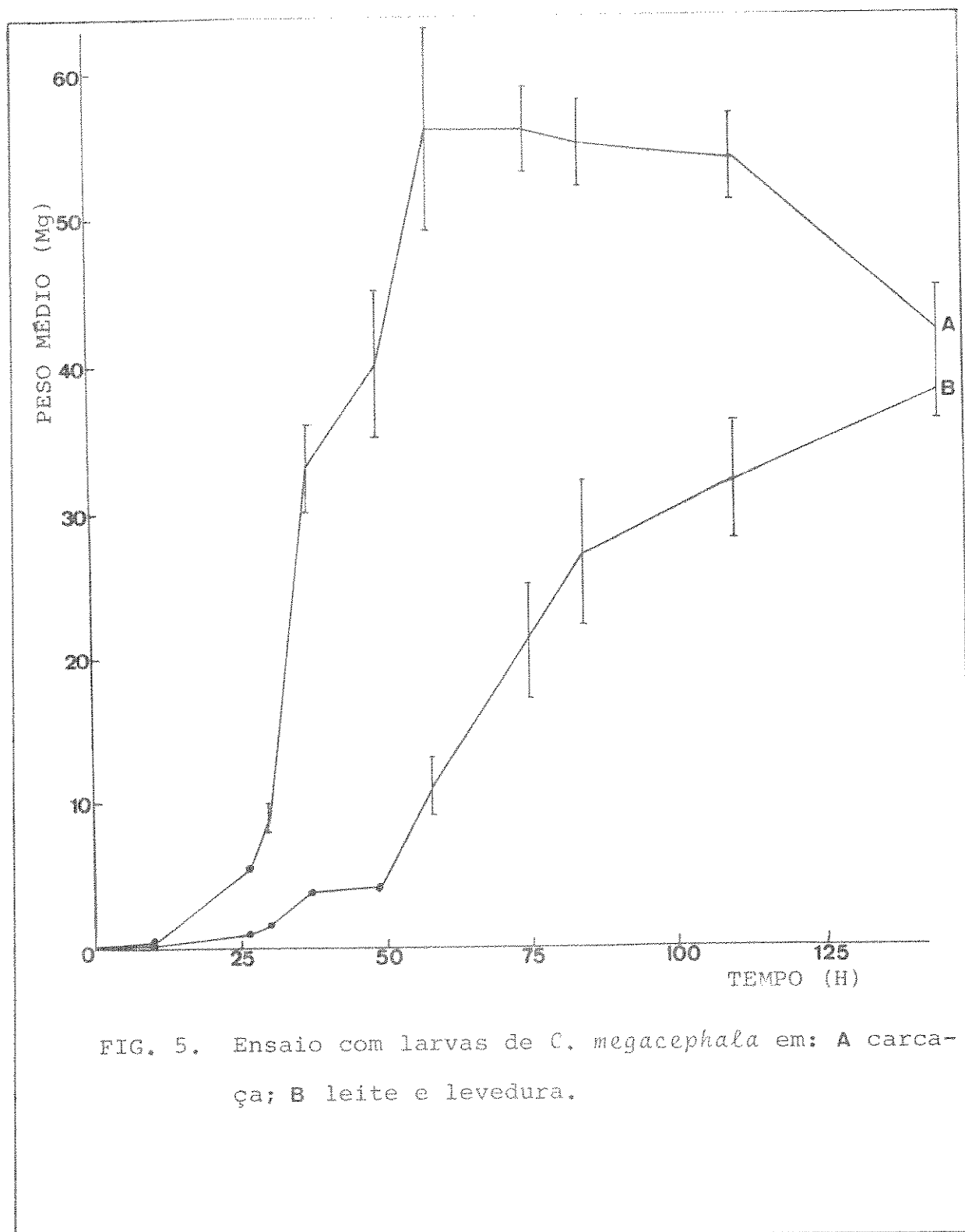


FIG. 5. Ensaio com larvas de *C. megacephala* em: A carcaça; B leite e levedura.

origem vegetal, apresentam-se em concentrações relativamente baixas, o que geralmente impede formulações com alta porcentagem de proteína. Outra limitação da porcentagem de proteína adicionada às dietas é que estas devem conter, para larvas de mosca, no mínimo, 60% de água (BRUST & FRAENKEL, 1958).

Leite em pó foi inicialmente escolhido como fonte proteica, por ter alta qualidade nutricional para o homem (MITCHELL, 1964) e por ser normalmente utilizado em dietas para insetos. Nas dietas de leite em pó (Figuras 6, 7 e 8), houve um aumento de porcentagem de ganho de peso em relação à carcaça, do nível 2 para o nível 4% (respectivamente a 75 horas 11 e 45%). Nos níveis 6, 8 e 10%, após 75 horas, todas as larvas morreram, provavelmente devido à concentração de sólidos bastante alta na dieta. Nas Figuras 6, 7 e 8, há também os resultados de dietas com uma combinação de leite em pó e levedura, utilizada com o objetivo de melhorar a qualidade da dieta, já que acreditava-se que a levedura possui algum fator de crescimento essencial às larvas (BROOKES & FRAENKEL, 1955; BROOKS & FRAENKEL, 1958).

Os resultados após 75 horas mostraram um aumento da porcentagem de ganho de peso, em relação à carcaça, maior do que na dieta de leite em pó nos níveis 4 e 6% (respectivamente 58 e 26%), havendo nestes dois níveis o mesmo efeito de diminuição da porcentagem de ganho de peso com o aumento da concentração de proteínas na dieta, que ocorreu com as dietas de leite em pó. No nível de 2%, a dieta de leite e levedura, após

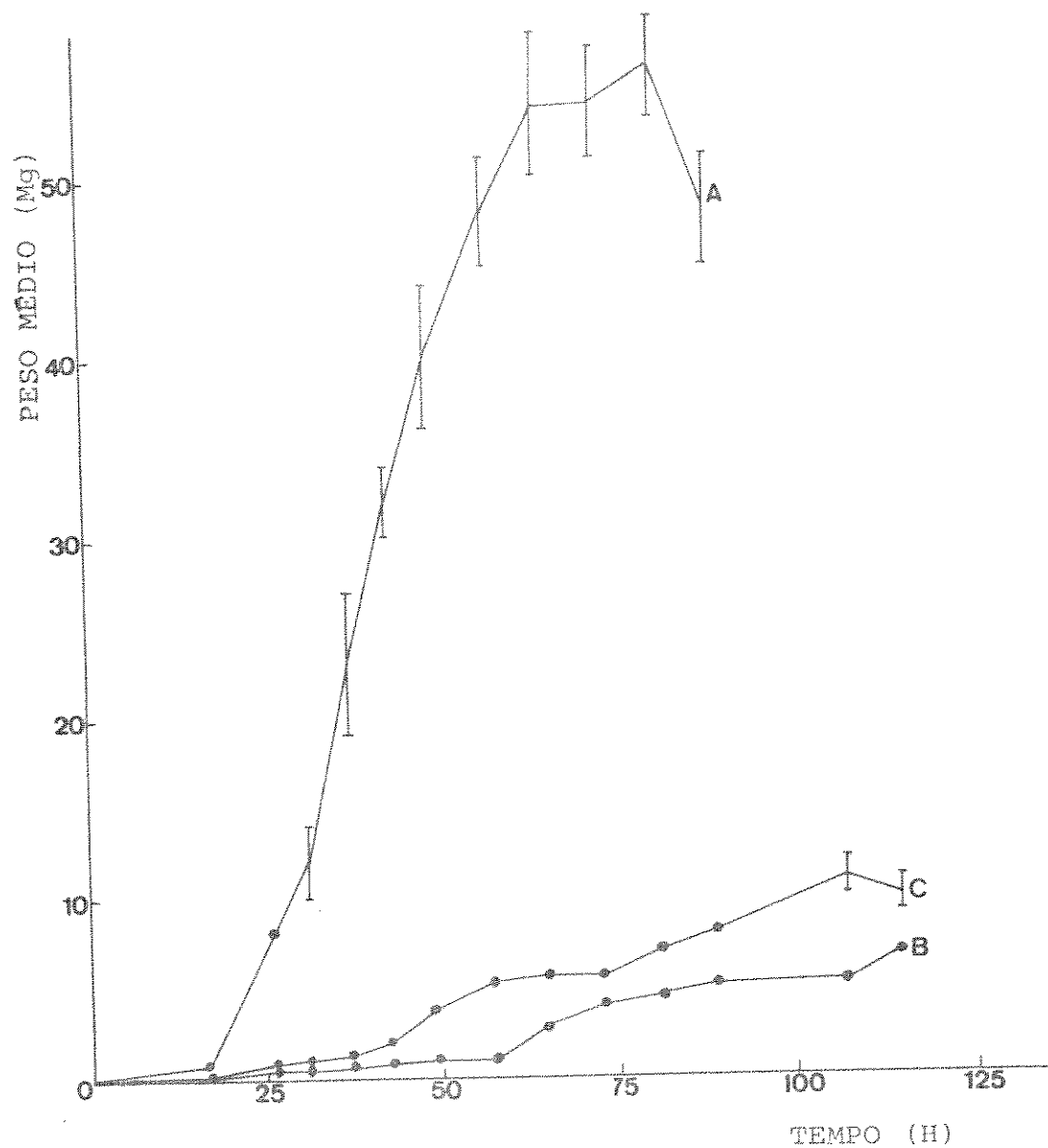


FIG. 6. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcaça; B 2% de leite e levedura; C 2% de leite.

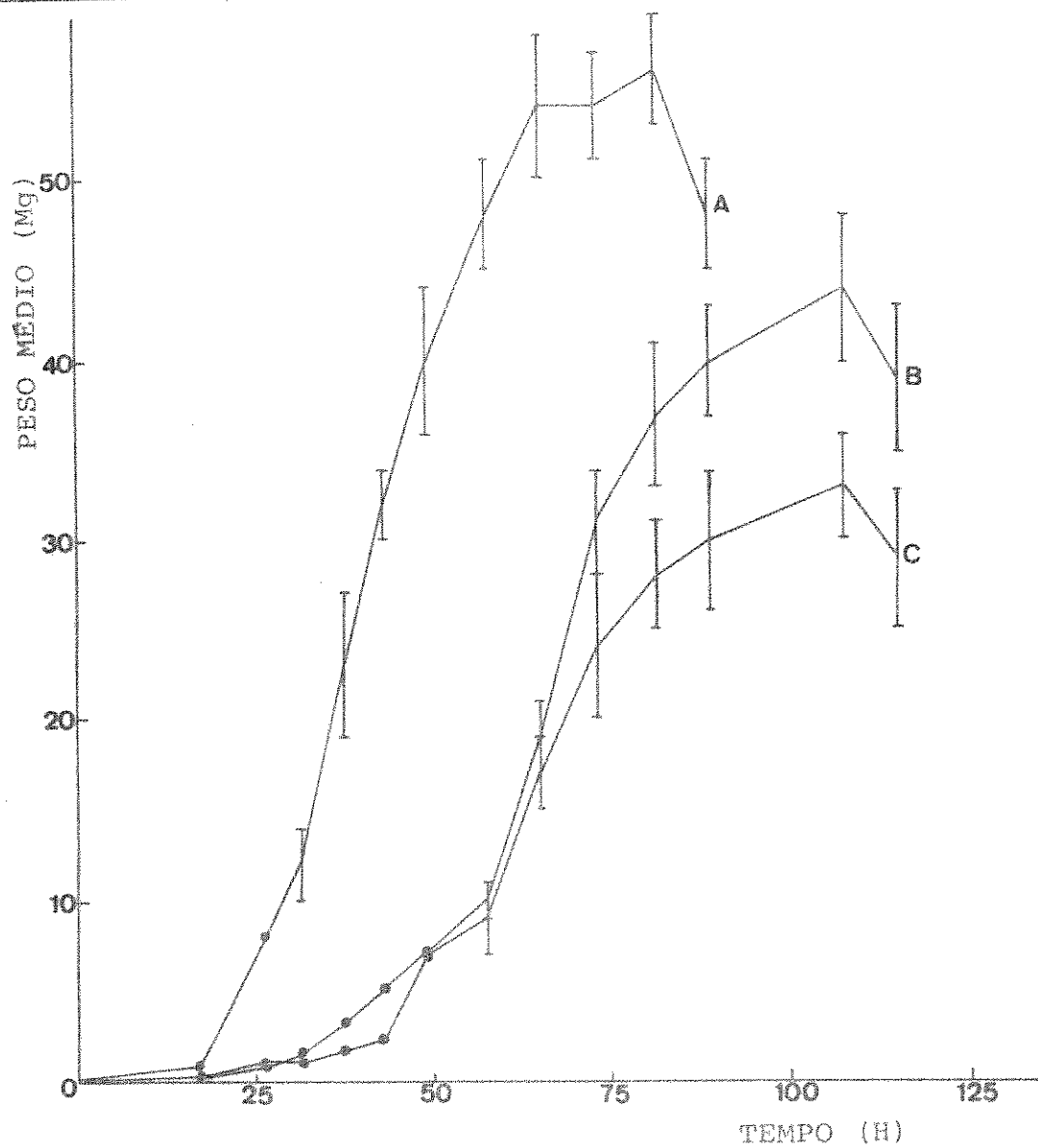


FIG. 7. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcaça; B 4% de leite e levedura; C 4% de leite.

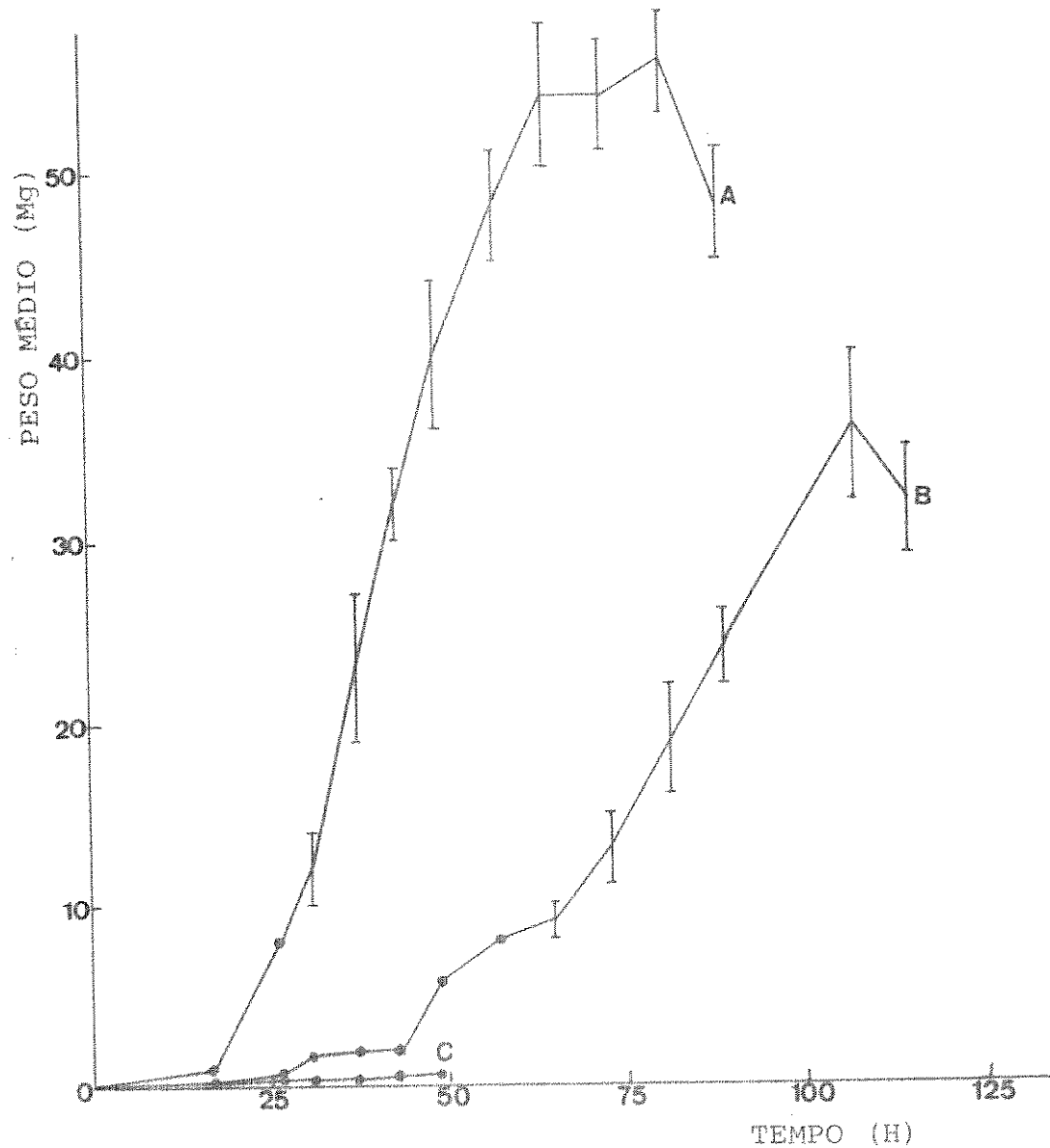


FIG. 8. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcaça; B 6% de leite e levedura; C 6% de leite.

75 horas, deu como resultado um ganho de peso menor do que na dieta de leite (7,6%) o que poderia ser causado por um balanço inadequado das proteínas do leite e da levedura neste nível.

Com a limitação causada pela porcentagem de proteínas no leite em pó, permitindo resultados só até o nível de 4% , resolvemos utilizar caseína como fonte proteica, o que também seria útil na possível comparação dos resultados com outros tes biológicos, pois caseína é utilizada como padrão em vários deles. As Figuras 9, 10, 11, 12 e 13 mostram o resultado des tes ensaios. Foram também feitas dietas de caseína combinada com levedura, como anteriormente. Após 75 horas, os resulta dos mostram que a taxa de ganho de peso nas dietas de caseína e levedura, nos níveis de 2 a 10% foram superiores aos obtidos utilizando-se somente caseína (0 e 2,2% para 2% de proteína, 1,7 e 33% para 4% de proteína, 3,3 e 37% para 6% de proteína , 4 e 82% para 8% de proteína e 5 e 37% para 10% de proteína). Nas dietas somente com caseína, com o aumento de porcentagem de proteínas na dieta, não houve diminuição da porcentagem de ganho de peso em relação à carcaça, fato que se verificou nas dietas de caseína e levedura entre os níveis 8 e 10%.

A levedura, tanto nas dietas de leite em pó, quanto nas de caseína, aumentou a porcentagem de crescimento das lar vas, em relação à carcaça. Como a levedura é uma fonte rica em ácido ribonucleico, uma substância promotora de crescimento para alguns dípteros (BROOKES & FRAENKEL, 1958), foram prepara das dietas para testar o efeito de ácido ribonucleico e seus

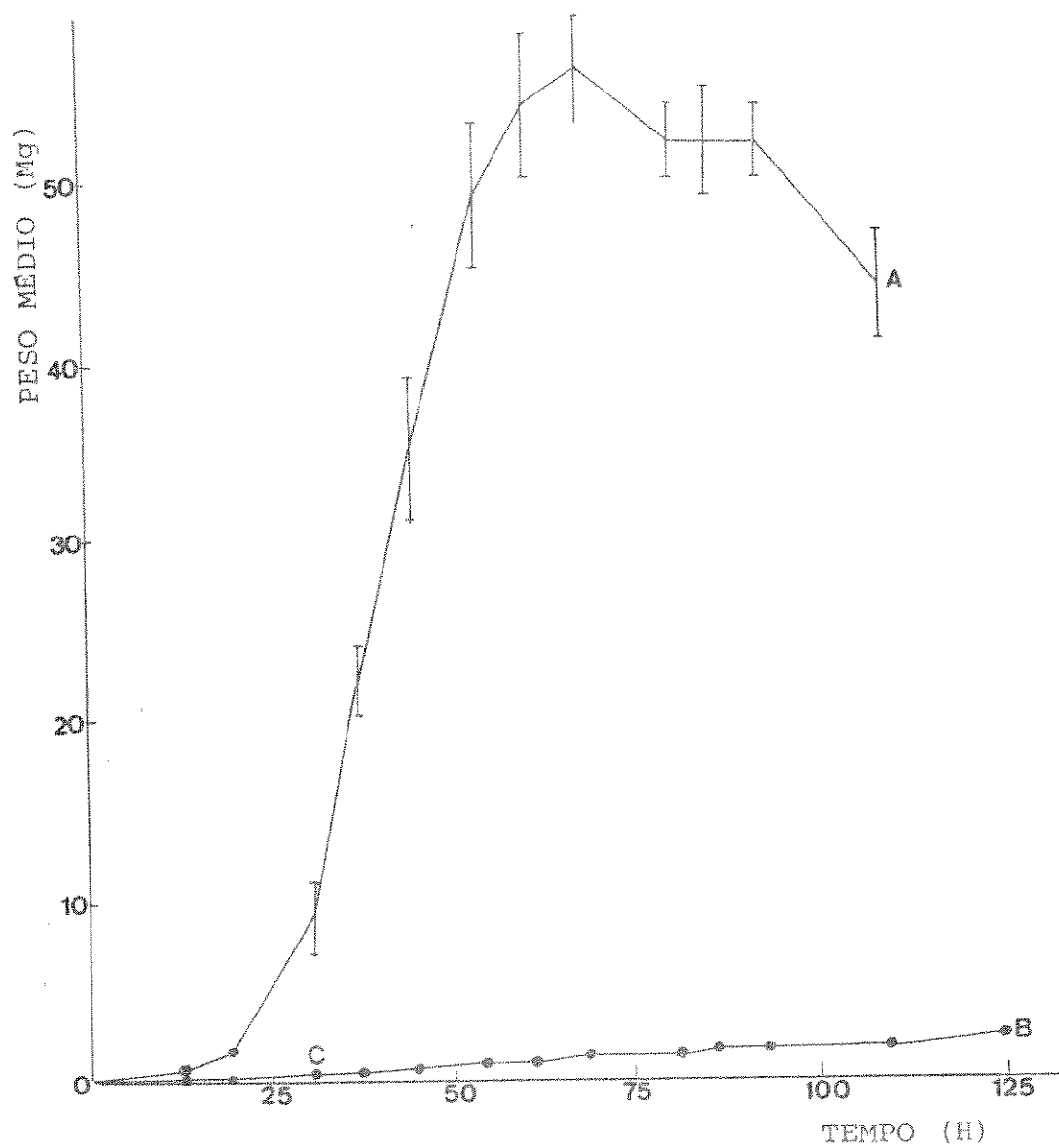


FIG. 9. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carça
ça; B 2% de caseína e levedura; C 2% de caseína.
na.

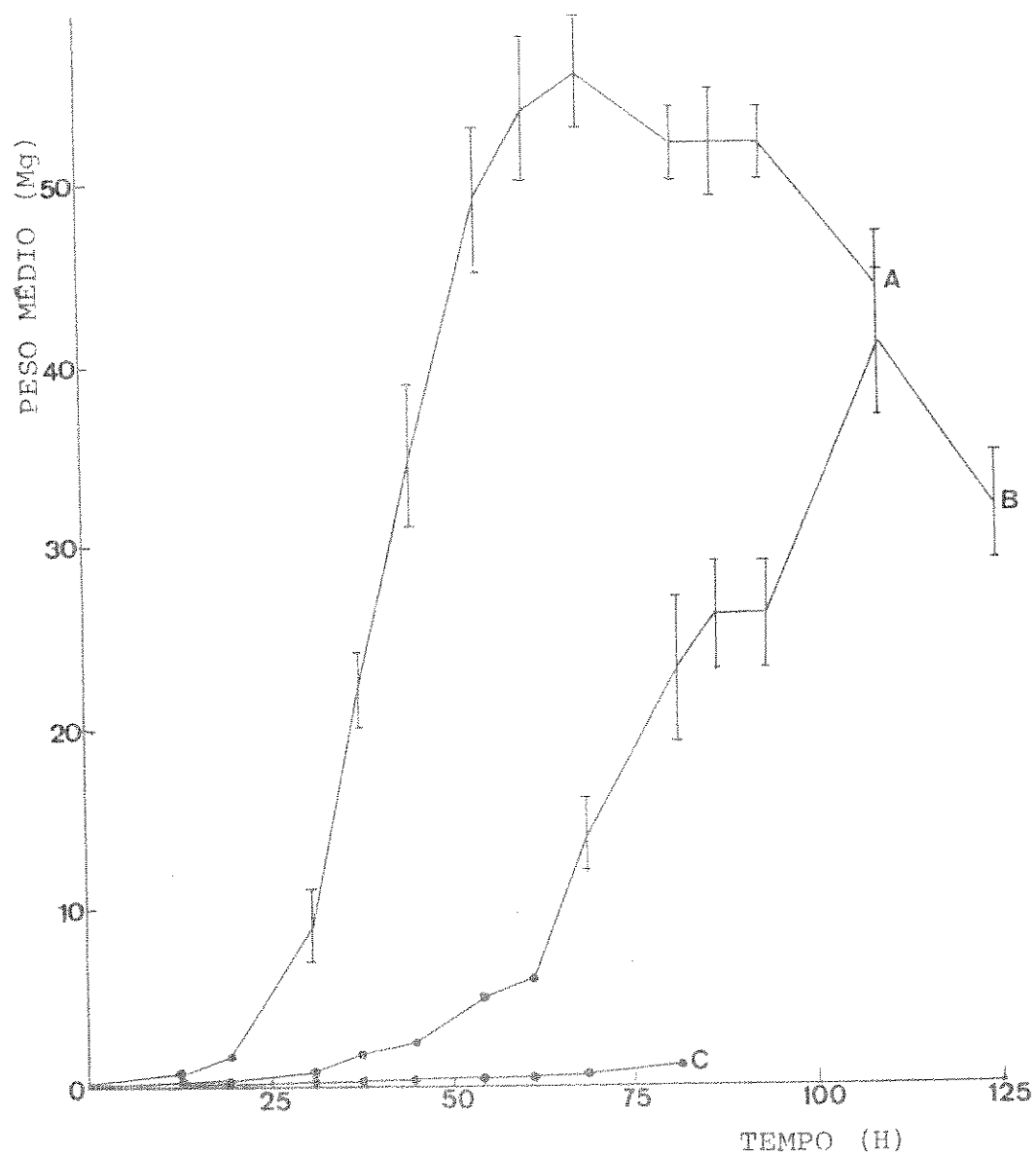


FIG. 10. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A car-
ça; B 4% de caseína e levedura; C 4% de ca
seína.

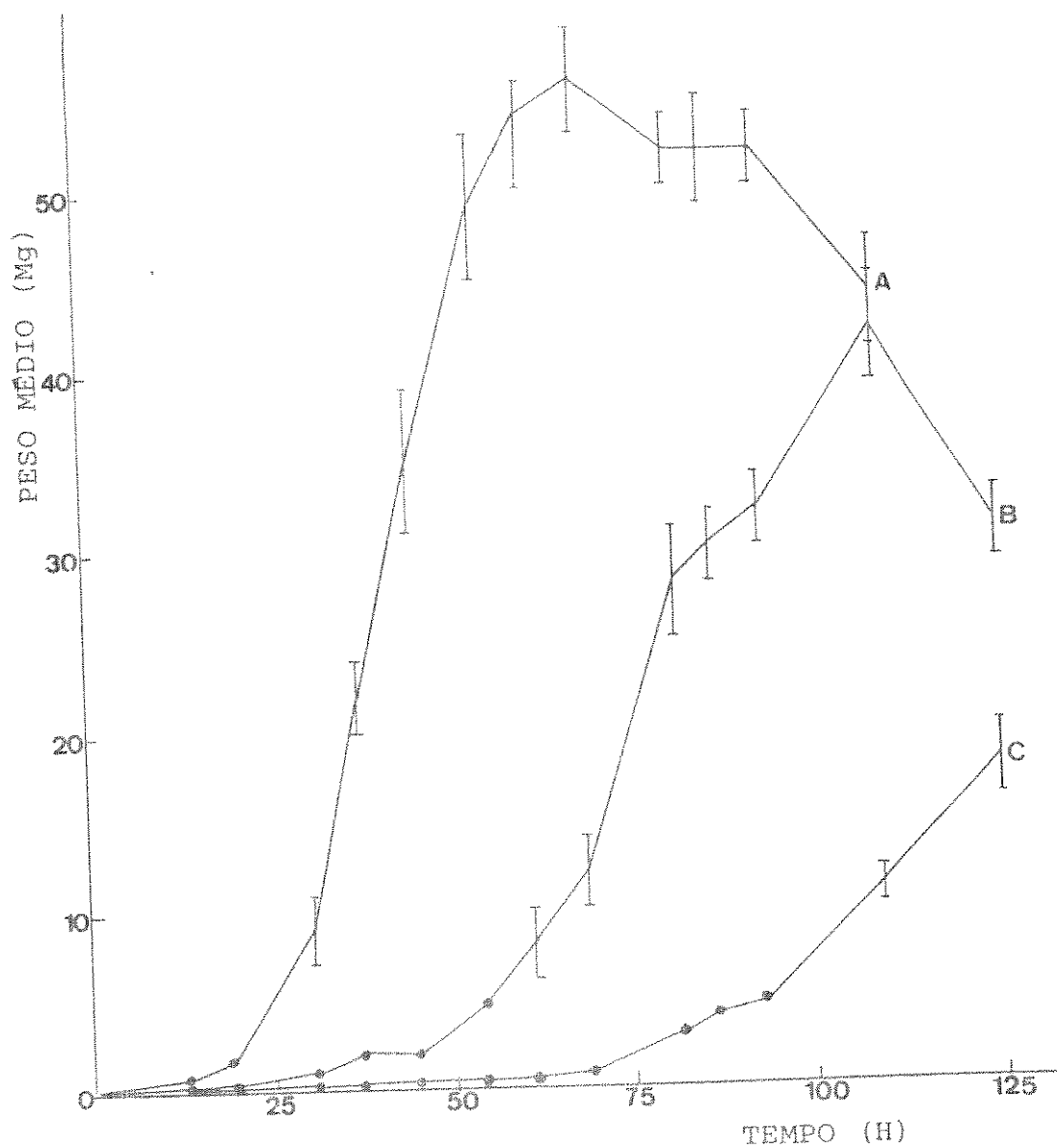


FIG. 11. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carça; B 6% de caseína e levedura; C 6% de caseína.

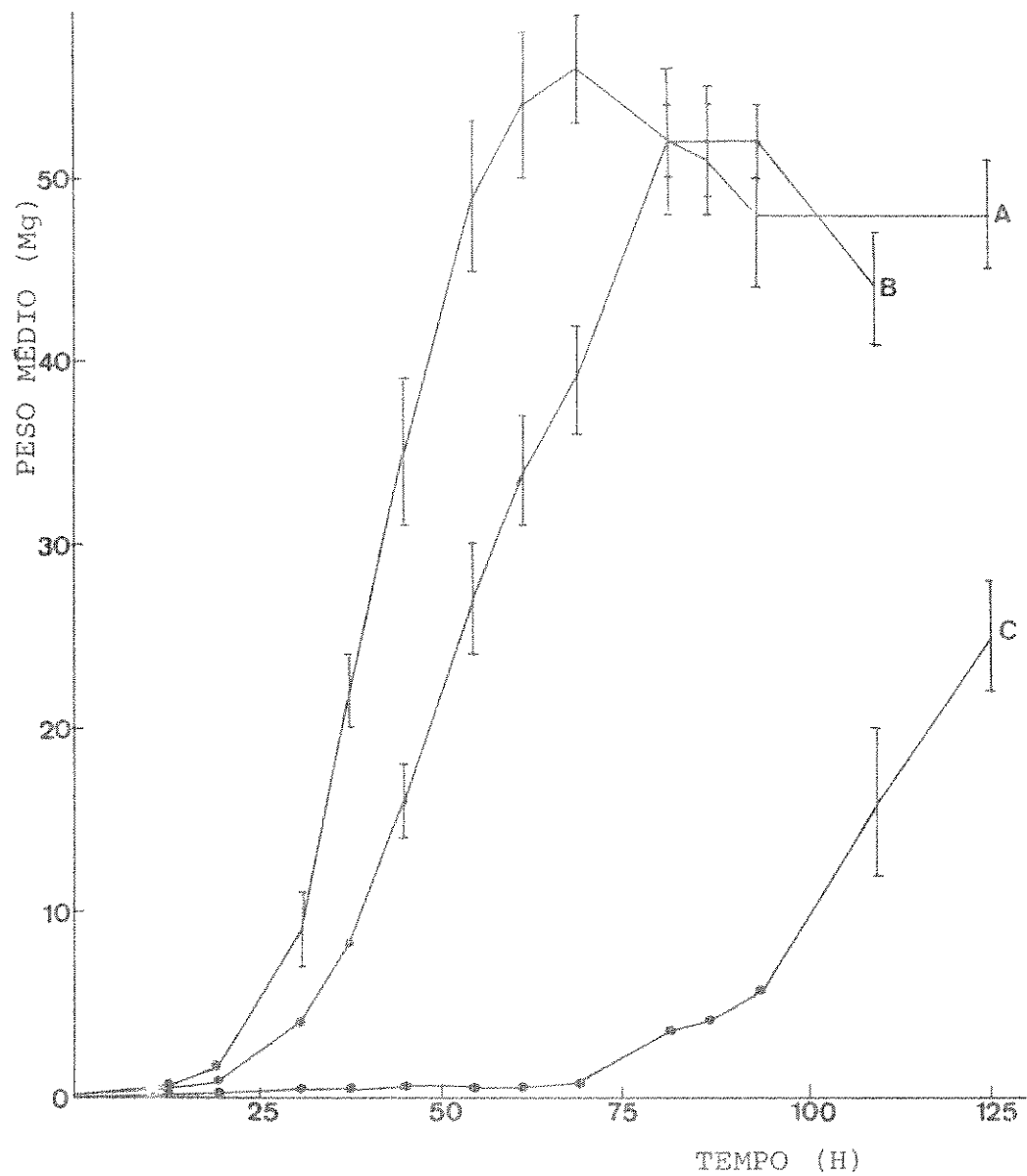


FIG. 12. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carça; B 8% de caseína e levedura; C 8% de caseína.

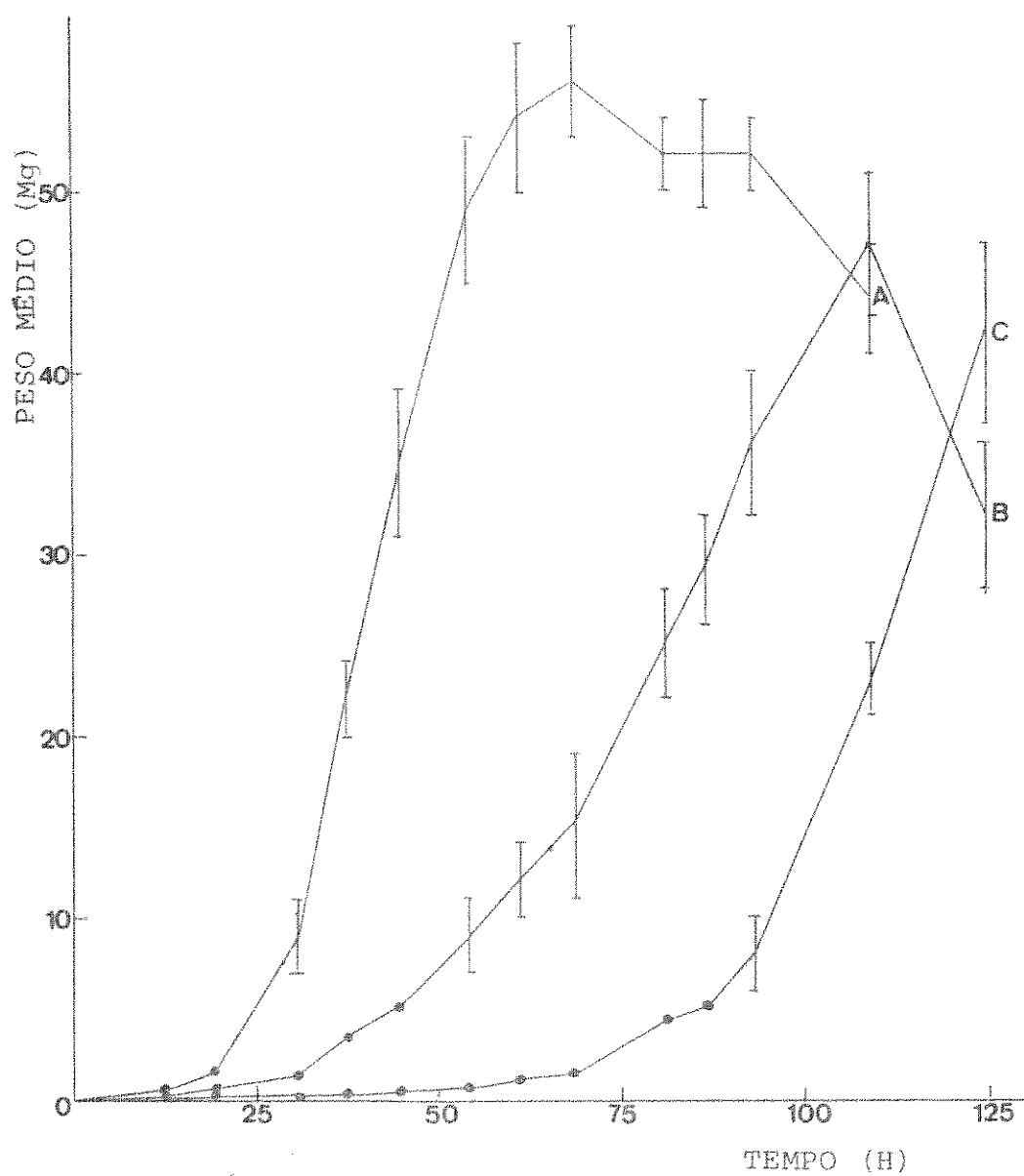


FIG. 13. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carça; B 10% de caseína e levedura; C 10% de caseína.

produtos de hidrólise. As Figuras 14, 15, 16, 17 e 18 mostram os resultados dessa modificação. Dietas de caseína e ácido ribonucleico foram comparadas com dietas contendo somente caseína. Obteve-se após 75 horas, porcentagens de ganho de peso em relação à carcaça muito maiores nas dietas de caseína e RNA do que nas dietas somente com caseína. Respectivamente: 2,6 e 19% para 2% de proteína, 16 e 55% para 4% de proteína, 16 e 63% para 6% de proteína, 19 e 79% para 8% de proteína e 52 e 83% para 10% de proteína. Como se pode verificar dos resultados, as porcentagens de ganho de peso foram proporcionais ao aumento da porcentagem de proteína nas dietas em todos os níveis empregados. Para as dietas de caseína neste conjunto de ensaios e no anterior (Figuras 9 a 13) obtivemos porcentagens de ganho de peso em relação à carcaça bastante diferentes. A única diferença entre estes dois grupos de dietas, foi a substituição de caseína técnica livre de vitaminas por caseína comercial, menos purificada, o que poderia alterar a composição das dietas, modificando os resultados.

Com as dietas de caseína e RNA, obtivemos resultados considerados satisfatórios, sendo então esta série de dietas escolhida como padrão para os ensaios subseqüentes.

As proteínas testadas a seguir, para verificar os efeitos de suas diferentes origens, tratamento térmico, suplementação e complementação de proteínas, foram todas de origem vegetal, apresentando baixa porcentagem de proteínas em relação à caseína. Foram então utilizados níveis mais baixos de proteí

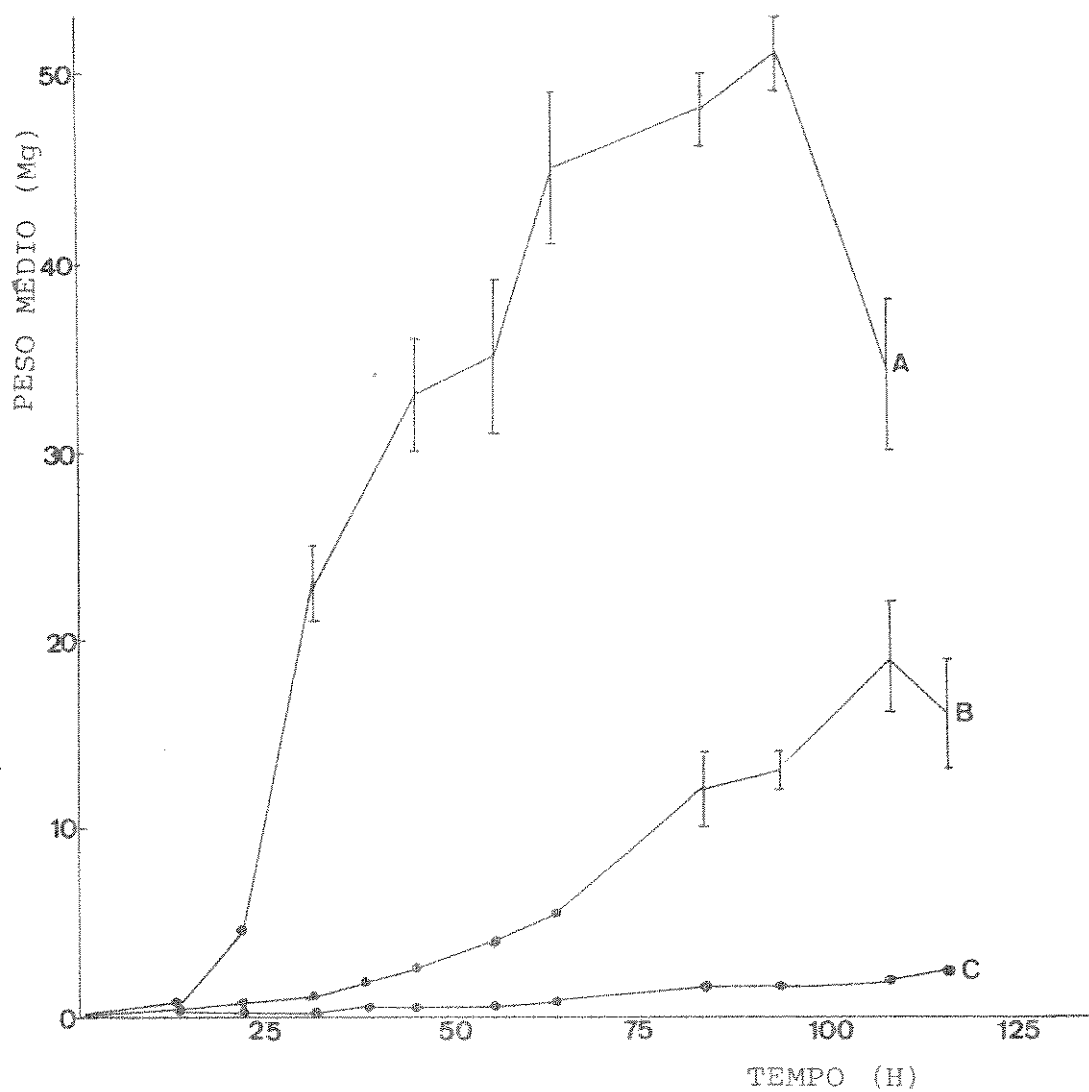


FIG. 14. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carça; B 2% de caseína com RNA; C 2% de caseína.

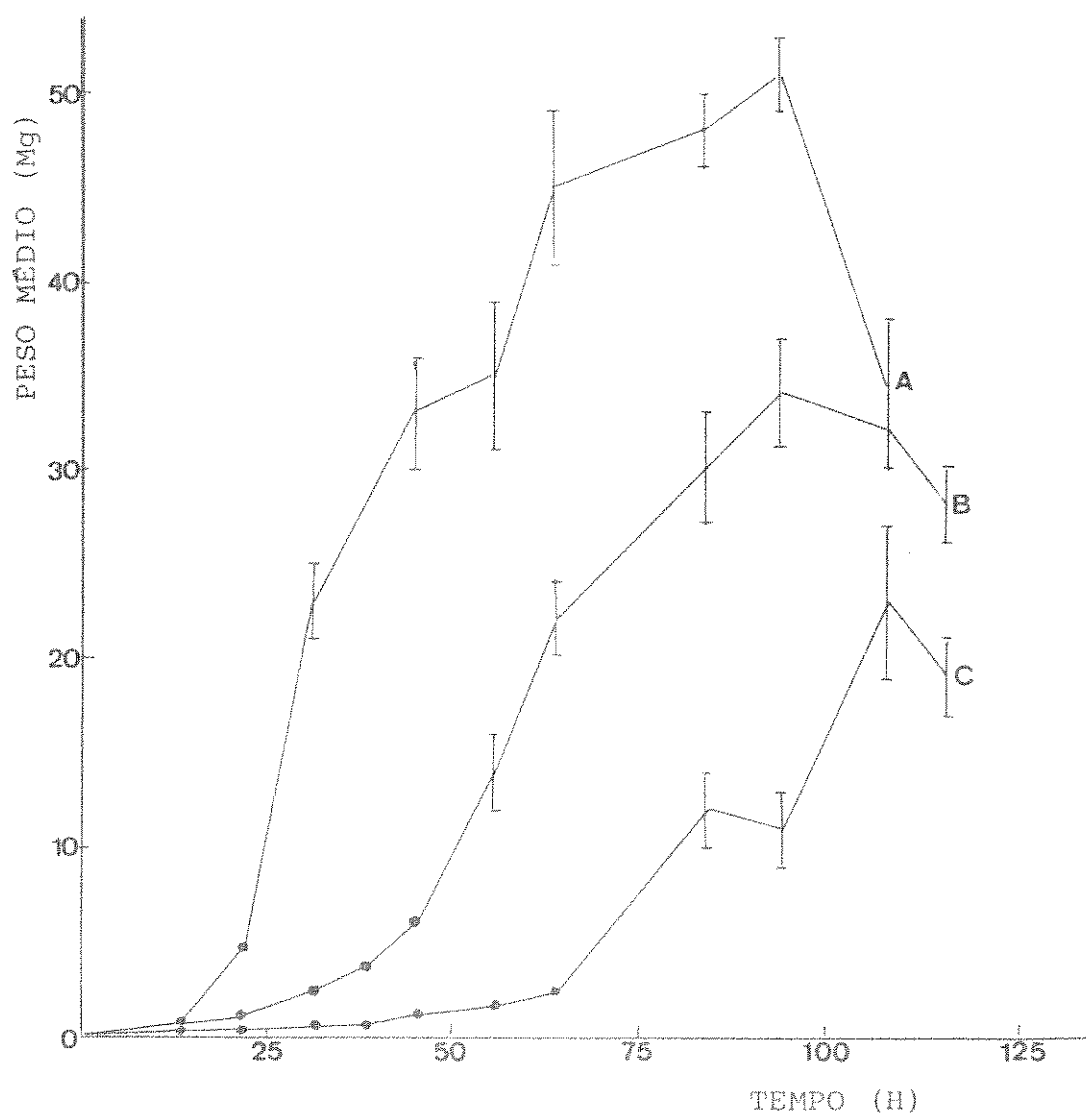


FIG. 15. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcassa; B 4% de caseína com RNA; C 4% de caseína.

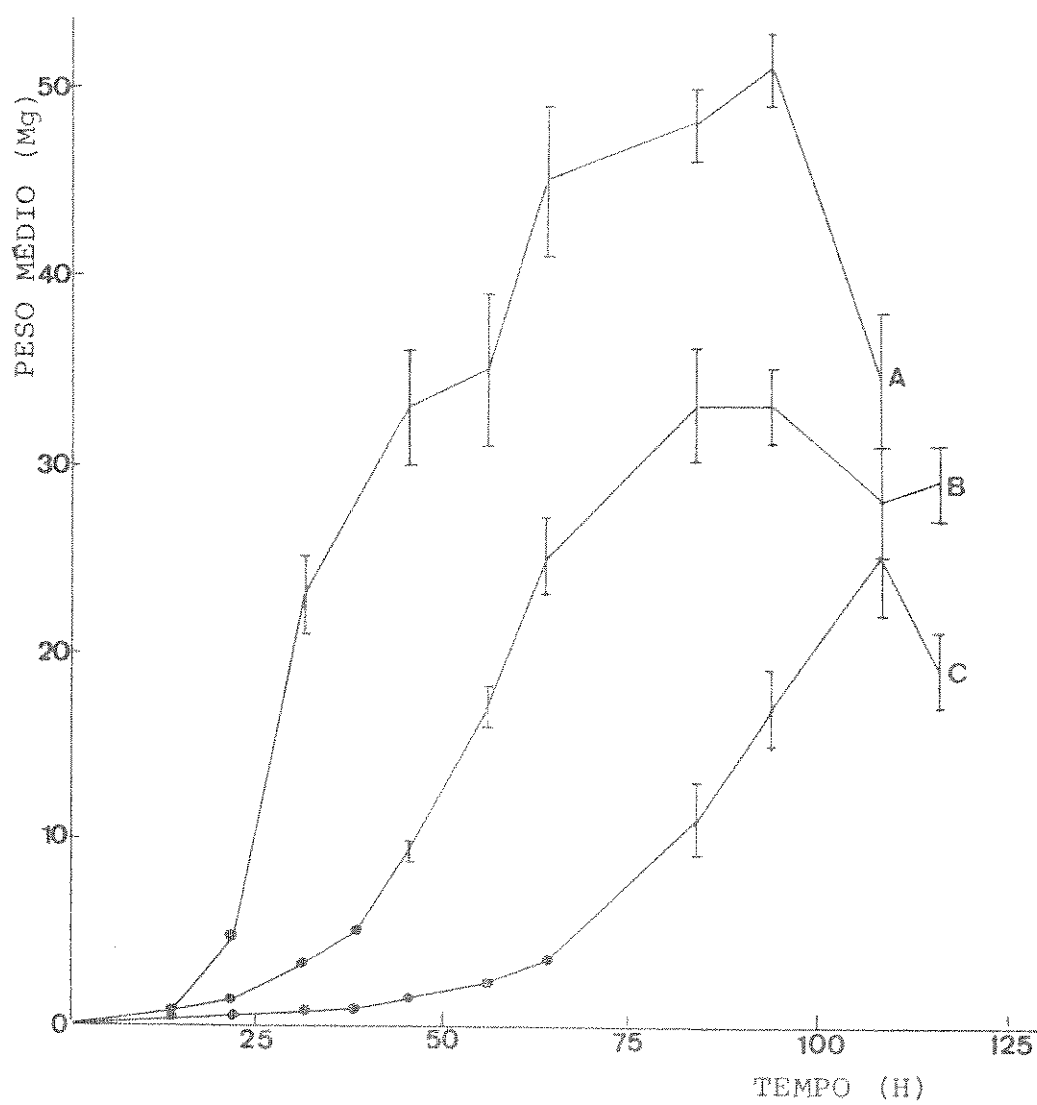


FIG. 16. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcaça; B 6% de caseína com RNA; C 6% de caseína.

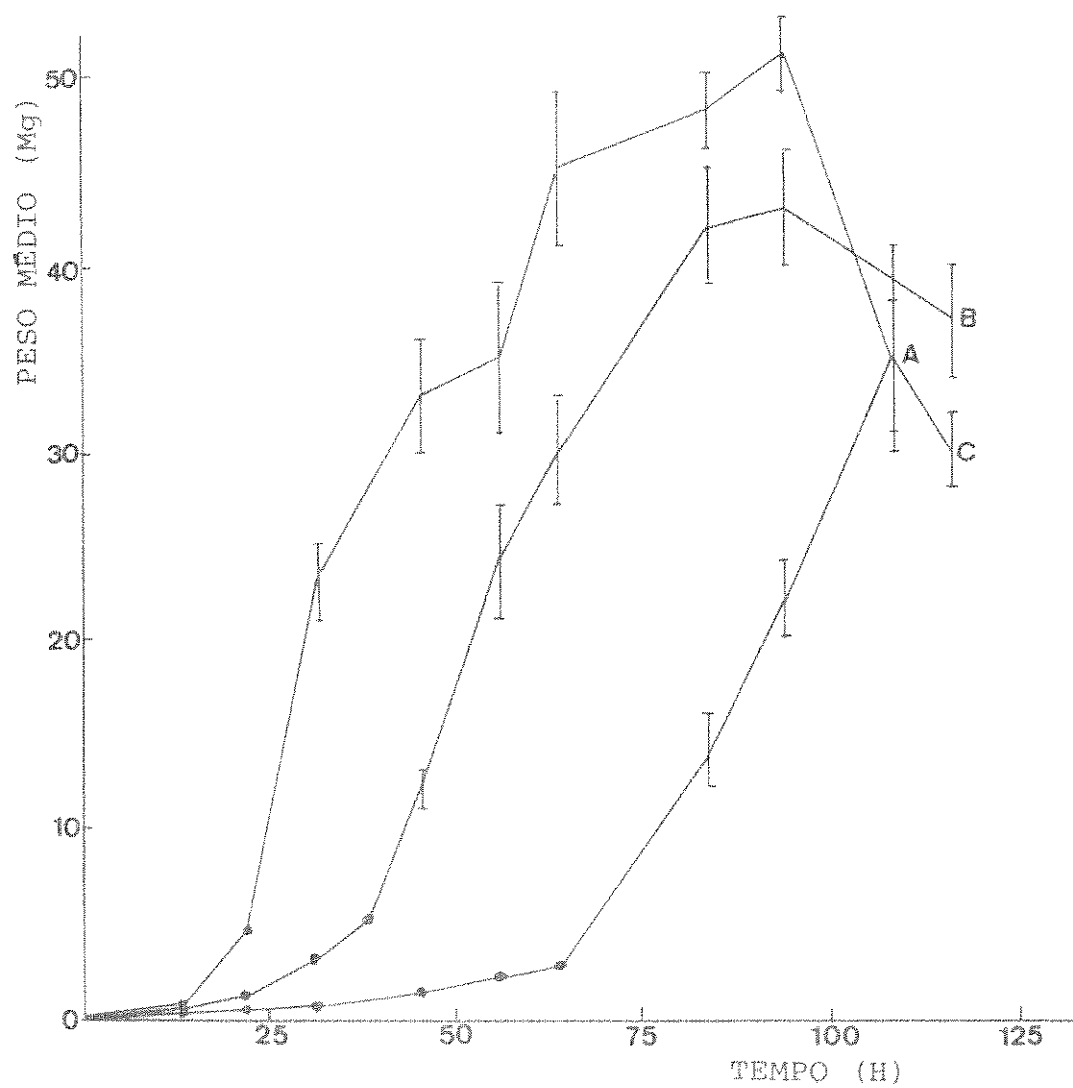


FIG. 17. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A car-
caça; B 8% de caseína com RNA; C 8% de caseí-
na.

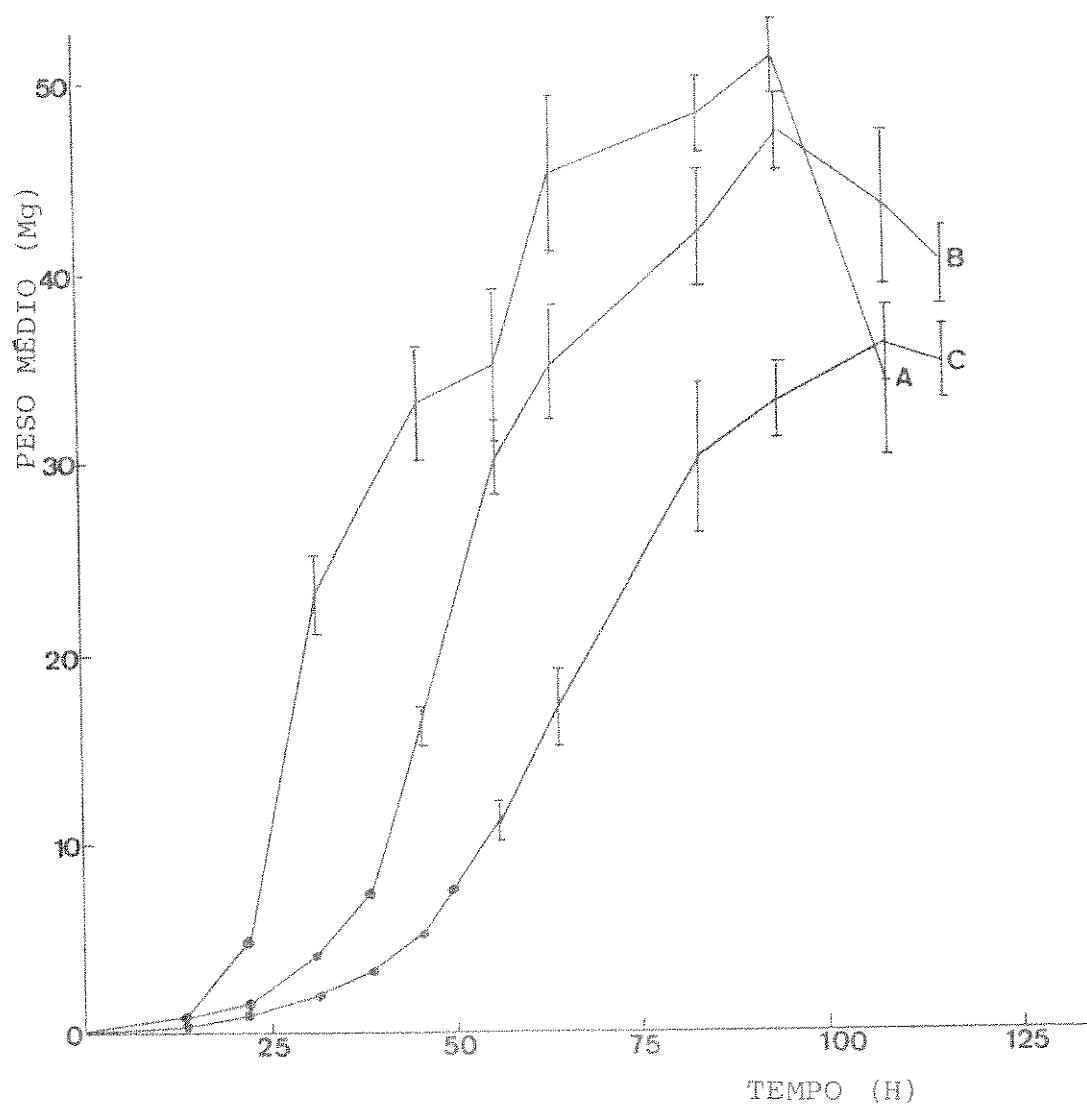


FIG. 18. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carça; B 10% de caseína com RNA; C 10% de caseína.

na (entre 2 e 6%) nos quais a concentração de sólidos não interferia nos resultados, prejudicando-os. O padrão de caseína e RNA foi usado no mesmo nível proteico destas dietas.

O primeiro grupo de dietas (Tabela 9), foi feito com farinha de soja (6% de proteína) e farinha de feijão (4% de proteína), para testar o efeito de tratamento térmico das farinhas e o de suplementação, no crescimento das larvas. O tratamento térmico irá aumentar o valor biológico de muitas proteínas de leguminosas, particularmente soja, para o homem e animais. O efeito favorável do aquecimento na qualidade de soja é devido a dois fatores: destruir inibidores de crescimento e acelerar a liberação de metionina no tubo digestivo (MELNICK , OSER & WEISS, 1946). A principal causa da inibição de crescimento em soja crua é o fator antitriptico, que combina-se com tripsina formando um complexo inativo. Animais alimentados com soja crua desenvolvem hipertrofia do pâncreas, acompanhada por um aumento na síntese de enzimas proteolíticas. Estas enzimas, são ricas em cisteína, e desde que a maior parte da cisteína necessária à biosíntese de enzimas é provavelmente derivada de metionina, a taxa elevada de síntese de tripsina pelo pâncreas, levaria a uma diminuição de metionina nos tecidos corporais. A grande necessidade do organismo por metionina, é ainda agravada no caso de proteína de soja, que é deficiente em aminoácidos sulfurados. Em animais, a suplementação com metionina, neutraliza a maior parte da diminuição de crescimento causada pelo inibidor, apesar da persistência da hipertrofia pan

creática. O inibidor de tripsina pode ser destruído pelo calor, permitindo o uso da proteína.

No feijão, a presença de outros inibidores como as fitohemaglutininas, tendem a obscurecer o efeito que o inibidor de tripsina pode ter no crescimento. Embora as fitohemaglutininas pareçam ter pouco significado em soja, não acontece o mesmo com outras leguminosas. As fitohemaglutininas parecem combinar-se com células da parede intestinal, causando uma interferência não específica na absorção de nutrientes. Os efeitos tóxicos das hemaglutininas presentes em alimentos podem ser geralmente eliminados por tratamento térmico (LIENER, 1977).

A Figura 19 apresenta os resultados obtidos utilizando-se farinha de feijão como fonte proteica na dieta (4% de proteína). Foram preparadas dietas com a farinha crua e com a farinha autoclavada, com e sem adição de metionina. Nota-se que a adição de metionina na farinha de feijão cru, não aumentou a porcentagem de ganho de peso das larvas, com relação ao padrão (4% de caseína + RNA) obtendo-se após 75 horas, 2,3% do peso do padrão nas duas dietas. Já para as farinhas autoclavadas, obteve-se após 75 horas um aumento na porcentagem de ganho de peso (32%) em relação à porcentagem obtida com a farinha crua (2,3%) e obteve-se também um aumento com a adição de metionina (108%), superior ao padrão.

Na Figura 20 temos o mesmo tipo de ensaio utilizando farinha de soja no nível 6%. A dieta com farinha de soja crua apresentou, após 75 horas, larvas com 5,2% do peso obtido com

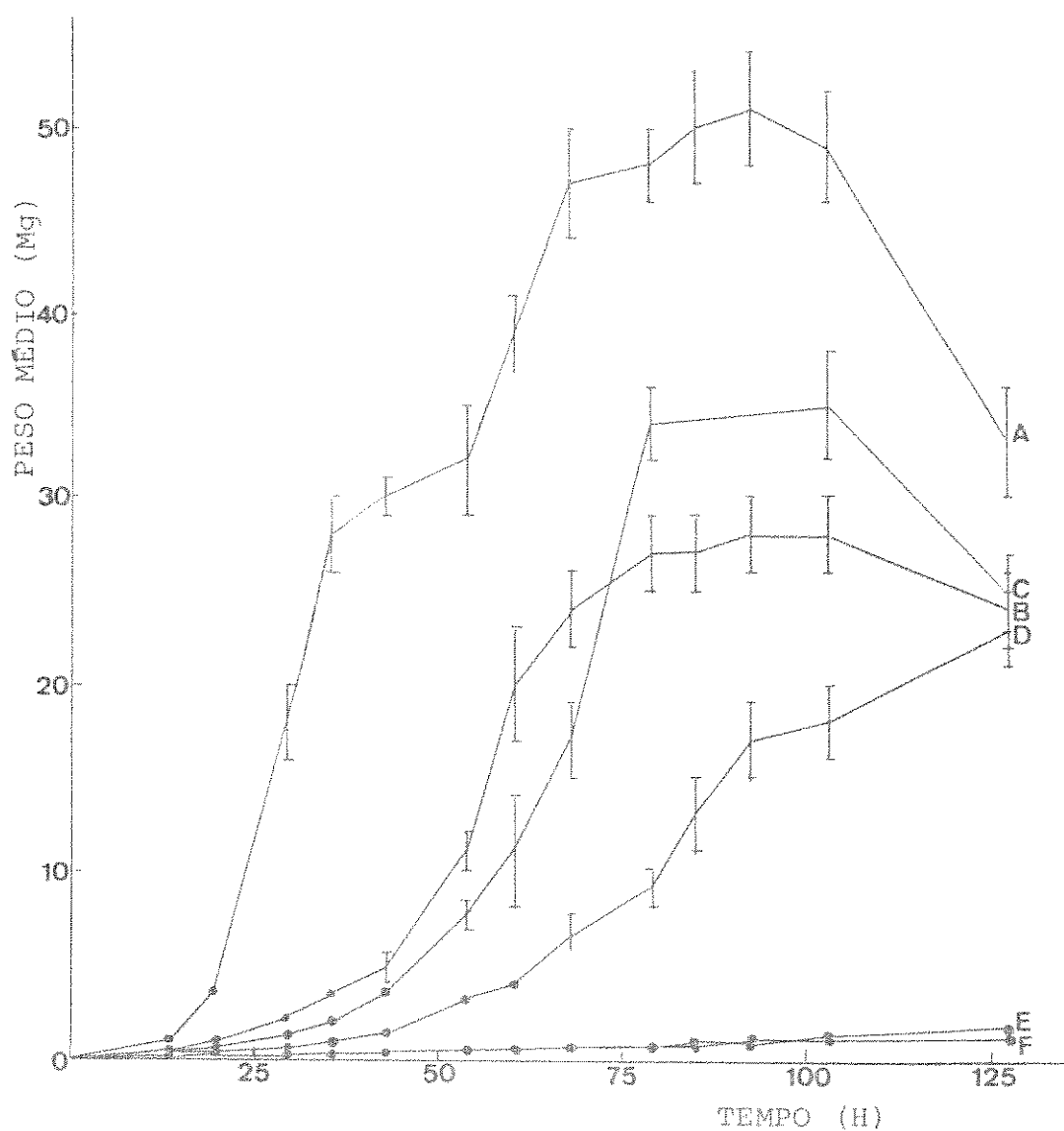


FIG. 19. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carça; B 4% de caseína com RNA; C 4% de feijão autoclavado com MET; D 4% de feijão autoclavado; E 4% de feijão crú com MET; F 4% feijão crú.

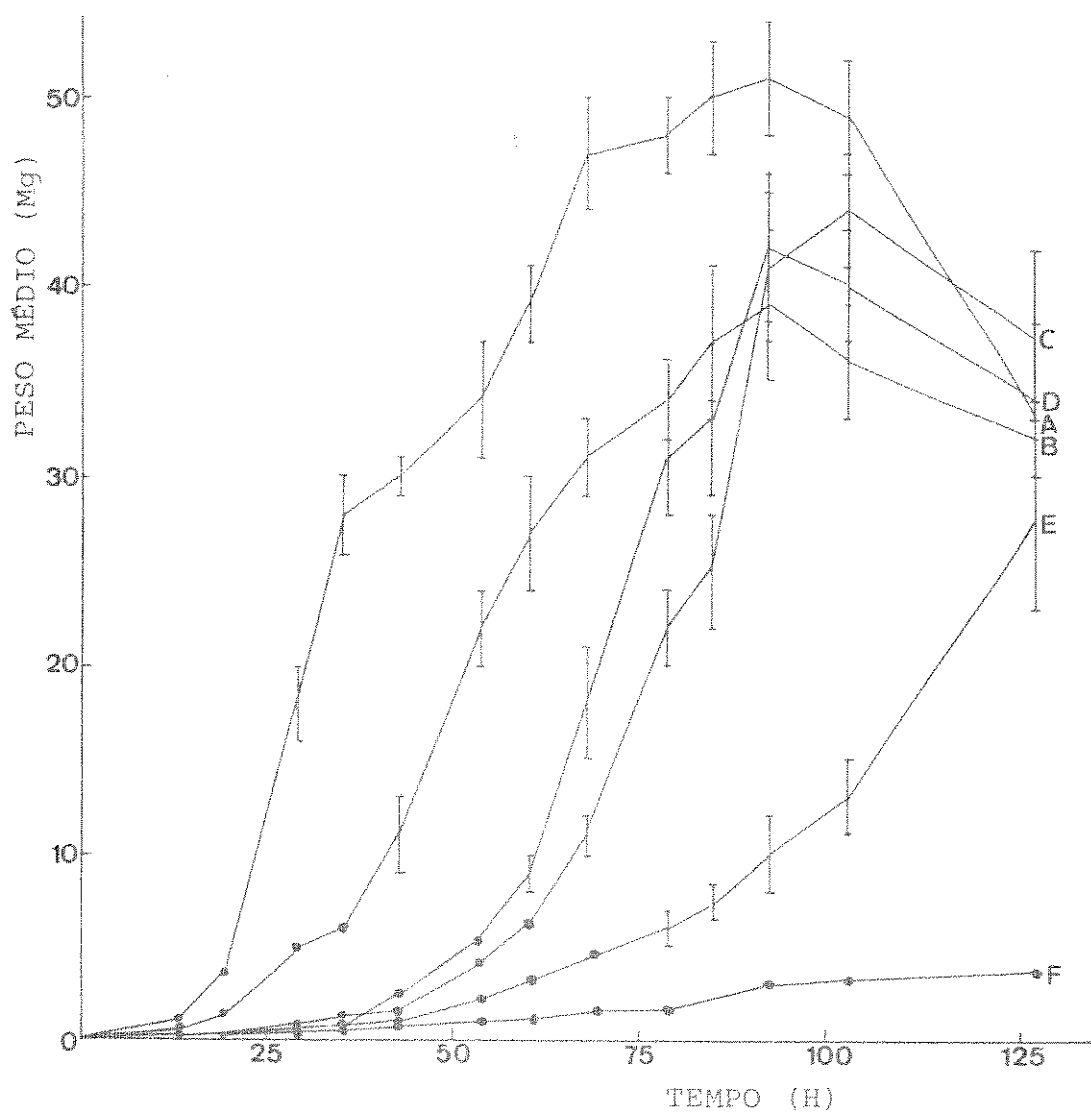


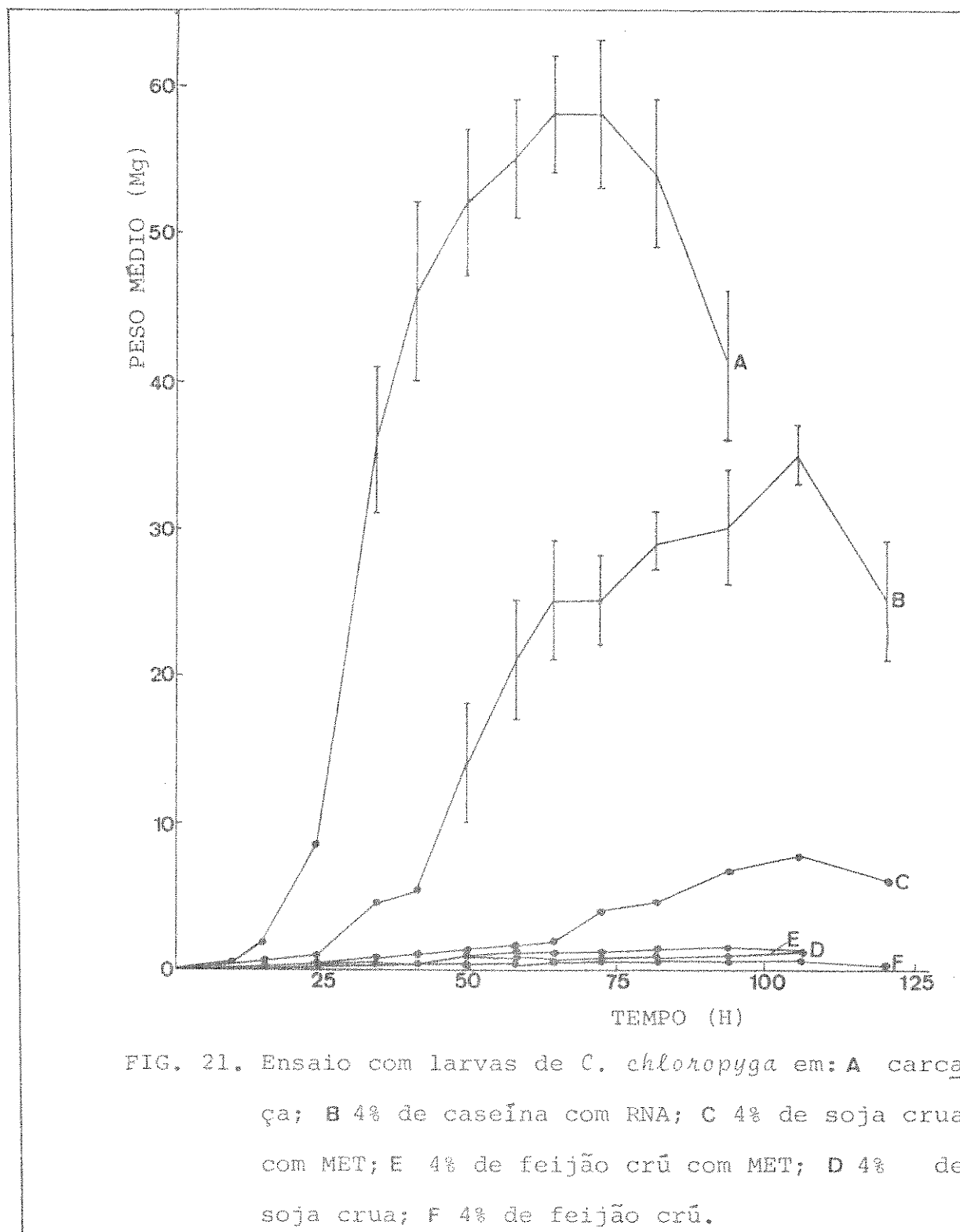
FIG: 20. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcaça; B 6% de caseína com RNA; C 6% de soja autoclavada com MET; D 6% de soja autoclavada; E 6% de soja crua com MET; F 6% de soja crua.

o padrão (6% de caseína + RNA). A suplementação desta dieta com metionina, aumentou a porcentagem de ganho de peso com relação ao padrão para 16%. A dieta com soja autoclavada, apresentou 82% de ganho de peso com relação ao padrão. A adição de metionina a esta dieta teve um resultado menos satisfatório (55% do peso do padrão) mas mesmo assim superior aos obtidos nas dietas com farinha crua, com e sem adição de metionina. Este resultado poderia ser explicado pela adição de uma quantidade de metionina inadequada às necessidades das larvas.

Na Figura 21, foram repetidas as dietas de farinha de feijão e soja cruas no mesmo nível (4%), obtendo-se praticamente os mesmos resultados: farinha de feijão cru 2,3% do padrão; com a adição de metionina, 3,5%, uma diferença muito pequena, comparada com a obtida com farinha de soja crua: 5,4% sem metionina e 16% com a sua adição na dieta.

Nas Figuras 22, 23 e 24, apresentamos os resultados da utilização de cereais como fonte proteica, suplementados com seu aminoácido limitante e também complementados com outra fonte proteica (dietas das Tabelas 10, 11 e 12). Devido à baixa porcentagem de proteína nas farinhas de arroz, milho e trigo integrais, utilizou-se 2% de proteína nestas dietas.

Arroz integral como fonte proteica na dieta, após 75 horas de ensaio, apresentou uma porcentagem de ganho de peso, relativo ao padrão, de 48%. A sua complementação com farinha de feijão autoclavada, nas proporções de 60% de farinha de arroz e 40% de farinha de feijão apresentou uma porcentagem de



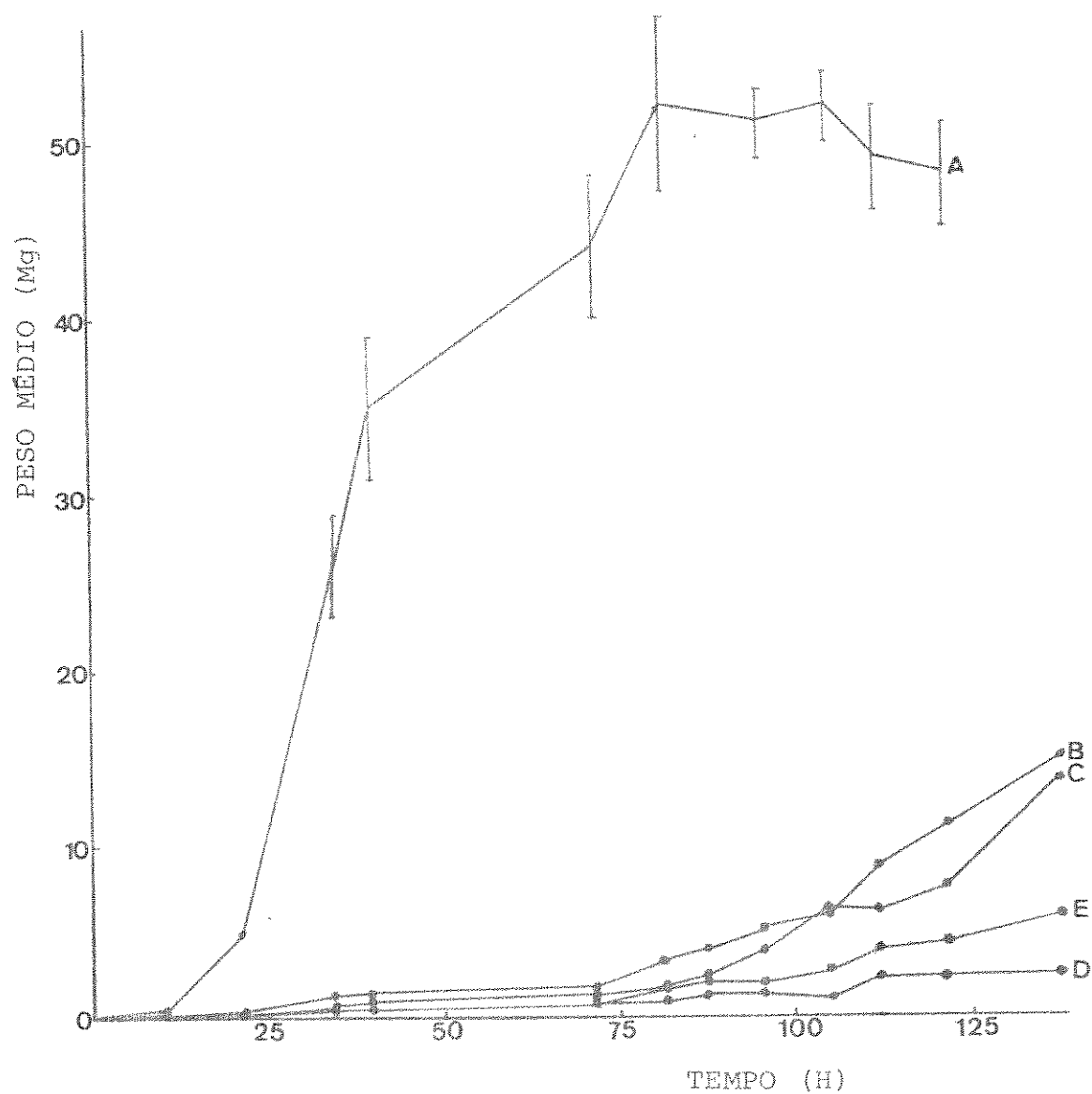


FIG. 22. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcassa; B 2% de caseína com RNA; C 2% de arroz com LIS e TRE; D 2% de arroz e feijão; E 2% de arroz.

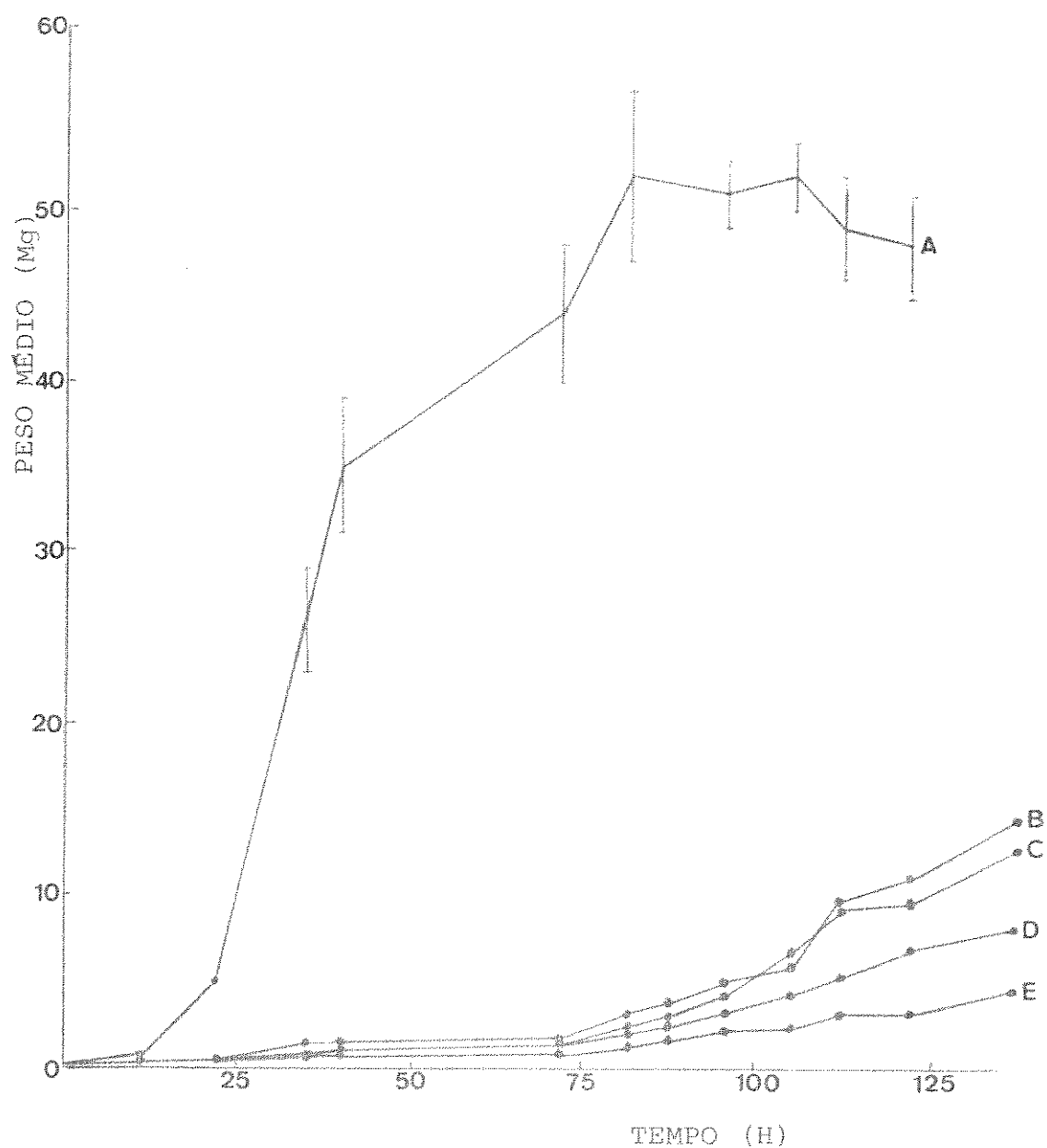


FIG. 23. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcassa; B 2% de caseína com RNA; C 2% de milho com LIS; D 2% de milho e soja; E 2% de milho.

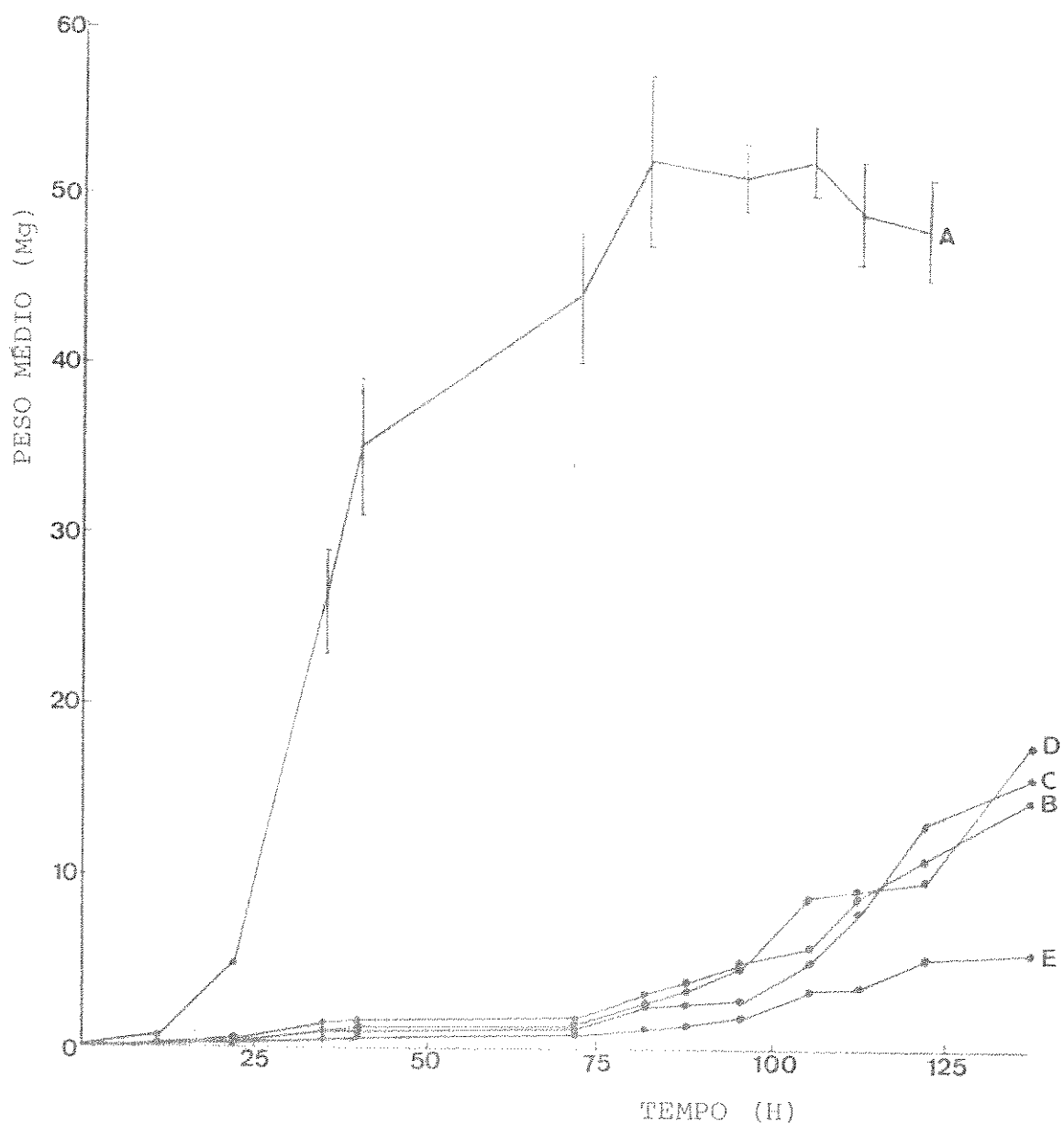


FIG. 24. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcassa; B 2% de caseína com RNA; C 2% de trigo com LIS; D 2% de trigo e soja; E 2% de trigo.

ganho de peso menor do que na dieta de arroz não complementada (35%), provavelmente devido a um balanço inadequado de aminoácidos na dieta. A suplementação da dieta de arroz com 0,2% de L-lisina e 0,2% de D,L-treonina apresentou uma porcentagem de ganho de peso superior às duas dietas anteriores (65%).

A proteína de milho integral, como única fonte proteica na dieta, após 75 horas produziu como resultado larvas com 39% do peso obtido com o padrão. A complementação desta dieta com farinha de soja autoclavada (40%) produziu a 75 horas, 65% de ganho de peso com relação ao padrão e a complementação de farinha de milho com 0,2% de L-lisina um valor ainda mais alto, de 78% do peso do padrão.

Nas dietas onde farinha de trigo integral foi utilizada como fonte proteica obtivemos em 75 horas de ensaio, 39% do peso com relação ao padrão. A complementação desta dieta com farinha de soja autoclavada apresentou 78% do peso do padrão e a suplementação com 0,1% de L-lisina 65%.

As porcentagens de aminoácidos e leguminosas adicionadas a estas dietas, foram obtidas dos trabalhos de BRESSANI & VALIENTE (1962) (arroz); BRESSANI (1975) (milho) e FAO (1970) (trigo). Estas porcentagens proporcionaram o maior ganho de peso nas dietas fornecidas a ratos. Acreditamos não serem estas as concentrações mais adequadas para a dieta das larvas. Nas dietas de arroz, a complementação com farinha de feijão, resultou num ganho de peso menor do que na dieta de arroz não complementada, ao contrário do que esperávamos. As dietas de

milho e trigo deram resultados melhores, tendo a suplementação com lisina na dieta de milho e a complementação com soja na dieta de trigo maior resposta mas, nestas duas dietas, tanto a suplementação quanto a complementação das dietas favoreceram o aumento do peso das larvas, como era esperado.

Um último ensaio foi realizado utilizando-se ovo integral liofilizado como fonte proteica (Tabela 13). Obtivemos respostas de crescimento das larvas (Figura 25) após 75 horas, superiores às obtidas com caseína em todos os níveis testados e superiores ao padrão no nível de 10%, embora não se tenha adicionado ácido ribonucleico ou seus produtos de hidrólise. Estes resultados (1,1% para 2% de proteína, 17,5% para 4% de proteína, 59% para 6% de proteína, 74% para 8% de proteína e 92% para 10% de proteína, com relação à carcaça) vêm confirmar que o desempenho da dieta, depende mais do balanço adequado de nutrientes do que das propriedades físicas ou ausência de fatores de crescimento na dieta.

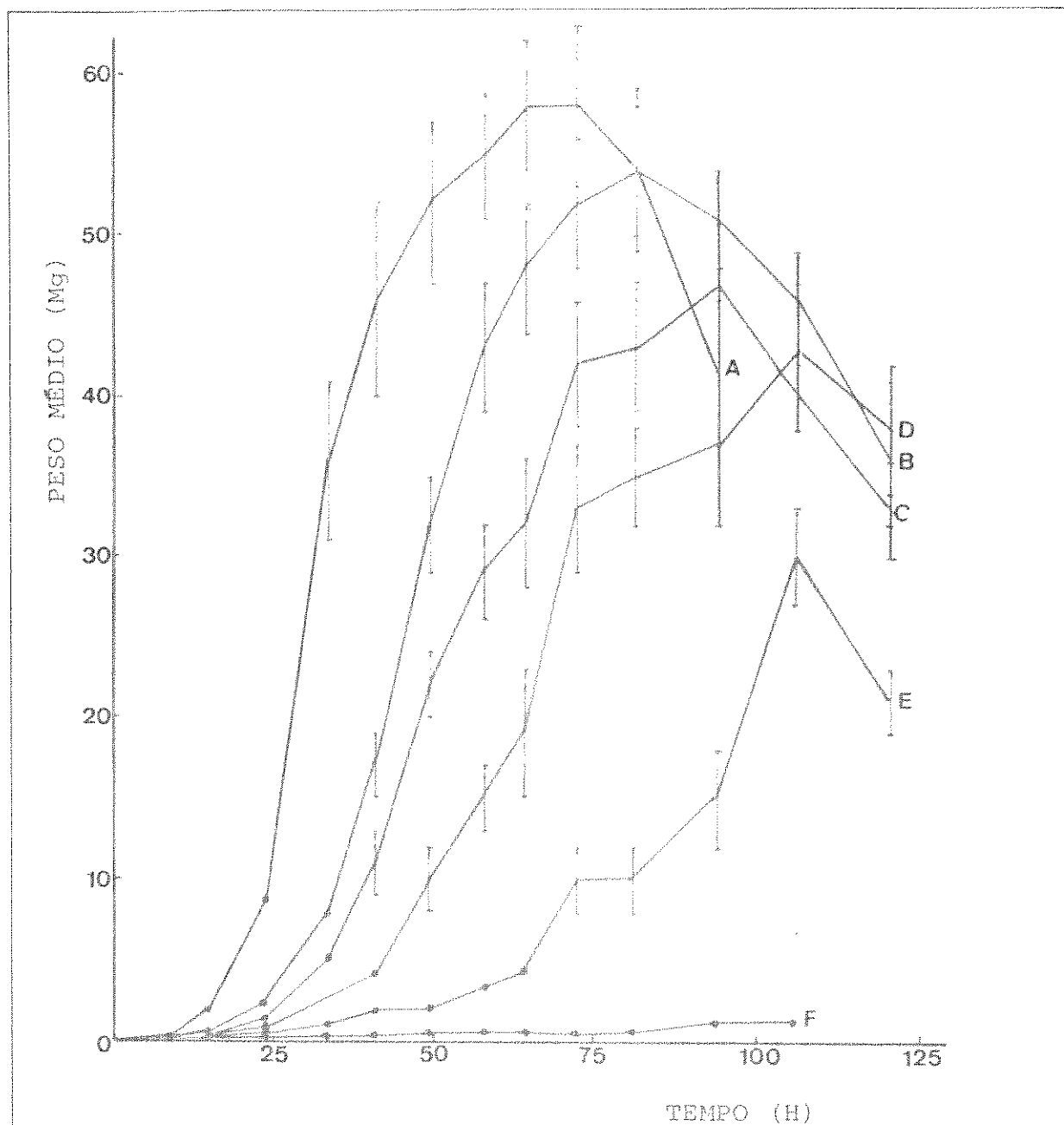


FIG. 25. Ensaio com larvas de *C. chloropyga* em: A carcça; B 10% de ovo integral; C 8% de ovo integral; D 6% de ovo integral; E 4% de ovo integral; F 2% de ovo integral.

CONCLUSÕES

Com a utilização de larvas pertencentes ao gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy, em ensaios para avaliar seu desempenho, através de medidas de peso corporal, podemos concluir que:

- 1) o rápido desenvolvimento destes insetos possibilita a realização de um grande número de ensaios, sem o emprego de técnicas sofisticadas, em um curto espaço de tempo, utilizando-se pequenas quantidades de amostra.
- 2) a espécie *Chrysomya chloropyga* mostrou-se mais adequada do que as espécies *Chrysomya albiceps* e *Chrysomya megacephala* a este trabalho, devido ao seu desempenho semelhante em carcaça e em dieta merídica.
- 3) a concentração de sólidos na dieta influi no crescimento destas larvas, não podendo exceder a 40%.
- 4) o crescimento das larvas é diretamente proporcional ao nível de proteína da dieta.
- 5) ácido ribonucleico e suas bases nitrogenadas são necessários ao desenvolvimento destas larvas.
- 6) diferentes fontes proteicas (provenientes de duas leguminosas e de três cereais) utilizadas em dietas com o mesmo nível de proteína (respectivamente 4 e 2%) produzem diferenças no crescimento das larvas.

7) há diferença no crescimento das larvas, utilizando-se dietas de leguminosas cruas e tratadas termicamente.

8) há diferença no crescimento das larvas, utilizando-se dietas de leguminosas (tratadas termicamente) e cereais, como fonte proteica, suplementadas ou não com seus respectivos aminoácidos limitantes.

9) não há diferença no crescimento das larvas, utilizando-se dietas contendo farinha de feijão crú como fonte proteica, suplementadas ou não com metionina. Entretanto, na dieta de soja há resposta à suplementação com metionina.

10) a complementação de cereais com leguminosas produz diferentes respostas de crescimento destas larvas.

11) ovo integral é uma fonte proteica superior à caseína para o desenvolvimento destas larvas.

12) estas características são favoráveis para o estabelecimento de um novo método de avaliação de qualidade proteica. Torna-se necessário porém, maior conhecimento das necessidades nutricionais quantitativas desta larva, o estudo de outras medidas para avaliação de desempenho bem como um número de ensaios maior e mais variado. Isto permitirá comparações com os testes atualmente empregados na avaliação de qualidade de proteínas e conseqüentemente, o estabelecimento de novo método de avaliação nutricional de proteínas.

BIBLIOGRAFIA

- ALLISON, J.B. Biological evaluation of proteins. In: ANSON, M.L. & EDSALL, J.T., ed. Advances in protein chemistry. New York, 1949 vol. v, p 155.
- _____. _____. Physiol. Rev. 35: 664, 1955.
- ANDERSON, R.H. Protein quality testing; industry needs. Fd. Tech. 32: 65, 1978.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th. Washington, A.O.A.C., 1975. p 927.
- BAXTER, J.A.; MJENI, A.M. & MORRISON, P.E. Expression of autogeny in relation to larval population density of *Sarcophaga bullata* Parker (Diptera: Sarcophagidae). Can. J. Zool. 51: 1189, 1973.
- BENDER, A.E. Newer methods of assessing protein quality. Chem. Ind. July: 904, 1969.
- _____. & DOELL, B.H. Biological evaluation of proteins: a new aspect. Br. J. Nutr. 11: 140, 1957.
- _____. & MILLER, D.S. New brief method of estimating net protein value. Biochem. J. 53: vii, 1953.
- BLOCK, R.J. & MITCHELL, H.H. The correlation of the amino acid composition of proteins with their nutritive value. Nutr. Abstr. Rev. 16: 249, 1946.

- BODWELL, C.E. Problems in the development and application of rapid methods of assessing protein quality. *Fd. Tech.* 31: 73, 1977.
- BOYNE, A.W.; PRICE, S.A.; ROSEN, G.D. & STOTT, J.A. Protein quality of feeding stuffs. *Br. J. Nutr.* 18: 545, 1964.
- BRESSANI, R. Nutritional contribution of soy protein to food systems. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 52: 254A, 1975.
- _____. & VALIENTE, A.T. All vegetable mixture for human feeding. VII. Protein complementation between polished rice and cooked black beans. *J. Fd. Sci.* 27: 401, 1962.
- BROOKES, V.J. & FRAENKEL, G. The nutrition of the larva of the house fly, *Musca domestica* L. *Physiol. Zool.* 31: 208, 1958.
- BRUST, M. FRAENKEL, G. The nutritional requirements of the larva of a blowfly, *Phormia regina* (Meig.). *Physiol. Zool.* 28: 186, 1955.
- BURSELL, E. Introducción a la fisiología de los insectos. Esp: 1974.
- CARPENTER, K.J. The estimation of available lysine in animal protein foods. *Biochem. J.* 77: 604, 1960.
- CHANG, J.T. & WANG, M.Y. Nutritional requirements of the common house fly, *Musca domestica vicina* Macq. *Nature* 181: 566, 1958.
- CHAPMAN, R.G.; CASTILLO, R. & CAMPBELL, J.A. Evaluation of protein in foods. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 679, 1959.

- DAVIS, M.G. & THOMAS, A.I. An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid analysis of foodstuffs. J. Sci. Fd. Agric. 24: 1525, 1973.
- DAVIS, G.R.F. Protein nutrition of *Tenebrio molitor* L. X. Improvement of the nutritional value of lactalbumin by supplementation with amino acids. Arch. Int. Physiol. Biochim. 77: 741, 1969.
- _____. Evaluation of the nutritional value of protein of rapeseed and yellow mustard seed by larvae of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor* L. Arch. Int. Physiol. Biochim. 82: 141, 1974.
- _____. Essential dietary amino acids for growth of larvae of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor* L. J. Nutr. 105: 1071, 1975.
- _____. & SOSULSKI, F.W. Protein nutrition of *Tenebrio molitor* L. XVI. Effects of dietary protein concentration of larvae of race F. Arch. Int. Physiol. Biochim. 81: 661, 1973.
- DERSE, P.H. Evaluation of protein quality (biological method). J. Assn. Offic. Anal. Chem. 45: 418, 1962.
- DORMAN, S.C.; HALE, W.C. & HOSKINGS, W.M. The laboratory rearing of flesh flies and the relation between temperature, diet and egg production. J. Econ. Ent. 31: 44, 1938.
- DRYDEN, M.J.; KENDRICK, J.G.; SATTERLEE, L.D.; SCHROEDER, L.J. BLOCK, R.G. Predicting protein digestibility and quality

using an enzyme *Tetrahymena pyriformis* W bioassay. J. Fd. Biochem. 1: 35, 1977.

DVORÁK, Z. Availability of essential amino acids from proteins I. Beef serum albumin. II. Food proteins. J. Sci. Fd. Agri. 19: 71, 1968.

EGGUM, B.O. The level of blood amino acids and blood urea as indicators of protein quality. In: PORTER, J.W.G. & ROLLS, B.A. ed. Proteins in human nutrition. New York, 1973. p 31

EVANCHO, G.M.; HURT, H.D.; DELVIN, P.A.; LANDERS, R.E. & ASHTON D.H. Comparision of *Tetrahymena pyriformis* W and rat bioassays for the determination of protein quality. J. Fd. Sci. 42: 444, 1977.

FAO, Roma Necesidades calóricas. Informe del segundo comité para el estudio de las necesidades calóricas. Estudios sobre nutrición n° 15, 1957.

_____. Amino acid content of foods. Nutritional studies. Food policy and food service, Nutrition Division n° 24, 1970

FAO/OMS, Ginebra Necesidades de energía y de proteínas. FAO: reuniones sobre nutrición n° 52. OMS: série de informes técnicos n° 522, 1973.

FORD, J.E. A microbiological method for assessing the nutritional value of proteins. Br. J. Nutr. 14: 485, 1960.

_____. A microbiological method for assessing the nutritional

- value of proteins. II. The measurement of "available" methionine, leucine, isoleucine, arginine, histidine, tryptophan and valine. Br. J. Nutr. 16: 409, 1962.
- GUIMARÃES, J.H.; PRADO, A.P. & LINHARES, A.X. Three newly introduced blowfly species in southern Brazil (Diptera, calliphoridae). Rev. Bras. Ent. 22: 53, 1978.
- _____.; _____. & BURALLI, G.M. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera: calliphoridae). Rev. Bras. Ent. 23: 249, 1980.
- GREENBERG, B. Flies and disease. New Jersey, Princeton University Press, vol. I e II, 1973.
- HACKLER, L.R. In vitro indices: Relationship to estimating protein value for the human. In: BODWELL, C.E. ed. Evaluation of proteins for humans. Westport, Connecticut, The AVI publishing Co., Inc., 1977a p 55.
- _____. Methods of measuring protein quality: a review of bioassay procedures. Cereal Chem. 54: 984, 1977b.
- HAENEL, H. & KHARATYAN, S.G. Some observations on the use of microbiological techniques for the determination of protein quality. In: PORTER, J.W.G. and ROLLS, B.A. ed. Proteins in human nutrition. New York, 1973. p 195.
- HALEVY, S. & GROSSOWICZ, N. A microbiological approach to

nutritional evaluation of proteins. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82: 567, 1953.

HAMMEN, C.S. Nutrition of *Musca domestica* in single pair culture. Ann. Ent. Soc. Amer. 49: 365, 1956.

HAYS, S.B. & AMERSON, G.M. New devices for rearing and handling house flies in the laboratory. J. Econ. Ent. 59: 1523, 1966.

HEGSTED, D.M. & CHANG, Y.O. Protein utilization in growing rats I. Relative growth index as an assay procedure. J. Nutr. 85: 159, 1965a.

_____. & _____. Protein utilization in growing rats at different levels of intake. J. Nutr. 87: 19, 1965b.

_____. & NEFF, R. Efficiency of protein utilization in young rats at various levels of intake. J. Nutr. 100: 1173, 1970.

_____; _____. & WORCESTER, J. Determination of the relative nutritive value of proteins. Factors affecting precision and validity. J. Agr. Fd. Chem. 16: 190, 1968.

HENRY, K.M. A comparison of biological methods with rats for determining the nutritive value of proteins. Br. J. Nutr. 19: 125, 1965.

_____. & KON, S.K. Effect of level of protein intake and age of rat on the biological value of proteins. Br. J. Nutr. 11: 305, 1957.

HILL, D.L.; BELL, V.A. & CHADWICK, L.E. Rearing of the blowfly, *Phormia regina* Meigen, on a sterile synthetic diet. Ann. Ent.

Soc. Amer. 40: 213, 1947.

HINTON, H.E. Notes on neglected phases in metamorphosis, and a reply to J. M. Whitten. Ann. Ent. Soc. Amer. 69: 560, 1976.

HOBSON, R.P. Studies on the nutrition of blow-fly larvae. I. Structure and function of the alimentary tract. J. Exp. Biol. 8: 109, 1931.

_____. Studies on the nutrition of blow-fly larvae. II. Role of the intestinal flora in digestion. J. Exp. Biol. 9: 128, 1932a.

_____. Studies on the nutrition of blow-fly larvae. III. The liquefaction of muscle. IV. The normal role of micro-organisms in larval growth. J. Exp. Biol. 9: 359, 1932b.

_____. CLV: Growth of blow-fly larvae on blood and serum. II. Growth in association with bacteria. Biochem. J. 29: 1286, 1935a.

_____. CLVI. On a fat-soluble growth factor required by blow fly larvae. I. Distribution and properties. Biochem. J. 29: 1292, 1935b.

HODGSON, E.; DAUTERMAN, W.C.; MEHENDALE, H.M.; SMITH, E. & KHAN, M.A.Q. Dietary choline requirements, phospholipids and development in *Phormia regina*. Comp. Biochem. Physiol. 29: 343, 1969.

HOUSE, H.L. Nutrition. IN: ROCKSTEIN, ed. The physiology of insecta. 2th ed. New York, Academic Press, 1974, vol V, p 1

- HOUSE, H.L. & BARLOW, J.S. Vitamin requirements of the house fly *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 51: 299, 1958.
- IMBIRIBA, A.S.; IZUTANI, D.T.; MILHORETO, I.T. & LUZ, E. Introdução da *Chrysomya chloropyga* (Wiedmann, 1818) na região neotropical (Diptera, Calliphoridae). Arch. Biol. Tec. 20: 35, 1978.
- KASTING, R. & MCGINNIS, A.J. Use of glucose labelled with carbon-14 to determine the amino-acids essential for an insect. Nature (London) 182: 1380, 1958.
- LANDERS, R.E. Relationship between protein efficiency ratio of foods and relative nutritive value measured by *Tetrahymena pyriformis* W. Bioassay techniques. IN: FRIEDMAN, M. ed. Protein nutritional quality of foods and feeds, Part I. Assay methods biological, biochemical and chemical. New York, Marcel Dekker, 1975. p 185.
- LECLERQ, J. & De BAST, D. Project d'utilisation des larves de *Tenebrio molitor* pour comparer la valeur nutritive des protéines. Ann. Nutr. Alim. 19: 18, 1965.
- LEVINSON, Z.H. & BERGMANN, E.D. Steroid utilization and fatty acid synthesis by the larva of the house fly *Musca vicina* Macq. Biochem. J. 65: 254, 1957.
- LEVOT, G.W.; BROWN, K.R. & SHIPP, P.E. Larval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. Bull. Ent. Res. 69: 469, 1979.

- LIENER, I.E. Protease inhibitors and hemmagglutinins of legume
IN: BODWELL, C.E. ed. Evaluation of proteins for humans.
Westport, Connecticut, The AVI publishing Co., Inc., 1977. p
- LILLEVIK, H.A. The determination of total organic nitrogen. I
JOSLYN, M.A. ed. Methods in food analysis. 2th ed. New Yo
Academic Press, 1970. p 601.
- LONGENECKER, J.B. & HAUSE, N.L. Relationship between plasma am
acids and composition of the ingested protein. Arch. Bioche
Biophys. 84: 46, 1959.
- LUNDER, T.L. An improved method for the colorimetric determina
of methionine in acid hydrolysates of biological products.
Alim. 12: sp, 1973.
- MACKERRAS, M.J. Observations on the life-histories, nutritiona
requirements and fecundity of blowflies. Bull. Ent. Res. 24
353, 1933.
- MAURON, J. The analysis of food proteins, amino acid compositi
and nutritive value. IN: PORTER, J.W.G. & ROLLS, B.A. ed.
Proteins in human nutrition. New York, Academic Press, Inc.
1973. p 139.
- MCGINNIS, A.J.; NEWBURGH, R.W. & CHELDELIN, V.H. Nutritional
studies on the blowfly, *Phormia regina* (Meig.) J. Nutr. 58:
309, 1956.
- MCLAUGHLAN, J.M. Effects of protein quality and quantity on
protein utilization. IN: ALBANESE, A.A. ed. Newer methods

in nutritional biochemistry. New York, Academic Press, Inc.,
1972. vol. v, p 33.

- McLAUGHLAN, J.M. & KEITH, M.O. Biossays for protein quality.
IN: FRIEDMAN, M. ed. Protein nutritional quality of foods
and feeds, Part I. Assay methods biological, biochemical and
chemical. New York, Marcel Dekker, 1975. vol. I, p 79.
- MELNICK, D.; OSER, B.L. & WEISS, S. Rates of enzymic digestion of
proteins as a factor in nutrition. Science 103: 326, 1946.
- MICHELbacher, A.E.; HOSKINS, W.M. & HERMS, W.B. The nutrition
of the flesh fly larvae, *Lucilia sericata* Meig. J. Exp. Zool
64: 109: 1932.
- MILLER, D.S. & BENDER, A.E. The determination of the net utilization
of proteins by a shortened method. Br. J. Nutr. 9: 382,
1955.
- MILLER, D.D. & PAYNE, P.R. Problems in the prediction of protein
values of diets: the influence of protein concentration. Br.
J. Nutr. 15: 11, 1961.
- MILLER, G.A. & LACHANCE, P.A. Techniques in rat bioassays. IN:
BODWELL, C.E. ed. Evaluation of proteins for humans. Westport
Connecticut, The AVI publishing Co., Inc., 1977. p 149.
- MITCHELL, H.H. A method of determining the biological value of
proteins. J. Biol. Chem. 58: 873, 1924.
- _____. Determination of the nutritive value of the proteins
of food products. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 16: 696, 1944.

- MITCHELL, H.H. The wastage of nutrients in metabolism: proteins and amino acids. IN: Comparative nutrition of man and domestic animals. New York, Academic Press, 1964. vol. II, p 567.
- MURLIN, J.R.; SZYMANSKI, T.A. & NASSET, E.C. Creatinine nitroge percentage as a check on the biological value of proteins. J. Nutr. 36: 171, 1948.
- NAGASAWA, S. & ASANO, S. An inbreeding method of rearing the house fly. J. Econ. Ent. 56: 714, 1963.
- OSBORNE, T.B.; MENDEL, L.B. & FERRY, E.L. A method of expressin numerically the growth promoting value of proteins. J. Biol. Chem. 37: 223, 1919.
- OSER, B.L. Method for integrating essential amino acid content in the nutritional evaluation of protein. J. Amer. Diet. Ass 27: 396, 1951.
- PATTON, P.L. Insect nutrition. IN: Introductory insect physi-ology. Philadelphia, W B Saunders, 1963, p 7.
- PELLETT, P.L. Methods of protein evaluation with rats, I. IN: PORTER, J.W.G. & ROLLS, B.A. ed. Proteins in human nutrition New York, Academic Press, Inc., 1973. p 225.
- _____. Protein quality evaluation revised. Fd. Tech. 32: 60, 1978.
- RASSO, S.C. & FRAENKEL, G. The food requirements of the adult female blow-fly, *Phormia regina* (Meig.) in relation to

- ovarian development. Ann. Ent. Soc. Amer. 47: 636, 1954.
- RICHARDSON, H.H. An efficient medium for rearing houseflies throughout the year. Sci. 76: 350, 1932.
- ROMOSER, W.S. The science of entomology. New York, Mac Millan Publishing Co., 1973.
- ROSE, W.C. The nutritive significance of the amino acids. Physiol. Rev. 18: 109, 1938.
- _____. Amino acid requirements of man. Fed. Proc. 18: 516, 1949.
- SAID, A.K. & HEGSTED, D.M. Evaluation of dietary protein quality in adult rats. J. Nutr. 99: 474, 1969.
- SAMONDS, K.W. & HEGSTED, D.M. Animal bioassays: a critical evaluation with specific reference to assessing nutritive value for the human. IN: BODWELL, C.E. ed. Evaluation of proteins for humans. Westport, Connecticut, The AVI publishing Co., 1977. p 68.
- SCRIMSHAW, N.S. Protein metabolism and related problems in human nutrition. Fd. Tech. 16: 26, 1962.
- SEDEE, J.W. Qualitative vitamin requirements for growth of larvae of *Calliphora erythrocephala* (Meig.). Exper. 9: 142, 1953.
- _____. Qualitative amino acid requirements of larvae of *Calliphora erythrocephala* (Meig.). Acta Physiol. Pharmacol. Neerl. 3: 262, 1954.

- SHIPP, E. & OSBORN, A.W. The effect of protein sources and of the frequency of egg production by the house fly (*Musca domestica* L.). Bull. World Health Organ. 37: 331, 1967.
- SHORROCK, C. & FORD, J.E. An improved procedure for the determination of available lysine and methionine with *Tetrahymena*. IN: PORTER, J.W.G. & ROLLS, B.A. ed. Proteins in human nutrition. New York, Academic Press Inc., 1973. p 207.
- SILVERMAN, P.H. & LEVINSON, Z.H. Lipid requirements of the larva of the house fly *Musca vicina* (Macq.) reared under non-aseptic conditions. Biochem. J. 58: 29, 1954.
- SINGH, P. Artificial diets for insects, mites and spiders. IFI/Plenum data company, 1977.
- SMITH, E. & KHAN, A.Q. Dietary choline requirements, phospholipids and development in *Phormia regina*. Comp. Biochem. Physiol. 29: 343, 1969.
- SPRADBERY, J.P. & SCHWEIZER, E. Ingestion of food by the adult screw-worm fly, *Chrysomya bezziana* (Diptera, Calliphoridae). Ent. Exp. Appl. 25: 75, 1979.
- SPIELMAN, A. Bionomics of autogenous mosquitoes. Ann. Rev. Ent 16: 231, 1971.
- SPILLER, O. Nutrition and diet of muscoid flies. Bull. World Health Organ. 31: 551, 1964.

- STAUB, H.W. Problems in evaluating the protein nutritive quality of complex foods. *Fd. Tech.* 32: 57, 1978.
- STEINKE, F.H. Protein efficiency ratio pitfalls and causes of variability: a review. *Cereal Chem.* 54: 949, 1977.
- STOFFOLANO, J.G. Jr. Influence of diapause and diet on the development of the gonads and accessory reproductive glands of the black blowfly *Phormia regina* (Meigen.). *Can. J. Zool.* 52: 981, 1974.
- STUKI, W.P. HARPER, A.E. Effect of altering the ratio of indispensable to dispensable amino acids in diets for rats. *J. Nutr.* 78: 278, 1962.
- TRAGER, W. Insect nutrition. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.* 22: 148, 1947.
- WOLLMAN, E. Biologie de la mouche domestique et des larves de mouches a viande, en élevages aseptiques. *Ann. Inst. Pasteur* 36: 784, 1922.
- YOUNG, V.R.; RAND, W.M. & SCRIMSHAW, N.S. Measuring protein quality in humans: a review and proposed method. *Cereal Chem.* 54: 929, 1977.

7. ANEXO

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - leite + levedura

Tempo (h)	Peso médio (mg)		σ	
	I	II	I	II
0,00	0,1	0,1	-	-
8,35	0,5	0,6	-	-
21,50	6,5	2,7	-	-
33,40	2	7,0	6	-
37,45	35	15	5	4
41,10	47	19	4	4
57,45	55	36	6	5
62,25	61	37	6	6
73,40	59	45	6	6
78,20	57	48	6	3
89,25	53	47	5	4
132,15	36 ^p	29 ^p	4	4

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya albiceps

I - carcaça

II - leite + levedura

Tempo (h)	Peso médio (mg)		σ	
	I	II	I	II
0,00	0,1	0,1	-	-
15,50	0,6	0,2	-	-
31,30	13	0,9	2	-
41,20	41	1,4	5	-
53,10	56	2,4	3	-
76,00	75	2,3	6	-
91,55	84	morreram	5	
111,30	96		6	
149,15	89		6	

 σ desvio padrão

Chrysomya megacephala

I - carcaça

II - leite + levedura

Tempo (h)	Peso médio (mg)		σ	
	I	II	I	II
0,00	0,1	0,1	-	-
10,30	0,5	0,2	-	-
26,25	5,5	0,9	-	-
30,00	9	1,5	1	-
37,15	33	3,8	3	-
49,15	40	4,2	5	-
58,15	56	11,1	7	2
75,15	56	26	3	4
84,30	55	27	3	5
110,20	54	32	3	4
144,30	42	38	3	2

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 2% leite

III - 2% leite + levedura

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
17,00	0,9	0,2	0,2	-	-	-
26,30	8	0,9	0,5	-	-	-
31,30	12	1,0	0,4	2	-	-
37,30	23	1,3	0,6	4	-	-
43,00	32	2,0	0,8	2	-	-
49,00	40	3,8	1,0	4	-	-
57,30	48	5,3	1,0	3	-	-
65,00	54	5,6	2,8	4	-	-
73,00	54	5,5	3,9	3	-	-
81,30	56	7,0	4,5	3	-	-
89,00	48 ^p	8,0	5,0	3	-	-
107,30		11	5,2		1	-
115,00		10	6,8		1	-

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 4% leite + levedura

III - 4% leite

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
17,00	0,9	0,4	0,4	-	-	-
26,30	8	1,0	1,1	-	-	-
31,30	12	1,6	1,1	2	-	-
37,30	13	3,3	1,7	4	-	-
43,00	32	5,3	2,4	2	-	-
49,00	40	7,3	7,0	4	-	-
57,30	48	10	9	3	1	2
65,00	54	19	17	4	2	2
73,00	54	31	24	3	3	4
81,30	56	37	28	3	4	3
89,00	48P	40	30	3	3	4
107,30		44	33		4	3
115,00		39	29		4	4

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 6% leite + levedura

III - 6% leite

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
17,00	0,9	0,2	0,2	-	-	-
26,30	8	0,7	0,3	-	-	-
31,30	12	1,6	0,3	2	-	-
37,30	23	1,7	0,3	4	-	-
43,00	32	1,8	0,5	2	-	-
49,00	40	5,7	0,5	4	-	-
57,30	48	8,0	morreram	3	-	-
65,00	54	9		4	1	
73,00	54	13		3	2	
81,30	56	19		3	3	
89,00	48 ^P	24		3	2	
107,30		36			4	
115,00		30			3	

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 2% caseína + levedura
 III - 2% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
12,55	0,7	0,2	0,1	-	-	-
19,25	1,7	0,2	0,1	-	-	-
30,55	9	0,4	0,2	2	-	-
37,25	22	0,5	0,2	2	-	-
44,55	35	0,6	morreram	4	-	-
54,25	49	0,9		4	-	
61,40	54	0,9		4	-	
68,55	56	1,3		3	-	
81,25	52	1,3		2	-	
86,55	52	1,8		3	-	
93,25	52	1,8		2	-	
109,25	44 ^p	1,8		3	-	
124,55		2,5			-	

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 4% caseína + levedura
 III - 4% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
12,55	0,7	0,2	0,2	-	-	-
19,25	1,7	0,4	0,2	-	-	-
30,55	9	0,8	0,2	2	-	-
37,25	22	1,8	0,2	2	-	-
44,55	35	2,4	0,3	4	-	-
54,25	49	5,0	0,3	4	-	-
61,40	54	6,0	0,4	4	-	-
68,55	56	14	0,5	3	2	-
81,25	52	23	1,1	2	4	-
86,55	52	26	morreram	3	3	
93,25	52	26		2	3	
109,25	44 ^p	41		3	4	
124,25		32			3	
		20 ^p			3	

p pupa

σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 6% caseína + levedura
 III - 6% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
12,55	0,7	0,2	0,2	-	-	-
19,25	1,7	0,3	0,2	-	-	-
30,55	9	1,0	0,2	2	-	-
37,25	22	2,0	0,3	2	-	-
44,55	35	1,8	0,3	4	-	-
54,25	49	4,6	0,3	4	-	-
61,40	54	8	0,4	4	2	-
68,55	56	12	0,7	3	2	-
81,25	52	28	2,8	2	3	-
86,55	52	30	3,9	3	2	-
93,25	52	32	4,6	2	2	-
109,25	44 ^p	42	11	3	3	1
124,25		31	18		2	2

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 8% caseína + levedura
 III - 8% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
12,55	0,7	0,6	0,2	-	-	-
19,25	1,7	1,0	0,2	-	-	-
30,55	9	4,2	0,4	2	-	-
37,25	22	8,3	0,4	2	-	-
44,55	35	16	0,6	4	2	-
54,25	49	27	0,5	4	3	-
61,40	54	34	0,5	4	3	-
68,55	56	39	0,8	3	3	-
81,25	52	52	2,6	2	4	-
86,55	52	51	4,1	3	3	-
93,25	52	48	5,7	2	4	-
109,25	44 ^p	48	16	3	5	4
124,25			48		3	3

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 10% caseína + levedura
 III - 10% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
12,55	0,7	0,4	0,2	-	-	-
19,25	1,7	0,8	0,3	-	-	-
30,55	9	1,5	0,3	2	-	-
37,25	22	3,5	0,4	2	-	-
44,55	35	5,2	0,5	4	-	-
54,25	49	9	0,7	4	2	-
61,40	54	12	1,2	4	2	-
68,55	56	15	1,5	3	4	-
81,25	52	25	4,4	2	3	-
86,55	52	29	5,2	3	3	-
93,25	52	36	8	2	4	2
109,25	44 ^p	47	23	3	4	2
124,25		32	42		4	5

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 2% caseína + RNA

III - 2% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
13,30	0,8	0,3	0,2	-	-	-
22,15	4,7	0,7	0,2	-	-	-
31,45	23	1,0	0,2	2	-	-
38,40	--	1,7	0,4	-	-	-
45,45	33	2,5	0,4	3	-	-
56,15	35	4,0	0,5	4	-	-
64,15	45	5,4	0,8	4	-	-
84,00	48	12	1,5	2	2	-
94,00	51	13	1,4	2	1	-
108,30	34 ^p	19	1,8	4	3	-
116,00		16	2,4		3	-

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 4% caseína + RNA

III - 4% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
13,30	0,8	0,5	0,2	-	-	-
22,15	4,7	1,0	0,4	-	-	-
31,45	23	2,4	0,5	2	-	-
38,40	--	3,6	0,6	-	-	-
45,45	33	6,1	1,2	3	-	-
56,15	35	14	1,7	4	2	-
64,15	45	22	2,4	4	2	-
84,00	48	30	12	2	3	2
94,00	51	34	11	2	3	2
108,30	34 ^p	32	23	4	3	4
116,00		28	19		2	2

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 6% caseína + RNA

III - 6% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
13,30	0,8	0,6	0,3	-	-	-
22,15	4,7	1,2	0,5	-	-	-
31,45	23	3,1	0,6	2	-	-
38,40	---	4,8	0,9	-	-	-
45,45	33	9,1	1,3	3	0,4	-
56,15	35	17	2,2	4	1	-
64,15	45	25	3,4	4	2	-
84,00	48	33	11	2	3	2
94,00	51	33	17	2	2	2
108,30	34 ^p	28	25	4	3	3
116,00		29	19		2	2

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 8% caseína + RNA

III - 8% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
13,30	0,8	0,5	0,2	-	-	-
22,15	4,7	1,3	0,2	-	-	-
31,45	23	3,2	0,3	2	-	-
38,40	--	5,2	0,8	-	-	-
45,45	33	12	1,3	3	1	-
56,15	35	24	2,1	4	3	-
64,15	45	30	2,7	4	3	-
84,00	48	42	14	2	3	2
94,00	51	43	22	2	3	2
108,30	34 ^p	39	35	4	2	4
116,00		37	30		3	2

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

I - carcaça

II - 10% caseína + RNA

III - 10% caseína

Tempo (h)	Peso médio (mg)			σ		
	I	II	III	I	II	III
0,00	0,1	0,1	0,1	-	-	-
13,30	0,8	0,5	0,4	-	-	-
22,15	4,7	1,3	0,9	-	-	-
31,45	23	4,0	2,0	2	-	-
38,40	--	7,2	3,1	-	-	-
45,45	33	16	5,1	3	1	-
56,15	35	30	11	4	2	1
64,15	45	35	17	4	3	2
84,00	48	42	30	2	5	4
94,00	51	47	33	2	2	2
108,30	34 ^p	43	36	4	4	2
116,00		40	35		2	2

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 4% feijão autoclavado + MET
 III - 4% caseína + RNA
 IV - 4% feijão autoclavado
 V - 4% feijão cru + MET
 VI - 4% feijão cru

Tempo (h)	Peso médio (mg)						σ						
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	
0,00	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	
13,25	1,1	0,3	0,4	0,3	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	
19,40	3,7	0,6	0,9	0,4	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	
29,40	18	1,4	2,2	0,6	0,2	0,2	2	-	-	-	-	-	
35,40	28	2,0	3,4	1,0	0,3	0,3	2	-	-	-	-	-	
43,10	30	3,6	4,8	1,4	0,3	0,3	1	-	0,8	-	-	-	
53,55	34	7,6	11	3,2	0,4	0,4	3	0,8	1	-	-	-	
60,25	39	11	20	4,0	0,5	0,5	2	3	3	-	-	-	
67,55	47	17	24	6,6	0,7	0,6	3	2	2	0,9	-	-	
78,55	48	34	27	9	0,6	0,6	2	2	2	1	-	-	
84,55	50	31	27	13	0,9	0,8	3	3	2	2	-	-	
92,40	51	31	28	17	0,8	0,9	3	2	2	2	-	-	
102,55	49	35	28	18	1,2	1,0	3	3	2	2	-	-	
126,55	33 ^p	25	24	23	1,7	1,1	3	2	2	2	-	-	

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 6% soja autoclavada + MET
 III - 6% soja autoclavada
 IV - 6% caseína + RNA
 V - 6% soja crua + MET
 VI - 6% soja crua

Tempo (h)	Peso médio (mg)						σ					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
0,00	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-
13,25	1,1	0,2	0,2	0,6	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-
19,40	3,7	0,2	0,3	1,3	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-
29,40	18	0,8	0,7	5,0	0,6	0,4	2	-	-	-	-	-
35,40	28	1,3	0,7	6,0	0,7	0,5	2	-	-	-	-	-
43,10	30	1,7	2,5	11	1,0	0,7	1	-	-	2	-	-
53,55	34	4,3	5,6	22	2,2	1,0	3	-	-	2	-	-
60,25	39	6,3	9	27	3,2	1,1	2	-	1	3	-	-
67,55	47	11	18	31	4,4	1,6	3	1	3	2	-	-
78,55	48	22	31	34	6	1,6	2	2	3	2	1	-
84,55	50	25	33	37	7,4	2,2	3	3	4	4	0,9	-
92,40	51	41	42	39	10	3,0	3	4	4	4	2	-
102,55	49	44	40	36	13	3,3	3	3	3	3	2	-
126,55	33 ^p	37	34	32	28	6,8	3	5	4	2	5	-

p pupa

 σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
- II - 4% caseína + RNA
- III - 4% soja crua + MET
- IV - 4% soja crua
- V - 4% feijão cru + MET
- VI - 4% feijão cru + MET

Tempo (h)	Peso médio (mg)						σ					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	V
0,00	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-
9,30	0,5	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-
15,00	2,0	0,7	0,2	0,3	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-
23,50	8,7	1,0	0,4	0,3	0,3	0,2	-	-	-	-	-	-
33,45	36	4,6	0,8	0,4	0,5	0,3	5	-	-	-	-	-
40,50	46	5,4	1,0	0,5	0,5	0,3	6	-	-	-	-	-
49,30	52	14	1,3	0,9	0,9	0,4	5	4	-	-	-	-
57,50	55	21	1,7	1,2	0,8	0,4	4	4	-	-	-	-
64,40	58	25	1,9	1,1	0,7	0,5	4	4	-	-	-	-
72,30	58	25	4,0	1,2	0,8	0,6	5	3	-	-	-	-
81,45	54	29	4,5	1,4	0,8	0,5	5	2	-	-	-	-
94,05	41 ^p	30	6,4	1,5	0,9	0,6	5	4	-	-	-	-
106,00		35	7,8	1,1	1,1	0,6		2	-	-	-	-
120,20		25	6,1	-	-	0,2		4	-	-	-	-

p pupa

σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 2% caseína + RNA
 III - 2% arroz integral + 0,2% LIS + 0,2% TRE
 IV - 2% arroz integral
 V - 2% arroz + feijão integrais

Tempo (h)	Peso médio (mg)					σ			
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV
0,00	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-
11,00	0,6	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	-	-
22,10	5,0	0,5	0,4	0,3	0,4	-	-	-	-
35,00	26	1,4	0,8	0,4	0,5	3	-	-	-
40,15	35	1,6	1,0	0,6	0,6	4	-	-	-
72,00	44	1,8	1,3	0,8	0,8	4	-	-	-
82,00	52	3,3	1,8	1,6	0,9	5	-	-	-
88,10	--	3,9	2,3	2,0	1,3	-	-	-	-
95,45	51	5,1	3,8	2,0	1,3	2	-	-	-
105,20	52	6,0	6,2	2,7	1,1	2	-	-	-
112,20	49	8,8	6,1	3,9	2,3	3	-	-	-
122,10	48	11,1	7,7	4,3	2,3	3	-	-	-
137,00	--	14,5	13,7	5,8	2,5	-	-	-	-

σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 2% caseína + RNA
 III - 2% milho integral + 0,2+ LIS
 IV - 2% milho + soja integrais
 V - 2% milho integral

Tempo (h)	Peso médio (mg)					σ				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0,00	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-
11,00	0,6	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	-	-	-
22,10	5,0	0,5	0,5	0,4	0,3	-	-	-	-	-
35,00	26	1,4	0,9	0,6	0,7	3	-	-	-	-
40,15	35	1,6	1,2	1,1	0,7	4	-	-	-	-
72,00	44	1,8	1,5	1,4	0,8	4	-	-	-	-
82,00	52	3,3	2,5	2,1	1,3	5	-	-	-	-
88,10	--	3,9	3,2	2,5	1,7	-	-	-	-	-
95,45	51	5,1	4,4	3,3	2,3	2	-	-	-	-
105,20	52	6,0	6,7	4,4	2,5	2	-	-	-	-
112,20	49	8,8	9,2	5,4	3,3	3	-	-	-	-
122,10	48	11,1	9,6	7,0	3,3	3	-	-	-	-
137,00	--	14,5	12,9	8,2	4,7	-	-	-	-	-

σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 2% trigo + soja integrais
 III - 2% trigo integral + 0,1% LIS
 IV - 2% caseína + RNA
 V - 2% trigo integral

	Tempo (h)	Peso médio (mg)					σ				
		I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
	0,00	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-
	11,00	0,6	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	-	-	-
	22,10	5,0	0,5	0,3	0,5	0,3	-	-	-	-	-
	35,00	26	0,9	0,9	1,4	0,5	3	-	-	-	-
	40,15	35	1,2	1,0	1,6	0,6	4	-	-	-	-
	72,00	44	1,4	1,2	1,8	0,8	4	-	-	-	-
	82,00	52	2,7	2,5	3,3	1,2	5	-	-	-	-
	88,10	--	3,5	2,7	3,9	1,4	-	-	-	-	-
	95,45	51	4,9	2,9	5,1	1,9	2	-	-	-	-
	105,20	52	8,9	5,2	6,0	3,5	2	-	-	-	-
	112,20	49	8,3	8,0	8,8	3,7	3	-	-	-	-
	122,10	48	9,9	13,1	11,1	5,4	3	-	-	-	-
	137,00	--	17,7	15,8	14,5	5,7	-	-	-	-	-

σ desvio padrão

Chrysomya chloropyga

- I - carcaça
 II - 10% ovo integral
 III - 6% ovo integral
 IV - 8% ovo integral
 V - 4% ovo integral
 VI - 2% ovo integral

Tempo (h)	Peso médio (mg)						σ					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
0,00	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-
9,30	0,5	0,3	0,3	0,4	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-
15,00	2,0	0,7	0,4	0,5	0,3	0,2	-	-	-	-	-	-
23,50	8,7	2,5	1,0	1,5	0,6	0,3	-	-	-	-	-	-
33,45	36	7,9	2,8	5,1	1,1	0,4	5	-	-	-	-	-
40,50	46	17	4,2		2,0	0,4	6	2	-	2	-	-
49,30	52	32	10	22	2,0	0,6	5	3	2	2	-	-
57,50	55	43	15	29	3,5	0,6	4	4	2	3	-	-
64,40	58	48	19	32	4,4	0,7	4	4	4	4	-	-
72,30	58	52	33	42		0,5	5	4	3	4	2	-
81,45	54	54	35	43	10	0,6	5	4	5	4	2	-
94,05	41 ^p	51	37	47	15	1,2	5	3	5	4	3	-
106,00		46	43	40	30	1,3		3	4	2	3	-
120,20		36	38	33	21	---		4	4	3	2	-

p pupa

 σ desvio padrão