

UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
CAMPINAS

BC/4718
IB/80146

MESTRADO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

1982

ANA MARIA LIMA DE AZEREDO-ESPIN

ANÁLISE CARIOTÍPICA DE CINCO ESPÉCIES DE CALLIPHORIDAE (DIP-
TERA) DO ESTADO DE SÃO PAULO.

Dissertação apresentada ao Insti-
tuto de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas para obten-
ção do título de Mestre em Biolo-
gia.

Orientador: Prof. Dr. Crodowaldo Pavan

BIBLIOTECA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
UNICAMP

CAMPINAS - S.P.

- 1982 -

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Classif.	T
Autor	Am 24a
V.	Ex.
Tombo BC/	4718
IB/488	

IB/80146
BC/4718

Pelos conselhos de amigo e de cientista, agradeço àquele cujo ideal maior é a Universidade. Meu pai.

A minha mãe, por compreender de forma amiga e dedicada a determinação da filha.

Ao Neto, cuja compreensão e dedicação foram decisivas para os feitos da sua mulher.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Crodowaldo Pavan, que de forma sincera transmite a experiência não só de um grande cientista, mas também de um orientador amigo.

Ao Dr. Angelo Pires do Prado, pela colaboração na parte taxonômica e sobretudo pelas sugestões demonstradas durante a realização deste Trabalho.

Ao Dr. Octávio Henrique Pavan, pelas discussões amigáveis, sugestões e leitura do manuscrito.

À Dra. Hermione do C. Bicudo e Dr. José Maria no Amabis, pela leitura da tese, além de valiosas sugestões.

Ao Prof. Dr. Aquiles Piedrabuena, pela colaboração na análise estatística dos dados deste Trabalho.

Ao Michael Cytrynowicz, pelo interesse e dedicação demonstrados durante a confecção dos cálculos da análise estatística.

À Eliana De Conti Cytrynowicz, que me propiciou a coleta e obtenção de *C. hominivorax* na Fazenda Experimental de Zootecnia de Nova Odessa, além de todo apoio e amizade durante todo este Trabalho.

Ao Dr. Walter Pinto Junior, por ter gentilmente cedido o laboratório de fotografia do Departamento de Genética Médica para a confecção das fotos durante todo este Trabalho.

Ao Dr. Benedicto de Campos Vidal, por ter permitido a utilização do laboratório de fotografia do Centro

de Microscopia Eletrônica para efetuar as cópias fotográficas originais da tese.

Aos meus irmãos, cunhados e sogros, pela compreensão que sempre me dedicaram.

À Rita Maria Pereira Avancini, companheira de muitas coletas de material e especialmente pelo apoio de grande amiga.

Ao amigo José Collucci, pela dedicação com que fotografou as pranchas originais deste Trabalho.

Ao técnico Luiz Aparecido Fontana, pelo auxílio nas coletas de material na natureza.

À Maria Tereza de Paula, pelo carinho, dedicação e auxílio na confecção das fotos originais deste Trabalho.

À Esmeralda Zanchetta Borghi, pela eficiência e capricho com que, a partir dos rascunhos, realizou os esquemas e gráficos deste Trabalho.

À Sra. Maria Célia Giorgi Almeida e à Maria Elídia dos Santos, pela datilografia da tese, demonstrando eficiência e dedicação ao trabalho que realizam.

Aos amigos e colegas do Departamento de Genética e Evolução, pelas trocas de experiências, idéias propiciadas, pela convivência diária, dando sentido ao meu trabalho.

Ao agropecuarista Sr. Peterson S. Penido proprietário da Agropecuária Serramar de Garagatatuba (SP) por gentilmente ter permitido realizarmos coleta de material durante toda a execução deste trabalho.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo suporte financeiro para realização deste Trabalho e de forma especial ao Projeto Integrado de Genética e ao Programa Integrado de Pesquisa em Parasitologia Agrícola promovido por esta entidade, sem o qual a pesquisa não poderia ser realizada.

ÍNDICE

	Páginas
I. PRÓLOGO	1
II. INTRODUÇÃO	4
1. Aspectos da taxonomia e da distribuição geográfica de Caliiphoridae	4
2. Aspectos da biologia, criação e tentativas de controle de <i>C. hominivorax</i>	13
3. Dados cariotípicos	24
4. Banda C	37
III. MATERIAL E MÉTODOS	48
1. Material	48
2. Obtenção do material	48
3. Métodos de criação no Laboratório	52
3.1. A Manutenção de adultos das espécies de <i>Chrysomya</i> e de <i>Cochliomyia macellaria</i>	52
3.1.B Obtenção de ovos e larvas de <i>Chrysomya a. albiceps</i> , <i>C. chloropyga</i> , <i>C. megacephala Cochliomyia macellaria</i>	52
3.2. Métodos de criação de larvas de <i>C. hominivorax</i>	54
3.3. Manutenção de adultos de <i>C. hominivorax</i>	55
3.4. Obtenção de ovos de <i>C. hominivorax</i> ...	56
3.5. Manuseio dos ovos e obtenção de larvas para a confecção de curva de crescimento de <i>C. hominivorax</i>	58
3.6. Métodos citológicos	59
3.6.1. Técnicas para análise dos cromossomos	59

3.6.2. Análise morfométrica dos cromosomas	60
3.6.3. Para banda C	63
IV. RESULTADOS	67
1. Coleta de <i>Chrysomya chloropyga</i> , <i>C. megacephala</i> , <i>C. albiceps</i> e <i>Cochliomyia macellaria</i>	67
2. Criação no laboratório	69
2.1. Criação de larvas de <i>C. hominivorax</i> ..	71
2.2. Manutenção dos adultos de <i>C. himinivorax</i>	72
2.3. Idade, duração e comportamento de cópula	73
2.4. Obtenção de ovos de <i>C. hominivorax</i> ...	75
2.5. Curva de crescimento de <i>C. hominivorax</i> .	76
3.1. Cariótipos de <i>Chrysomya chloropyga</i> , <i>C. megacephala</i> e <i>C. albiceps</i>	77
3.1.1. Autossomos	78
3.1.2. Cromossomos sexuais	80
3.2. Cariótipos de <i>Cochliomyia hominivorax</i> e <i>C. macellaria</i>	82
3.2.1. <i>C. hominivorax</i>	82
3.2.1.1. Autossomos	82
3.2.1.2. Cromossomos sexuais ..	84
3.2.2. <i>C. macellaria</i>	86
3.2.2.1. Autossomos	86
3.2.2.2. Cromossomos sexuais ..	87
4. Banda C	88
V. DISCUSSÃO	96
1. Aspectos da biologia	96
2. Citologia	99
2.1. Gênero <i>Chrysomya</i>	99
2.2. Gênero <i>Cochliomyia</i>	107
2.2.1. <i>C. hominivorax</i>	107

2.2.2. <i>C. macellaria</i>	117
2.3. Banda C	120
2.4. Considerações finais	128
VI. CONCLUSÕES	129
VII. SUMÁRIO	133
VIII. SUMMARY	136
IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
X. ILUSTRAÇÕES E TABELAS	167

I. PRÓLOGO

O presente trabalho é fruto de estudos biológico e citológico de cinco espécies de moscas da família Calliphoridae (Díptera), popularmente chamadas varejeiras. Três pertencem ao gênero *Chrysomya*: *C. chloropyga* (WIEDEMANN, 1918), *C. megacephala* (FABRICIUS, 1794), *C. albiceps albiceps* (WIEDEMANN, 1819) e duas do gênero *Cochliomyia* (TOWNSEND, 1915), *C. hominivorax* (COQUEREL, 1858) e *C. macellaria* (FABRICIUS, 1775).

As principais razões que nos levaram a escolher como material de trabalho estas espécies de moscas, são as seguintes: As três espécies do gênero *Chrysomya* que normalmente se alimentam de material orgânico de origem animal e/ou vegetal em decomposição, embora não sejam consideradas causadoras primárias de miíases (bicheiras) podem estar presentes nas lesões associadas às larvas de *Cochliomyia hominivorax*. Além das larvas agravarem o problema das infestações, os adultos podem transportar microorganismos patógenos ao homem, o que as tornam de importância para a Saúde Pública (GREENBERG, 1971).

Estas três espécies de *Chrysomya*, que até 1974 eram consideradas como existentes apenas no Velho Mundo, parecem ser de introdução recente no Brasil, sendo *C. chloropyga* e *C. albiceps albiceps* provavelmente provenientes da África, como concluíram IMBIRIBA *et alii* (1977) e GUI-MARÃES, PRADO & LINHARES (1978). No entanto, desconhece-se

até o momento o possível local de proveniência de *C. mega-cephala*.

A análise dos caracteres morfológicos não permitem um diagnóstico seguro de algumas espécies desse gênero. Assim, nossa intenção foi a de introduzir uma análise cariotípica como um método auxiliar de diagnóstico à taxonomia destas espécies.

As duas espécies do gênero *Cochliomyia*, *C. hominivorax* e *C. macellaria*, são também muito próximas taxonomicamente, a primeira sendo considerada como a principal causadora de miíases na América Tropical, parasitando obrigatoriamente tecidos vivos de animais homeotérmicos, inclusive o homem. *C. macellaria*, por outro lado, é claramente saprófaga e apenas ocasionalmente pode se desenvolver sobre tecidos necrosados de animais vivos.

C. hominivorax é inseto de grande importância econômica pelos graves prejuízos que causa, especialmente em animais domésticos tais como bovinos, ovinos e caprinos. Com relação a esta espécie não existem informações seguras se na realidade o que chamamos de *C. hominivorax* representa uma única espécie ou se sob este nome estão envolvidas mais do que uma forma taxonômica. Em análise de moscas coletadas no México e nos Estados Unidos, R. H. RICHARDSON e colaboradores (1982) verificaram que moscas identificadas por métodos taxonômicos convencionais como pertencentes à *C. hominivorax*, representam na realidade muitas unidades taxonômicas distintas.

Nossos estudos citotaxonômicos e os de alguns aspectos da biologia de linhagens dessas cinco espécies de Calliphoridae trouxeram alguns esclarecimentos para os problemas acima mencionados, como mostraremos nas páginas que se seguem.

II. INTRODUÇÃO

1. Aspectos da taxonomia e da distribuição geográfica de Calliphoridae

Miíases são infestações em tecidos de vertebrados vivos produzidas por larvas de dípteros. Moscas da família Calliphoridae, subfamílias Calliphorinae e Chrysomyinae são as de maior importância econômica e sanitária. Atacam vertebrados, principalmente homeotérmicos silvestres, domésticos e, ocasionalmente, o homem.

ZUMPT (1965) oferece uma definição mais ampla de miíase e esta seria: "uma infestação em vertebrados vivos por larvas de dípteros que, pelo menos por um certo período, alimentam-se dos tecidos vivos ou mortos do hospedeiro, de suas substâncias corpóreas ou mesmo de alimento por ele ingerido".

Na família Calliphoridae ocorrem muitas espécies sinantrópicas, ou seja, espécies que vivem em associação com os ambientes modificados pelo homem. Nesta família, as espécies podem ser divididas em dois grupos biologicamente distintos de acordo com seus hábitos. O primeiro grupo, inclui moscas das espécies do gênero *Chrysomya*, que se alimentam do material orgânico (animal e/ou vegetal) em decomposição, mais comumente, carcaças e/ou excremento. Podem também causar prejuízos por infestar carne exposta em açougues, abatedouros ou mesmo em habitações.

Os adultos, por seus hábitos alimentares e reprodutivos, podem também ser importantes vetores mecânicos e biológicos de organismos patogênicos para o homem, tais como o vírus da poliomelite e salmonelas, sendo assim de grande interesse, por sua importância médico-sanitária (GREENBERG, 1971). NUORTEVA & SKARÉN (1960) apresentam um estudo sobre o papel dos Calliphoridae como veiculadores da poliomielite para o homem e relacionam a ocorrência desses insetos com a flutuação climática na densidade de algumas espécies com a incidência da poliomielite na Finlândia e Inglaterra.

O segundo grupo, que inclui as chamadas moscas da bicheira ("screwworm flies"), são parasitos obrigatórios, isto é, suas larvas normalmente se desenvolvem em lesões expostas na superfície do corpo de vertebrados. Fêmeas adultas normalmente ovipõem em ferimentos da pele ou de mucosas. As larvas se alimentam e crescem em tecidos sadios, causando lesões que normalmente são infectadas por bactérias e que podem ser fatais se não tratadas prontamente. O soro e o sangue que exsudam das lesões tornam-se altamente atrativos, resultando frequentemente em infestações múltiplas, com centenas de larvas vivendo na mesma ferida. Quando atingem o último estágio larval, estas caem no solo e transformam-se em pupas, permanecendo nesse estágio durante um período variável de uma semana a dois meses, dependendo da temperatura, umidade e tipo de solo (MELVIN & BUSHLAND, 1938; PARMAN, 1945).

Gênero *Chrysomya*

Três espécies exóticas de moscas pertencentes ao gênero *Chrysomya*, *C. megacephala* (FABRICIUS, 1974), *C. chloropyga* (WIEDEMAN, 1818) e *C. albiceps* (WIEDEMAN, 1919), cuja distribuição era restrita ao Velho Mundo, foram assinaladas como recentemente introduzidas na região Neotropical. IMBIRIBA *et alii* (1977) constataram a presença de *C. chloropyga* no Paraná em 1977 e GUIMARÃES *et alii* (1978) constataram a ocorrência das três espécies em São Paulo. A época provável desta introdução foi calculada por estes últimos autores como sendo ao redor de 1976.

A distribuição geográfica dessas moscas introduzidas, que até 1978 era restrita apenas às áreas metropolitanas do Estado de São Paulo e Paraná, atualmente estende-se também aos Estados de Mato Grosso do Sul, Maranhão, Bahia, Goiás, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, de acordo com GUIMARÃES *et alii* (1980). Moscas dessas espécies podem ser coletadas em armadilhas contendo como iscas atrativas, carcaças de camundongo, excrementos, fígado, peixe, vísceras da galinha, etc. Adultos podem também ser coletados enquanto se alimentam em depósitos de lixo, abatedouros de aves, peixarias, matadouros, mercados, etc.

Espécies do gênero *Chrysomya* são muito importantes sob o ponto de vista médico e veterinário. ZUMPT (1965) verificou que dez espécies desse grupo são conhecidas e, na África, podem ser causadoras de miíases no homem

e animais. Seus hábitos alimentares e de reprodução em matéria orgânica em decomposição os mantêm em contacto constante com agentes infecciosos e alguns patogênicos que podem ser transmitidos ao homem, ou podem contaminar alimentos tanto de origem animal como vegetal (ZUMPT, 1965; MIHÁLYI, 1976; ARADI & MIHÁLYI, 1971). Uma apreciação do significado médico-sanitário da ação destas moscas encontramos em GREENBERG (1971, 1973).

A distribuição geográfica das três espécies de *Chrysomya* antes de serem introduzidas na América do Sul compreendia a África Meridional e Central, Madagascar (*C. chloropyga*); África Setentrional e Europa Meridional, Oriente Médio e Ásia Meridional (*C. albiceps*) e Australia e Região Oriental (*C. megacephala*), (JAMES, 1970 e GUIMARÃES *et alii*, 1978).

Trabalhos sobre *Chrysomya* contendo chaves de identificação de larvas e adultos, além de dados sobre distribuição geográfica e descrição de casos de miíases, são apresentados em JAMES (1947) e ZUMPT (1965).

A biologia de *C. chloropyga* foi estudada em detalhes por SMIT (1931) e ZUMPT (1965) constatou que adultos desta espécie podem ser atraídos a grandes distâncias pelo cheiro da carne em decomposição. CUTHBERTSON (1933) conseguiu, pela primeira vez, criá-las em laboratório, usando carne putrefacta.

ZUMPT (1965) descreveu casos de miíases traumáticas em carneiro na África do Sul, produzidas por *C. chlo*

ropyga, constatando também que ela é considerada a segunda espécie praga em importância naquela área. A primeira é *Phaenicia (=Lucilia) cuprina*.

As características morfológicas de *C. chloropyga* são muito próximas das de *Chrysomya putoria* (WIEDEMAN, 1830), cuja distribuição geográfica compreende Oeste e Leste da África e parte mais quente da África Central, existindo mesmo a possibilidade de que elas não sejam espécies distintas. ZUMPT (1972), baseado na similaridade da genitália de machos, concluiu que *C. putoria*, não é espécie distinta de *C. chloropyga* e acha que aquela deveria ser relatada apenas como um tipo variante desta última e classificada como: *C. chloropyga* forma *putoria*.

C. megacephala, de acordo com JAMES (1947) é um inseto comumente encontrado na zona urbana e os adultos podem encontrar seu alimento em lixo de origem doméstica. Esta espécie é essencialmente saprófaga, ovipõem em substância animal em decomposição. Ocasionalmente, são parasitos facultativos, produzindo miíases do tipo traumático em animais e no homem. Esta espécie se mantém em populações locais de elevada densidade, preferindo zona urbana (mercados, açougues, etc.) (GUIMARÃES, PRADO & LINHARES, 1980). *C. megacephala* tem ampla distribuição no Extremo Oriente, incluindo Austrália, porém, era desconhecida na África até sua recente descoberta em Ghana e Senegal durante 1977 (KURAHASHI, 1978) e Cidade do Cabo (PRINS, 1979).

C. albiceps apresenta larvas que são indistin

guíveis morfológicamente da espécie *Chrysomya rufifacies* cuja distribuição compreende a Austrália. ZUMPT (1965), ULLERICH (1963) e KURAHASHI (1967) consideram *C. rufifacies* como subespécie de *C. albiceps*. A não ser pela presença de uma cerda estigmal mesotorácica e apenas duas a três cerdas propleurais no adulto de *C. rufifacies*, de um modo geral, essas duas espécies são morfológicamente indistinguíveis (tanto larvas como adultos). Além disso, possuem os mesmos hábitos alimentares, têm o mesmo comportamento larval e ambas são monogênicas. Experimentos realizados por ULLERICH (1963), demonstraram ser possível o cruzamento entre *C. albiceps* e *C. rufifacies*. Os híbridos são totalmente férteis e também apresentam monogenia quando cruzados entre si e nos retrocruzamentos. Nós concordamos com a classificação proposta por estes autores considerando *C. rufifacies* subespécie de *C. albiceps* e portanto descritas como: *C. albiceps albiceps* e *C. albiceps rufifacies*. Os aspectos citogenéticos da monogenia dessas espécies serão apresentados adiante. Ambas as espécies são consideradas causadoras de miíases secundárias, atacando somente tecidos necrosados (ZUMPT, 1965). Segundo LINHARES (1979), *C. albiceps albiceps* foi a menos sinantrópica, em comparação com as outras duas espécies do gênero (*C. chloropyga* e *C. megacephala*), não tendo sido encontrada nem na forma adulta como larval, no depósito urbano de lixo em Campinas. JIRON (1979) relatou a presença de *Chrysomya a. rufifacies* na Costa Rica. Este autor coletou larvas dessa espécie em um cadáver humano.

GAGNÉ (1981) analisou uma amostra de *C. albi-*

ceps rufifacies coletada em Tuxtla Gutierrez, Chiapas (México) através de armadilhas contendo fígado, em janeiro de 1980, indicando que esta espécie havia sido introduzida no México. GAGNÉ (1981) analisou também larvas de *Chrysomya* sp., provenientes de Yauco, Porto Rico, coletadas em miíase de uma cabra, em abril de 1974. Este espécime de Porto Rico foi a primeira indicação da introdução de uma *Chrysomya* nas Américas (GAGNÉ, 1981). A forma *C. albiceps rufifacies* foi encontrada recentemente no Brasil por PRADO (informação pessoal), sendo que antes desta descoberta e a de GAGNÉ (1981), sua distribuição se restringia às regiões Oriental e Australiana.

O modo como as espécies de *Chrysomya* foram introduzidas nas Américas, Central e do Norte é desconhecido. Com o rápido incremento do tráfego internacional de mercadorias, especialmente aéreo, é frequente ocorrer a importação e introdução de espécies exóticas de moscas em uma determinada região. Dois casos detectados em dois dias consecutivos de larvas de *Chrysomya* vivas transportadas por aviões foram registrados em fevereiro de 1980 por J. J. Davis da Repartição de Plano de Proteção e Quarentena, - APHIS USDA em Houston, Texas, uma larva de *Chrysomya* sp., provavelmente, *C. chloropyga* foi encontrada por GAGNÉ (1981) num pacote de camarão, proveniente da Nigéria, além de oito larvas de outra espécie de *Chrysomya*, encontradas em outro pacote de farinha de peixe, da mesma procedência.

Gênero Cochliomyia

O gênero *Cochliomyia*, de acordo com JAMES (1970), é representado por cinco espécies endêmicas na região Neotropical, das quais apenas *C. hominivorax* e *C. macellaria* têm importância médico-sanitária.

A distinção entre estas duas espécies só foi estabelecida por CUSHING & PATTON (1933), que demonstraram poder distingui-las por seus hábitos. À uma delas denominaram de *Cochliomyia macellaria*, claramente saprófaga, alimentando-se de material orgânico em decomposição e outra, que desenvolve-se em tecido vivo e é responsável por miíases primárias no homem e animais. Além disso, neste trabalho os autores demonstraram que as duas espécies podiam ser separadas pelas características da genitália masculina. *C. macellaria* foi, por estes autores, considerada sem importância como produtora de miíase, uma vez que suas larvas são apenas invasoras secundárias de ferimentos. No entanto, podem ser de importância na infestação de carcaças em açougues e abatedouros.

As fêmeas de *C. hominivorax* efetuam posturas de ovos próximas às lesões da pele de vertebrados vivos, sejam em lesões recentes ou naquelas onde já existam outras larvas. Esta espécie em geral se mantém em populações locais com densidade relativamente baixa, quando comparada com outras espécies de Calliphoridae, o que segundo HIGHTOWER (1969) pode ser devido à alta especialização alimentar de suas larvas.

COQUEREL (1858) descreveu *Lucilia hominivorax*, baseado em um único exemplar obtido da cultura de larvas de um caso humano de bicheira. A larva proveio de uma miíase nos seios nasais e frontais de um presidiário em Caiena.

Vários autores usaram nomes diferentes para a espécie que hoje chamamos *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel), a saber: *Lucilia hominivorax* (Coquerel, 1858); CUSHING & PATTON (1933); *Callitroga hominivorax*; KAUFMAN & WASSERMAN (1957); BOYES (1961); *Cochliomyia americana*, LAAKE, CUSHING & PARISH (1936); CUSHING & HALL (1937). Uma sinonímia completa pode ser obtida nas publicações de HALL (1948) e JAMES (1970).

Informações sobre a morfologia e taxonomia de *Cochliomyia hominivorax* podem ser encontradas na revisão de GUIMARÃES *et alii* (1982, no prelo).

Nos Estados Unidos, RICHARDSON e colaboradores da Universidade do Texas (comunicação pessoal) verificaram diferenças estruturais nas partes quitinizadas da genitalia de machos de amostras de *Cochliomyia hominivorax* coletadas em várias regiões dos Estados Unidos e México. Através destas diferenças morfológicas e da análise de cariótipo destas amostras, que será descrito em seguida, esses autores verificaram que moscas identificadas por métodos taxonômicos convencionais como pertencentes a *Cochliomyia hominivorax*, representam na realidade cerca de dez tipos geneticamente distintos, alguns dos quais considerados por

eles (ainda não descreveram) como pertencentes a espécies distintas.

Os poucos trabalhos experimentais realizados em *C. hominivorax* no Brasil, relatam praticamente apenas a sua ocorrência em miíases sobre bovinos, canídeos, suínos e humanos. Assim, VAZ (1935) estudando as miíases de bovinos, suínos e canídeos no Estado de São Paulo, verificou pela observação direta das larvas e também dos adultos obtidos em cultura, que a espécie responsável é *C. hominivorax*. Na mesma ocasião, este autor demonstrou que esta espécie pode ser diferenciada de *C. macellaria*, por caracteres da frontália dos machos. VAZ & CARVALHO (1938) registraram em São Paulo, casos de miíases gengivo-alveolar em bezerros, durante o período de formação dos dentes. ROCHA & VAZ (1950) relataram casos de miíases no rúmem de bezerros causados pelo ataque de larvas desta espécie, responsáveis por 8% (no inverno) e 15% (no verão) das mortes num rebanho de 300 animais. No Brasil, ainda não temos um levantamento do nível de infestação causado por *C. hominivorax*. Alguns pecuaristas e veterinários nos informaram que em alguns rebanhos podemos encontrar até 15% dos animais infestados, principalmente porque em nosso país o clima favorece o ataque desses insetos durante o ano inteiro. A flutuação populacional de *C. hominivorax* foi medida durante 1979 a 1980, na área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Itaguaí, RJ) por OLIVEIRA (1980). Verificou-se que *C. hominivorax* ocorre durante todos os meses do ano, sendo, no entanto, mais abundante nos meses em que

os índices pluviométricos foram menores. Mesmo ocorrendo durante o ano inteiro, poucos pecuaristas dão a devida atenção ou importância ao problema. Existem alguns medicamentos que são relativamente eficientes na cura das miíases, mas para o tratamento há a necessidade de recolher o gado, prender os animais afetados e executar várias outras operações que tornam o processo relativamente oneroso, seja pelo tempo gasto, seja pelo custo do remédio.

A maior parte dos pecuaristas, infelizmente se preocupa com a cura das lesões, mas pouco ou nada fazendo para prevenir o mal. É interessante evidenciar que embora de grande importância econômica ainda não se sabe ao certo quantas espécies de Calliphoridae no Brasil causam miíases em animais domésticos. Entre nós, é quase unanimemente admitido que *C. hominivorax* é a única forma causadora de miíase primária no Novo Mundo. Os dados do presente trabalho confirmam esta hipótese e mostram ainda que as populações de *C. hominivorax* do Brasil apresentam variações cariotípicas semelhantes às encontradas no hemisfério norte.

2. Aspectos da biologia, criação e tentativas de controle de *C. hominivorax*

C. hominivorax é espécie que ocorre desde os Estados Unidos até a Argentina.

Como é espécie que sobrevive o ano todo na

zona tropical e subtropical, não consegue sobreviver no inverno, tanto na parte norte como na parte sul de sua distribuição geográfica. Nos Estados Unidos, onde tem sido mais estudada, sabemos que é ou foi praga grave nos Estados do Sul, mas que no verão pode atingir os Estados do Norte como Illinois e Dakota do Sul (GRAHAM & HOURRIGAN, 1977).

Com a finalidade de verificar hábitos noturnos de *C. hominivorax* na natureza, HIGHTOWER (1963 e 1969) liberou moscas esterilizadas, marcadas com pigmentos fluorescentes. Verificou que as moscas tendem a se congregarem próximas aos riachos e estâbulos. Mais de 90% das moscas recapturadas repousavam em galhos sem folhas de árvores de copas baixas. Em armadilhas contendo fígado, constatou que nas regiões semi-áridas, os adultos de *C. hominivorax* se agrupavam próximas aos reservatórios de água. Quando havia rios, elas se dispersavam alcançando distâncias do ponto de soltura de 1,3 a 1,6 km ao longo das margens. Verificou também, que a atividade das moscas diminuía com temperaturas altas e ambiente seco e aumentavam quando a umidade era favorável. HIGHTOWER *et alii* (1965), pelas distâncias de vôos diários, concluíram que fêmeas irradiadas desta espécie, são capazes de, durante sua vida média, voar até 290 km e algumas evidências sugerem que as fêmeas selvagens podem deslocar-se até 483 km durante sua vida. HIGHTOWER (1969), verificou que moscas criadas no laboratório, esterilizadas e liberadas, concentravam-se nas regiões ribeirinhas ao longo dos cursos de água, quando o calor era forte e dispersavam quando a temperatura diminuía.

Esta grande mobilidade de *C. hominivorax*, explica a eficiência da praga e os prejuízos que causava, em várias regiões dos Estados Unidos, antes do programa de sua erradicação. Os adultos que sobreviviam ao inverno na Flórida, sul do Texas e norte do México, podiam na primavera dispersar para outras regiões dos E.U.A.

As primeiras tentativas para o controle desta espécie foram feitas através de inseticidas ou produtos repelentes aplicados diretamente nas lesões causadas pelas larvas. Inicialmente, utilizou-se inseticidas clorados e fosforados. Atualmente, os inseticidas fosforados e os carbamatos, ainda são os mais indicados para o controle das miíases. Uma lista de tais inseticidas foi apresentada por BEESLEY (1973). Vários autores escreveram sobre métodos e técnicas de tratamento. Maiores informações sobre o assunto podem ser obtidas nas revisões de SNOW *et alii* (1981) e GUIMARÃES & PRADO (no prelo, 1982). O emprego desses produtos apresenta, porém, sérios inconvenientes como a poluição ambiental, além de níveis indesejáveis de resíduos químicos nocivos no leite e carne. Além disso, deve-se considerar que inseticidas são eficientes em prazos relativamente curtos, pois o desenvolvimento de resistência genética por parte dos insetos inutilizam o efeito de muitos dos inseticidas empregados. Foram utilizadas também armadilhas especiais para a captura de *C. hominivorax* (PARISH, 1937; PARISH & CUSHING, 1938; HIGHTOWER & ALLEY, 1963 e JONES *et alii*, 1976), como um meio de controle da praga. Posteriormente, armadilhas especiais foram construídas, como a de JONES *et alii* (1976) que sintetizaram

um atrativo denominado "swormlure-1" que se mostrou eficiente na captura de *C. hominivorax*. Este atrativo constituído por 10 produtos químicos foi aperfeiçoado por COPPEDGE *et alii* (1977) que criou o "swormlure-2", isca mais eficiente na atração de adultos do que o "swormlure-1" e mesmo do que o fígado em decomposição.

Devido às necessidades práticas e, principalmente, aos prejuízos econômicos causados pelas moscas, desenvolveram-se várias técnicas de criação massal de *C. hominivorax* em condições de laboratório, para testar métodos de controle da praga. Os estudos iniciados por MELVIN & BUSHLAND (1936) e MELVIN (1937), foram aperfeiçoados por GRAHAM & DUDLEY (1957, 1959). GRINGRICH (1964) analisou detalhadamente as necessidades nutricionais das larvas de *C. hominivorax* conseguindo criá-las numa dieta líquida quimicamente definida. Para ALLEY & HIGHTOWER (1966), o meio líquido utilizado por GINGRICH (1964), embora tivesse considerável valor econômico, produzia moscas menores do que aquelas criadas no meio de GRAHAM & DUDLEY (1959), cuja base alimentar era carne. Isto porque as larvas de *C. hominivorax* alimentam-se principalmente de proteína que constitui-se na principal fonte de energia, não tolerando altos níveis de carboidratos ou lipídeos em sua dieta (MELVIN & BUSHLAND, 1940; GINGRICH, 1964; GINGRICH *et alii*, 1971). Como o uso da carne, tornava a criação em massa dispendiosa, GINGRICH *et alii* (1971) formularam um meio líquido contendo produtos liofilizados dissolvidos em água. Este meio consistia de: sangue bovino total em

pó (6%), ovo de galinha total em pó (3%), soro bovino fetal (3%), queijo em pó (2%), dissolvidos em 85,75% de água e para conservação 0,25% de formalina. BROWN & SNOW (1978 e 1979) estudaram o crescimento de larvas de *C. hominivorax*, testando o meio de GINGRICH *et alii* (1971) e uma variante dele, sem queijo. Verificaram que neste meio variante, as larvas atingiam peso igual ou maior do que aquelas criadas em meio contendo carne. Assim, esse meio foi adotado para a criação em massa no laboratório.

KNIPLING (1937) enquanto estudava o comportamento de acasalamento de *C. hominivorax*, em caixas de populações, aventou a possibilidade de erradicar esta espécie, através da esterilização e soltura de machos em populações naturais. A técnica do macho estéril consiste, basicamente, na esterilização de indivíduos criados no laboratório por substâncias químicas, ou agentes físicos tais como raio-X ou raios gama e posterior liberação desses indivíduos em locais onde a praga existe naturalmente. Alguns anos mais tarde, BUSHLAND & KOPKINS (1951, 1953) demonstraram ser possível esterilizar com êxito ambos os sexos de *C. hominivorax*, através da exposição de pupas a radiações ionizantes. Aliados a esta observação, BUSHLAND & HOPKINS (1951) verificaram que fêmeas de *C. hominivorax* copulam e são inseminadas somente uma vez durante toda a sua vida. Isto foi posteriormente confirmado por BAUMHOVER (1965), CRYSTAL (1967) e NELSON *et alii* (1969). Desta forma, toda a fêmea copulada por um macho estéril perderia com isso, a capacidade de produzir descendentes.

GUILLOT *et alii* (1977) admitem que as fêmeas nativas copulam ao iniciar o primeiro ciclo gonotrôfico e que as necessidades protéicas para a maturação dos ovos aumentam depois da primeira postura.

Após vários experimentos de laboratório e de campo na Flórida, BAUMHOVER *et alii* (1951, 1953) e HUSMAN & BAUMHOVER (1957, 1958) conseguiram erradicar *C. hominivorax* da Ilha de Curaçao, através da liberação, por aviões, de machos em uma taxa média de 168 indivíduos/km²/ semana. O teste piloto em Curaçao, uma ilha do Caribe de 460 km² foi, portanto, a primeira demonstração da validade da técnica de macho estéril. Posteriormente, esta técnica foi empregada também com êxito na Flórida (BAUMHOVER *et alii*, 1959).

Após o sucesso da erradicação de *C. hominivorax* na Flórida, no sudeste dos E.U.A., desde 1962, o U. S. Department Agriculture Animal and Plant Health Inspection desenvolve um programa que dispende anualmente 45 milhões de dólares com o objetivo de controlar e erradicar *C. hominivorax* desta região. Esta técnica de macho estéril também foi aplicada com êxito nas Ilhas Virgens do E.U.A., Ilhas Virgens Britânicas, pequenas ilhas próximas a Mona e em Porto Rico (CULEBRA & VIEQUEZ, 1974)

Uma redução na eficiência da supressão das populações de *C. hominivorax* foi seguida por severas rein-

festações nos E.U.A. em 1968, 1972, 1975-76 e 1978 (NOVY, 1978), como também na ilha de Curaçao (SNOW & COPPEDGE, 1978; COPPEDGE *et alii*, 1978; TANNAHILL *et alii*, 1980). Estas reinfestações foram subsequentemente controladas. Em Curaçao, o problema foi solucionado por intermédio da utilização de um sistema de isca tóxica, denominada de SWASS (Screw-worm Adult Supression System = Sistema para Supressão de *C. hominivorax*) criada e descrita por COPPEDGE *et alii* (1978a, 1978b).

BAUMHOVER (1965) descreveu um teste para verificar a agressividade sexual de machos de *C. hominivorax* denominado de teste SAG (Test for Sexual Aggressiveness). Este teste foi utilizado para medir a atividade sexual dos machos de *C. hominivorax* baseado na mortalidade das fêmeas expostas a uma alta proporção de machos. Este autor verificou que a mortalidade das fêmeas após 15 dias de idade aumentava rapidamente quando um maior número de machos era introduzido nas caixas de criação. Assim, a mortalidade das fêmeas foi de 35% quando a proporção de machos e fêmeas foi de 1:7, respectivamente, 43% à 1:3, 60% à 1:1, 83% quando 3:1 e 90% quando 7:1 comparados com somente 26% quando fêmeas são mantidas individualmente isoladas (0:1). BAUMHOVER (1965) sugeriu que o número de mortes entre as fêmeas está diretamente relacionado com a proporção de machos na gaiola.

ALLEY & HIGHTOWER (1966), ao analisarem o comportamento de acasalamento da linhagem de *C. hominivorax* da Flórida (mantida a aproximadamente dez anos) e de uma

linhagem proveniente do México recentemente colonizada no laboratório, estabeleceram que existiam diferenças entre as duas linhagens. Estes autores verificaram que os machos da linhagem de *C. hominivorax* do México, no laboratório, não competiam com êxito com os machos da linhagem da Flórida. Entretanto, esta diferença no comportamento dos machos, na frequência de acasalamento dessas duas linhagens desapareceram gradualmente, ou seja, pouco ou nenhuma diferença existia após a 15ª geração da linhagem do México em condições de laboratório. Outra oportunidade para se comparar as duas linhagens de *C. hominivorax* (Flórida e México) foi fornecida pelo descobrimento de FLETCHER *et alii* (1966) de um feromônio existente nos machos de *C. hominivorax*.

O odor dos machos não acasalados de *C. hominivorax* tinha um pronunciado efeito no comportamento das fêmeas. Quando o odor dos machos era apresentado às fêmeas virgens, um aumento no movimento de batimento das asas e alisamento do corpo foi observado nas fêmeas em condições de laboratório. Logo após, um movimento exploratório de procura do macho foi observado, aumentando gradualmente até que um contacto corpóreo permitia o início à cópula. Esses autores verificaram que no laboratório os machos tornam-se sexualmente agressivos a partir de 36 horas após a emergência, quando começavam a atacar fêmeas, outros machos ou mesmo objetos inanimados. A intensidade da resposta das fêmeas virgens de *C. hominivorax* ao odor dos machos está relacionada com a idade das fêmeas. Assim, as fêmeas vir-

gens geralmente rejeitam os machos até 48 horas após a emergência, quando então se tornam receptivas às tentativas de cópula. A resposta das fêmeas ao feromônio, aumenta gradativamente e é máxima, em fêmeas com seis dias de idade, havendo um decréscimo na resposta quando as fêmeas atingem sete a oito dias.

FLETCHER *et alii* (1966), descreveram pela primeira vez, agressividade de fêmeas, durante o acasalamento. Quando um macho é introduzido numa caixa contendo fêmeas virgens de seis dias de idade, observa-se um comportamento sexual característico por parte das fêmeas. Sem qualquer iniciativa do macho, uma ou mais fêmeas subitamente dele se aproximam e o tocam. Essa aproximação por parte da fêmea é, geralmente, acompanhada por um pequeno golpe ou uma série deles, ou mesmo por um vôo curto ao redor do macho. Quando este responde à cõrte e inicia a cópula com uma dessas fêmeas, as outras, muitas vezes, aproximam-se do casal, repetindo os movimentos de cõrte acima citado, apresentando também distensão do ovipositor (FLETCHER *et alii*, 1966).

Para verificar como diferentes linhagens de fêmeas de *C. hominivorax* respondem ao feromônio dos machos, FLETCHER *et alii* (1968) compararam duas linhagens de *C. hominivorax* da Flórida e do México, sendo a linhagem da Flórida mantida há onze anos no laboratório, utilizada com sucesso no programa de erradicação nos E.U.A. e a linhagem de *C. hominivorax* no México, na época, mantida apenas recentemente no laboratório. Estes autores verificaram

que fêmeas virgens da linhagem da Flórida com seis dias de idade, respondem de maneira efetiva e semelhante ao odor dos machos de sua própria linhagem como também ao feromônio da linhagem do México. Ao contrário, fêmeas virgens da linhagem do México não respondem ao feromônio, nem dos machos de sua linhagem nem o dos machos da Flórida (FLETCHER *et alii*, 1968). Para estes autores, o comportamento das fêmeas de *C. hominivorax* da linhagem da Flórida pode ser explicado, pelo menos em parte, pela pressão de seleção que ocorre durante a longa criação em massa no laboratório. A linhagem de *C. hominivorax* da Flórida foi deliberadamente selecionada pela grande agressividade apresentada pelos machos (BAUMHOVER, 1965), agressividade que vinha sendo mantida nos onze anos de criação no laboratório. A linhagem do México, por outro lado, não havia sido submetida a nenhuma seleção artificial para a agressividade dos machos desde que havia sido estabelecida no laboratório em 1964 (ALLEY & HIGHTOWER, 1966). No entanto, esta diferença nas respostas das fêmeas de *C. hominivorax* das duas linhagens ao feromônio dos machos, não pode ser explicada apenas com base na agressividade dos machos (FLETCHER *et alii*, 1968). Dados de RICHARDSON *et alii* (1982) talvez expliquem satisfatoriamente esses resultados como discutiremos adiante. Posteriormente, FLETCHER & TURNER (1970) selecionaram duas sublinhagens de fêmeas de *C. hominivorax* a partir da linhagem do México, que estava sendo mantida no laboratório desde 1964, que exibiam comportamento de acasalamento agressivo na presença do feromônio do macho. Os testes foram realizados com fêmeas virgens de seis dias de idade, as

mais ativas das duas sublinhagens denominadas A e B, e que eram colocadas em gaiolas contendo machos da mesma sublinhagem respectivamente. A agressividade foi medida pelo número de golpes ("strikes") realizados pelas fêmeas na presença de machos durante um período de 15 minutos. Estes autores verificaram que na sublinhagem A, estabelecida a partir de 2 fêmeas, houve um aumento da média de golpes de 3,6 na geração parental para 30,2 na geração F_1 . Embora não tivesse sido feita nenhuma seleção nas gerações F_2 e F_3 , as fêmeas mantiveram comportamento agressivo. O número médio de golpes na geração F_4 foi de 17,4. Na sublinhagem B, estabelecida a partir de 3 fêmeas, o número médio de golpes aumentou de 3 na geração parental para 16,8 na geração F_1 e para 19,5 na geração F_2 . Para FLETCHER & TURNER (1970) estas experiências mostram que o caráter para agressividade das fêmeas é herdado. BAUMHOVER (1966) sugere que a adaptação dos machos de *C. hominivorax* da linhagem Flórida às condições artificiais de laboratório, contribuíram para aumentar o comportamento agressivo dos machos. ALLEY & HIGHTOWER (1966) verificaram que machos da linhagem de *C. hominivorax* do México, tornaram-se tão agressivos (baseado na frequência de acasalamento) quanto os machos da linhagem Flórida, após terem sido mantidos no laboratório por quinze gerações.

Mais recentemente, MACKLEY & BROCE (1981), verificaram que as fêmeas de *C. hominivorax* são responsáveis pela produção de uma substância química que pode ser detectada pelos machos durante o contato. Esta substân-

cia química tem como função o reconhecimento sexual, além de estimular os machos para a cópula e de afetar outros aspectos do ritual de acasalamento. Para estes autores, baseado nas diferenças de comportamento sexual de machos e fêmeas de *C. hominivorax*, parece improvável que o feromônio seja produzido pelos machos como descrito por FLETCHER *et alii* (1966), e atribuem às fêmeas a produção desta substância química.

3. Dados cariotípicos

A ordem Diptera constitui-se num exemplo de um grande grupo taxonômico caracterizado por um pequeno número de cromossomos (WHITE, 1973). O número diploide ($2n$) de cromossomos nesta ordem de insetos varia de 4 a 12, prevalecendo os de número 6 a 8. A família Calliphoridae é caracterizada por apresentar um número de cromossomos uniforme, isto é, $2n = 12$, embora sejam relativamente comuns variações no tamanho e forma dos cromossomos tanto intra quanto interespecificamente (BOYES, 1961; BOYES & van BRINK, 1965; BOYES & SHEWELL, 1975).

As principais características comumente utilizadas na descrição e comparação dos cromossomos metafásicos, em células de indivíduos de diferentes espécies, ou de indivíduos da mesma espécie são: a) o número de cromossomos; b) a percentagem que cada par de homólogos representa em relação ao comprimento total dos cromossomos do

genoma; c) o número, tamanho e posição das constrições secundárias e de satélites; d) as diferenças de comprimento entre genomas diferentes; e) a posição, o número e a distribuição de segmentos heterocromáticos condensados ou corados diferencialmente (BOYES & van BRINK, 1965; JACKSON, 1971). Essas comparações, tem permitido estabelecer correlações filogenéticas entre indivíduos de populações analisadas.

Embora o mais importante em um cromossomo seja o seu conteúdo gênico, que não é detectado por este tipo de análise, as características cariotípicas têm demonstrado ser de grande valia como base de comparações à nível inter e intraespecíficos (WHITE, 1973; STEBBINS, 1950).

Vinte e nove espécies de Calliphoridae foram analisadas citologicamente por STEVENS, 1908; METZ, 1916; BOYES, 1961; ULLERICH, 1963. Todas as espécies apresentaram seis pares de cromossomos. Algumas espécies de *Chrysomya* e *Cochliomyia* apresentaram cromossomos sexuais grandes, outras pequenos e estes podem ser total ou parcialmente heterocromáticos e variar quanto à posição do centrômero. Em outras espécies, o par sexual é pequeno e de acordo com BIER (1960), ULLERICH (1963) e MELANDER (1963), é homomórfico nos dois sexos em *Calliphora erythrocephala* (= *Calliphora vicina*). Outros autores (KEUNEKE, 1924; NAVILLE, 1932; STRASBURGER, 1933 e BOYES, 1961), descreveram esse pequeno par, como sendo heteromórfico nos machos. Desde que eles são muito pequenos, de acordo com BOYES (1967), é muito difícil saber quem está com a razão, e

pode mesmo ser que as duas interpretações estejam corretas, pois esses autores trabalharam com linhagens diferentes.

KAUFMAN & WASSERMAN (1957) foram os primeiros a descrever sob a denominação de *Callitroga hominivorax*, atualmente *Cochliomyia hominivorax*, o cariótipo de larvas criadas no laboratório, e que foram originalmente coletados no Texas. Este trabalho teve como finalidade básica, verificar o efeito da radiação (raios X) nos cromossomos desta espécie, técnica utilizada por outros autores como base do método de esterilização de insetos. Estes autores, através da análise cariotípica, elaboraram um idiograma, constituído por cinco pares de autossomos e um par de cromossomos sexuais (XX-fêmea e XY-macho).

BOYES (1961), utilizando larvas de linhagens de *C. hominivorax* derivada da linhagem analisada por KAUFMAN & WASSERMAN, descreveu um cariótipo modificado. BOYES confeccionou um idiograma para *C. hominivorax*, no qual o comprimento dos cromossomos foram expressos em porcentagens relativas ao comprimento total dos cromossomos (% TCL). Nele indicou a presença de uma constrição secundária no braço longo do cromossomo III, a qual não havia sido descrita por KAUFMAN & WASSERMAN. Além disso, afirma ainda que o par II descrito por estes últimos autores corresponde em comprimento e posição do centrômero ao par III, por ele analisado. O idiograma elaborado por KAUFMAN & WASSERMAN, mostra um cromossomo X cujo comprimento se aproxima ao do menor par de autossomos. No cariótipo analisado por BOYES, o comprimento do cromossomo X é aproximada-

mente 50% menor do que o analisado por KAUFMAN & WASSERMAN (1957).

Fotomicrografias de metáfases de linhagem *C. hominivorax* derivadas da linhagem de KAUFMAN & WASSERMAN, foram publicadas por LA CHANCE *et alii* (1964), que apresentaram diferenças cariotípicas, em relação aos cariótipos previamente confeccionados por KAUFMAN & WASSERMAN e BOYES. O sistema de numeração cromossômica empregado por LA CHANCE *et alii* (1964), foi baseado no idiograma e terminologia de BOYES (1961). Os cromossomos sexuais são menores que os das linhagens previamente descritas. Neste trabalho, LA CHANCE *et alii*, descreveram também uma linhagem mutante de *C. hominivorax*, mantida no laboratório de Mission no Texas, por mais de 20 gerações. Esta linhagem conhecida como Brc (Black R-cell), é caracterizada por possuir toda a célula R da asa, completamente escurecida. Esta mutação originou-se da reprodução de um macho encontrado dentre outros de uma progênie de moscas irradiadas.

Para a análise citológica foram utilizadas células de testículos de machos selvagens e mutantes-Brc dissecados de pupas de dois a três dias depois da fase larval. A comparação de pré-metáfases de espermatogônias e metáfases-I de espermatócitos primários entre o tipo selvagem e mutante-Brc, revelaram que o fenótipo mutante estava associado com uma translocação recíproca, envolvendo o braço longo do cromossomo II e o braço curto do cromossomo-IV, com pontos de quebra próximos ao centrômero nos respectivos cromossomos. Essas quebras cromossômicas envolvendo o par II e

IV acompanhada por uma troca recíproca de aproximadamente um braço inteiro de cada cromossomo, resultou na formação de dois novos cromossomos na linhagem Brc de *C. hominivorax*.

Estudos cariotípicos de linhagens de *C. hominivorax* coletadas em várias regiões dos Estados Unidos e México, estão sendo conduzidos atualmente por RICHARDSON *et alii* (1980 e 1982).

Através de análises estatísticas das medidas obtidas do complemento cromossômico de várias amostras, estes autores identificaram 10 cariótipos diferentes designando-os por letras de A a J. Estes autores empregaram o termo gamodema para descrever as diversas populações analisadas. O termo gamodema é definido como "um grupo composto de indivíduos, os quais estão situados espacial e temporariamente, de tal forma que, dentro dos limites de seu sistema de reprodução, todos podem se intercruzar" (GILMOUR & HESOLP-HARRISON, 1954).

Os dez cariótipos diferem na relação de comprimento dos cromossomos e nas respectivas posições do centrômero. Além disso, um dos cromossomos, o de número 3 distingue-se dos demais, por apresentar intenso brilho em ambos os lados do centrômero quando o preparado é tratado com quinacrina e observado em ultra-violeta (Banda-Q).

A nomenclatura adotada por RICHARDSON *et alii* para identificar os cromossomos é, até certo ponto, original. Assim, o par sexual é considerado o número 1; o par

2 seria o metacêntrico mais longo do genoma; o par número 3 se caracteriza por apresentar nítida banda-Q (quinacrina) e os demais pares 4, 5 e 6 são enumerados pela posição de centrômero independente do tamanho do cromossomo. Desta forma, o 4 é o mais metacêntrico e o 6 é o mais acrocêntrico. Os cromossomos X e Y são facilmente identificáveis, sendo que o cromossomo Y demonstrou ser o mais heterocromático, apresentando-se também ligeiramente brilhante quando corado com quinacrina. Todos os cariótipos descritos por esses autores, mostraram fluorescência acentuada e mais volumosa em somente um cromossomo, o de número 3.

Neste trabalho publicado em 1982, RICHARDSON *et alii* correlacionaram os pares de autossomos da linhagem de *C. hominivorax* (tipo 009) do Texas, por eles analisadas com os três cariótipos descritos para a linhagem do Texas, respectivamente por KAUFMAN & WASSERMAN (1957), BOYES (1961) e LA CHANCE *et alii* (1964). Adotando a nomenclatura de RICHARDSON *et alii*, o par 2 corresponde ao 6 de KAUFMAN & WASSERMAN; o 3 ao 5, o 4 ao 3, o 5 ao 4 e o 6 ao 2, respectivamente.

Para os cariótipos descritos por BOYES e LA CHANCE *et alii*, o par 2 do tipo 009 corresponde ao VI, o 3 ao V, o 4 ao II, o 5 ao IV e o 6 ao III, respectivamente.

Com relação aos cromossomos X e Y as três linhagens descritas pelos autores acima coincidem com a descrição de RICHARDSON *et alii* para a linhagem de *C. hominivorax* (009) do Texas. No que se refere à análise dos ca-

riótipos analisados por RICHARDSON *et alii* (1981, 1982), encontraram primariamente cinco grupos de cariótipos diferentes nas amostras analisadas de julho a outubro de 1978, no sul dos Estados Unidos e México. Desta forma, no oeste do Texas ocorriam os tipos (D, F, J), no Novo México (A, B, F), Arizona (A, B) e Califórnia (A, D). Os tipos A e B ocorriam juntos no sudoeste do Novo México e no sudoeste do Arizona e, em algumas míases observadas, encontraram ambos os tipos (A e B). Estes dois tipos, embora simpátricos, parecem não se inter cruzar na natureza.

Alguns aspectos do desenvolvimento do sistema reprodutivo (oogênese), de *C. hominivorax* foram descritos em conexão com experimentos sobre o efeito de mutações letais dominantes induzidas por radiações ionizantes no desenvolvimento de oócitos dessas espécies (LA CHANCE & LEVERICH, 1962). Em 1963, LA CHANCE & BRUNS analisaram a inibição do crescimento ovariano de *C. hominivorax* induzida por radiações ionizantes, além das modificações morfológicas e citológicas que conduzem à esterilidade das moscas irradiadas.

Nesse trabalho, os autores forneceram uma detalhada descrição sobre a citologia dos ovários em alguns estágios de pupas e de adultos normais de *C. hominivorax*, indicando as fases em que as oogonias são mitoticamente mais ativas. Mostram também os estágios do desenvolvimento em que os ovários são mais sensíveis aos efeitos das radiações ionizantes. Essa maior sensibilidade ocorre nas fêmeas recém emergidas (0 a 24 horas após a eclosão), fase

em que o material cromossômico das células tróficas sofrem replicação endomitótica.

Resultados semelhantes foram obtidos por CRYSTAL & LA CHANCE (1963) e LA CHANCE & LEVERICH (1968) em estudos citológicos da oogênese em adultos de *C. hominivorax* tratados com agentes quimioesterilizantes. BOYES (1961) e BOYES & van BRINK (1965) além da descrição dos cromossomos de *C. hominivorax* descreveram o complemento cromossômico de mais doze espécies de Calliphoridae, entre elas, a de *Cochliomyia macellaria*. Dezoito complementos somáticos de larvas desta última espécie coletadas em St. Georges (Granada) foram analisados, sendo cinco pares de autossomos e um par de cromossomos sexuais (XX na fêmea e XY no macho), estes últimos menores quando comparados com o par sexual de *C. hominivorax*. Em 1975, BOYES & SHEWELL analisaram amostras de *C. macellaria* coletadas no México e Porto Rico e verificaram que os pares III e IV, nestas duas amostras apresentam diferentes proporções dos braços. Ao compararmos o complemento cromossômico de *C. macellaria* de Granada com os do México e de Porto Rico, verifica-se que os pares III e IV têm relações de braços diferentes nas três linhagens.

Os complementos cromossômicos das espécies de gênero *Chrysomya* foram descritos por ULLERICH (1958, 1963, 1971, 1973, 1975 e 1976) para 14 espécies de Calliphoridae, dentre elas *Chrysomya a. albiceps*, *C. a. rufifacies*, *C. megacephala*, *C. chloropyga* e forma *C. putoria*. Em alguns de seus trabalhos esse autor deu ênfase especial aos meca-

nismos de determinação do sexo neste grupo de moscas.

BOYES (1965, 1967) e BOYES & SHEWELL (1975) estudando a citotaxonomia da família Calliphoridae confeccionaram o idiograma de seis espécies de *Chrysomya* dentre elas, *C. a. albiceps*, *C. chlorophyga*, forma *C. putoria* e *C. megacephala*. Três destas, ou sejam, *C. chlorophyga*, forma *C. putoria* e *C. megacephala*, são espécies cuja reprodução é anfogênica; isto é, na descendência produzem ambos os sexos em aproximadamente igual frequência. Estas três espécies apresentam cariótipos semelhantes consistindo de cinco pares de autossomos e um par de cromossomos sexuais (XX-fêmea e XY-macho). O cromossomo X é sempre maior que o Y e ambos menores que os autossomos, de acordo com BOYES & SHEWELL (1975) e ULLERICH (1976). No entanto, *C. a. rufifacies* e *C. a. albiceps*, como mostram os autores que citaremos abaixo apresentam reprodução monogênica; isto é, as fêmeas são prèdeterminadas geneticamente para produzir em sua descendência sô machos ou sô fêmeas.

A monogenia em moscas deste gênero foi descoberta em *C. a. rufifacies* (ROY & SIDDONS, 1939) e posteriormente foi verificado ocorrer também em *C. a. albiceps* (ULLERICH, 1958, 1963). Estes autores verificaram que a determinação do sexo nestas duas espécies difere do esquema usual de homo-heteromorfismo dos cromossomos sexuais. Nelas o pequeno par cromossômico heterocromático, que corresponde ao par sexual das espécies de Calliphoridae, são morfologicamente iguais nos dois sexos.

Monogenia, em reprodução sexual é também conhe

cida em outros dípteros, como alguns cecidomídeos (BARNES, 1931 e 1950), algumas linhagens de *Musca domestica* (WAGONER, 1965, 1969 e RUBINI & FRANCO, 1969), sciarídeos estudados por METZ (1938) e etc, embora os respectivos mecanismos de determinação do sexo pareçam ter bases genéticas diversas, e diferentes do apresentado em Calliphoridae.

A espécie *Calliphora erythrocephala*, também é considerada monogênica e como já dissemos anteriormente de acordo com BIER (1960), ULLERICH (1963) e MELANDER (1963) não apresentam cromossomos sexuais morfologicamente reconhecíveis. ULLERICH (1963) concluiu que o pequeno par em *C. erythrocephala*, perdeu as funções na determinação do sexo, as quais foram transferidas para um dos pares maiores do genoma.

Em *C. a. rufifacies* e *C. a. albiceps*, ULLERICH (1958, 1963) verificou que teligenia (fêmeas produtoras de fêmeas) e arrenogenia (fêmeas produtoras de machos) são características determinadas geneticamente e que os machos não têm qualquer influência na determinação do sexo da progênie. As fêmeas teligênicas e arrenogênicas são morfologicamente iguais e aparecem nas mesmas proporções em cada progênie (ULLERICH, 1963). Posteriormente, ULLERICH (1971, 1973) com o auxílio de uma mutação ("white") recessiva em *C. a. rufifacies* descobriu o mecanismo de determinação do sexo nestas espécies. A condição de ser ligada ao sexo desta mutação, permitiu determinar que as fêmeas teligênicas são heterozigotas para um fator sexual feminino (F), dominante ou epistático, enquanto que as fêmeas arrenogêni-

cas e os machos são homozigotos em relação ao alelo recesivo (f). ULLERICH (1963, 1971, 1975) através da herança de translocações recíprocas induzidas por raios X, obteve informações sobre a localização dos fatores determinantes do sexo em *C. a. rufifacies* e *C. a. albiceps*. O locus F/f estaria localizado no cromossomo 5. Esta descoberta demonstra que o pequeno par cromossômico heterocromático (par 6), não tem função determinadora do sexo nestas duas espécies de *Chrysomya*.

O gênero *Musca*, membro da família Muscidae (Diptera Cychlorhapha), inclui o complexo *Musca domestica*. O complemento diplóide normal desta espécie é de 12 cromossomos. A condição mais freqüentemente observada é aquela em que ao lado de cinco pares de autossomos, os cromossomos sexuais são homomórficos na fêmea (XX) e heteromórficos nos machos (XY). Ambos X e Y podem ser polimórficos em populações naturais, pois são conhecidas pelo menos três formas que diferem no comprimento relativo dos braços cromossômicos, mas isto em nada afeta a determinação do sexo de acordo com BOYES (1967), MILANI (1967), MILANI *et alii* (1967) e RUBINI (1967). Porém, não é incomum encontrarmos populações naturais ou de laboratórios de *M. domestica* indivíduos de ambos os sexos apresentarem os cromossomos sexuais morfologicamente iguais. Neste caso, a determinação do sexo passa a ser controlada por fatores determinantes de machos ou de fêmeas localizados em um par correspondente a um autossomo das demais linhagens (WAGONER, 1967, 1969). Neste caso os machos são heterozigotos para um fator locali

zado no cromossomo número 3, definido como fator determinante de machos (Mn) e fêmeas são homozigotas recessivas para este fator (mm) (RUBINI & FRANCO, 1969). A análise da frequência de "crossing-over" mostra que o "locus" M(m) masculino em *M. domestica*, para o qual tem sido adotado o símbolo M(3), está localizado próximo ao centrômero do cromossomo 3 (McDONALD, 1971). Cruzamentos recíprocos entre moscas da linhagem M(3) (XX tanto para os machos como para as fêmeas) e as linhagens selvagens (XX : XY) produzem populações híbridas onde a proporção sexual é sempre de 1:1 na F1 e nas gerações seguintes, pois os machos terão sempre ou o fator M ou o cromossomo Y, nunca os dois juntos (McDONALD, 1971).

A família Sarcophagidae, que é muito próxima e tem hábitos semelhantes a Calliphoridae, inclui espécies que são parasitas facultativas e normalmente se alimentam de material orgânico em decomposição. A análise do cariótipo de várias espécies de Sarcophagidae, revelou que o tamanho dos cromossomos sexuais heterocromáticos apresenta grande variação interespecífica (STEVENS, 1908; METZ, 1922; KEUNEKE, 1924; BOYES & van BRINK, 1965 e BOYES, 1953 e 1963). Ao contrário do que ocorre com os cromossomos sexuais, a morfologia dos autossomos é bastante uniforme em toda a família. KAUL *et alii* (1978) analisaram o complemento somático de cinco espécies simpátricas do gênero *Parasarcophaga* (Sarcophagidae). Todas as espécies apresentaram cinco pares de autossomos e um par de cromossomos sexuais (XX-fêmea e XY-macho).

Estes autores verificaram que em quatro espê-

cies os autossomos correspondentes são praticamente iguais em comprimento enquanto que em *P. ruficornis* apresentam acentuada diferença em relação às demais. Por outro lado, verificaram que a relação de braços de cada par de autossomos foi muito semelhante entre as cinco espécies. Em relação aos cromossomos sexuais, tanto o X como o Y apresentam uma grande variabilidade de tamanho quando comparados nas cinco espécies. Para KAUL *et alii.* (1978), as variações no tamanho dos cromossomos sexuais heterocromáticos indicam que mudanças na quantidade de heterocromatina desempenharam um papel direto na evolução cariotípica nesta família.

Nos preparados de mitose de células de dípteros muscoides caliptrados é frequente observarmos uma íntima associação entre os cromossomos homólogos. STEVENS (1908) foi quem primeiro observou esse fenômeno nos Díptera e que agora é designado pareamento somático. Esta autora em 1908 enfatizou que: "Este não é um fenômeno ocasional, pois é característico de todas as mitoses nas oogônias e espermatogônias". Hoje sabemos que o mesmo ocorre em mitoses de praticamente todas as células somáticas. METZ (1916) em estudos envolvendo cerca de oitenta espécies de Díptera, encontrou este tipo de associação em todos os estágios da ontogênese e diferentes fases da divisão celular, exceto na segunda divisão meiótica. ULLERICH (1963, 1976), analisando o comportamento cromossômico durante a espermatogênese e ovogênese de *Chrysomya a. albiceps*, *C. a. rufifacies*, *C. megacephala*, *C. chloropyga* e forma *C. putoria*, verificou que os autossomos caracterizam-se

por estarem pareados ao longo de todo o seu comprimento em núcleos profásicos e somente na prófase tardia há um afrouxamento deste pareamento. Na metáfase, embora os cromossomos não estejam pareados, os homólogos mantêm-se ainda um ao lado do outro. Os cromossomos sexuais, tanto nas prófases das espermatogônias como das oogônias apresentavam-se separados, permanecendo assim durante a metáfase.

Os trabalhos aqui relatados mostram que, sem dúvida, a análise dos cariótipos das várias espécies contribuem com excelentes dados que associados aos de taxonomia clássica nos auxiliam no estabelecimento de relações filogenéticas entre espécies.

4. Banda C

O termo heterocromatina foi criado por HEITZ (1928) para definir segmentos cromossômicos que permanecem condensados durante a intérfase e exibem heteropiconose em estágios particulares do ciclo mitótico. Nessas condições, esses segmentos cromossômicos podem reter as propriedades de colorabilidade intensa durante a intérfase e, em geral, de forma precoce na prófase do ciclo de divisão. Em contraposição a esta, a cromatina que se apresenta difusa, não compactada durante a intérfase e que não mostra heteropiconose foi denominada eucromatina.

HEITZ (1933) foi o primeiro a realizar um estudo sobre a quantidade relativa e distribuição da eu e heterocromatina em preparações de cromossomos mitóticos de

Drosophila. Trabalhando com *Drosophila funebris*, HEITZ (1933) mostrou que nessa espécie, a heterocromatina é concentrada geralmente nos cromossomos sexuais, caracterizando o cromossomo Y inteiro e metade do comprimento do cromossomo X.

MULLER *et alii* (1937), HINTON (1942) e PAVAN (1946) trabalhando com *Drosophila melanogaster* os dois primeiros autores e *D. nebulosa*, o terceiro, mostraram que as proporções entre a cromatina (eu e heterocromatina) dos cromossomos mitóticos e politênicos é constante. Assim, MULLER *et alii* (1937) mostraram que longos segmentos do cromossomo X mitótico são reduzidos a uma simples banda nos cromossomos politênicos da glândula salivar em *Drosophila melanogaster* e HINTON (1942) na mesma espécie comparou o cromossomo II mitótico e politênico indicando que a região heterocromática correspondente a 1/5 deste par durante a mitose, é reduzida a uma simples banda nos cromossomos politênicos. PAVAN (1946) verificou que os cromossomos mitóticos (X e II) de *D. nebulosa* apresentam praticamente a mesma quantidade de heterocromatina centromérica. Além disso, verificou que as heterocromatinas dos cromossomos X e III estão reduzidas a uns poucos grânulos heterocromáticos. O cromossomo Y que é um dos maiores cromossomos nas metáfases mitóticas, nos cromossomos politênicos se reduz também a apenas alguns grânulos no centrômero.

Heterocromatina centromérica que existe praticamente em todos os cromossomos, independente do organismo considerado, foi designada constitutiva. Esta denominação

originou-se a partir da distinção proposta por BROWN (1966) para definir dois tipos de heterocromatina, que diferiam em seus comportamentos: heterocromatina constitutiva, que quando ocorre está sempre presente em ambos os homólogos e a heterocromatina facultativa, que pode ocorrer em um dos cromossomos e não em seu homólogo ao mesmo tempo. Segundo BROWN (1966), a heterocromatina facultativa oferece uma oportunidade ímpar para o estudo dos mesmos genes em dois diferentes estados de condensação da cromatina. Os dois exemplos mais conhecidos de comportamento de heterocromatina facultativa são: (1) Nas fêmeas XX de marsupiais e mamíferos placentários (BARR & BERTRAM, 1949; LYON, 1961, 1962) onde um dos cromossomos X é regularmente heteropicnótico nos núcleos somáticos e que foi denominado de cromatina sexual, (2) Nos pulgões coccídeos onde o lote de cromossomos paterno se comporta de modo heterocromático (BROWN & NUR, 1964; BROWN, 1966).

Posteriormente, com o avanço das técnicas bioquímicas e de autoradiografia, determinou-se primeiramente em mamíferos que a heterocromatina constitutiva é um tipo cromatínico especial (LEE & YUNIS, 1970, 1971), que, em geral, apresenta em sua composição um DNA altamente repetitivo (YASMINEH & YUNIS, 1969, 1970, 1971 e ARRIGHI & HSU, 1970; YUNIS *et alii*, 1971). Esse DNA, em geral, não é transcrito em RNA de função conhecida (FRENSTER, 1965; FLAMM *et alii*, 1969; SIEGER *et alii*, 1970; FLAMM, 1972). Em contraposição, a heterocromatina facultativa corresponde à eucromatina inativa na interfase, que não responde a estí

mulos de transcrição pelas alterações na estrutura do "super coiling" da desoxiribonucleoproteína (LYON, 1974; revisão em MELLO, 1978).

A técnica de hibridização molecular *in situ* (PARDUE & GALL, 1970), forneceu evidências de que DNA satélite repetitivo, localiza-se principalmente na heterocromatina constitutiva centromérica. Em *Drosophila melanogaster*, através desta técnica, demonstrou-se a localização deste tipo de DNA, na heterocromatina centromérica, como também, em outras regiões heterocromáticas dos cromossomos desta espécie (JONES & ROBERTSON, 1970; RAE, 1970; BOTCHAM *et alii*, 1971; GALL *et alii*, 1971). Através desta técnica, em *Chironomus*, SCHMIDT *et alii* (1980) e SCHMIDT (1980) isolaram e localizaram sequências de DNA altamente repetitivo na heterocromatina centromérica.

PARDUE & GALL (1970) verificaram que no complemento cromossômico normal de camundongo ($2n = 20$), cada cromossomo tem uma região próxima ao centrômero que pode ser identificada como heterocromática por sua propriedade de coloração. Estes autores notaram que a heterocromatina centromérica de cromossomos de camundongo, rica em DNA satélite, corava mais intensamente com Giemsa após terem sido desnaturados com NaOH antes da hibridização "in situ". GALL & PARDUE (1971) desenvolveram este procedimento (hibridização de DNA - RNA) para determinar as posições de determinadas sequências de bases do DNA nos cromossomos. Evidenciaram que o DNA satélite se hibridizava com o DNA da heterocromatina centromérica, dos cromossomos de camundongo.

ARRIGHI & HSU (1971), através de preparações citológicas para localizar DNA repetitivo em cromossomos humanos, utilizando o procedimento de PARDUE & GALL (1970), observaram regiões heterocromáticas, principalmente em áreas centroméricas e na porção distal do cromossomo Y, sendo que a área centromérica deste não é heteropiconótica. A partir de tais observações, ARRIGHI & HSU adaptaram essa técnica para evidenciar a heterocromatina constitutiva. Uma vez que esse procedimento tornava mais corada a região heterocromática centromérica, o método foi denominado de banda C pela Conferência de Paris (1971). Em 1971 HSU empregou o método de banca C, utilizado por ARRIGHI & HSU (1971), e verificou que a heterocromatina dos cromossomos de *Drosophila melanogaster* repondem de maneira semelhante aos cromossomos humanos.

Muitas variações e adaptações metodológicas da técnica para evidenciar a heterocromatina constitutiva foram descritas. São exemplos, os pré-tratamentos com HCl, RNase e álcoois, antes da incubação em solução salina e coloração com Giemsa (ARRIGHI & HSU, 1971), o uso de concentrações diferentes de hidróxido de sódio e tampão alcalino (STEFOS & ARRIGHI, 1971), como também o uso de outras bases como o hidróxido de bário (SUMMER, 1972) como agentes desnaturantes. A importância relativa das diferentes variáveis desta técnica foram testadas por KATO & MORIWAKI (1972) e MAC KENZIE & LUBS (1973).

Devido à associação da banda C com heterocromatina constitutiva rica em DNA satélite, considerou-se ini

cialmente que as regiões intensamente coradas pelo Giemsa representavam áreas de DNA reassociado altamente repetitivo (GAGNÉ *et alii*, 1971; SCHNEDL, 1971; YUNIS *et alii*, 1971; de la CHAPELLE *et alii*, 1971; YUNIS & YASMINEH, 1971; MACE *et alii*, 1972).

De acordo com JOHN & MIKLOS (1979) em muitos organismos foram localizadas sequências de DNA satélite e outros DNA altamente repetitivos na região centromérica dos cromossomos. Entretanto, de acordo com estes mesmos autores a técnica da banda C não diferencia DNA satélites particulares. Desta forma, não somente em diferentes espécies podem existir diferentes satélites, como também podem coexistir dentro de uma espécie e mostrar uma distribuição diferente que não é detectada ou aparece uniformemente corada quando se utiliza a técnica de banda C. Entretanto, a composição molecular das regiões que respondem para banda C nem sempre é homogênea (JALAL *et alii*, 1974). Segundo COMINGS (1978), existem várias razões para se acreditar que o método da banda C não representa um mecanismo simples, uma vez que algumas regiões cromossômicas que reagem como banda C positiva, não contêm DNA de alta repetitividade ou DNA satélite (COMINGS & MATOCCIA, 1972; ARRIGHI *et alii*, 1974). Assim, por experimentos de hibridização DNA - RNA *in situ*, ARRIGHI *et alii* (1974), verificaram que o cromossomo Y inteiro e todo o braço longo do cromossomo X de hamster *Cricetulus griseus*, reagem positivamente ao procedimento de banda C, embora essas regiões cromossômicas tenham pouco, se algum DNA repetitivo. Da mesma forma, o

cromossomo Y de *Drosophila hydei* que é banda C positivo, não contém DNA repetitivo (HENNING, 1973).

De acordo com COMINGS *et alii* (1973, 1977) e COMINGS (1978), dados experimentais indicam que, durante o procedimento de banda C, há uma remoção diferencial do DNA cromossômico e que as regiões heterocromáticas são mais resistentes a essa remoção. Admitem ainda outras possibilidades: a) que a heterocromatina constitutiva apresenta maior compactação de seu DNA; b) diferentes interações DNA-proteínas não-histônicas; c) interações DNA-proteínas histônicas; ou ainda d) porque nessa região ocorre renaturação mais rápida do DNA do que em regiões eucromáticas.

Ao lado desses estudos que têm elucidado os aspectos moleculares e da estrutura cromossômica, outras investigações têm sido realizadas independentemente de se conhecer os mecanismos envolvidos no procedimento e produção de banda C. Assim, vários trabalhos foram realizados para verificar se a heterocromatina constitutiva de vários organismos era realmente detectada pelo método de banda C. ULLERICH (1976) realizou um estudo comparativo do padrão de banda C nos cromossomos mitóticos e meióticos de quatro espécies de Calliphoridae pertencentes ao gênero *Chrysomya*, *C. chloropyga*, forma *C. putoria*, *C. varipes* e *C. a. rufifacies*. Para evidenciar a heterocromatina constitutiva nestas espécies foi utilizado o procedimento de HSU (1971) para *Drosophila melanogaster*. ULLERICH verificou que a heterocromatina constitutiva se localiza principalmente nas regiões centroméricas dos autossomos e com menor

frequência nas regiões teloméricas e intersticiais. Somente na forma *C. putoria* há a ocorrência de uma banda C intersticial e esta ocorre no braço curto do cromossomo 3. Bandas C intersticiais são conhecidas em cromossomos de alguns mamíferos e insetos (HSU & ARRIGH, 1971; HSU, 1973; JALAL *et alii*, 1974; BEDO, 1975; GAMPERL *et alii*, 1976; WEBB, 1976; KAUL *et alii*, 1978; KING & JOHN, 1980). Em *C. putoria* ULLERICH (1976) sugere que a presença desta banda intersticial pode estar relacionada com uma constrição secundária frequentemente observada nesta região. As constrições secundárias, regularmente presentes, em alguns casos como em *Gryllus argentinus* (DRETS & STOLL, 1974), em urodelos (HUTCHINSON & PARDUE, 1975) e no gafanhoto *Atractomorpha similis* (KING & JOHN, 1980) são envolvidas por segmentos de heterocromatina constitutiva.

A relação entre a distribuição da heterocromatina e a presença de constrição secundária foi também descrita por KING (1980). Empregando a técnica de banda C em combinação com a coloração de prata (banda NOR) em cromossomos mitóticos de doze espécies de rãs australianas do gênero *Litoria*, este autor descreveu a existência de cinco classes morfológicamente distintas de constrições secundárias. Essas constrições foram classificadas de acordo com a distribuição e tipo de banda C obtidos, bem como através da distribuição de banda NOR. Foram encontrados quatro tipos de heterocromatina C, dentre estas, bandas C intersticiais em alguns pares de cromossomos de seis espécies de *Litoria* analisadas, sendo que as posições destas bandas coincidiram com a localização de constrições secundá

rias. ULLERICH (1976) verificou que o cromossomo X, nas quatro espécies de *Chrysomya*, é parcialmente heterocromático, situação semelhante à que ocorre no cromossomo X de *Drosophila melanogaster* (HSU, 1971; DOLFINI, 1974; PIMPINELLI *et alii*, 1976); em *D. nasutoides* (CORDEIRO *et alii*, 1975); em *Parasarcophaga ruficornis*, *P. knabi*, *P. argyrostoma* (KAUL *et alii*, 1978); em *Phaenicia* (= *Lucilia*) *cuprina* BEDO (1980); em *Anopheles stephensi* (MARCHI *et alii*, 1980) para citar exemplos de alguns dípteros, bem como em alguns mamíferos e seres humanos (ARRIGHI & HSU, 1971; HSU & ARRIGHI, 1971; JALAL *et alii*, 1974).

O cromossomo Y das três espécies anfogênicas de *Chrysomya* apresenta segmentos de heterocromatina constitutiva que variam em tamanho, dependendo da espécie, com exceção do pequeno Y de *C. varipes*, que parece não possuir heterocromatina, detectável pelo procedimento de banda C (ULLERICH, 1976). BEDO (1980), verificou em *P. cuprina* (Calliphoridae), um padrão similar em relação à localização de heterocromatina constitutiva àquela descrita por ULLERICH (1976) para as quatro espécies de *Chrysomya*. Além disso, regiões mais coradas por este método ocorrem particularmente nos segmentos próximos ao centrômero em todos os cinco pares de autossomos. Nesta espécie, os cromossomos sexuais são, de modo especial, corados fortemente. O cromossomo X é constituído quase que totalmente por heterocromatina constitutiva, exceto nos dois quintos distais do braço longo. Já o cromossomo Y, que é o menor membro do complemento, é, em geral, uniformemente corado após o procedimento de banda C. Em casos excepcionais, a meta-

de distal do braço longo do Y é clara, mas não tanto quanto as regiões C negativas dos autossomos. Portanto, o cromossomo Y é mais variável em *P. cuprina*, fato também presente no cromossomo Y de algumas espécies do gênero *Chrysomya* (ULLERICH, 1976). Variações na intensidade de coloração da banda C também ocorrem em outros organismos, tais como no gafanhoto (JOHN & KING, 1977) e moscas do gênero *Parasarcophaga* (KAUL *et alii*, 1978).

Vemos assim que tanto as partes heterocromáticas, quanto os vários tipos de bandas detectáveis por métodos biofísicos e citoquímicos, nos auxiliam a estabelecer relações de semelhanças e diferenças entre cromossomos de espécies dos mais variados tipos de organismos.

Os objetivos do presente trabalho são os seguintes:

1. Fazer um levantamento das espécies de Calliphoridae que causam miíases nos animais domésticos em algumas localidades do Estado de São Paulo;
2. Verificar se outras espécies além de *Cochliomyia hominivorax* são causadoras primárias das miíases;
3. Comparar os cariótipos das cinco espécies de Calliphoridae; *Cochliomyia hominivorax*, *C. macellacia*, *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala* e *C. albiceps* a fim de se estabelecer possíveis relações filogenéticas entre estas espécies;
4. Verificar as variações cariotípicas intra e

interpopulacionais através da análise cromossômica por coloração com orceína lacto-acética e pelo procedimento de banda C, esta última para evidenciar a quantidade e localização da heterocromatina constitutiva nos cromossomos;

5. Comparar os resultados da análise cariotípica com resultados obtidos por outros autores nas mesmas espécies mas de diferentes proveniências;

6. Verificar se os cariótipos de *C. chloropyga*, *C. megacephala* e *C.a.albiceps*, que foram recentemente introduzidas no Brasil, coincidem com os descritos para essas espécies por outros autores em populações procedentes da África e verificar o possível local de introdução de *C. megacephala*.

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material

Em nosso trabalho utilizamos duas espécies do gênero *Cochliomyia*; *C. hominivorax* e *C. macellaria* e, três espécies do gênero *Chrysomya*; *C. chloropyga*, *C. megacephala* e *C. a. albiceps*. Nós concordamos com a definição de ZUMPT (1972), que considera *C. putoria* apenas um fenótipo variante de *C. chloropyga*. Portanto, em nosso trabalho, designaremos *C. chloropyga* e *C. chloropyga* forma *putoria*.

Para as preparações citológicas das cinco espécies foram utilizados gânglios nervosos de larvas do 2º e 3º estágios larvais de ambos os sexos.

2. Obtenção do Material

Cochliomyia hominivorax

Larvas dessa espécie foram obtidas em animais (gado vacum) com miíases expostas, onde frequentemente encontramos também adultos sobrevoando ao redor das lesões. Estes foram coletados por intermédio de rede e levados para o laboratório em tubos de vidro medindo 10 cm x 1,5 cm de diâmetro interno.

As larvas foram retiradas diretamente das le-

sões e em seguida colocadas em caixas de plásticos, contendo serragem e sangue da própria ferida.

Grupos de ovos foram encontrados com certa frequência nos bordos das feridas. Ao serem coletados, estes eram colocados em placas de Petri, forrados com papel de filtro úmido. Essas placas eram, então, transportadas para o laboratório e colocadas em estufa a $37^{\pm} 1^{\circ}\text{C}$ até a eclosão dos ovos. As larvas recém-nascidas eram transferidas para uma caixa de plástico contendo meio de cultura. Nossas coletas foram feitas principalmente em gado infestado da Estação Experimental de Zootecnia de Nova Odessa, SP, e da Fazenda Serramar, em Caraguatatuba, SP.

Para as espécies de *C. chloropyga*, *C. megacephala*, *C. a. albiceps* e *Cochliomyia macellaria* as coletas foram feitas com:

a) Armadilhas

Tipo I

Inicialmente, moscas dessas espécies foram coletadas em armadilhas construídas com latas de coloração preta, medindo cerca de 11 cm de diâmetro por 12 cm de altura, contendo 2 aberturas de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro na parte inferior, para permitir a entrada dos insetos. A parte superior da lata era aberta e sobre a abertura foi colocado um cone feito de cartolina com ápice aberto. Sobre o cone, foi colocado um saco plástico transparente para

reter as moscas que entram pelo ápice. Este modelo de armadilha, foi obtido nos trabalhos de FERREIRA (1975, 1978) e LINHARES (1979). Foram utilizados três tipos de atrativos: peixe (sardinha), carne moída e vísceras de galinha.

Tipo II

Um outro tipo de armadilha, foi construído com latas retangulares de 18 litros medindo 60 x 40 x 30. Em cada lado da lata foi feita uma abertura para o acesso das moscas à isca. Na boca da lata foi colocada uma pirâmide sem fundo e de ápice aberto, construídas por quatro placas de plástico transparentes triangulares. Na parte superior da pirâmide até a alguns centímetros abaixo do ápice, foi colocado uma caixa retangular construída com o mesmo plástico transparente. A parte superior dessa caixa é fechada e a inferior aberta, onde é preso um tubo de pano de malha fina que fica enrolado sobre si mesmo e sobre a pirâmide de plástico. Distendido este tubo serve para facilitar o recolhimento dos insetos capturados. Nesta armadilha foram utilizados como atrativos: carne, peixe ou vísceras de galinha.

b) Outros métodos de coleta (iscas expostas)

Tipo III

Pratos de plástico, contendo carne ou peixe eram colocados nas proximidades de estábulos, ou mesmo em

diferentes lugares do pasto. Após intervalos de tempo determinado, com o auxílio de uma rede entomológica, os adultos, atraídos pelas iscas, eram recolhidos. A coleta no caso era feita colocando-se a rede distendida (uma mão segurando o cabo e a outra o bicho da rede) sobre o prato a cerca de 50 a 60 centímetros e baixando lentamente até mais ou menos 20 ou 30 centímetros, quando de um só golpe a rede é baixada rapidamente envolvendo o prato. Após o que, duas ou três redadas, de um lado para outro, é suficiente para prender praticamente todas as moscas dentro da rede. Em seguida, os adultos eram retirados da rede com tubos de coleta e transportados para o laboratório.

Tipo IV

Em duas vezes, na Fazenda Serramar, adultos eram coletados diretamente em bois mortos, em estado de putrefação. Estes constituíam-se em excelente isca para adultos, especialmente fêmeas, que aí depositavam grande quantidade de ovos. Neste tipo particular de isca, realizamos coletas de adultos, por intermédio de uma rede entomológica. Este método somente foi utilizado duas vezes por ser insalubre e por apresentar perigos de contaminação. Larvas também foram coletadas e colocadas em caixas de plástico de 20 x 20 x 15 cm, contendo serragem misturada com carne ou peixe.

3. Métodos de Criação no Laboratório

3.1.A - Manutenção de adultos das espécies de *Chrysomya* e de *Cochliomyia macellaria*

Os adultos de *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala*, *C. a. albiceps* e de *Cochliomyia macellaria* recém coletados no campo, eram transportados para o laboratório de Entomologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Depois de separados e identificados, eram mantidos em gaiolas de manutenção (50 x 34 x 26 cm) em câmara com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados ($25 \pm 1^\circ \text{C}$, HR 70% e 12 horas respectivamente. Nestas gaiolas, os indivíduos se reproduziam como descreveremos adiante. A alimentação dos adultos, consistia de uma mistura de leite em pó integral e açúcar em proporções iguais e aproximadamente 10% de levedura de cerveja seca. Água era fornecida em frascos separados.

3.1.B - Criação de *Chrysomya a. albiceps*, *C. chloropyga*, *C. megacephala* *Cochliomyia macellaria*

Para uma análise mais detalhada do mecanismo de determinação sexual e também da morfologia dos cromossomos sexuais da espécie monogênica *C.a.albiceps*, ao lado da criação em gaiolas de manutenção descrito acima rea

lizamos os seguintes experimentos: colocamos casais individuais de *C. a. albiceps* em frascos de vidros cilíndricos de 35 cm de altura por 2,5 cm de diâmetro interno (ao todo dez frascos) que foram fechados com um tecido de malha fina de náilon para possibilitar a passagem de ar. No interior desses frascos foram colocados um pequeno frasco de vidro contendo água e uma placa de Petri de 2 cm de diâmetro, contendo fígado bovino cru, que servia tanto para a alimentação como para a oviposição e era observada diariamente até a emergência da progênie do casal.

As fêmeas destas espécies na natureza depositam seus ovos em material orgânico de origem animal, isto é, carcaças ou excrementos. Para a obtenção de ovos no laboratório de *C. chloropyga*, *C. megacephala*, *C. a. albiceps* e *Cochliomyia macellaria*, introduzimos na gaiola a carcaça de camundongo, ou pedaço de fígado bovino cru. Após algum tempo (2 a 4 horas), a isca é retirada da gaiola e com os ovos é colocada em frascos de vidro contendo uma camada de areia umedecida recoberta com papel de filtro. Periodicamente, era adicionado aos frascos mais alimento (carcaça) para assegurar o desenvolvimento das larvas. Os frascos colocados em uma estufa a 30° C, tinham a boca protegida por tecido de malha fina, para proporcionar aeração para as larvas como para evitar que estas saiam do frasco.

Outro método para a obtenção de larvas e adultos constou de retirar os ovos da carcaça, após a coleta e colocá-los em frascos com meio constituído de: ' lei-

te em pó e levedura de cerveja (100 g de leite em pó integral, 100 g de levedura de cerveja, 4,25 g de nipargin, 20 g de agar em 1 litro de água destilada (STOFFOLANO, 1974). As larvas ao deixarem o alimento para entrar na fase de pupa, eram colocadas em outro frasco, contendo areia seca. Após a eclosão dos adultos, estes eram transferidos para as gaiolas de criação.

3.2 - Métodos de criação de larvas de *Cochliomyia hominivorax*

Larvas coletadas em miíases foram inicialmente mantidas em meio de cultura proposto por MELVIN & BUSHLAND (1936, 1940), que era composto de 1000 ml de água, 6 mililitros de formalina, um quilo de carne moída, 1000 ml de sangue e três gramas de citrato de sódio (Método I).

Utilizamos também o método de GINGRICH *et alii* (1971), modificado por BROWN & SNOW (1978, 1979), que padronizaram um meio artificial líquido para a criação das larvas constituído de 6% de sangue em pó, 3% de ovo em pó, 3% de soro bovino ("calf suckle"), 2% (ou 1% em outros casos) de requeijão, 0,25% de formalina diluídas em 85,75% de água (Método II). O sangue de boi e o ovo de galinha foram congelados e liofilizados por 48 horas, moídos, passado por peneira de 100 "mesh" e autoclavado a 121° C durante 10 minutos.

Usamos, com sucesso, duas outras varia-

ções no meio de cultura, a saber:

a) 50 gramas de sangue bovino em pó, 4 mililitros de formalina, 1000 mililitros de água e 200 gramas de carne moída, esta última fornece consistência ao meio, como empregado por MacINNIS (comunicação pessoal) (Método III - A);

b) 600 mililitros de sangue bovino citratado, 0,5 mililitros de formalina, 1000 mililitros de água e 200 gramas de carne (Método III - B).

Nos frascos com larvas, diariamente, era substituído todo o meio de cultura. Trocas periódicas do meio foram efetuadas para assegurar que o alimento (por falta ou putrefação excessiva), não fosse o fator limitante para o desenvolvimento larval. Para o preparo do meio de cultura, o volume de água e sangue são colocados em um bequer ao qual os outros componentes nas respectivas proporções, são então adicionados. O conteúdo do bequer é transferido para um liquidificador, onde a mistura é homogeneizada, durante 2 a 3 minutos. Aproximadamente, 50 gramas de meio foram colocadas em caixas plásticas (20 x 15 x 8 cm), onde, com o auxílio de um pincel, colocávamos cerca de 200 a 300 larvas. Estas caixas eram mantidas em estufa a 37[±] 1° C, e umidade saturada, durante todo o desenvolvimento larval.

3.3 - Manutenção de adultos de *C. hominivorax*

A medida que as larvas deixavam o alimento

to, no fim de seu desenvolvimento, eram removidas para frascos de vidro contendo serragem umedecida, onde pupariavam. Após a emergência dos adultos, estes eram transferidos para as gaiolas de criação (34 x 50 x 26 cm).

A alimentação dos adultos consistia de uma solução de mel e água em partes iguais. Água pura era fornecida em frascos de vidro, de 2 cm de diâmetro por 5 cm de altura, contendo em seu interior um pedaço de espuma de nailon maior que o comprimento do vidro, no qual as moscas sugavam. Água pura era fornecida do mesmo modo. Os adultos foram mantidos em câmara a $27^{\pm} 0,5^{\circ}$ C, umidade relativa de $55^{\pm} 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas, como proposto por (BUSHLAND *et alii*, 1960; HIGHTOWER, 1963; HIGHTOWER *et alii*, 1972; CRYSTAL, 1966, 1967, 1975; BAUMHOVER, 1965; ADAMS *et alii*, 1979 e ADAMS, 1979a, 1979b).

3.4 - Obtenção de ovos de *C. hominivorax*

Nas experiências de oviposição de fêmeas de *C. hominivorax*, para facilidade de manipulação, foram realizadas algumas modificações nos métodos conhecidos (LAAKE, 1939; CRYSTAL, 1964, 1978; CRYSTAL *et alii*, 1965; DAVIS *et alii.*, 1972; De VANEY *et alii*, 1975; FLETCHER *et alii*, 1973; GIBSON *et alii*, 1974; HIGHTOWER *et alii*, 1972; HOLT *et alii*, 1979). Em cada gaiola introduzimos uma placa de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo carne moída e sangue bovino citratado, em proporções iguais. No interior da placa e em contato com a carne, foram colocadas

duas espátulas de madeira de aproximadamente 10 x 1,5 cm de comprimento, embebidas de sangue para estimular a oviposição. Estas gaiolas, mantidas na sala de oviposição, eram colocadas sobre um suporte de madeira tendo na parte inferior (cerca de 5 cm embaixo da base da caixa) uma lâmpada de 60 W acesa. A lâmpada com a finalidade específica de aquecer a isca para a oviposição, situava-se exatamente embaixo da placa de Petri contendo a carne. A distância da lâmpada é variável e o que se deseja é que a temperatura do meio para oviposição se aproxime de 37°C. Com este método, conseguimos grande quantidade de ovos, que eram removidos para as caixas de plástico contendo meio de cultura, e mantidos em estufa a 37[±] 1° C, durante todo o desenvolvimento larval.

Paralelamente, utilizamos a mesma metodologia empregada por GRAHAM & DUDLEY (1959) e de BAUMHOVER (1965), para a obtenção dos ovos de *C. hominivorax*, onde as fêmeas eram colocadas individualmente em frascos de vidro de 100 ml, com boca coberta com um tecido de malha fina. Em seu interior introduzimos uma placa de Petri de 10 cm de diâmetro, contendo carne bovina moída e sangue citratado. Assim, permaneciam por três a quatro horas na sala de oviposição sob temperatura de 37[±] 1° C. Os resultados obtidos com este método em nosso caso foram menos satisfatórios do que os das caixas descritas anteriormente.

3.5 - Manuseio dos ovos e obtenção de larvas para a confecção da curva de crescimento de *C. hominivorax*

A oviposição pode ocorrer diretamente na carne, na espátula de madeira ou na parede da placa de Petri. Os ovos retirados com pinça e pincel eram lavados com água destilada e colocados em pequenas placas de Petri, forradas com papel de filtro umedecido. Essas placas eram colocadas em estufa a $37^{\pm} 1^{\circ}\text{C}$, até a eclosão dos ovos. O tempo de eclosão dos ovos foi determinado como veremos adiante. Logo após a eclosão dos ovos, 30 larvas eram pesadas em balança analítica e as restantes distribuídas em grupos de aproximadamente 100 em caixas, contendo meio de cultura. As caixas eram então colocadas em estufa a $37^{\pm} 1^{\circ}\text{C}$ e aí mantidas durante todo o experimento. A intervalos de aproximadamente 3 horas, 15 larvas eram retiradas com o auxílio de pinça, lavadas com água destilada, secas com papel de filtro e pesadas em balança analítica. Somente larvas vivas eram pesadas e estas eram posteriormente descartadas. As pesagens foram realizadas até aproximadamente 120 horas após a eclosão dos ovos, de acordo com HIGHTOWER *et alii* (1972).

Larvas de primeiro estágio foram pesadas em grupos de quinze, sendo o mesmo número de larvas do segundo e terceiro estágios pesadas individualmente. O primeiro estágio larval foi distinguido dos demais pela ausência de pigmentação no tronco traqueal e pela presença de

apenas um estigma respiratório no espiráculo posterior. O segundo e terceiro estágios larvais apresentam dois e três estigmas respiratórios respectivamente no espiráculo posterior, de acordo com LAAKE *et alii* (1936).

3.6 - Métodos citológicos

3.6.1 - Técnicas para a Análise dos Cromossomos

Para a análise dos cromossomos foram utilizadas células de gânglios nervosos de larvas do 2º e 3º estágios.

Inicialmente os gânglios nervosos foram dissecados em solução de cloreto de sódio 0,7% com o auxílio de pinça e estilete de ponta fina e colocados, por aproximadamente 1 minuto, em um recipiente contendo o fixador (ácido acético 45%). Após a fixação, o material era transferido para uma lamínula siliconizada contendo uma gota de orceína lacto-acética a 2%, permanecendo nesta solução cerca de três minutos, depois do que se processa o esmagamento. A seguir, as lâminas foram seladas com esmalte de unha.

Testamos também a técnica empregada por BAIMAI (1977) na qual, seguindo-se a dissecação em solução de cloreto de sódio 0,7%, os gânglios nervosos foram rapidamente transferidos para uma solução de 10mcg/ml de colcemid em solução salina balanceada de Hank's, e aí

deixadas por 15 minutos. Em seguida, o material foi transferido para uma solução de nitrato de sódio a 1%. Após 10 minutos nesta solução o material foi fixado por 1 minuto em etanol-acético (uma parte de ácido acético 45% para uma parte de etanol 95%). A seguir, o material é transferido para uma solução de ácido acético 60% por aproximadamente 1 minuto. A coloração foi feita com orceína lacto-acética a 2% por cinco minutos após o que se efetuou o esmagamento.

3.6.2 - Análise Morfométrica dos Cromossomos

Preparações fixadas e coradas com orceína lacto-acética foram utilizadas para medições dos cromossomos.

As preparações foram analisadas e as metáfases mitóticas foram fotografadas com Fotomicroscópio Zeiss utilizando-se a objetiva Neofluar de imersão 100X/1,30 Ph3. Utilizou-se filme AGFA PAN COPEX.

Os cromossomos foram medidos em fotografias ampliadas em dez metáfases de cada espécie, procurando para isso preparados onde todos os pares cromossômicos se encontravam bem individualizados.

O comprimento de um braço de cada cromossomo, corresponde à distância que vai da parte mediana do centrômero até a parte distal do cromossomo.

Utilizando-se estas medidas, as porcentagens do comprimento total do complemento (% CTC) e a proporção dos braços foram calculadas pelas seguintes fórmulas:

$$\%CTC = \frac{\text{Comprimento de um cromossomo X100}}{\text{Comprimento total do complemento I-VI}}$$

$$\text{Relação de braços (Rb)} = \frac{\text{Comprimento do braço longo}}{\text{Comprimento do braço curto}}$$

Com estas medidas foram calculadas a média e o desvio padrão relativo a dez metáfases de cada espécie e foram, também utilizados para a construção dos idiogramas correspondentes.

A representação do cromossomo Y nos idiogramas constituiu-se num problema especial já que é desejável combinar os dados das análises dos complementos de ambos, os sexos. Por esta razão não incluímos o cromossomo Y como parte da %CTC, o qual inclui o par I (os dois cromossomos X do complemento das fêmeas ou duas vezes o cromossomo X do complemento dos machos) e todos os pares autossômicos.

O cromossomo Y de cada espécie foi representado na extremidade esquerda dos idiogramas com seu comprimento, relativo ao X do par I corretos.

A nomenclatura adotada para descrever o cariótipo das linhagens de *C. hominivorax* baseou-se naquela empregada por RICHARDSON *et alii* (1981-1982), que por sua vez difere da utilizada pelos autores que anteriormente trabalharam com *C. hominivorax*. Estes últimos autores em seus idiogramas classificam os autossomos desta espécie da esquerda para a direita em ordem crescente de comprimento, sendo que o Y e X estão sempre no início da escala (lado esquerdo do idiograma).

Os cariótipos descritos por RICHARDSON *et alii* para *C. hominivorax* de áreas geográficas distintas, foram muito úteis para compararmos com os três cariótipos das três linhagens por nós analisadas. Tomamos a decisão de seguir o modelo proposto por RICHARDSON *et alii* em sua nomenclatura cromossômica, por sabermos que esses autores pretendem continuar trabalhando nesta linha de pesquisa, que por sua vez é muito semelhante à nossa. Assim, é de todo o interesse que haja uma uniformização na nomenclatura utilizada por pesquisadores que trabalham em problemas correlatos, para facilitar comparações de dados. Desta forma, os cinco pares de autossomos foram arranjados de acordo com a posição do centrômero e comprimento dos pares de autossomos. Os cromossomos sexuais foram os primeiros representados segundo a ordem X e Y em cada cariótipo descrito. Além disso, para facilitar a comparação, aplicamos a mesma nomenclatura para representar os três cariótipos descritos para a linhagem de *C. hominivorax* do Texas, anteriormente analisadas por KAUFMAN & WASSERMAN (1957),

BOYES (1961) e LA CHANCE *et alii* (1964). O mesmo fizemos com *C. macellaria*, espécie muito semelhante a *C. hominivorax*.

A nomenclatura adotada para as espécies *Chrysomya chloropyga*, *C. albiceps* e *C. megacephala* seguiu a utilizada por BOYES (1961) e BOYES & SHEWELL (1975), os quais foram os primeiros a descrever os cariótipos destas quatro espécies. Assim, os cromossomos foram arranjados em ordem crescente de tamanho, da esquerda para a direita, sendo o Y e o X representados no início da escala.

Foi feita uma análise estatística para avaliar as diferenças de comprimentos médios dos cromossomos das três linhagens de *C. hominivorax*. Foi empregada a Análise de Variância a dois níveis para analisar a variação na dependência dos seguintes fatores: devido à linhagem, devido ao cromossomo e devido à interação entre as duas primeiras variáveis. Com isso pode-se obter o máximo de informações sobre os dados a um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Para tornar as variâncias homogêneas, transformamos os dados para $x' = \log(x + 1)$. Empregamos o teste de Bartlett antes e depois da transformação.

3.6.3 - Para banda C

Os gânglios nervosos após fixação em ácido acético 45%, por aproximadamente 3 minutos, foram esmagados entre lâmina e lamínula. Esta última é

removida após congelamento em nitrogênio líquido.

Uma vez retirada a lamínula, as lâminas ficavam expostas ao ar até atingir a temperatura ambiente e em seguida imersas em etanol a 95% por 10 minutos e depois secas ao ar.

Foi utilizado o método descrito por ARRIGHI & HSU (1971) para *Drosophila melanogaster*. Inicialmente as lâminas foram tratadas com NaOH 0,07N, por 1 a 2 minutos, à temperatura ambiente. O tempo de incubação em NaOH 0,07N foi reduzido para 90 segundos de acordo com ULLERICH (1976). Testou-se também a técnica de DRETS & SHAW (1971) que utilizaram uma solução de 0,07N de NaOH em 0,112M de NaCl (pH 12,0) à temperatura ambiente.

Em seguida as lâminas eram mergulhadas rapidamente em uma solução salina concentrada duplamente citratada 2 x SSC (cloreto de sódio 0,3M e citrato de sódio 0,03M) para remover o NaOH. Procedeu-se a incubação em 2 x SSC em períodos que variaram de 1 a 24 horas à temperatura constante de 65° C, em banho-maria. Em seguida as lâminas eram mergulhadas por duas vezes em álcool 70% seguida de dois banhos em álcool 95% ambos de 5 minutos e secas ao ar. Os banhos em álcool 75% e 95% em alguns experimentos foram substituídos por lavagem das lâminas em água deionizada com algumas gotas de ácido acético e em mais dois banhos de água deionizada à temperatura ambiente.

Seguiu-se a coloração das lâmi-

nas com uma solução Giemsa (Gurr) diluído em tampão fosfato 0,06M a pH 6,8 - 7 durante 30 minutos à temperatura ambiente (SCHNEDL, 1971), lavadas rapidamente em água destilada, secas ao ar, diafanizadas em xilol por 10 minutos e montadas em Permount.

Para as espécies do gênero *Cochliomyia*, tivemos que fazer algumas modificações e adaptações metodológicas, para evidenciar as regiões constituídas de heterocromatina constitutiva.

Inicialmente as lâminas foram submetidas à hidrólise com HCl 0,2N à temperatura ambiente, durante 15 a 30 minutos (MackENZIE, 1973). A hidrólise foi interrompida fazendo-se mergulhar as lâminas em um banho de água destilada a 89° C durante 5 minutos, seguido de 2 banhos em água destilada, à temperatura ambiente e secagem ao ar.

Procedeu-se a incubação de parte das lâminas em uma solução saturada de Ba (OH)₂ a 50° C (SUMMER, 1972) e de outra parte a 26° C sugerido por BEDO (1980). Foram testados vários tempos de incubação em Ba (OH)₂, variando de 90 segundos a 7 minutos, como também, incubando às lâminas diretamente nesta solução, excluindo-se a hidrólise em HCl. Em seguida as lâminas foram incubadas em 2 x SSC durante 3 a 12 horas a 65° C. Após serem lavadas em três banhos de água destilada e secas ao ar, as preparações foram coradas com uma solução de Giemsa, como descrito anteriormente.

Para nos certificarmos sobre a resolubilidade dos procedimentos de banda C testados nestas cinco espécies de califorídeos, utilizamos lâminas contendo o cariótipo humano como controle. Estas lâminas foram confeccionadas seguindo a metodologia de DRETS & SHAW (1971), para cromossomos humanos.

IV. RESULTADOS

1. Coleta de *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala*, *C.a.albiceps* e *Cochliomyia macellaria*

Embora nosso objetivo não tenha sido o de analisar a flutuação populacional dessas espécies, alguns resultados satisfatórios sobre a eficiência dos métodos de coletas utilizados foram verificados em coletas efetuadas em Caraguatatuba.

Dos quatro tipos de iscas testadas para a coleta dessas espécies, a mais eficiente para captura de moscas vivas foi a do tipo III. A exposição livre de carne ou peixe (sardinha), constituiu-se em excelente método tanto para atrair como para capturar moscas destas espécies, além de outros dípteros.

Cerca de duas horas, em intervalos periódicos de tempo de 10 em 10 minutos, em pastagem próxima a um estábulo, o prato se encontrava totalmente invadido por estas espécies de moscas que se agrupavam e com a probóscide tocavam a isca permanecendo imóveis, o que permitia serem facilmente coletadas com uma rede entomológica. Nosso método de coleta com essa rede resultava na captura da quase totalidade das moscas que se encontravam na isca. A isca que exerceu maior atração sobre este grupo de moscas foi o peixe em decomposição (sardinha).

Entre as espécies capturadas, as mais abundan-

tes nos meses de maio a julho de 1980, meses em que efetuamos as coletas em Caraguatatuba, foram *Chrysomya megacephala*, *C.a.albiceps* e *Cochliomyia macellaria*. Com este método de coleta só obtivemos adultos destas espécies e, embora o número de fêmeas tenha sido superior, machos destas espécies também foram atraídos.

Por outro lado, boi morto (Método IV), atraía principalmente fêmeas que aí depositavam grande quantidade de ovos. Entre as espécies capturadas neste tipo de isca a mais abundante foi *C. macellaria*, seguida de *C.a. albiceps*, tanto larvas como adultos, nos meses de junho e julho. O fato deste tipo de isca ser um bom local de oviposição das fêmeas pôde ser comprovado através da coleta de adultos, em tubos de ensaio fechados com algodão umedecido, onde colocávamos 10 indivíduos. Isto porque as fêmeas mantidas nesses tubos frequentemente ovipositavam entre o algodão protetor e a parede do frasco e, desse modo, foram obtidos milhares de ovos.

No entanto, coleta em boi morto não é aconselhável (somente a efetuamos duas vezes), uma vez que os urubus, que normalmente estão se alimentando do cadáver, ao voarem quando alguém deles se aproxima, levantam grande quantidade de poeira que é formada principalmente por fezes secas desta ave, além de esporos de bactérias e outros microorganismos provenientes da putrefação do animal morto. Além disso, o odor exalado do animal em putrefação é, em geral, insuportável.

Os insetos capturados nas armadilhas de latas

do tipo I e II eram recolhidos apenas uma ou duas vezes por semana. Estes dois tipos de armadilhas, embora também eficientes para captura de espécies de Calliphoridae, em geral, atraíram menor número de moscas do que o Método tipo III e boi morto (tipo IV).

Por outro lado, a análise de 433 amostras de adultos resultantes de larvas coletadas em miíases em gado leiteiro e de corte encontramos apenas *Cochliomyia hominivorax*. Através dos caracteres morfológicos verificamos que larvas de *C. hominivorax* eram as causadoras de miíases e as únicas encontradas nos tecidos dérmicos e subdérmicos destes animais. Em nenhuma das lesões analisadas encontramos larvas de outras espécies de Calliphoridae, embora estivéssemos trabalhando também com *C. macellaria*, *C. chloropyga*, *C. megacephala* e *C. a. albiceps*. Isto porque larvas destas espécies podem se desenvolver ocasionalmente sobre tecidos necrosados de animais vivos, embora normalmente estas se desenvolvam em substâncias orgânicas em decomposição, sendo o único tipo de desenvolvimento que encontramos para essas espécies em nossas observações e experimentos.

2. Criação no Laboratório

Chrysomya a. albiceps, *C. chloropyga* e *C. megacephala* a 30° C têm ciclos de vida aproximadamente iguais. Durante a vida uma fêmea pode ovipor sete a oito vezes e em cada uma pode depositar um grupo de ovos que

varia de 100 a 300 unidades.

Os ovos eclodem 10 a 12 horas após a postura e as larvas passam por três estágios que podem ser identificados pelo aspecto do espiráculo posterior. A placa estigmática pode apresentar uma, duas ou três fendas e estas condições correspondem ao 1º, 2º e 3º estágios larvais, respectivamente. O desenvolvimento larval dura em média 5 dias, após o que as larvas abandonam o alimento (carcaça), migrando para a areia do frasco de vidro, onde continuam seu desenvolvimento, transformando-se em pupas. A fase de pupa dura de 7 a 8 dias. O período de desenvolvimento de ovo a adulto, portanto, pode variar de 12 a 13 dias a 30º C. Os adultos, em condições de laboratório podem viver de 4 a 8 semanas (às vezes mais).

C. chloropyga apresentou comportamento semelhante em dieta natural (carcaça) e na dieta de leite e levedura. Larvas de *C. megacephala* e *C.a.albiceps* desenvolvidas na dieta de leite e levedura mostraram comportamento bastante diferente do observado em larvas desenvolvidas em carcaças. Larvas de *C. megacephala*, nesta dieta levam de 9 a 10 dias para se desenvolver; as larvas de *C.a.albiceps*, no entanto, morriam no início do desenvolvimento.

As fêmeas de *Cochliomyia macellaria* depositavam ovos em grupos de 100 a 250 unidades cada. O estímulo para a oviposição podia ser fígado bovino cru, ou camundongo eviscerado. Várias fêmeas em geral se reúnem para postura, produzindo massas de milhares de ovos. O

período de pré-oviposição variou de quatro a oito dias. O tempo de eclosão dos ovos é de aproximadamente 8 horas a 30° C e umidade relativa de 80%. As larvas, quando alimentadas com carcaça, atingem o máximo de crescimento em 6 a 7 dias.

A fase de pupa durou cerca de 5 dias a 25[±] 1° C e HR 80%. O adulto vive em média 40 a 60 dias nas condições de laboratório, alguns podendo em casos especiais sobreviver até 90 dias.

2.1 - Criação das larvas de *C. hominivorax*

Dentre os meios de cultura testados para a criação de larvas de *C. hominivorax* os mais eficientes foram os métodos III a e b, que são variações baseadas em diferentes proposições dos constituintes do meio de cultura padrão empregado por MELVIN & BUSHLAND (1940). Os autores que propuseram as várias composições de meio utilizaram sangue bovino citratado.

Nós, além deste, testamos também sangue bovino em pó liofilizado. Com esta última mudança não notamos diferenças de comportamento das larvas de *C. hominivorax* quando comparadas com outras desenvolvidas no meio padrão. Em ambas, o desenvolvimento larval dura aproximadamente 5 dias. Inicialmente utilizamos 6 ml de formalina diluídos em 1000 mililitros de água, 1 kg de carne moída, 100 mililitros de sangue e 3 g de citrato de sódio (Método I).

Nesse meio, obtivemos larvas maduras apenas aos 8 a 9 dias após a eclosão. Nesta concentração a mortalidade das larvas foi acentuada, mostrando não ser este um meio adequado. Desta forma, passamos a utilizar concentração de 4 ml de formalina (Método III a) que, atualmente, tem sido empregada na estação de criação de moscas em Mission no Texas e que nos foi fornecida pelo Dr. McInnis daquele laboratório. Com esta concentração de formalina, as larvas atingem o máximo do seu desenvolvimento em sete dias e a mortalidade é relativamente pequena. Em nossas condições de laboratório o meio de cultura mais favorável para criação de larvas de *C. hominivorax* foi, sem dúvida, o III-b. Neste, o volume de formalina foi reduzido para 0,5 ml adicionados a 1000 ml de água, 600 ml de sangue bovino citratado e 200 gr de carne moída. Neste meio as larvas completam o seu desenvolvimento em cinco dias à temperatura de $37^{\pm} 1^{\circ}$ C. Neste meio criamos as larvas para a confecção da curva de crescimento que será descrita adiante.

As larvas de *C. hominivorax* têm hábito gregário e no meio de cultura frequentemente permanecem na posição vertical, com os espiráculos posteriores voltados para cima em contato com o ar, em geral, reunidas em um local restrito do meio.

2.2 - Manutenção dos adultos de *C. hominivorax*

Logo após a emergência os adultos eram transferidos para as gaiolas de criação, cada uma contendo

25 machos e 25 fêmeas.

C. hominivorax é espécie anfogênica (na descendência produz igual frequência de machos e fêmeas). A fêmea, desde jovem, frequentemente exhibe comportamento agressivo atacando o macho ou mesmo outras fêmeas que dela se aproximam. O macho também pode agredir fêmeas ou outros machos, porém, a agressão das fêmeas parece-nos ser mais acentuada. É interessante notar que nas gaiolas, tanto os machos como as fêmeas a partir do décimo dia de idade, já apresentam um alto grau de desgaste alar (asas fragmentadas), o que parece ser produto da agressividade dos indivíduos mantidos em gaiolas. Este comportamento é observado mesmo quando o número de machos em relação às fêmeas era menor, ou ainda quando machos e fêmeas eram mantidos em gaiolas separadas.

Em experimentos realizados em gaiolas de (20 x 20 x 20 cm) onde colocamos 1 macho : 5 fêmeas, 2 machos : 5 fêmeas ou 1 macho : 1 fêmea o mesmo tipo de comportamento agressivo foi observado indicando que a agressividade parece ser intrínseca aos indivíduos, independentemente da concentração em que se encontram na gaiola.

2.3 - Idade, Duração e Comportamento de Cópula

Verificamos através da confecção de várias lâminas de testículos de machos recém emergidos, a

presença de grande quantidade de espermatozóides. Porém, o início da atividade sexual do macho ocorre a partir do terceiro e quarto dia de vida.

As fêmeas de *C. hominivorax* são autógenas, isto é, não requerem proteínas na dieta do adulto para a maturação da primeira massa de ovos.

A maturidade ovariana é atingida entre o quinto e sexto dias de vida da fêmea. Verificamos que a idade mínima para a ocorrência de cópula entre os indivíduos da espécie *C. hominivorax*, foi de 4 dias, sendo mais acentuada após o quinto e sexto dias.

Foram observadas cópulas em 25 casais da linhagem de *C. hominivorax* de Caraguatatuba e nestas, não conseguimos verificar um comportamento de corte definido. Nos casos estudados a corte pode ocorrer mas é sempre rápida e, frequentemente, não existe.

A cópula é sempre muito movimentada, tendo-se a impressão de que a fêmea está sempre tentando livrar-se do macho. Para que ocorra a cópula frequentemente é necessário que o macho caia voando sobre a fêmea ou salte sobre ela. Esta, tendo o macho às costas, procura sempre desalojá-lo, caminhando rápido, movendo as asas para cima ou mesmo voando rápido, sem direção definida. Numerosas foram as situações observadas em que a fêmea consegue livrar-se logo após ter início a tentativa de cópula por parte do macho. A agressividade ou mais exatamente a atitude de repulsa por parte das fêmeas em re

lação aos machos é mais evidente quando a fêmea já está fecundada. Verificamos que o tempo de cópula para que ocorra transferência de esperma variou de 2 a 3 minutos aproximadamente.

2.4 - Obtenção dos ovos de *C. hominivorax*

Fêmeas de sete a oito dias eram estimuladas para oviporem como descrito no ítem 3.4 em Material e Métodos. A oviposição normalmente segue um ritual relativamente complicado. Inicialmente, há um reconhecimento do meio de postura (carne moída e sangue) que ocorre através de toques com a probóscide e com o ovipositor na superfície do meio ou na parede da placa de Petri.

A fêmea percorre demoradamente (às vezes até 15 minutos) toda a placa, exibindo este comportamento até que encontre um local apropriado para iniciar a oviposição. Em geral, ovipõe no vidro dos bordos da placa, na espátula de madeira ou mesmo diretamente na carne e, neste caso, procurando frequentemente cavidades. Independentemente do local onde é feita a oviposição, o reconhecimento do meio de postura, descrito acima, sempre ocorre e, durante este tempo a fêmea se mostra muito excitada.

Ao começar a oviposição a fêmea fica praticamente imóvel, movendo apenas o ovipositor de um lado para outro, ocasião em que este órgão se alonga de ma-

neira muito acentuada. Em 35 observações, onde cronometramos a duração da postura, verificamos que o tempo médio foi de 2 minutos e 45 segundos com variações de 1 minuto e 30 segundos a 4 minutos e 10 segundos. Verificamos também que a oviposição de uma fêmea frequentemente estimula outras que tocam com a probóscide a massa de ovos e podem mesmo iniciar a postura ao lado ou mesmo sobre a massa de ovos já existente.

Nas fêmeas de *C. hominivorax* há amadurecimento de grupos de ovos (até 300) sincronicamente e todo o grupo de ovos é depositado em uma só desova ou às vezes em duas que podem ser no mesmo local ou em locais diferentes da placa. A postura de ovos inicia-se a partir do sétimo ou oitavo dias, após a emergência das fêmeas, à uma temperatura de $25^{\pm} 1^{\circ}$ C e HR de 80%.

2.5 - Curva de crescimento de *C. hominivorax*

Seguimos o crescimento de *C. hominivorax* coletada em Caraguatatuba e confeccionamos uma curva de desenvolvimento desde a eclosão do ovo até a emergência do adulto. Esta curva foi utilizada para determinar a eficiência do meio de cultura adotado, como também para verificar a fase do desenvolvimento larval em que ocorria o maior número de metáfases no gânglio nervoso.

Verificamos que os ovos mantidos a $37^{\pm} 1^{\circ}$ C e 100 HR eclodem após 11 horas de incubação. As pri-

meiras 20 horas após a eclosão correspondem ao primeiro estágio larval. A primeira ecdise (L1 para L2) ocorre aproximadamente 30 horas após a eclosão dos ovos (Figura 100). O segundo estágio, nas condições acima mencionadas, tem uma duração média de 25 horas. A segunda ecdise (L2 para L3) ocorre após cerca de 56 horas da eclosão. O estágio larval de maior duração é o terceiro (46 horas) (Figura 100), período em que as larvas apresentam um crescimento rápido, associado a um maior ganho de peso. Após a confecção de várias lâminas de gânglios nervosos, verificamos que as fases em que se obtém o maior número de metáfases são o final do segundo e durante todo o terceiro estágio larval. No final deste último estágio as larvas deixam a dieta, preparando-se para pupar.

3.1. Cariótipos de *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala* e *C. a. albiceps*

C. chloropyga e *C. megacephala* têm $2n = 12$ cromossomos, sendo cinco pares de autossomos e um par de cromossomos sexuais, que são os menores do complemento. As fêmeas são XX e os machos XY. Os pares de cromossomos podem ser identificados por suas características morfológicas (Figuras 1, 90).

C. a. albiceps, no entanto, como já nos referimos, é espécie monogênica; apresenta nos dois sexos cinco pares de cromossomos metacêntricos, correspondentes na morfologia aos autossomos das duas espécies acima, além de

um par de cromossomos menores, morfológicamente iguais e que correspondem em tamanho relativo aos cromossomos sexuais das outras duas espécies (Figuras 90, 6, 20, 23).

3.1.1 - Autossomos

Os autossomos de *C. chloropyga* e *C. megacephala* são bastante semelhantes. Os pares de II a VI são metacêntricos e podem ser identificados pelo seu comprimento relativo ao complemento, localização do centrômero e pela presença de constrictões secundárias. Devido a homologia entre os cariótipos, é possível ordenar cada par de cromossomos de *C. chloropyga* com o par correspondente de *C. megacephala*.

Ao analisarmos os cariótipos das três espécies de *Chrysomya*, verificamos que os cinco pares maiores de *C. a. albiceps* não diferem em relação ao comprimento relativo quando comparados com os das duas espécies anfogênicas (Tabela 1, Figuras 90, 10, 16, 25).

As relações de comprimento dos braços do cromossomo VI é 1,27 para *C. chloropyga*, 1,26 para *C. megacephala* e 1,31 para *C. a. albiceps* (Tabela 2), sendo portanto, todos metacêntricos de acordo com o sistema de LEVAN *et alii* (1964). Em *C. megacephala* e *C. a. albiceps* esse par VI apresenta uma constrictão secundária, ambas no braço longo. A de *C. megacephala* é submediana e a de *C. a. albiceps* é proximal em relação ao centrôme-

no (Figuras 90, 13, 21).

Os autossomos V e IV têm valores de comprimento relativo semelhantes, ou seja, 19,18 e 18,66 em *C. a. albiceps*, 18,50 e 17,74 em *C. chloropyga* e 19,06 e 17,64 em *C. megacephala*, respectivamente (Tabela 1).

Em *C. chloropyga* o par V apresenta o centrômero na região submediana (relação de braços 1,7, Tabela 2), além de ser caracterizado por uma constrição secundária distal no braço longo (Figuras 1 e 4). *C. megacephala* e *C. a. albiceps* apresentam valores muito próximos de relação de braços neste par V (Tabela 1), bem como o comprimento relativo que é de 19,18 em *C. megacephala* e 19,01 em *C. a. albiceps* (Tabela 1). O par IV de *C. megacephala*, apresenta uma relação de braços 1,6 sendo, portanto, maior que os encontrados em *C. chloropyga* (1,2) e *C. a. albiceps* (1,4), embora todos sejam metacêntricos. Este par em *C. chloropyga*, *C. megacephala* e *C. a. albiceps* apresenta uma constrição secundária proximal no braço curto que é bem evidente em prófases tardias (Figuras 4, 5, 13, 14, 22, 23 e 24).

Já no cromossomo III de *C. chloropyga* e *C. megacephala*, encontramos o mesmo valor para relação de braços (1,3), mas pode ser caracterizado pelo comprimento relativo que é maior em *C. megacephala* (Tabela 1), como também pela presença de uma constrição secundária mediana no braço curto deste par em *C. megacephala* (Figura

ras 13, 14). Este par III em *C. a. albiceps* é também metacêntrico apresentando uma relação de braços de 1,6 (Tabela 2); portanto, com o centrômero deslocado para o braço curto deste par, permitindo com facilidade ser identificado quando comparado com o mesmo par nas outras duas espécies (Figuras 5, 14 e 23).

De todos os autossomos, o par II se caracteriza por possuir aproximadamente o mesmo valor de comprimento relativo (Tabela 2) como também são metacêntricos nas três espécies de *Chrysomya* analisadas.

3.1.2 - Cromossomos sexuais

Em *C. chloropyga* o cromossomo X é metacêntrico e um pouco menor que o menor par de autossomos (Figuras 6, 12), apresentando um comprimento relativo de 11,80 enquanto este valor é de 15,25 para o par III (Tabela 1). A relação entre os braços é de 1,3 na metáfase, porém pode-se observar que, durante a prófase tardia há uma condensação precoce em um dos braços do cromossomo X.

O braço menor do X em *C. chloropyga* é caracterizado por uma constrição subterminal que se apresenta sobretudo nas prófases mitóticas como um nítido estrangulamento secundário, através do qual se localiza um pequeno satélite neste braço do X (Figuras 6, 7, 10, 11).

O cromossomo Y, menor que o X, é também

metacêntrico, além de pouco modificar seu grau de contração durante as fases da mitose; isto é, desde a prófase inicial onde já está bem condensado até a metáfase (Figuras 3, 7, 9).

Em *C. megacephala* o cromossomo X têm quase o dobro do comprimento do cromossomo Y e sua constricção primária é subterminal (Figuras 14, 15, 16, 18). O trecho distal do braço mais longo do cromossomo X está unido à região do centrômero durante a prófase tardia, através de um trecho fortemente distendido (Figura 15).

O cromossomo Y apresenta o centrômero na região terminal ou subterminal e é bem menor que o X, além de apresentar um comprimento menor quando comparado com o Y de *C. chloropyga* (Figuras 90, 19, 20).

Em *C. a. albiceps* os cromossomos sexuais têm a mesma aparência em ambos os sexos, e, segundo ULLERICH (1976), correspondem ao cromossomo V das outras espécies. Os cromossomos pequenos de *C. a. albiceps* são metacêntricos e durante a prometáfase mitótica são reconhecíveis por apresentarem o centrômero dividindo o cromossomo em duas partes, onde uma é um pouco maior que a outra (relação de braço 1,3) (Tabela 2, Figuras 23 e 24). São bem menores em comprimento quando comparados com os cromossomos X das duas espécies anfogênicas (Tabela 1, Figuras 90, 6, 12, 16, 24, 25, 27 e 28).

Pela análise da Tabela 1, verifica-se que entre as espécies do gênero *Chrysomya* analisadas,

C. megacephala apresenta uma média de comprimento total do complemento expresso em micrômetros maior (32,6 μm), seguida de *C. chloropyga* (30,45 μm) e *C. a. albiceps* (28,1 μm). No entanto, quando se considera apenas o comprimento dos cromossomos X e Y, verifica-se que em *C. chloropyga* estes são maiores quando comparados aos de *C. megacephala* (Tabela 1 e Figuras 6, 7, 19, 20).

3.2 - Cariótipo de *Cochliomyia hominivorax* e *C. macellaria*

Da mesma forma que as espécies anfogênicas do gênero *Chrysomya* aqui analisadas, *C. hominivorax* e *C. macellaria* apresentam um complemento somático $2n = 12$ cromossomos, sendo também as fêmeas XX e os machos XY.

3.2.1 - *C. hominivorax*

3.2.1.1 - Autossomos

A análise dos cromossomos mitóticos de larvas de *C. hominivorax* coletadas em Caraguatatuba e Nova Odessa indicou a ocorrência de variações cariotípicas entre as linhagens analisadas. Como indica a Figura 92, encontramos três cariótipos distintos, diferindo na morfologia, no comprimento relativo dos cromossomos, além do número e localização de constrições secundárias. A linhagem de Caraguatatuba designamos de Ca

e as de Nova Odessa, NOI e NOII (Figuras 1, 31, 40, 56, 92 e Tabelas 3 e 4).

A linhagem NOII distingue-se de Ca e NOI por diferenças autossômicas e principalmente pelo tamanho do cromossomo X (Figuras 92, 56 e 57).

Os autossomos 2, 3, 4 e 5 da linhagem Ca são metacêntricos. Os pares 2 e 5 podem ser diferenciados pelos respectivos comprimentos e pela posição do centrômero e ambos distinguem-se do par 3, principalmente por este último apresentar uma constrição secundária na região mediana do braço curto (Figuras 31, 33 e 35). Esta constrição é mais evidente nas prometáfases da mitose. O par 4 se distingue por ser o menor dentre os autossomos. O cromossomo 6 é submetacêntrico e facilmente diferenciado. Sua relação de braços é 3,0.

Na linhagem NOI, os pares de autossomos 4, 5 e 6, como indicam as Tabelas 3 e 4, apresentam valores de comprimento relativo e relação de braços muito próximos quando comparados aos obtidos para a linhagem Ca. No entanto, estas duas linhagens, quanto aos autossomos, podem ser diferenciadas pela presença de constrições secundárias específicas para cada linhagem. Enquanto que na linhagem Ca existe uma constrição no cromossomo 3, em NOI a constrição secundária está na região proximal do braço curto do par 2 (Figuras 40, 41 e 45).

Em diferentes amostras de larvas de *C. hominivorax* coletadas em Nova Odessa ve-

rificamos a existência de diferenças em relação ao comprimento relativo e absoluto, bem como na posição do centrômero entre os pares de autossomos 4 e 6 e, principalmente em relação ao cromossomo X, que será descrito mais adiante. Além disso, durante as coletas que foram efetuadas nesta localidade, verificamos diferenças na frequência dos cariótipos observados, prevalecendo o tipo NOI. Com relação aos autossomos, os pares 2 e 4 na linhagem NOII apresentam valores de comprimento relativo ao genoma de 21,14 e 14,29, respectivamente, ao lado de 22,32 e 16,14 e de 22,22 e 16,43 para estes dois pares nas linhagens NOI e Ca (Tabelas 3 e 4).

A Tabela 4 e Figuras 52, 55, 56 mostram que o par 6 na linhagem NOII é metacêntrico, embora com comprimento de braços desiguais (relação é de 1,58), enquanto este cromossomo é submetacêntrico nas duas outras linhagens analisadas (2,68 em NOI e 3,0 em Ca). A linhagem NOII também se caracteriza por apresentar duas constrições secundárias, uma localizada na região distal do braço curto do par 2 e outra na região proximal do braço curto do par 3, semelhantes às aquelas encontradas isoladamente nos pares 2 e 3 das linhagens NOI e Ca, respectivamente (Figuras 33, 40, 41 e 56).

3.2.1.2 - Cromossomos Sexuais

Com relação ao cromossomo X das linhagens de *C. hominivorax* verificamos na po

sição do centrômero e comprimento, especialmente quando comparamos as linhagens Ca e NOI com NOII.

As linhagens Ca e NOI apresentam um cromossomo X submetacêntrico com um braço curto semelhante a um satélite (Figuras 32, 33, 37, 40, 43). Embora na linhagem Ca o cromossomo X apresente um comprimento relativo maior do que na linhagem NOI, estes são morfológicamente muito semelhantes (Figuras 37 e 43). O cromossomo X da linhagem NOII difere das duas outras linhagens por ser metacêntrico (Rb de 1,3), por apresentar no braço mais curto um satélite (Figuras 56 e 57), e ainda por possuir aproximadamente o dobro do comprimento do X tanto de Ca como de NOI (Figuras 92, 32, 40, 52, 53, 56 e 57). Esta diferença, além das outras acima mencionadas, permite que prometáfases e metáfases desta linhagem sejam facilmente identificadas.

Por outro lado, a morfologia do cromossomo Y nas linhagens Ca, NOI e NOII é muito semelhante, sendo metacêntrico e apresentando valores de relação de braços e comprimento relativo ao genoma muito próximos, ou seja, 4,74%, 4,5% e 4,25% para Ca, NOI e NOII, respectivamente (Tabela 3, Figuras 34, 38, 43, 52 e 56).

Dadas estas observações, procedemos à análise estatística utilizando o comprimento absoluto em um de cada par cromossômico das linhagens Ca, NOI e NOII. Empregando o teste de Bartlett, obtivemos

antes da transformação um valor de $B_c = 84,83$ ($p < 0,001$) com um $\chi^2_{c_{0,05,20}} = 31,41$, indicando que as variâncias obtidas foram significativamente diferentes. Depois da transformação, obtivemos um valor de $B_c = 20,1$ ($0,25 < p < 0,50$), com um $\chi^2_{c_{0,05,20}} = 31,41$, indicando que as variâncias não foram significativamente diferentes. Um resumo da Análise de Variância é dado na Tabela 11. A análise dos valores contidos nesta tabela indicam que: a) há diferenças significativas entre os comprimentos dos cromossomos em cada linhagem; b) há diferenças significativas entre os comprimentos dos cromossomos nas diferentes linhagens; c) há interação significativa, isto é, as diferenças entre os comprimentos dos cromossomos não são as mesmas em todas as linhagens. Assim, as Figuras 98 e 99 mostram o comprimento médio, expresso em μm , dos diferentes cromossomos das linhagens Ca, NOI e NOII. É notável a diferença no comprimento do cromossomo X, desproporcionalmente maior em NOII quando comparado ao X das linhagens NOI e Ca. O cromossomo Y e os autossomos têm comprimentos proporcionalmente maiores ou menores nas diferentes linhagens (Figuras 98 e 99).

3.2.2 - *C. macellaria*

3.2.2.1 - Autossomos

Em *C. macellaria* de Caraguatatuba os pares de autossomos 2, 3, 4 e 5 são metacêntricos como indica a Tabela 5. O par autossômico 6 é

o único submetacêntrico, apresentando um valor de relação de braços de 3,0. Entre as espécies analisadas, *C. macellaria* caracteriza-se por apresentar um maior número de constrições secundárias nos autossomos. Assim, há uma constrição na região distal do braço curto do par 2, na região proximal do braço curto do par 3, na região proximal do braço longo do par 4, visíveis especialmente em prometáfases (Figuras 58 e 59). Ocasionalmente, observa-se uma constrição na região proximal do braço longo do par 6 (Figura 62).

3.2.2.2 - Cromossomos Sexuais

O cromossomo X de *C. macellaria* (Caraguatatuba) é metacêntrico com braços com comprimentos desiguais, apresentando uma relação de braços de 1,4 (Tabela 5, Figuras 58, 61 e 64). Este cromossomo apresenta um comprimento relativo ao genoma de 3,2% e, portanto, bem menor do que o comprimento do menor par autossômico, o de número 4 (Tabela 5, Figuras 58, 61, 62, 63 e 64). O cromossomo Y apresenta um centrômero na região terminal, e se caracteriza por ser muito pequeno, apresentando-se nas fotomicrografias, mesmo durante a prometáfase, bem condensado (Figuras 58, 60, 62, 63 e 64).

C. hominivorax e *C. macellaria*, embora espécies muito próximas, são perfeitamente identificáveis como espécies distintas por seus caracteres morfológicos e biológicos. Os dados cariotípicos nos

traram que citologicamente estas duas espécies também são facilmente identificáveis. Estas duas espécies podem ser diferenciadas citologicamente em primeiro lugar pelo comprimento dos cromossomos sexuais que são menores em *C. macellaria* e morfológicamente distinguíveis quando comparados com os de *C. hominivorax*. O número e localização das constrições secundárias são também característicos para cada espécie (Tabelas 3 e 5, Figuras 92, 96). Se medirmos os autossomos, aí também encontraremos diferenças evidentes entre estas duas espécies (Tabelas 3 e 5).

4. Banda C

Para *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala* e *C. a. albiceps* a incubação da lâmina em NaOH 0,07N e 0,112M de NaCl (pH 12,0), durante 90 segundos, resultou em bandas mais nítidas do que as obtidas com 60 segundos, sugeridas por DRETS & SHAW (1971) (Figuras 71, 75, 76). Nos preparados onde foi feita a incubação em NaOH (HSU, 1971; ULLERICH, 1976) e em solução saturada de Ba(OH)₂ a 26° C durante 5 minutos como sugerido por BEDO (1980) e mesmo nas lâminas com incubação a 50° C, segundo sugestão de SUMMER (1972) não obtivemos a mesma resposta. Nestes preparados, as regiões heterocromáticas dos autossomos, bem como dos cromossomos sexuais, eram corados apenas discretamente. Além disso, esse tratamento provocou modificações evidentes na morfologia dos cromossomos.

Nestas três espécies, a incubação em NaOH pa-

ra evidenciar os segmentos de heterocromatina, forneceu os melhores resultados. Nos preparados de *Cochliomyia hominivorax* e *C. macellaria* por outro lado, onde a incubação foi feita em $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a 50° C por 3 a 5 minutos os segmentos de heterocromatina centromérica se coravam mais nitidamente do que quando submetidos a incubação em NaOH 0,07N em 0,112M de NaCl. As etapas críticas para a obtenção de bandas C nos cromossomos destas cinco espécies estão relacionadas com o tempo de incubação nas soluções NaOH ou $\text{Ba}(\text{OH})_2$ e em 2 x SSC.

A incubação, tanto em $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a 26° C e a 50° C e mesmo em NaOH 0,07N em 0,112M de NaCl, das lâminas utilizadas como controle (cariótipo humano), evidenciou as regiões heterocromáticas centroméricas de todo o complemento cromossômico humano.

Dentre as espécies de *Chrysomya*, o método de banda C foi mais efetivo em *C. chloropyga*, onde fica evidenciado de maneira nítida as regiões heterocromáticas centroméricas dos autossomos como também as regiões heterocromáticas dos cromossomos sexuais (Figuras 70, 71). Em algumas placas metafásicas de *C. chloropyga*, a intensidade de coloração da heterocromatina centromérica do cromossomo II, é mais clara quando comparada com a dos demais autossomos. Nesta espécie, o cromossomo VI é caracterizado pela presença de uma banda C intersticial, no segmento proximal do braço curto, que se manifesta claramente durante a prometáfase (Figuras 67, 68, 70). Contrastando com os autossomos, nesta espécie, os cromossomos sexuais são

fortemente corados. O braço curto do cromossomo X, pelo método de banda C é heterocromático como também o próprio satélite localizado neste braço, com exceção da região próxima a constrição que separa o satélite (Figura 70). O braço longo do X é subdividido em uma região proximal constituída de heterocromatina que foi destacada pela coloração com Giemsa e uma região distal mais fracamente corada (Figura 70). A presença de um volume maior de segmentos heterocromáticos em ambos os lados do centrômero do cromossomo X de *C. chloropyga*, o distingue facilmente dos demais cromossomos do complemento (Figuras 69, 71). O cromossomo Y, metacêntrico, apresenta-se subdividido em bandas, sendo a metade proximal de ambos os braços mais clara que a porção distal, que é nitidamente heterocromática. Os segmentos de heterocromatina corados pelo Giemsa, somente são visíveis quando o cromossomo Y se encontra distendido (prometáfase) (Figura 70). Durante a metáfase o Y apresenta-se uniformemente corado (Figura 68).

Em *C. megacephala*, as regiões heterocromáticas centroméricas dos autossomos, quando tratados com NaOH 0,07N e 0,112M de NaCl respondem de maneira semelhante entre si, corando-se com maior intensidade do que as outras porções dos cromossomos (Figura 75). O cromossomo X dessa espécie, por outro lado, não apresentou um padrão de banda C uniforme. Assim, o braço curto desse cromossomo apresenta um segmento heterocromático na região distal (banda C terminal) ao lado de uma região proximal de menor tamanho, mais clara. O mesmo ocorre na região distal do

braço longo que é fortemente corado, enquanto que o restante deste braço apresentou-se apenas discretamente corado (Figura 72). Este padrão de banda C é visível durante a prometáfase. No entanto, na metáfase, o braço curto do cromossomo X cora-se de forma mais intensa que o braço longo (Figura 74). Estas variações na intensidade de coloração pelo Giemsa no cromossomo X de *C. megacephala* somente são visíveis quando os cromossomos se encontram distendidos (prometáfases Figuras 72 e 73). O cromossomo Y de *C. megacephala*, bem menor que o X, é telocêntrico, embora não tenha sido analisado pelo procedimento de banda C, por apresentar-se fortemente heteropicnótico quando corado comorceína lacto-acética, possivelmente seja constituído quase que totalmente por heterocromatina constitutiva (Figura 19).

Da mesma forma que nas duas outras espécies, em *Chrysomya a. albiceps*, as regiões heterocromáticas centroméricas de um modo geral coram-se mais distintamente do que outras partes dos cromossomos. O método de banda C evidencia na região distal do braço curto do cromossomo IV, um segmento de heterocromatina fortemente corado onde se localiza uma constrição secundária (Figura 76). Esta constrição embora não apresente banda, está, no entanto, envolvida por um segmento de heterocromatina mais fortemente corado (Figura 76). O cromossomo VI apresenta uma pequena banda C intersticial na região proximal do braço curto que possivelmente coincide com uma constrição secundária frequentemente observada neste cromossomo. Estas

bandas C adicionais são evidentes durante a prometáfase (Figura 76). O pequeno par I metacêntrico, que corresponde ao cromossomo X das espécies anfogênicas de *Chrysomya*, apresenta uma acentuada banda C terminal no braço mais longo deste cromossomo quando comparado com a região proximal menos corada (Figura 76). De modo semelhante, o braço curto deste cromossomo está subdividido em uma região proximal discretamente corada ao lado de uma região distal, caracterizada por apresentar uma pequena banda C terminal que se manifesta claramente na prometáfase (Figura 76). Durante a metáfase este par cromossômico apresenta os dois braços corados, separados por uma porção central menos corada, onde se localiza o centrômero (Figura 77).

Modulações na intensidade de coloração das regiões heterocromáticas dos autossomos, pelo método de banda C, foram observadas nas prometáfases e metáfases nas duas linhagens de *Cochliomyia hominivorax* (Ca e NOI). Na linhagem Ca, uma diferenciação nítida do padrão da banda C nos autossomos, não pôde ser avaliada porque a região centromérica dos pares 4, 5 e 6 foram coradas apenas levemente mais forte do que o restante do cromossomo (Figuras 80, 82). No cromossomo 2, a quantidade detectável de heterocromatina centromérica não foi detectada por este procedimento. O cromossomo 3 apresenta uma pequena banda C intersticial na porção mediana do braço curto, região onde frequentemente observa-se uma constrição secundária nas preparações coradas pelaorceína lácto-acética (Figura 80, 82).

Contrastando com os autossomos, os cromossomos sexuais são intensamente corados (Figuras 80, 83). O cromossomo X acrocêntrico apresenta-se fortemente corado em quase todo o seu comprimento, exceto em sua porção distal, a qual se apresentou apenas discretamente corada (Figura 80). O braço curto semelhante a um satélite, cora-se intensamente e é separado do braço longo pela constrição centromérica não corada (Figura 80). O cromossomo Y apresenta-se uniformemente corado (Figura 80). Em cromossomos distendidos (em fases iniciais de divisão), as regiões heterocromáticas dos cromossomos sexuais destacam-se pela coloração com Giemsa (Figuras 78 e 80).

Na linhagem de *C. hominivorax* NOI, as regiões heterocromáticas dos autossomos são coradas de forma mais nítida do que as porções cromossômicas restantes e os resultados foram mais satisfatórios do que os obtidos para os cromossomos da linhagem Ca. Os autossomos 2, 3, 5 e 6 de NOI, mostram um padrão relativamente uniforme de coloração na porção de heterocromatina centromérica (Figuras 83, 84). A banda C na região centromérica do par 4 é mais volumosa e por isso facilmente identificada, mesmo durante a prófase (Figuras 84, 85). O cromossomo 2 apresenta uma banda C intersticial no braço curto que provavelmente coincide com uma constrição secundária observada em preparações coradas com orceína lácto-acética (Figuras 40, 41).

Em casos excepcionais, durante a prometáfase, o cromossomo 3 apresenta-se uniformemente corado, exceto

nas proximidades da região telomérica do braço curto (Figura 85). O cromossomo X de *C. hominivorax* NOI é fortemente corado na metade proximal do braço longo e todo o pequeno braço semelhante a um satélite. A região distal do braço longo é fracamente corada (Figuras 84, 86), correspondendo ao padrão de banda C observado para o X de *C. hominivorax* Ca (Figuras 80, 86). O cromossomo Y é intensamente corado em todo o seu comprimento (Figura 86).

Por falta de material em época apropriada, não pudemos aplicar a técnica de banda C na linhagem de *C. hominivorax* NOII, que se caracteriza por apresentar o cromossomo X morfológicamente diferente do que os das linhagens Ca e NOI (ver item 3.2.1.2)

Em *Cochliomya macellaria* o método de banda C forneceu melhor resolução para a análise da distribuição da heterocromatina do que em *C. hominivorax*. Nos preparados tratados com $Ba(OH)_2$ durante 5 minutos, seguidos de incubação em 2x SSC à 65°C durante 2 a 3 horas, verificamos que as regiões heterocromáticas centroméricas de todos os cromossomos e todo o Y, respondem de maneira semelhante entre si, corando-se intensamente (Figuras 87, 88, 89). Nesta espécie, os pares 2, 3, 4 e 6 se caracterizam por apresentarem bandas C intersticiais, os pares 2 e 4 na região proximal do braço curto e os pares 3 e 6 na região proximal do braço longo (Figuras 87, 88). As localizações das porções heterocromáticas intersticiais dos pares 2, 3 e 6 parecem coincidir com as constrições secundárias observadas nestes cromossomos (Figura 88). Em

algumas preparações, especialmente durante a prometáfase, observa-se no cromossomo 3 um segmento heterocromático que ocupa a metade distal do braço curto (Figura 88). Em preparações de metáfase, pelo método da banda C, o cromossomo X, metacêntrico, mostra-se intensamente corado em ambos os lados da constrição centromérica, que se apresenta apenas discretamente corada (Figuras 87, 89). O cromossomo Y cora-se uniformemente, após o procedimento de banda C (Figura 88).

V. DISCUSSÃO

1. Aspectos da Biologia

Em nossos experimentos, peixe em decomposição e vísceras de galinha foram os atrativos mais eficientes na captura das espécies de *Chrysomya* e de *Cochliomyia macellaria* na natureza. No laboratório, como sugerido por NORRIS (1965) e LINHARES (1979), verificamos que as espécies de *Chrysomya* e *C. macellaria* desenvolvem-se muito bem em carcaça de camundongo. Somente com *C. chloropyga* conseguimos, seguindo indicação de LEAL (1980), criação em dieta contendo apenas levedura e leite. Nesta última dieta os resultados de criação de *C. megacephala*, *C. a. albiceps* e *C. macellaria* não foram satisfatórios. LEAL (1980) que em seu trabalho também utilizou espécies de *Chrysomya* mantidas no laboratório do Prof. A. Pires do Prado, comparando resultados de criação destas três espécies de *Chrysomya* verificou que apenas *C. chloropyga* apresenta comportamento semelhante na sua dieta natural (carne em decomposição) e em dieta de leite e levedura.

Com relação a *C. hominivorax*, dentre os meios de cultura testados para a criação no laboratório, verificamos que o meio IIIb foi o mais eficiente. Este meio foi uma adaptação que fizemos em meios utilizados por outros autores. Dentre as modificações que introduzimos e que facilitaram nosso trabalho, devemos mencionar a quantidade de sangue liofilizado e a concentração de formalina que foi menor

do que as sugeridas por outros autores. Neste meio, as larvas completavam o seu desenvolvimento em cinco dias. Resultados semelhantes e considerados bons foram obtidos por GRAHAM & DUDLEY (1959), SMITH (1960) e OLIVEIRA *et alii* (1976) em meios de criação diferentes dos utilizados por nós. A formalina que utilizamos e por alguns outros autores para conservação do meio foi considerada por MELVIN & BUSHLAND (1940) como uma substância que tem efeito retardador no crescimento das larvas de *C. hominivorax*, no entanto, observamos que a ausência de formalina em um meio em putrefação, mantido a 37°C, acelera a fermentação e perturba o desenvolvimento larval, às vezes levando à morte grande número de larvas.

O crescimento larval analisado no meio IIIb (Figura 100), relacionando o peso (mg) e a duração (horas) dos três estágios larvais foram comparáveis aos descritos por SPATES & HIGHTOWER (1970), GINGRICH *et alii* (1971) e HIGHTOWER *et alii* (1972) para larvas de *C. hominivorax* (linhagem da Flórida), mantidas no meio de GRAHAM & DUDLEY (1959).

Com relação ao comportamento de adultos de *C. hominivorax* em gaiolas de criação em condições de laboratório, verificamos que o adulto só aceita um parceiro para a cópula após atingir maturidade sexual (machos, terceiro e quarto dias após a emergência e fêmeas sexto a sétimo dias). Resultados semelhantes foram obtidos por FLETCHER *et alii* (1966, 1968 e 1970) para linhagens de *C. hominivorax* da Flórida e do México mantidas em condições de laboratório.'

Em nossas experiências nunca observamos comportamento de um casal sexualmente maduro que se assemelhasse a uma cõrte definida, situação que é frequente em várias espécies de dípteros (SPIETH, 1968 e DOBZHANSKY, 1970 veja para referência).

Na realidade, a cópula frequentemente ocorre com a chegada do macho próximo à fêmea, de maneira brusca e tentando agarrá-la de modo agressivo. As fêmeas também exibem comportamento agressivo e este se manifesta de maneira mais evidente naquelas com menos de seis a sete dias de idade e nas que já foram fecundadas. Para FLETCHER & TURNER (1970), a agressividade por parte das fêmeas de *C. hominivorax* é um caráter herdado. BAUMHOVER (1966) sugere que a adaptação dos machos às condições de laboratório contribuem para aumentar a agressividade que, de acordo com ALLEY & HIGHTOWER (1966), aumenta quanto maior for o número de gerações da linhagem em condições de laboratório.

Embora não tenhamos dados sobre o grau de agressividade dos machos das linhagens de *C. hominivorax* analisadas por ALLEY & HIGHTOWER (1972), evidenciamos grande agressividade dos machos que emergiram no laboratório provindos de larvas coletadas em Caraguatatuba. Em nossas experiências sobre o comportamento de 25 casais observados separadamente, foi constatada a agressividade tanto do macho quanto da fêmea. FLETCHER *et alii* (1966), que fizeram observações semelhantes, chegaram ainda à conclusão que determinados comportamentos agressivos da fêmea estão relacionados com o feromônio liberado pelo macho. Um efeito evidente da

agressividade dos adultos de *C. hominivorax* é o estado de fragmentação das asas, tanto de machos como de fêmeas quando os indivíduos ficam alguns dias na gaiola. Nas gaiolas de criação contendo 15 casais, após cerca de 5 dias, dificilmente encontramos um indivíduo com as asas inteiras. Referências sobre este desgaste alar não foram por nós encontradas nos trabalhos dos vários autores que analisaram o comportamento de cópula de *C. hominivorax*.

Informações sobre a biologia e comportamento de *Chrysomya* e *Cochliomyia* são de grande importância para um melhor entendimento das relações entre as várias espécies destes dois gêneros. Felizmente, já estão bem estabelecidos os meios de cultura para a criação de todas as espécies aqui discutidas e, portanto, vários dos problemas que apareceram no desenvolvimento do presente trabalho poderão ter soluções testadas experimentalmente. Temos planos para tentar solucionar vários desses problemas em continuação ao trabalho aqui iniciado.

2. Citologia

2.1. Gênero *Chrysomya*

As linhagens das três espécies de *Chrysomya*, *C. chloropyga*, *C. megacephala* C. e *C.a. albiceps*, aqui analisadas, caracterizam-se por apresentarem intra e interespecificamente grande homogeneidade estrutural dos autossomos ao lado de uma grande variabilidade interespecífica nas ca-

racterísticas morfológicas dos cromossomos sexuais.

O comprimento relativo dos pares de autossomos individuais expresso como porcentagem do comprimento total do complemento (%CTC) bem como o comprimento absoluto dos autossomos apresentam somente pequenas variações de espécie para espécie (Tabela 1). Embora a relação de braços (Rb) seja variável nas diferentes espécies, seguindo o sistema proposto por LEVAN *et alii* (1964), os cinco pares de autossomos dessas três espécies são considerados metacêntricos. Por outro lado, o comprimento e a morfologia dos cromossomos sexuais, que são quase que totalmente heterocromáticos, apresentam variações que nos permitem diagnosticar com facilidade as metáfases de cada espécie. É verdade que para esse diagnóstico nos utilizamos também da análise das constricções secundárias que existem em alguns autossomos e que são específicos para cada espécie, facilitando, deste modo, a identificação.

A homogeneidade estrutural dos autossomos que encontramos entre os indivíduos das populações das três espécies não foram confirmadas quando comparamos nossos dados com os de outros autores que analisaram populações dessas espécies de outras regiões.

Ao compararmos os cariótipos e idiogramas de *C. chloropyga*, por nós obtidos com os descritos por BOYES & SHEWELL (1975), de linhagens de *C. chloropyga*, da África do Sul e Etiópia, constatamos a existência de diferenças evidentes especialmente com relação aos cromossomos sexuais. A

linhagem de *C. chloropyga* por nós coletada em Campinas, apresenta o cromossomo X com comprimento próximo ao da linhagem da África do Sul. Mas nesta última linhagem, BOYES e SHEWELL (1975) não descreveram a presença de um satélite em uma das extremidades deste cromossomo, que verificamos existir na linhagem de Campinas. Este satélite por nós encontrado é evidente e está sempre presente (Figuras 1, 6, 7) e se existisse na linhagem da África do Sul aqueles autores, sem dúvida, o acusariam. Com relação à linhagem da Etiópia o cromossomo X é telocêntrico e seu comprimento relativo é aproximadamente a metade do cromossomo X de *C. chloropyga* da África do Sul e de Campinas (Tabelas 1 e 2). Diferenças foram encontradas também em relação ao cromossomo Y, que na linhagem de Campinas é metacêntrico (Figuras 6 e 7) e telocêntrico nas duas linhagens analisadas por BOYES & SHEWELL (1975).

Com relação aos autossomos, verificamos que a linhagem de Campinas de *C. chloropyga* apresenta no par V uma constrição secundária paramediana localizada na região distal do braço longo (Figura 4) não evidenciada por BOYES & SHEWELL nas linhagens que analisaram. Neste mesmo trabalho, esses autores analisaram duas linhagens da forma *C. putoria*, uma coletada em Johannesburg e outra do Kenya. Essas duas linhagens da forma *C. putoria* apresentam um complemento cromossômico similar, com exceção da localização do centrômero no cromossomo Y, que como demonstra a Tabela 2 é telocêntrico para a linhagem da África do Sul e metacêntrico para a do Kenya.

O cromossomo Y de *C. chloropyga* (Campinas) se assemelha ao Y da forma *C. putoria*, tanto em seu comprimento relativo quanto na relação dos braços (Tabela 1, Figuras 1 e 91).

ULLERICH (1976) que também analisou o cariótipo de *C. chloropyga* de Johannesburg e da forma *C. putoria* do Oeste da África, verificou que o par autossômico 1 (que corresponde ao nosso VI) é o mais longo quando comparado aos demais autossomos, tanto em *C. chloropyga* como na forma *C. putoria*. Os pares 2, 3 e 4 que correspondem aos nossos pares V, IV e III, respectivamente, são muito semelhantes entre si bem como aos seus respectivos, nas duas espécies. Por outro lado, o par de número 5 (correspondente ao nosso II) é um pouco menor na forma *C. putoria*. Para esse autor, o par número 2 dessas duas espécies apresenta uma relação de braços de 1,6 que foi a relação por nós encontrada nesse cromossomo de *C. chloropyga* de Campinas como pode ser visto na Tabela 2. Por outro lado, ULLERICH evidenciou tanto em *C. chloropyga* como na forma *C. putoria* uma constricção secundária no segmento proximal do braço curto do cromossomo 2 (correspondente ao nosso V) e outra menos frequentemente observada em prometáfases no cromossomo 3 (correspondente ao nosso IV), sendo que esta última não encontramos na linhagem de Campinas. O cromossomo X de *C. chloropyga* descrito por ULLERICH (1976) corresponde ao que encontramos na linhagem de Campinas. Este cromossomo é um pouco menor que o menor par de autossomos, além de ser metacêntrico e apresentar no braço curto um pequeno satélite. A forma *C. putoria*

apresenta o cromossomo X do mesmo tamanho e estrutura. Por outro lado, o cromossomo Y de *C. chloropyga* descrito por ULLERICH (1976), é muito semelhante ao observado para a linhagem de Campinas e difere do Y da forma *C. putoria* por ser menor e apresentar relação de braços diferentes (Figuras 6, 7, 9 e Tabela 2).

O Y da forma *C. putoria* descrito por este autor, embora maior que o de *C. chloropyga* da África do Sul, atinge apenas três quartos do comprimento do X. Sua relação de comprimento de braços é 1,3 e, embora seja também metacêntrico, caracteriza-se por apresentar em seu braço mais longo uma constrição secundária.

Dissemos anteriormente, na Introdução, que ZUMPT (1972) baseado em estudos de caracteres morfológicos, concluiu que *C. putoria* não é espécie distinta de *C. chloropyga*, considerando-a apenas como um tipo variante desta última.

Nossos dados morfológicos e cariológicos indicam que *chrysomya chloropyga* foi a espécie introduzida no Brasil. Esta suposição é baseada na comparação que fizemos com os cariótipos apresentados por BOYES & SHEWELL (1975) e principalmente nos descritos por ULLERICH (1976).

ULLERICH (1963) e BOYES (1975) analisaram, embora em localidades diferentes, Japão e Austrália, respectivamente, o cariótipo da espécie também anfogênica *C. megacephala*. Para ULLERICH (1963), *C. megacephala* apresenta cinco pares de autossomos submetacêntricos, sendo que o par 3

(que corresponde ao nosso par IV) apresenta uma constrição secundária proximal em relação ao centrômero no braço curto.

Em *C. megacephala* de Campinas, verificamos que embora a relação de braços seja variável, todos os pares de autossomos foram considerados metacêntricos (sistema de LEVAN *et alii*, 1964). (Tabela 2). Embora adotando nomenclatura diferente, os submetacêntricos descritos para esta espécie por ULLERICH (1963), correspondem morfologicamente aos metacêntricos de *C. megacephala* de Campinas. Verificamos também no par IV a presença de uma constrição secundária no segmento proximal do braço curto (Figura 1b). Provavelmente a constrição é a mesma nas duas linhagens. Além desta, o par VI, da linhagem de Campinas, apresenta uma constrição secundária no segmento distal do braço longo, cuja proporção é de 0,40 em relação a este braço, que não foi descrita na linhagem de Tóquio, analisada por ULLERICH (1963). Na descrição do cariótipo de *C. megacephala* (Austrália), BOYES & SHEWELL (1975), usando a nomenclatura de LEVAN *et alii* (1964), descreveram os pares de autossomos II, IV, V e VI como sendo metacêntricos e o III submetacêntricos. Estes autores, porém, não descreveram nenhuma constrição secundária nos pares de autossomos. Ao compararmos os resultados obtidos para a relação de braços de *C. megacephala* (Campinas) com a descrita por BOYES & SHEWELL (1975), verificamos que os pares III e IV são relativamente diferentes (Tabelas 2 e 6).

Com relação aos cromossomos sexuais verifica-

mos que *C. megacephala* de Campinas apresenta um cromossomo Y telocêntrico, sendo que a região do centrômero é menos corada do que o restante do cromossomo (Figura 20). Situação que concorda com a descrita por ULLERICH (1963). O cromossomo X de *C. megacephala* de Campinas é submetacêntrico e tem aproximadamente o dobro do comprimento do cromossomo Y (Tabela 1). Para ULLERICH (1963) o cromossomo X de *C. megacephala* é subtelocêntrico, sendo que o trecho distal do braço mais longo é unido à região próxima do centrômero através de um estreitamento, visível durante a prófase mitótica. Já BOYES & SHEWELL (1975) consideraram este cromossomo telocêntrico (Tabela 6), sendo que na linhagem de *C. megacephala* proveniente da Austrália o cromossomo X apresenta uma constricção secundária cuja proporção é igual a 0,43 em relação ao comprimento do cromossomo (ver Tabela 6).

Em *C. a. albiceps* de Caraguatatuba, os cinco pares de autossomos foram considerados metacêntricos de acordo com o sistema de LEVAN *et alii* (1964), sendo que no par III a relação de braços é 1,6. Estes resultados estão de acordo com os apresentados por ULLERICH (1958, 1963) e BOYES & SHEWELL (1975) para *C. a. albiceps* da África do Sul.

Quanto aos cromossomos menores, estes são também metacêntricos para *C. a. albiceps* (Caraguatatuba) e morfologicamente iguais nos dois sexos (Figura 1 e Tabela 1). O fato de apresentarem a mesma morfologia, já havia sido considerado por ULLERICH (1958, 1963), porém, para este autor, os cromossomos pequenos são caracterizados por uma constricção secundária que os divide em duas partes, onde uma tem

quase o dobro da outra. Esta constrição é visível principalmente em prófases mitóticas (ULLERICH, 1963) e não foi observada em *C. a. albiceps* de Caraguatatuba. No entanto, em 1965 BOYES & VON BRINK forneceram uma descrição geral do cariótipo de *C. a. albiceps*, evidenciando heteromorfismo no pequeno par heteromórfico para a linhagem coletada na África do Sul. BOYES & SHEWELL (1975) reafirmaram estes achados para *C. a. albiceps* (África do Sul) como mostra a Tabela 2, embora admitam que ULLERICH (1963) tenha evidências convincentes de que este par seja homomórfico na linhagem de *C. a. albiceps* da África do Sul, por ele analisada. BOYES & SHEWELL justificaram-se dizendo: "Nós admitimos que ULLERICH (1963) provavelmente esteja correto, embora não tenhamos confirmado seu achado na linhagem de *C. a. albiceps* por nós analisada".

Homo-heteromorfismo dos cromossomos sexuais nas espécies do gênero *Chrysomya* está relacionado com o tipo de reprodução sexual destas espécies ou seja, monogenia e anfogenia. Sabemos que *C. chloropyga* e *C. megacephala*, baseados nos resultados aqui apresentados como nos de ULLERICH (1958, 1963, 1976) e BOYES *et alii* (1965, 1975) são anfogênicas. Até o momento apenas duas espécies neste gênero são monogênicas: *C. a. albiceps* e *C. a. rufifacies*, e estas, provavelmente, são duas subespécies pertencentes à mesma espécie (ZUMPT, 1965; ULLERICH, 1963). As indicações de ULLERICH (1968) sobre a forma de reprodução monogênica em *C. a. albiceps* (África do Sul) foram obtidas em 1963, através da criação de casais individuais no laboratório.

Nossos experimentos confirmam a monogenia de *C. a. albiceps* de Caraguatatuba como também, como dissemos, a identidade de tamanho mas não da constrição secundária nos dois cromossomos do par pequeno em ambos os sexos.

2.2. Gênero *Cochliomyia*

2.2.1. *C. hominivorax*

A análise do cariótipo da espécie *C. hominivorax* de duas localidades distintas, Caraguatatuba e Nova Odessa, ambas no Estado de São Paulo, revelou a existência de diferenças kariotípicas significativas entre elas.

Os dados contidos na Tabela 3 e Figuras 33, 40, 52, 55, indicam a existência de três kariótipos distintos. São eles, o da linhagem de Caraguatatuba (Ca), os das linhagens NOI e NOII de Nova Odessa.

A diferença mais evidente entre a linhagem NOII e as outras duas (Ca, NOI) está no comprimento do cromossomo X. Em NOII este cromossomo é quase duas vezes maior do que o cromossomo X acrocêntrico das duas outras linhagens e, além disso, é metacêntrico (Ver Tabelas 3 e 4 e Figuras 54, 56 e 57).

Além dessa diferença, NOII ainda se distingue de Ca e de NOI, pela presença simultânea de duas constrições secundárias, uma localizada no cromossomo 2 e outra no 3. Estas duas constrições secundárias podem corresponder

ãs que aparecem isoladas em cada uma das duas outras linhagens como mencionaremos abaixo, mas não tivemos material suficiente de NOII para poder estabelecer as relações entre as constrições das três linhagens de maneira segura.

No cariótipo de NOII não encontramos nenhum par autossômico submetacêntrico, tipo cromossômico encontrado em NOI e Ca. O mais próximo de submetacêntrico é o cromossomo 6 cuja relação de braços é 1,5 e foi por nós classificado como metacêntrico.

As linhagens Ca e NOI, no entanto, apresentam o cromossomo X morfológicamente muito semelhantes tanto no comprimento quanto na relação de braços (Tabela 3). Estas duas linhagens podem, no entanto, ser diferenciadas entre si pela presença de constrição secundária específica para cada linhagem. Desta forma, Ca apresenta constrição secundária na região proximal do braço curto do cromossomo 3 e NOI na região distal do braço curto do cromossomo 2. Estas constrições secundárias são características de cada linhagem, e foram sempre encontradas em mais de 200 metáfases de cada linhagem (Ca e NOI), analisadas. Estas constrições estão indicadas nas Figuras 31, 40, 56.

Devemos ressaltar que as coletas de *C. hominivorax* foram efetuadas em miíases de gado bovino da Fazenda Experimental de Zootecnia de Nova Odessa, a qual recebe, com certa frequência, partidas de gado de várias regiões do Brasil. Desta forma, os variantes cariotípicos encontrados em Nova Odessa, podem não representar a existên -

cia nesta localidade de duas linhagens simpátricas endêmicas de *C. hominivorax*. É possível que o tipo menos frequente, o da linhagem NOII, tenha provindo de outra localidade, onde o gado já havia adquirido miíase quando introduzido nesta Estação.

Ao compararmos os cariótipos das linhagens (Ca, NOI e NOII) de *C. hominivorax* com as linhagens do Texas (U. S. A.), anteriormente descritas por KAUFMAN & WASSERMAN (1957) (que designaremos linhagem K), por BOYES (1961) (linhagem B) e por LA CHANCE *et alii* (1964) (linhagem L), verificamos diferenças com relação ao comprimento dos cromossomos, presença ou ausência de constrições secundárias e localização do centrômero.

Comparando o cariótipo da linhagem Ca com a linhagem K notamos que estes diferem no comprimento do cromossomo X, na posição do centrômero e ligeiramente no comprimento do cromossomo Y. Os autossomos destas duas linhagens são semelhantes. Com relação ao cromossomo X, embora morfológicamente semelhantes, o da linhagem K tem aproximadamente o dobro do comprimento do descrito para a linhagem Ca (12,4% e 6,86% respectivamente, Tabelas 3 e 6 e Figuras 92 e 93). O cromossomo Y descrito por KAUFMAN & WASSERMAN é acrocêntrico, enquanto para a linhagem Ca, além de ter maior comprimento, é metacêntrico.

Há uma correspondência razoável entre os cinco pares de autossomos dessas duas linhagens. Os cromossomos 2, 3, 4, 5 e 6 de Ca correspondem, respectivamente, aos 6, 5,

3, 4 e 2 da linhagem K (ver Tabelas 3 e 6 e Figuras 92a, 93a, 95). Além das diferenças nos cromossomos sexuais, estas duas linhagens diferem também no comprimento e na presença de uma constrição secundária presente no cromossomo 3 de Ca e ausente na linhagem K.

A comparação do cariótipo da linhagem Ca com a linhagem B mostra que elas também diferem nos cromossomos X e Y. O cromossomo X descrito por BOYES, cujo comprimento é quase 50% menor do que o da linhagem K, é ainda maior do que o identificado para a linhagem Ca (8,83% e 6,86% respectivamente). BOYES qualifica o cromossomo X da linhagem B como acrocêntrico com um satélite na parte distal. O cromossomo X de Ca é acrocêntrico com um braço curto semelhante a um satélite (Figuras 92a, 93b).

Nos preparados que analisamos não encontramos qualquer indício de que o cromossomo X pudesse ser acrocêntrico com centrômero terminal. A região de separação entre o braço longo e o curto desse cromossomo nos pareceu idêntica às regiões centroméricas dos demais cromossomos do cariótipo, e diferente de uma constrição de satélite. Por esta razão, consideramos este cromossomo acrocêntrico com dois braços desiguais e não acrocêntrico com centrômero terminal e um satélite como BOYES classifica o cromossomos X da linhagem B.

Os dados das Tabelas 3 e 6 mostram que o cromossomo Y descrito por BOYES, embora semelhante em comprimento ao da linhagem Ca (4,70% e 4,74%, respectivamente) di

ferem quanto à posição do centrômero. O da linhagem do Texas (B) é acrocêntrico, enquanto que o cromossomo Y de *Cara guatatuba* é metacêntrico (Figuras 92a, 93b).

Com relação aos autossomos, os pares 2, 3, 4, 5 e 6 da linhagem Ca correspondem aos pares VI, V, II, IV e III respectivamente da linhagem B, como pode ser visto nas Figuras 92a, 93b e Tabelas 3 e 5. BOYES (1961), descreveu a presença de uma constrição secundária somente na região proximal do braço longo do par III, a qual não está presente no par 6, seu correspondente na linhagem Ca. Nesta última, por outro lado, há uma constrição secundária no braço curto do par 3, que por sua vez não está presente no correspondente (cromossomo V) do idiograma de BOYES.

LA CHANCE *et alii* (1964) descreveram o cariótipo da linhagem L, utilizando a mesma nomenclatura de BOYES (1961). Dos três cariótipos descritos para *C. hominivorax* do Texas, a linhagem L é a que mais se aproxima da linhagem Ca. Os autossomos são muito semelhantes, porém, diferem de Ca em alguns aspectos dos cromossomos sexuais. O cromossomo X de L é ligeiramente maior do que o de Ca (7,82% e 6,86% respectivamente). O cromossomo Y é acrocêntrico em L e ligeiramente menor do que em Ca (3,35% em L e 4,70% em Ca). Nesta última o Y é metacêntrico (Tabela 4 e Figuras 34, 38). Embora LA CHANCE *et alii* (1964) não mencionem, em uma das fotomicrografias neste trabalho (A da figura 2, página 965), a existência de constrição secundária na linhagem L, há indícios de que um dos autossomos (possivelmente o cromossomo III) apresenta uma constrição parecida com a da linhagem

Ca. Adotando o mesmo critério, se compararmos o cariótipo da linhagem NOI com o das três linhagens do Texas, encontramos da mesma forma que em Ca semelhanças entre os cinco pares de autossomos correspondentes.

As principais diferenças com relação aos autossomos são também referentes às constrições secundárias. NOI apresenta uma constrição no cromossomo II que somente está presente na linhagem NOII e ausente em todas as outras linhagens que analisamos ou comparamos.

Considerando o comprimento e posição do centrômero, o cromossomo X de NOI se assemelha ao da linhagem L (6,02% para NOI e 7,82% para L) como indicam as Tabelas 3 e 6. O cromossomo Y de NOI é metacêntrico e semelhante ao da linhagem Ca e, portanto, difere do Y acrocêntrico das três linhagens do Texas.

Ao compararmos o cariótipo da linhagem NOII com o da linhagem K, podemos relacionar os seguintes cromossomos: o cromossomo 2, embora menor, deve corresponder ao 6, o número 3 corresponde ao 5, o 4 ao 3 e o 5 ao 4 como indicam as Tabelas 6 e 7.

Nos três cariótipos descritos para as linhagens do Texas, um dos pares de autossomos é acrocêntrico. São eles: o cromossomo II na linhagem K e o III nas linhagens B e L. Um autossomo acrocêntrico é encontrado também nas linhagens NOI e Ca (o cromossomo 6). Na linhagem NOII o cromossomo correspondente a esse acrocêntrico tem o braço curto, muito maior quando comparado com os das demais linha

gens, (relação de braços 1,5) e por isso foi por nós classificado como metacêntrico. Esta é, portanto, outra diferença nítida entre NOII e as demais linhagens.

Se considerarmos o comprimento relativo do cromossomo X da linhagem NOII, este se assemelha ao descrito para a linhagem K (12,38% e 12,4%, respectivamente). No entanto, o cromossomo X descrito por KAUFMAN & WASSERMAN é acrocêntrico com um evidente satélite terminal, enquanto que o X de NOII é metacêntrico com um satélite pequeno ligado ao braço curto (Figuras 92c, 93a, 56, 57). O cromossomo Y nesta linhagem é metacêntrico, semelhante ao das linhagens NOI e Ca, embora menor em comprimento (Tabela 3).

Comparando os autossomos de NOII com os da linhagem B, notamos que três pares são semelhantes em comprimento e posição do centrômero (3 e V; 5 e IV; 2 e VI, respectivamente), enquanto os dois outros são bem diferentes nas duas linhagens. Ao compararmos a linhagem NOII com L, a correspondência é de 2 com IV; 3 com V e 5 com VI, respectivamente, sendo os outros dois pares de autossomos também diferentes (ver Tabelas 6 e 7).

O cromossomo X de NOII apresenta um comprimento relativo ao total do genoma bem maior, além de ser morfológicamente diferente (metacêntrico), quando comparado aos cromossomos X acrocêntricos das linhagens B e L (Tabela 3 e Figuras 92c e 93b,c.). Quanto ao cromossomo Y, embora semelhante em comprimento ao da linhagem B (4,25% e 4,70%, respectivamente), difere deste último na localização do centrô

mero.

Os resultados das comparações mencionadas nas páginas anteriores já haviam sido analisadas e descritas quando recebemos relatórios e manuscrito, graças à gentileza dos Professores RICHARDSON, ELLISON & AVERHOFF (1980, 1981 e 1982) que se referem a trabalho recente sobre várias linhagens de *C. hominivorax* dos Estados Unidos e México.

Os dez cariótipos descritos por RICHARDSON *et alii* para *C. hominivorax* de áreas geográficas distintas, foram muito úteis para compararmos com os três cariótipos desta espécie por nós analisados e que podem ser visualizados na Figura 95, onde estão representados os idiogramas dos cariótipos designados por letras de A a J, obtidos por estes autores.

Através da análise das Tabelas 8 e 9, onde estão expressos os comprimentos relativos e relação de braços dos cariótipos descritos por RICHARDSON *et alii* e os das três linhagens por nós estudados, verificamos que diferenças existem e estas se referem, principalmente, ao comprimento e relação de braços dos cromossomos sexuais.

Considerando-se apenas os cromossomos sexuais, os cariótipos A, F, I apresentam um cromossomo X semelhante morfologicamente aos das linhagens Ca e NOI (Tabela 8 e 9, Figuras 92a,b, 94,a,b,c).

Com relação ao cromossomo Y das linhagens A, F e I caracterizado por ser acrocêntrico, é nitidamente meta-

cêntrico nas linhagens Ca, NOI e NOII. Portanto, no que se refere ao cromossomo Y essas três linhagens de RICHARDSON *et alii* diferem das linhagens brasileiras.

Com relação aos autossomos, verificamos que os cromossomos do tipo F são os que mais se assemelham em comprimento aos da linhagem de Caraguatatuba (Tabela 3 e 8). No entanto, estes autores não descreveram em seus idiogramas qualquer constrição secundária, limitando-nos, assim, a efetuar uma correlação mais precisa com as linhagens por nós analisadas.

Quanto à linhagem NOI, esta parece-nos mais semelhante no que se refere ao comprimento dos autossomos ao tipo A de RICHARDSON *et alii*, que ocorre no Novo México (Tabela 6a, b, Figura 94a). O cromossomo X de ambas apresenta aproximadamente o mesmo comprimento relativo (6,02% para NOI e 6,84% para tipo A). Aqui também há diferença na morfologia do cromossomo Y, pois no tipo A este é acrocêntrico. (Tabela 9).

A linhagem NOII dentre as linhagens brasileiras é a que mais difere dos dez cariótipos descritos por RICHARDSON *et alii*, especialmente com relação ao comprimento e posição do centrômero dos cromossomos X, Y e 6, como pode ser verificado nas Tabelas 8 - 9 e Tabelas 3 e 4.

Associadas as diferenças encontradas na composição cromossômica, estes autores verificaram que as infestações causadas pelos tipos C, D, E provocam menos danos ao animal hospedeiro do que os tipos A e F, produzindo pouca

ou nenhuma drenagem na ferida, além destas serem desprovidas de odor. Este tipo de ferida foi encontrado em gado no Novo México e Arizona, porém, nunca no Texas. Tais achados podem refletir diferenças de espécies do complexo *C. hominivorax*, das condições do hospedeiro, do clima ou de outros fatores (RICHARDSON *et alii*, 1981, 1982).

Os dados obtidos da análise morfométrica e estatística dos cromossomos das três linhagens de *C. hominivorax*, deixam em aberto um problema de grande interesse genético e evolutivo. Nossos dados parecem indicar que a somatória do comprimento de todos os cromossomos de cada uma das linhagens, difere da medida correspondente das duas outras linhagens. A linhagem NOII, parece ter comprimento absoluto total de cromossomos maior em (μm) quando comparado com as outras duas linhagens (Figuras 98 e 99). A linhagem NOI é intermediária e a linhagem Ca foi a que apresentou menor comprimento cromossômico (Tabela 3, Figura 98). No caso de serem verdadeiras as diferenças na quantidade de DNA nas três linhagens, podemos concluir que na diferenciação do cariótipo da linhagem NOII deve ter ocorrido um aumento generalizado de DNA em todos os cromossomos do genoma, com um aumento maior e mais evidente no cromossomo X. No momento não temos dados sobre que tipo de cromatina está envolvida nesse aumento de DNA. Hoje, são conhecidos vários exemplos de aumento de DNA ocorrendo durante a ontogenia (PAVAN & DA CUNHA, 1968), como também na filogenia (KEYL, 1957).

Em *Sciara ocellaris*, são comuns casos de cro -

mossomos homólogos com quantidades de DNA diferentes (PAVAN & PERONDINI, 1967 e PERONDINI, 1968). Nos exemplos acima, o aumento de DNA pode dar-se na eucromatina ou na heterocromatina, mas de um modo geral em outros organismos, os casos de aumento ou diminuição de heterocromatina, são os mais frequentemente encontrados (DOBZHANSKY, 1973 e WHITE, 1977).

As comparações feitas mostram que os cariótipos das 16 linhagens de *C. hominivorax* aqui discutidas são perfeitamente identificáveis. Como classificar taxonomicamente essas diferenças, é problema de grande importância e deve ser solucionado de maneira a mais completa possível. Classificar todas estas diferenças como polimorfismo cromossômico em uma única espécie de *Cochliomyia*, parece-nos uma simplificação exagerada e, a nosso ver, imprópria. RICHARDSON *et alii*, afirmam terem encontrado dois cariótipos (sem os híbridos ou intermediários) em larvas de uma mesma miíase. Outros exemplos citados nos trabalhos de RICHARDSON *et alii* e os dados apresentados no presente trabalho, indicam que, o que hoje é chamada *C. hominivorax*, deve ser um complexo de espécies crípticas, com possíveis subespécies, além de formas polimórficas de cariótipos dentro de cada espécie.

2.2.2. *C. macellaria*

Como mencionamos anteriormente, *C. macellaria* é muito próxima de *C. hominivorax*. A distinção entre essas duas espécies somente foi estabelecida em 1933 por CUSHING & PATTON, sendo a principal diferença entre elas, ser uma

saprófaga (*C. macellaria*) e a outra produtora de miíases em animais homeotérmicos (*C. hominivorax*). A composição cromossômica de cada uma das espécies oferece outro método de diagnóstico, permitindo a distinção entre elas.

As comparações entre os cariótipos de *C. macellaria* coletadas em Caraguatatuba com os das três linhagens de *C. hominivorax* indicam que as diferenças principais dizem respeito aos cromossomos sexuais, pois tanto o X como o Y são menores em *C. macellaria*, como pode ser observado nas Tabelas 3 e 5. Assim, os valores de porcentagem do comprimento total do complemento são de 3,22% para o X e 1,58% para o Y em *C. macellaria*, ao lado de 6,86; 6,02 e 12,38% para o X e de 4,74, 4,50 e 4,25 para o Y nas linhagens Ca, NOI e NOII de *C. hominivorax*, respectivamente (Tabelas 3 e 5).

Outra distinção cariotípica, como pode ser visto nas Figuras 58 e 59, está relacionada com a presença e localização das constrições secundárias. Assim, observamos em *C. macellaria*, principalmente em prometáfases, a presença de um maior número de constrições secundárias nos autossomos quando comparadas às existentes nas três linhagens de *C. hominivorax* por nós analisadas.

Ao compararmos o cariótipo da linhagem de *C. macellaria* de Caraguatatuba com os descritos por BOYES(1961) e BOYES e SHEWELL (1975) que analisaram três linhagens de *C. macellaria* coletadas em St. Georges (Granada), México e Porto Rico, notamos diferenças, especialmente com relação à

presença e localização de constrições secundárias (Figuras 96, e 97).

Na linhagem de St. George (Granada), BOYES(1961) descreveu constrições secundárias nos seguintes pares de autossomos, na região distal do braço curto e braço longo do par III, respectivamente, na região distal do braço longo dos pares IV e V e na região distal do braço curto do par VI como mostra a Figura 96. Para as linhagens do México e Porto Rico, BOYES e SHEWELL (1975) não descreveram constrições secundárias. Por outro lado, nestas duas localidades, estes autores observaram diferenças significativas quanto à localização do centrômero nos pares III e IV (1: 1,76 e 1: 1,57 para o par III e 1: 2,70 e 1: 1,97 para o IV na linhagem do México e Porto Rico, respectivamente). Analisando os dados das Tabelas 5 e Figura 97, verificamos que a relação de braços dos pares III e IV de *C. macellaria* (Caraguatatuba), embora diferente, se assemelham mais aos da linhagem do México descrita por BOYES & SHEWELL (1,70 \pm 0,43 e 2,96 \pm 0,80, respectivamente).

Com relação aos cromossomos sexuais, temos que o X de *C. macellaria* de Caraguatatuba é metacêntrico (relação de braços 1,2), difereindo do cromossomo X descrito para a linhagem de Granada que é acrocêntrico, apresentando uma constrição secundária na região mediana deste cromossomo. Difere também dos descritos para as linhagens do México e Porto Rico, onde ambos são telocêntricos (Figura 97).

O cromossomo Y da linhagem de Caraguatatuba é

menor em comprimento quando comparado com os observados para as linhagens de Granada e Porto Rico (1,58 para Caragatatuba ao lado de 3,35 para Granada e 3,60 para Porto Rico). Na linhagem do México o cromossomo Y não foi observado (Figura 97).*

Pelos dados que apresentamos, parece muito provável que *C. macellaria* é outra espécie que através de estudos mais detalhados sobre a biologia e citologia, poderá exibir uma série de novidades semelhantes às encontradas em *C. hominivorax*.

2.3 Banda C

A análise do padrão de banda C dos cromossomos mitóticos, neste grupo de espécies relacionadas, ao lado dos estudos do número e morfologia cromossômica, forneceu mais um método de distinção citotaxonômica. O método da banda C, permite evidenciar a distribuição e localização de segmentos especiais de heterocromatina ao longo dos cromossomos. Entre as espécies de Calliphoridae, a heterocromatina constitutiva localiza-se, principalmente, nas regiões centroméricas e com menor frequência, também nas regiões cromossômicas intersticiais e teloméricas.

A distribuição da heterocromatina nas cinco espécies aqui estudadas, se assemelha aos padrões de banda C.

* BOYES & SHEWELL não tiveram oportunidade de trabalhar com larvas macho da linhagem do México por isso não puderam descrever o cromossomo Y desta linhagem.

obtidos por ULLERICH (1976), para os cromossomos de quatro espécies de *Chrysomya* e por BEDO (1980) em *Phaenicia (=Lucilia)cuprina*. A banda C intersticial presente no braço curto do cromossomo VI de *C. chloropyga* de Campinas não foi constatada por ULLERICH (1976) na linhagem da África do Sul. Este autor, por outro lado, encontrou uma banda no braço curto do cromossomo 3 da forma *Chrysomya putoria*, que corresponde ao par IV de *C. chloropyga* de Campinas, no qual não foi encontrada essa banda. Segmentos de heterocromatina intersticial também ocorrem nos cromossomos IV e VI de *C. a. albiceps*, nos cromossomos 2, 3 e 4, ocasionalmente no 6 de *C. macellaria*, no 3 de *C. hominivorax* Ca e no par 2 de *C. hominivorax* NOI. Para ULLERICH (1976) talvez exista uma relação entre a banda C intersticial da forma *C. putoria* com uma constrição secundária algumas vezes observada nesta região cromossômica, semelhante ao que ocorre em *Gryllus argentinus* (DRETS & STOLL, 1974) no gafanhoto *Atractomorpha similis* (KING & JOHN, 1980) e em algumas espécies do gênero *Litoria* (KING, 1980). Nos casos acima, quando a banda C está associada à constrição secundária a heterocromatina intersticial pode ocupar o espaço correspondente à constrição em si, estar em torno da constrição ou ocupar quase que a totalidade de um braço cromossômico (KING, 1980). Nas espécies que analisamos, parece que a relação entre banda C e constrição secundária é válida apenas para os pares IV e VI de *C. a. albiceps*, 2 e 3 de *C. macellaria* e 2 de *C. hominivorax* NOI. No cromossomo VI de *C. chloropyga* e nos pares 4 e 6 de *C. macellaria* por nós analisadas, parece não haver correspondência entre constrições secundárias e a pre

sença de bandas C intersticiais. Situação semelhante foi encontrada por ULLERICH (1976) em *C. chloropyga*, *C. varipes* e *C. a. rufifacies*, para os respectivos cromossomos correspondentes ao cromossomo 3 da forma *C. putoria*.

Comparações entre os resultados de banda C obtidos para os autossomos e cromossomos sexuais das espécies de Calliphoridae analisadas, com os de outras espécies da mesma família, bem como de outros dípteros torna-se uma tarefa difícil devido às diferenças na metodologia adotada pelos vários autores. Admite-se que variações nos resultados podem ocorrer para um mesmo material, numa única lâmina quando submetidos a um determinado método de banda C, em função do grau de compactação dos cromossomos e fase da mitose (SUMMER, 1972; BOSTOCK & CHRISTIE, 1975). A condensação cromossômica pode ocasionar uma perda de resolução de banda C distintas ou, por outro lado, reunir bandas C intimamente associadas (JOHN & MIKLOS, 1979). Em certos casos, regiões contendo heterocromatina constitutiva em diferentes espécies requerem condições de tratamento diferentes para evidenciar banda C (SCHNELD & CZAKER, 1974) como também diferentes tratamentos numa única espécie pode ocasionar diferenças pronunciadas no padrão de banda C (SCHMID, 1978). Em *Phaenicia cuprina* (Calliphoridae), BEDO (1980) afirma que as regiões heterocromáticas próximas ao centrômero nos autossomos são muito sensíveis à variações quando se utiliza o procedimento de banda C. Deste modo, frequentemente não são detectadas claramente em todos os autossomos ou coram-se somente um dos lados do centrômero. Acrescenta ainda que

essa variação é evidente quando se analisam células diferentes de um mesmo indivíduo. Sendo assim, devemos evidenciar que comparações de resultados obtidos na análise cromossômica, pelo método de banda C em várias espécies de animais é perfeitamente válida quando os dados foram obtidos por um mesmo pesquisador, ou por pesquisadores que utilizam rigorosamente o mesmo método e que evidenciaram precisamente o estado de compactação dos cromossomos analisados e descritos. Pequenas variações metodológicas podem levar a grandes diferenças de resultados. Devemos ressaltar que todos os procedimentos de banda C testados utilizando-se lâminas contendo cariótipo humano (controle).

Em nossas análises de banda C nos cromossomos das cinco espécies de Calliphoridae, verificamos variações nos resultados, quando o mesmo método foi empregado para espécies diferentes. Assim, enquanto que em *C. chloropyga* e *C. macellaria* as bandas C apresentam-se nítidas, mesmo com adaptações metodológicas para a obtenção de banda C, não conseguimos resultados iguais com as outras três espécies. Em *C. a. albiceps* e *C. hominivorax*, as regiões eucromáticas muitas vezes aparecem muito coradas, tornando-se difícil diferenciá-las das regiões heterocromáticas (Figuras 74, 81, 83 e 86). Resultados diferentes foram obtidos também quando utilizamos o mesmo método em lâminas incubadas simultaneamente de *C. hominivorax* Ca e NOI.

Devemos ressaltar que em todos os procedimentos de banda C utilizados neste trabalho, para as lâminas controle (cariótipo humano), foram evidenciadas as regiões

cromossômicas constituídas por heterocromatina constitutiva. Isto sugere que as variações de resultados encontradas nos cromossomos, especialmente de *C. megacephala*, *C. a. albiceps* e *C. hominivorax*, pode ser devido à peculiaridade do método ou por ser esta metodologia pouco eficiente para detectar a quantidade de heterocromatina constitutiva nos cromossomos destas espécies.

Embora tenhamos realizado algumas adaptações no método de banda C utilizados por ULLERICH (1976) e por BEDO (1980), nas análises que realizaram em algumas espécies de Calliphoridae, com as ressalvas acima, algumas comparações foram efetuadas. Encontramos uma banda C intersticial em *C. chloropyga* de Campinas (braço curto do par VI) que não foi detectada por ULLERICH (1976) em *C. chloropyga* da África do Sul. Por outro lado, este autor encontrou uma banda C semelhante ao de *C. chloropyga* de Campinas, na forma *C. putoria*. A nível de morfologia cromossômica, ULLERICH verificou que a distinção entre essas duas espécies próximas, além da presença de banda C intersticial na forma *C. putoria*, diz respeito a morfologia do cromossomo Y. Este cromossomo, em *C. chloropyga* difere do Y da forma *C. putoria* por não apresentar constricção secundária em um dos braços. Morfológicamente, o cromossomo Y de *C. chloropyga* de Campinas e da África do Sul coincidem. Embora ULLERICH (1976) não tenha analisado o padrão de banda C do cromossomo Y de *C. chloropyga*, este autor afirma que devido ao comportamento heteropiconótico desse cromossomo na mitose e meiose, quando corado com orceína lacto-acética, este pode ser considerado

constituído quase que inteiramente de heterocromatina constitutiva. Já o cromossomo Y da forma *C. putoria* do oeste da África submetido ao procedimento de banda C, apresenta o braço mais curto totalmente heterocromático e o braço longo heterocromático apenas em sua metade proximal (ULLERICH, 1976). O cromossomo Y de *C. chloropyga* de Campinas não se cora uniformemente com preparações submetidas ao método de banda C. Segmentos escuros aparecem na região próxima ao centrômero e nas extremidades do cromossomo Y, sendo as regiões adjacentes ao centrômero compostas de segmentos claros somente evidentes na prometáfase (Figura 70). Na metáfase, o cromossomo Y apresenta-se uniformemente corado (Figura 68). Discutimos acima, com certos detalhes, as relações entre *C. chloropyga* e *C. putoria* porque, como dissemos no item 1 da Introdução, persistem ainda dúvidas se essas duas entidades representam espécies distintas, espécies crípticas ou se são apenas formas de uma mesma espécie. Quanto ao cromossomo Y de *C. hominivorax* e *C. macellaria*, verificamos que este é constituído em sua totalidade por heterocromatina constitutiva, semelhante ao que ocorre em *Phaenicia cuprina* (BEDO, 1980) como em outros dípteros. Embora o padrão de banda C do cromossomo Y de *C. megacephala* não tenha sido analisado pelo procedimento de banda C, como dissemos no item 3.3 de Resultados, o comportamento heteropicnótico durante a mitose, quando corado com orceína lacto-acética, é de se supor que deva ser constituído quase que completamente de heterocromatina (Figura 19 e 20).

O cromossomo X de *C. megacephala*, *C. a. albiceps*,

C. hominivorax e *C. macellaria* é parcialmente heterocromático (Figuras 70, 74, 80, 86 e 87) e identificável em cada espécie pela intensidade de coloração e distribuição da banda C. Desta forma, o cromossomo X de *C. chloropyga* e *C. hominivorax* se assemelha ao X observado por BEDO (1980) em *Phaenicia cuprina*, que é fortemente corado no braço curto, exceto na metade distal do braço longo (Figuras 68, 71 e 80). O pequeno cromossomo X de *C. macellaria* é igualmente corado em ambos os lados da constrição centromérica, a qual se apresenta menos corada (Figura 87), semelhante ao X observado em *Parasarcophaga misera* por Kaul *et alii* (1978). Já o pequeno par I de *C. a. albiceps* mostra banda C evidentes, na região terminal de cada braço e se assemelha ao pequeno cromossomo de número 6 de *C. a. rufifacies* estudado por ULLERICH (1976). No caso de *C. megacephala*, o cromossomo X, não demonstrou um padrão definido de banda C, ora apresentando banda C terminais nas duas extremidades ao lado de um segmento mediano mais claro (Figura 72), ora corando mais fortemente apenas o braço curto deste cromossomo (Figura 74).

Nossos resultados, utilizando o método de banda C, nas cinco espécies de Calliphoridae aqui analisadas, forneceram dados de interesse mas, as variações apresentadas aparentemente devidas à peculiaridade do método, nos impediram de realizar maior número de comparações e interpretações dos resultados obtidos.

2.4 - Considerações Finais

Os dados apresentados no presente trabalho, associados aos de outros autores que trabalharam em espécies de Calliphoridae, seja sob o aspecto taxonômico clássico, seja sob o ponto de vista cariológico, mostram que nesta família várias espécies apresentam características taxonômicas complexas. Nos atendo primeiramente aos resultados obtidos em *Cochliomyia hominivorax* parece-nos claro que esta designação, representa mais do que uma simples forma genética. Seria um complexo de formas, algumas das quais provavelmente já a nível de espécies distintas.

Apenas trabalhos futuros poderão mostrar quantas populações naturais têm isolamento reprodutivo completo, colocando-as em situação de espécies bem definidas, quantas tem isolamento reprodutivo e, desta forma, poderiam ser consideradas como subespécies ou raças de espécies definidas.

Ao lado do interesse acadêmico, o conhecimento que se deve ter sobre as espécies de Calliphoridae, devido as suas implicações médico-sanitárias e econômicas tem também alto valor prático. Este valor torna-se ainda maior com os problemas causados pelo uso de inseticidas químicos e da necessidade de introdução de métodos de controle biológico para combater espécies nocivas ao homem.

A queda na eficiência do método da soltura de indivíduos estéreis de *Cochliomyia hominivorax* no Sudoeste dos Estados Unidos, nos anos setenta, mencionada na Introdução, foi

decorrente de uma deficiência do conhecimento das espécies em questão.

Outro problema de grande interesse é a situação da explosão evolutiva presente no complexo *Cochliomyia hominivorax* que, adicionado às mudanças kariótípicas em operação nesse processo, mostra que o complexo *C. hominivorax* é excelente material de trabalho.

Em grande número de estudos biológicos, principalmente em grupos de insetos, foi demonstrada a existência de espécies crípticas ou de subespécies que normalmente não são identificáveis pelos métodos da taxonomia clássica. Pelo que foi demonstrado no presente trabalho, parece claro que cada uma das espécies de Calliphoridae aqui discutidas deve representar mais do que uma forma biológica. A identificação exata das várias formas presentes em cada uma dessas espécies é de grande importância se quisermos entender as relações entre elas, assim como para quem tem interesse em desenvolver métodos de controle desses insetos indesejáveis.

VI. CONCLUSÕES

1. Embora os dados da literatura apresentem mais de um cariótipo para cada uma das espécies analisadas neste trabalho, nossos resultados confirmam as conclusões de IMBIRIBA *et alii* (1977) e GUIMARÃES, PRADO & LINHARES (1978) de que as espécies pertencentes ao gênero *Chrysomya* introduzidas no Brasil foram: *C. chloropyga*, *C. megacephala* e *C. albiceps albiceps*.
2. A linhagem de *C. chloropyga* coletada em Campinas, embora não idêntica cariotipicamente, se assemelha mais à linhagem desta espécie descrita por ULLERICH (1976) proveniente da África do Sul. A principal diferença entre estas duas linhagens é uma constrição secundária presente na região proximal do braço curto do cromossomo 2 da linhagem da África do Sul e que não foi observada na linhagem de Campinas.
3. A linhagem de *C. megacephala* de Campinas apresenta um cariótipo semelhante ao da linhagem dessa espécie descrita por ULLERICH (1963) proveniente do Japão. Esta espécie foi também detectada recentemente na África por KURAHASHI (1978) e PRINS (1979) mas, estes autores não apresentaram em seus trabalhos o cariótipo das linhagens estudadas. Em virtude disto, postulamos sua introdução via estoques orientais por mecanismos de

migração diferente das duas outras espécies de *Chrysomya* analisadas.

4. A espécie monogênica *C. a. albiceps* de Caraguatatuba se assemelha cariotipicamente à linhagem dessa espécie descrita por ULLERICH (1963) proveniente da África do Sul. No entanto, o pequeno par de número I na linhagem de Caraguatatuba diferencia-se de *C. a. albiceps* por ser metacêntrico, enquanto que na linhagem da África do Sul este par é telocêntrico e tem uma constricção secundária que o divide em duas partes, uma tendo quase o dobro do comprimento da outra.
5. Atualmente existem quatro cariótipos descritos para *Cochliomyia macellaria*. O da linhagem de Caraguatatuba é mais próximo do cariótipo da linhagem do México do que os das linhagem de Porto Rico e Granada (BOYES & SHEWELL, 1975). A diferença cariotípica mais evidente entre estas duas linhagens está na morfologia do cromossomo X que é metacêntrico na linhagem de Caraguatatuba e acrocêntrico na linhagem do México. Além disso, observamos nos autossomos constricções secundárias que não foram descritas na linhagem do México.
6. *Cochliomyia hominivorax*, provavelmente por ser a espécie mais estudada, apresentou a maior variação cariotípica dentre as espécies de Calliphoridae analisadas até o momento. Na região Neotropical são conhecidos de

zesseis cariótipos distintos, três dos quais foram encontrados no Estado de São Paulo.

7. As principais diferenças cariotípicas encontradas entre as linhagens de *C. hominivorax* dizem respeito ao comprimento dos cromossomos, a localização dos centrômeros nos vários cromossomos, a presença de constrições secundárias específicas, além da presença de satélite cromossômico.
8. Embora o cromossomo X de NOII seja o que se distingue pelo seu maior comprimento e por sua morfologia em relação aos correspondentes das outras duas linhagens, todos os autossomos de NOII são também mais longos do que os respectivos das linhagens NOI e Ca. Por esse motivo, é pouco provável que o maior comprimento do cromossomo X da linhagem NOII tenha derivado de translocações de partes de um autossomo para o cromossomo X.
9. Os dados da literatura, adicionados aos do presente trabalho, sugerem que *C. hominivorax* deve ser um complexo de espécies crípticas com possíveis subespécies e formas polimórficas de cariótipos dentro de cada espécie bem definida.
10. Das cinco espécies por nós analisadas, apenas larvas de *C. hominivorax* foram encontradas nas 433 miíases analisadas. Em nenhum caso, dentro ou ao redor da le-

são, foram encontrados ovos ou larvas de qualquer das quatro outras espécies de Calliphoridae por nós estudadas.

VII. SUMÁRIO

Nesta dissertação foram realizados estudos biológicos e cariotípicos de cinco espécies de Calliphoridae. Três de introdução recente no Brasil: *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala* e *C. albiceps albiceps* e duas nativas *Cochliomyia hominivorax* e *C. macellaria*.

Verificou-se que ao lado da total uniformidade no número de cromossomos das cinco espécies ($2n = 12$ cromossomos), encontram-se grandes variações quanto à morfologia e comprimento dos cromossomos. Essa variabilidade que se manifesta tanto inter como intraespecificamente, coloca os Calliphoridae entre as espécies de insetos que apresentam maior variabilidade cariotípica em populações naturais. Essas variações ocorrem tanto nos autossomos quanto nos cromossomos sexuais sendo que neste últimos as variações encontradas foram maiores e mais evidentes que a dos autossomos. Além do método usual de coloração com orceína lacto-acética foi utilizado o método da banda C cujos resultados mostraram-se muito variáveis. resultados obtidos nas diferentes espécies analisadas, *C. chloropyga* e *C. macellaria* mostraram ser as espécies em que as regiões heterocromáticas foram mais evidentes. Nas outras três espécies, utilizando-se a mesma metodologia e mesmo introduzindo algumas modificações, os resultados não foram tão satisfatórios, embora algumas metáfases apresentassem cromossomos com banda C. Foram estudados por outros autores os ca-

riótipos de duas linhagens de *C. chloropyga* (África do Sul e Etiópia). Esses dois cariótipos diferem entre si e daquele encontrado na linhagem de Campinas. O cariótipo de Campinas é mais próximo do apresentado pela linhagem da África do Sul descrito por ULLERICH (1976). De *C. megacephala* foram analisados os cariótipos da África do Sul (BOYES & SHEWELL, 1975) e do Japão (ULLERICH, 1963), sendo estes também diferentes entre si e diferem daquele da linhagem de Campinas por nós estudados. Neste caso o cariótipo da linhagem de Campinas se aproxima mais ao da linhagem do Japão do que o descrito para o da África do Sul. De *C. asalbiceps* existem estudos sobre duas linhagens da África do Sul que diferem entre si e são diferentes do cariótipo que encontramos para a linhagem de Caraguatatuba. Nesta espécie não conseguimos identificar os cromossomos sexuais.

Os cariótipos de *C. macellaria* de Granada, Porto Rico e México, descritos por BOYES (1961) e BOYES & SHEWELL (1975), também diferem entre si e são diferentes ao cariótipo da linhagem de Caraguatatuba por nós analisada. *C. hominivorax*, a espécie mais estudada por autores estrangeiros e também a mais investigada por nós, foi a que apresentou maior variabilidade. Foram descritos na literatura 13 cariótipos diferentes e três por nós para o Estado de São Paulo. Temos boas evidências de que *C. hominivorax* não é uma única espécie de *Cochliomyia*, mas deve representar um complexo taxonômico onde se encontram algumas espécies crípticas e muito provavelmente subespécies e formas cariotípicas polimórficas dentro de algumas das espécies bem defini

das.

A análise cariôtípica forneceu excelentes dados complementares aos já existentes sobre biologia e taxonomia dessas cinco espécies e, além disso, abriu novas áreas de estudos desse importante grupo de insetos.

VIII. SUMMARY

This dissertation concerns the biological and karyotypical studies carried out in five species of Calliphoridae. Three of these are of recent introduction in Brazil: *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala* *C. albiceps albiceps* while *Cochliomyia hominivorax* and *C. macellaria* are native species.

It was possible able to verify that, beside the total uniformity in the number of chromosome of these five species ($2n = 12$ chromosomes), considerable variation related to both morphology and length of the chromosomes has been observed. This variability, which manifests itself both inter and intraspecifically, places the Calliphoridae among the species of insects presenting the largest karyotypical variability found in wild populations. Occurring in the autosomes as well as in the sexual chromosomes, the variations in the latter have been, however, far more diversified and more evident than in the former.

Besides the usual method of staining the slides with lactic-acetic orcein, the C-band method was used which turned out to produce variable results. If one compares the results obtained with this last method in the different species analysed, one will be able to see that *C. chloropyga* and *C. macellaria* are the species in which the heterochromatic regions proved to be most evident. On the other hand, in

the remaining three species, using the same methodology, and even introducing some changes, the results have not been so satisfactory, although some metaphase did show chromosomes with C-bands.

The karyotypes of two strains of *C. chloropyga* (from South Africa and Ethiopia) have been studied by other authors. These two karyotypes differ from each other and from the one found in the strain collected in Campinas. The karyotype of the Campinas strain is closer to the one found in the strain of South Africa described by ULLERICH (1976). The karyotypes of the strains of *C. megacephala* collected in South Africa (BOYES & SHEWELL, 1975) and Japan (ULLERICH, 1963) were found to differ one from the other and from the one in the strain collected in Campinas as well. The karyotype from the Campinas strain is chromosomally closer to the strains from Japan than it is to the karyotype described for the South Africa strains.

The *C. a. albiceps* strain collected in Caragua tatuba has kariotypical differences when compared to the two South African strains described by BOYES and by ULLERICH which in turn, represent two different kariotypical groups. The sexual chromosomes of this species have not been identified in this study.

The karyotypes of *C. macellaria* from Grenada, Puerto Rico and Mexico described by BOYES (1961) and BOYES & SHEWELL (1975), are also different one from the other and differ from the karyotype of the strain from Caraguatatuba

analysed in this work. *C. hominivorax*, the species to which foreign authors have dedicated most of their efforts, and which we also have investigated the most, was the one presenting the largest karyotypical variation. Thirteen different karyotypes have been described in the literature, to which this study has, added three more, for populations collected in the state of São Paulo. There is good evidence showing that *C. hominivorax* is not only a species of *Cochliomyia*, but it may well represent a taxonomic complex including sibling species, subspecies and polymorphic karyotypical forms within some well-defined species.

The karyotypical analysis has furnished excellent data complementary to those already existing on the biosystematic of these five species of Calliphoridae and besides that, it has opened new areas of studies of this important group of insects.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, T.S., HOLT, C.G. & SUDENT, W.D. Physical and physiological effects on the response of female screwworms, *Cochliomya hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to carrion odors in an olfactometer. *J. Med. Entomol.* 15(2) : 124-131, 1979.
- ADAMS, T.S. The reproductive physiology of the screw-worm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) III Mating, 15(5-6): 488-493, 1979.
- ADAMS, T.S. & REINECKE, J.P. The reproductive physiology of the screw-worm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). I Oogenesis. *J. Med. Entomol.* 15(5-6): 472-493, 1979.
- ALLEY, D.A. & HIGHTOWER, B.G. Mating behavior of screw-worm fly as affected by differences in strain and size. *J. Econ. Entomol.*, 59(6): 1499-1502, 1966.
- ARADI, M.P. & MIHALYI, F. Seasonal investigations of flies visiting food markets in Budapest. *Acta Zool. Hung.* 17: 1-10, 1971.
- ARRIGHI, F.E. & HSU, T.C. Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 10: 81-85, 1971.
- ARRIGHI, F.E., HSU, T.C., PATHAK, S. & SAWADA, H. The sex chromosomes of Chinese hamster: Constitutive heterochromosomes of Chinese hamster: Constitutive heterochromosomes

- matin deficient in repetitive DNA sequences. *Cytogenet. Cell. Genet.* 13: 268-274, 1974.
- BAIMAI, V. Chromosomal polymorphism of constitutive heterochromatin and inversions in *Drosophila*. *Genetics* , 85: 85-93, 1977.
- BARNES, H.F. The sex ratio at the time of emergence and the occurrence of unisexual families in the gall midges (Cecidomyiidae, Diptera). *J. Genet.*, 24: 225-234, 1931.
- BARNES, H.F. The identity of the swede midge with notes on its biology. *Ann. appl. Biol.*, 37: 241-248, 1950.
- BARR, M.L. & BERTRAM. A morphological distinction between neurones of the male and the female and the behavior of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature*, 163: 676-677, 1949.
- BAUMHOVER, A.H. Sexual aggressiveness of male screwworm flies measured by effect of female mortality. *J. Econ. Ent.*, 58(3): 544-548, 1965.
- BAUMHOVER, A.H., HUSMAN, C.N., SKPPER, C.C. & NEW, W. D. Field observation on the effects of releasing sterile screwworms in Florida. *J. Econ. Ent.*, 52(6): 1202-1206, 1959.
- BAUMHOVER, A.H., HUSMAN, C.N. & GRAHAM, A.J. In: Insect colonization and mass production. New York, Academic Press Inc., 1966, pp. 533-554.

- BEDO, D.G. C-banding in polytene chromosomes of *Simulium ornatipes* and *S. melatum* (Diptera: Simuliidae) *Chromosomes*, 51: 291-300, 1975.
- BEDO, D.G. C, Q and H-banding in the analysis of Y Chromosome rearrangements in *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). *Chromosoma*, 77: 299-308, 1980.
- BEESELEY, W.N. Control of arthropods of medical and veterinary importance. In: B. Dowsed. *Advances in Parasitology*. London & New York, Academic Press, 1973. vol. 11 p. 115-192.
- BIER, K. Der karyotyp von *Calliphora erythrocephala* Meigen unter besonderer Berücksichtigung der Nährzelikernchromosomen in gebündelten und gepaarten Zustand. *Chromosoma*, 11: 335-364, 1960.
- BOSTOCK, C.J. & CHRISTIE, S. Chromosome of a cell line of *Dipodomys panamintinus* (kangaroo rat). A banding and autoradiographic study. *Chromosoma*, 51:25-34, 1975.
- BOYES, J.W. Somatic chromosomes of higher Diptera II. Differentiation of sarcophagid species. *Can. J. Zool.*, 31: 561-567, 1953.
- BOYES, J.W. Somatic chromosomes of higher Diptera. V. Interspecific variation in the Calliphoridae. *Can. J. Zool.*, 39: 549-570, 1961.
- BOYES, J.W. Somatic chromosomes of higher Diptera. VII. Sarcophagid species in relation to their taxonomy. *Can.*

- J. Zool.*, 41: 1191-1204, 1963.
- BOYES, J.W. The cytology of muscoid flies. In: Wright, J. W. & Pal, R. ed. *Genetics of insect vectors of disease*. W.H.O. Elsevier Publishing Company, 1967. cap. 10, 371 - 384.p.
- BOYES, J.W. & VAN BRINK, J.M. Chromosomes of calyptrate Diptera. *Can. J. Genet. Cytol.*, 7: 537-550, 1965.
- BOYES, J.W. & SHEWELL, G.E. Cytotaxonomy of Calliphoridae (Diptera). *Genetica*, 45: 435-488, 1975.
- BOTCHAN, M.; KRAM, R.; SCHMID, C.W. & HEARST, J.E. Isolation and chromosomal localization of highly repeated DNA sequences in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 68: 1125-1129, 1971.
- BROWN, S.W. Heterochromatin. *Science*, 151: 417-425, 1966.
- BROWN, S.W. & NUR, U. Heterochromatic chromosomes in the coccids. *Science*, 145: 130-136, 1964.
- BROWN, H.E. & SNOW, J.W. Protein utilization by screwworm larvae (Diptera: Calliphoridae) reared on liquid medium. *J. Med. Ent.*, 14(5): 531-533, 1978.
- BROWN, H.E. & SNOW, J.W. Screwworm (Diptera: Calliphoridae): A new liquid medium for rearing screwworm larvae. *J. Econ. Ent.*, 16(1): 29-32, 1979.
- BUSHLAND, R.C. & HOPKINS, D.E. Experiments with screwworm, flies sterilized by X-rays. *J. Econ. Ent.*, 44(5): 725-

731, 1951.

BUSHLAND, R.C. & HOPKINS, D.E. Sterelization of screw-worm flies with X-rays and gamma rays. *J. Econ. Ent.*, 46(4): 648-656, 1953.

COMINGS, D.E. Mechanisms of chromosomes banding and implications for chromosome structure. *Ann. Rev. Genet.* 12: 25-46, 1978.

COMINGS, D.E. & MATTOCCIA, E. DNA of mammalian and avian heterochromatin. *Exp. Cell Res.*, 71: 113-131, 1972.

COMINGS, D.E.; AVELINO, E.; OKADA, T.A. & WYANDT, H.E. The mechanism of C- and G-banding of chromosomes. *Exp. Cell Res.*, 77: 469-493, 1973.

COMINGS, D.E.; HARRIS, D.C.; OKADA, T.A. & HOLMQUIST, G. P. Nuclear proteins. IV. Non-histones proteins of *Drosophila virilis* heterochromatin and euchromatin. *Exp. Cell Res.*, 105: 349-365, 1977.

CONFERENCE PARIS 1971. Standardization in human cytogenetics. Birth Defects: Original Article Series, vol. 8, n° 7 (The National Foundation, New York 1972).

COPPEDGE, J.R.; AHRENS, E.; GOODENOUGH, J.L.; GUILLOT, F.S. & SNOW, J.W. Field comparisons of liver and a new chemical mixture as attractants for the screwworm fly. *Environ. Entomol.*, 6(1): 66-68, 1977.

COPPEDGE, J.R.; BROCE, J.W.; TANNAHILL, F.H.; GOODENOUGH,

- J.L.; SNOW, J.W. & CRYSTAL, M.M. Development of a bait system for suppression of adult screwworms. *J. Econ. Entomol.*, 71(3): 483-486, 1978.
- COPPEDGE, J.R.; BROCE, A.B.; GOODENOUGH, J.L.; CRYSTAL, M.M.; TANNAHILL, F.H. & SNOW, J.W. Preliminary evaluation of baits as a means of suppressing screwworm populations. (Abstr.) *Folia Entomol. Mex.*, 39-40: 139, 1979.
- COPPEDGE, J.R.; GOODENOUGH, J.L.; BROCE, A.B.; TANNAHILL, F.H.; SNOW, J.W.; CRYSTAL, N.M. & PETERSEN, H.D. Evaluation of the screwworm adult suppression system (SWASS) on the island of Curaçao. *J. Econ. Entomol.*, 71(4): 579-584, 1978.
- COQUEREL, C. Des larves de diptères développées dans les sinus frontaux et les fosses nasales de l'homme à Cayenne. *Archs. gen. Med.*, 5(11): 513-528, 1958a.
- COQUEREL, C. Note sur des larves appartenant à une espèce nouvelle de diptère, (*Lucilia hominivorax*) développée dans les sinus frontaux de l'homme à Cayenne. *Annls. Soc. Entomol. Fr.* 27: 171-176, 1858b.
- CORDEIRO, M.; WHEELER, L.; LEE, C.S.; KASTRITSIS, C.D. & RICHARDSON, R.H. Heterochromatin chromosomes and DNAs satellites of *Drosophila nasutoides*. *Chromosoma*, 51: 65-73, 1975.
- CRYSTAL, M.M. Observations on the role of light, temperature, age and sex in the response of screwworm flies to attractants. *J. Econ. Entomol.* 57(3): 324-325, 1964.

- CRYSTAL, M.M. Reproductive behavior of laboratory reared screwworm flies (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Ent.*, 4(4): 443-450, 1967.
- CRYSTAL, M.M. Diel periodicity of mating in laboratory adapted screwworm flies relative to photoperiod. *J. Med. Entomol.* 8(6): 747-748, 1971.
- CRYSTAL, M.M. Screw-worm flies (Diptera: Calliphoridae). Influence of sex ratio on primiparaous fertility of caged populations. *J. Med. Entomol.* 15(1): 85-86, 1978.
- CRYSTAL, M.M. & LACHANCE, L.E. The modification of reproduction in insects treated with alkylating agents. I. Inhibition of ovarian growth and egg production and hatchability. *Biol. Bull.*, 125(2): 270-279, 1963.
- CRYSTAL, M.M. & MEYNEERS, H.H. Influence of mating on oviposition by screw-worm flies (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomol.* 12(3): 214-216, 1965.
- CRYSTAL, M.M. & RAMIREZ, R. Screwworm flies for sterile - male release: Laboratory tests of the quality of candidate strains. *J. Med. Ent.*, 12(4): 418-422, 1975.
- CUSHING, E.C. & PATTON, W.S. Studies on the higher Diptera of medical and veterinary importance. *Cochliomyia americana*, sp. nov., the screwworm fly of the New World. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 27(4): 539-551, 1933.
- CUSHING, E.C. & HALL, D.G. Some morphological differences between the screwworm fly *Cochliomyia americana* C. and

- P. and other closely allied or similar species in North America (Diptera: Calliphoridae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.*, 39(7): 195-200, 1937.
- CUTHBERTSON, A. The habits and life histories of some Diptera in Southern Rhodesia. *Proc. Rhod. Sci. Assi.*, 32: 81-111, 1933.
- DAVIS, L.L., O'GRADY, J.J. Jr. & HIGHTOWER, B.G. A device providing continuous stimulus to oviposition for individual screwworm flies. *J. Econ. Entomol.* 65(4): 1214-1215, 1972.
- De la CHAPELLE, A.; SCHRÖDER, J. & SELANDER, R.K. Repetitious DNA in mammalian chromosomes. *Hereditas*, 69: 149-153, 1971.
- DE VANEY, J.A. & GARCIA, J.J. Longevity, oviposition, and fertility of several strains of the screwworm *Cochilomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomol.* 12(5): 511-513, 1975.
- DOBSHANSKY, T. *Genética do processo evolutivo*. São Paulo, Polígono S.A., 1970, p.453.
- DOLFINI, F. The distribution of repetitive DNA in the chromosomes of cultures cells of *Drosophila melanogaster*. *Chromosoma*, 44: 383-391, 1974.
- DRETS, M.E., & SHAW, M.W. Specific banding patterns of human chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 68: 2073-2077, 1971.

- DRETS, M.E. & STALL, M. C-banding and non-homologous associations in *Gryllus argentinus*. *Chromosoma*, 48: 367-390, 1974.
- FERREIRA, M.J.M. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba (Calliphoridae e Sarcophagidae). Tese de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 106 pp. 1975.
- FERREIRA, M.J.M. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba, Paraná. I. Calliphoridae. *Rev. Bras. Biol.* 38: 445-454, 1978.
- FLAMM, W.G. Highly repetitive sequences of DNA in chromosomes. *Int. Rev. Cytol.*, 32: 1-51, 1972.
- FLAMM, W.G.; WALKER, P.M.B. & MAC CALLUM, M. Some properties of the single-strands isolated from the DNA of the nuclear satellite of the mouse (*Mus musculus*). *J. mol. Biol.*, 40: 423-443, 1969.
- FLETCHER, L.W. Two genetic markers for larvae of the screwworm fly. *J. Econ. Entomol.*, 59(4): 877-880, 1966.
- FLETCHER, L.W. & TURNER, J.P. Selection for mating aggressiveness in females screwworms. *J. Econ. Entomol.*, 63(5): 1611-1612, 1970.
- FLETCHER, L.W. & TURNER, J.P. Response of female screwworm flies to a selected odor. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 66: 84-85, 1973.
- FLETCHER, L.W.; TURNER, J.P. & HUSMAN, C.N. Surface temperature as a factor in the selection of ovipositional

- sites by three strains of the screwworm. *J. Econ. Entomol.*, 66(2): 422-423, 1973.
- FLETCHER, L.W.; CLABORN, H.V.; TURNER, J.P. & LOPEZ, E. Difference in response of two strains of screwworm flies to the male pheromone. *J. Econ. Entomol.*, 61(5): 1386-1388, 1968.
- FLETCHER, L.W.; O'GRADY, J.J. Jr.; CLABORN, H.V. & GRAHAM, O.H. A pheromone from male screwworm flies. *J. Econ. Entomol.*, 59(1): 142-143, 1966.
- FRENSTER, J.H. Nuclear polyanions as de repressors of synthesis of ribonucleic acid. *Nature*, 206: 680-683, 1965.
- GAGNÉ, R.; TANGUAY, R. & LABERGE, C. Differential staining patterns of heterochromatin in man. *Nature New Biology*, 232: 29-30, 1971.
- GAGNÉ, R.J. *Chrysomya* spp., old world blow flies (Diptera: Calliphoridae), recently established in the Americas. *Bull. Entomol. Soc. Am.*, 27(1): 21-22, 1981.
- GALL, J.G.; COHEN, E.H. & POLAN, M.L. Repetitive DNA sequences in *Drosophila*. *Chromosoma*, 33: 319-344, 1971.
- GALL, J.G. & PARDUE, M.L. Nucleic acid hybridization in cytological preparations. In methods in enzymology, Academic Press, NY, 1971, 12.
- GAMPERL, R.; VISTORIN, G. & ROSENKRANS, W. A comparative analysis of the karyotypes of *Cricetus cricetus* and *Cri*

- cetulus griseus*. *Chromosoma*, 55: 259-265, 1976.
- GIBSON, M.S. & PHINNEY, D.E. Selection parameters influencing the growth and survival of *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) *NASA Tech. Memo. Lec. 4090*, 26 pp., 1974.
- GILMOUR, J.S.L. & HESLOP-HARRISON, J. The "deme" terminology. *Genetica*, 27: 147-161, 1954.
- GINGRICH, R.C.; GRAHAM, A.J. & HIGHTOWER, B.C. Media containing liquified nutrients for mass rearing larvae of the screwworm. *J. Econ. Ent.*, 64: 678-683, 1971.
- GRAHAM, A.J. & DUDLEY, F.H. Culture methods for mass rearing of screw-worm larvae. *J. Econ. Entomol.* 52(5):1006-1008, 1959.
- GRAHAM, O.H. & HOURRIGAN, J.L. Eradication programs for the arthropod parasites of livestock. *J. Med. Entomol.*, 13(6): 643-647, 1977.
- GREENBERG, B. *Flies and Disease: Ecology, classification and biotic associations*. Princeton, Princeton University Press, 1971, vol. 1, p. 856.
- GREENBERG, B. *Flies and Disease vol. II: Biology and disease transmission*. Princeton University Press, Princeton, 1973, 447p.
- GUILLOT, F.S.; COPPEDGE, J.R.; GOODENOUGH, J.L.; ADAMS, T. S. & AHRENS, E. Behavior and reproductive status of native female screwworms attracted to a host. *Ann. Ent.*

- Soc. Am.*, 70(4): 588-590, 1977.
- GUIMARÃES, J.H.; PRADO, A.P. & LINHARES, A.X. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Rev. Bras. Ent.*, 22: 53-60, 1978.
- GUIMARÃES, J.H.; PRADO, A.P. & BURALLI, G.M. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Rev. Bras. Ent.*, 23(4): 249-255, 1980.
- GUIMARÃES, J.H.; PRADO, A.P. & PAPAVERO, N.
- HALL, D.G. Tribe Chrysomyini. In: *The blowflies of North America*. Baltimore, Thomas Say Foundation, 1948, vol. 4 p. 477.
- HEITZ, E. Das heterochromatin der Moose. *Jahrb. wiss. Bot.*, 69: 762-818, 1928.
- HEITZ, E. Die somatische Heteropyknose bei *Drosophila melanogaster* und ihre genetische Bedeutung. *Z. Zellforsch.*, 20: 237-287, 1933.
- HENNING, W. Molecular hybridization of DNA and RNA *in situ*. *Int. Rev. Cytol.*, 36: 1-44, 1973.
- HIGHTOWER, B.G. Nocturnal resting place of the screwworm fly. *J. Econ. Ent.*, 56(4): 498-500, 1963.

- HIGHTOWER, B.G. Population dynamics of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) with respect to control by the sterile-male technique. In: International agency of Atomic Energy, Vienna. "Insect ecology and the sterile male technique". 1969. p. 25-31.
- HIGHTOWER, B.G. & ALLEY, D.A. Local distribution of released laboratory reared screwworm flies in relation to water resources. *J. Econ. Ent.*, 56(6): 799-802, 1963.
- HIGHTOWER, B.G.; ADAMS, A.L. & ALLEY, D.A. Dispersal of released irradiated laboratory-reared screwworm flies. *J. Econ. Ent.*, 58(2): 373-374, 1965.
- HIGHTOWER, B.G., O'GRADY, J.J. Jr. & GARCIA, J.J. Ovipositional behavior of wild-type and laboratory - adapted strains of screwworm flies. *Envir. Entomol.* 1(2): 227-229, 1972.
- HINTON, T. A comparative study of certain heterochromatic region in mitotic and salivary gland chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, 27: 119-127, 1942.
- HOLT, G.G., ADAMS, T.S. & SUNDET, W. Attraction and ovipositional response of screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to stimulated bovine wounds. *J. Med. Entomol.* 16(3): 248-253, 1979.
- HSU, T.C. Heterochromatin pattern in metaphase chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Journal Heredity*, 62: 285-287, 1971.

- HSU, T.C. Longitudinal differentiation of chromosomes.
Ann. Rev. Genet., 7: 153-176, 1973.
- HSU, T.C. & ARRIGHI, F.E. Distribution of constitutive heterochromatin in mammalian chromosomes. *Chromosoma*, 34: 243-253, 1971.
- HUSMAN, C.N. & BAUMHOVER, A.N. Mechanical devices for dispersal of sterilized screwworm flies from aircraft.
Bull. Ent. Soc. Am., 3(3): 35, 1957.
- HUSMAN, C.N. & BAUMHOVER, A.H. Mechanical devices for dispersal of sterilized screwworm flies from aircraft.
Proc. 55a A. Conv. Ass. S. Agric. Wrkrs. (Little Rock): 114, 1958.
- HUTCHISON, N. & PARDUE, M.L. The mitotic chromosomes of *Notophthalmus (=Triturus) viridescens*: localization of C-banding regions and DNA sequences complementary to 18S, 28S and 5S ribosomal RNA. *Chromosoma*, 53: 51-69, 1975.
- IMBIRIBA, A.S.; IZUTAMI, D.T.; MILHORETTO, I.T. & LUZ, E. Introdução de *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na Região Neotropical. *Arq. Biol. Tecnol.*, 20(1-2): 35-39, 1977.
- JACKSON, R.C. The karyotype in systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2: 327-368, 1971.
- JALAL, S.M.; CLARK, R.W.; HSU, T.C. & PATHAK, S. Cytological differentiation of constitutive heterochromatin.

- Chromosoma*, 48: 391-403, 1974.
- JAMES, M.T. "The flies that cause myiasis in man". *Misc. Pub. U.S. Dept. Agr.*, 631: 1-175, 1947.
- JAMES, M.T. *Family Calliphoridae*. In: *A Catalogue of the Diptera of the Americas South of the United States* São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. Fasc. 102, 28p., 1970.
- JIRÓN, L.F. Sobre moscas califoridas de Costa Rica (Diptera: Cyclorrhapha). *Brenesia*, 9: 221-223, 1979.
- JOHN, B. & KING, M. Heterochromatin variation in *Cryptobothrus chrysophorus* II. Patterns of C-banding. *Chromosoma*, 65: 59-79, 1977.
- JOHN, B. & MIKLOS, G.L.G. Functional aspects of satellite DNA and heterochromatin. *Int. Rev. Cytol.*, 58: 1-114, 1979.
- JONES, C.M.; SNOW, J.W. & VILLASEÑOR, M.A. Screwworm flies: seasonal occurrence in central Tamaulipas, México, 1973-1974. *J. Econ. Entomol.*, 69(6): 761-762, 1976.
- JONES, C.M.; OEHLER, D.D.; SNOW, J.W. & GRABBE, R.R. A chemical attractant from screwworm flies. *J. Econ. Entomol.*, 69(3): 389-391, 1976.
- JONES, K.W. & ROBERTSON, F.W. Localization of reiterated nucleotide sequences in *Drosophila* and mouse by *in situ* hibridization of complementary RNA. *Chromosoma*, 31:

331-345, 1970.

- KATO, H. & MORIWAKI, K. Factors involved in the production of banded structures in mammalian chromosomes. *Chromosoma*, 38: 105-120, 1972.
- KAUL, D.; CHATURVEDI, R.; GAUR, P. & TEWARI, R.R. Cytogenetics of the genus *Parasarcophaga* (Sarcophagidae: Diptera). *Chromosoma*, 68: 73-82, 1978.
- KAUFMAN, G. & WASSERMAN, M. Effects of irradiation on the screwworm, *Callitroga hominivorax* (Coq.). *Univ. Texas Publ.*, 5721: 246-259, 1957.
- KEUNEKE, W. Über die Spermatogenese einiger Dipteren. *Z. Zellenlehre*, 1: 357-412, 1924.
- KEYL, H.G. Untersuchungen am Karyotypus von *Chironomus thummi*. I. Karte der Speicheldrüsen - Chromosomen von *Chironomus thummi thummi* und die cytologische Differenzierung der Subspezies *Ch. th. thummi* und *C. th. piger*. *Chromosoma*, 8: 739-756, 1957.
- KING, M. C-banding studies on Australian hylid frogs: secondary constriction structure and the concept of euchromatin transformation. *Chromosoma*, 80: 191-217, 1980.
- KING, M., & JOHN, B. Regularities and restrictions governing C-band variation in acridoid grasshoppers. *Chromosoma*, 76: 123-150, 1980.
- KNIPLING, E.F. & TRAVIS, B.V. Relative importance and

- seasonal activity of *Cochliomyia americana* C.S.P. J.
Econ. Ent., 30: 727-735, 1937.
- KURAHASHI, H. Studies on the Calypterate muscoid flies from Japans. VI Revision of the tribes Bergaliini and Polleniini of the subfamily Calliphorinae and subfamilies Chrysomyiinae and Rhiniinae (Diptera, Calliphoridae). *Sci. Rep. Kanazawa Univ.* 12(2): 255-302, 1967.
- KURAHASHI, H. The oriental fly, *Chrysomya megacephala* (Fab.) newly recorded from Ghana and Senegal, West Africa. *Kontyû*, 46: 432, 1978.
- LAAKE, E.W. Myiasis in domestic animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 95(748): 47-49, 1939.
- LAAKE, E.W., CUSHING, E.C. & PARISH, E.H. Biology of the primary screwworm fly, *Cochliomyia americana*, and a comparison of its stages with those of *C. macellaria*. *U. S. Dep. Agric. Bull.*, 500: 1-24, 1936.
- LACHANCE, L.E. & BRUNS, S.B. Oogenesis and radiosensitivity in *Cochliomyia hominivorax* (Diptera Calliphoridae). *Biol. Bull.*, 124(1): 65-83, 1963.
- LACHANCE, L.E. & LEVERICH, A.P. Radiosensitivity of developing reproductive cells in female *Cochliomyia hominivorax*. *Genetica*, 47: 721-735, 1962.
- LACHANCE, L.E., RIEMANN & HOPKINS, D.E. A reciprocal translocation in *Cochliomyia hominivorax* (Diptera Calliphoridae). Genetic and cytological evidence for preferen

- tial segregation in males. *Genetics*, 49: 959-972, 1964.
- LACHANCE, L.E. & LEVERICH, A.P. Cytology of oögenesis in chemosterilized screwworm flies, *Cochliomyia hominivorax*, as related to endomitosis in nurse cells. *Annals of Entomological Society of America*, 61(5): 1188-1197, 1968.
- LEE, J.C. & YUNIS, J.J. Constitutive heterochromatin during early embryogenesis of *Microtus agrestis*. *Exp. Cell. Res.* 5: 339-341, 1970.
- LEE, J.C. & YUNIS, J.J. A developmental study of constitutive heterochromatin in *Microtus agrestis*. *Chromosoma*, 35: 117-124, 1971.
- LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG, A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52:201-220, 1964.
- LINHARES, A.X. Sinantropia de dípteros muscóides de Campinas. Campinas, 1979. 129p. Tese de Mestrado. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- LYON, M.F. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus L.*). *Nature*, 190: 372-373, 1961.
- LYON, M.F. Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome. *Amer. J. human Genet.*, 14: 135-148, 1962.
- LYON, M.F. Gene and chromosome inactivation. *Genetics*, 78: 305-309, 1974.

- MACE, M.L. Jr., TEVETHIA, S.S. & BRINKLEY, B.R. Differential immunofluorescent labeling of chromosomes with antisera specific for single stranded DNA. *Exp. Cell. Res.* 75: 521-523, 1972.
- MACKENZIE, W.H. & LUBS, H.A. An analysis of the technical variables in the production of C. bands. *Chromosoma*, 41: 175-182, 1973.
- MACKLEY, J.M. & BROCE, A.B. Evidence of a female sex recognition pheromone in the screwworm fly. *Envir. Entomol.*, 10(3): 406-408, 1981.
- MARCHI, A., MEZZANOTE, R. & FERRUCCI, L. Characterization of the metaphase chromosomes in *Anopheles stephensi* (Liston, 1901) by Q-, G- and C- banding. *Cytologia*, 45:549-553, 1980.
- MACDONALD, J.C. A technique for revealing hidden heterozygosity on autosome 3 of the housefly. *J. Hered.*, 62: 45-47, 1971.
- MELANDER, Y. Chromatid tension and fragmentation during the development of *Calliphora erythrocephala* Meig. (Diptera). *Hereditas*, 49: 91-106, 1963.
- MELLO, M.L.S. Heterocromatina. *Ciência e Cultura*, 30(3): 290-303, 1978.
- MELVIN, R. & BUSHLAND, R.C. Effect of acidity, alkalinity and moisture content of the soil on emergence of *Cochliomyia americana* C and P. *J. Econ. Ent.*, 31: 611 - 613, 1938.

- MELVIN, R. & BUSHLAND, R.C. A method of rearing *Cochlio*
myia americana C. & P. on artificial media. *U.S. Bur.*
Entomol. Plant, Quarant. *ET 88*, 2pp., 1936.
- MELVIN, R. & BUSHLAND, R.C. The nutritional requirements
of screwworm larvae. *J. Econ. Entomol.* *36(6)*: 850-852 ,
1940.
- METZ, C.W. Chromosome studies on the Diptera II. The
paired association of chromosomes in the Diptera, and
its significance. *J. exp. Zool.*, *21*: 213-262, 1916.
- METZ, C.W. Chromosome behavior, inheritance and sex de-
termination in *Sciara*. *Amer. Naturalist* *72*: 485 -520,
1938.
- MIHÁLYI, F. Separating the rural and urban synanthropic
fly faunas. *Acta Zool. Hung.*, *13*: 379-383, 1967.
- MILANI, R. The genetics of *Musca domestica* and other mus-
coid flies. In: Wright J.W. & Pal, R. "*Genetics of in-*
sect vectors of disease", 1967a. pp. 315-369.
- MILANI, R.; RUBINI, P.G. & FRANCO, M.G. Sex determination
in the housefly. *Genet. Agrar.*, *21*: 385-411, 1967 .
- MÜLLER, H.J.; RAFFEL, D.; GERSHENSON, S.M. & PROKOPJEVABEL
GOVSKAYA, A.A. A further analysis of loci in the so-
called "inter region" of the X chromosome of *Drosophila*.
Genetics., *22*: 87-93, 1937.
- NAVILLE, A. Les bases cytologiques de la théorie du "cros

- sing-over": Étude sur la spermatogénèse et l'ovogénèse des Calliphorinae. *Z. Zellforsch.*, 16: 440-470, 1932.
- NELSON, D.R., ADAMS, T.S. & POMONIS, J.G. Initial studies on the extraction of the active substance inducing monocoitic behavior in *Musca domestica* *Phormia regina* and *Cochliomyia hominivorax*. *J. Econ. Ent.*, 62: 634-639, 1969.
- NORRIS, K.R. The bionomics of blowflies *A Rev. Ent.* 10: 47-68, 1965.
- NOVY, J.E. Operation of a screwworms eradication program. In: Richardson, R.H. ed. *The screwworm problem evolution of resistance to biological control*. University of Texas Press Austin, 1978, p.19-36.
- NUORTEVA, P. & SKARÉN, V. Studies on the significance of flies in the transmission of poliomyelites. V: Observations on the attraction of blowflies to the carcasses of micromammals in the comummune of Kuhmo, east Finland. *Ann. Ent. Fenn.* 26: 221-226, 1960.
- OLIVEIRA, de C.M.B. Biologia, flutuação populacional e patologia da *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae). Rio de Janeiro, 1980. 87p. Tese de Doutorado. Universidade Rural do Rio de Janeiro.
- PARDUE, M.L. & GALL, J.G. Chromosomal localization of mouse satellite DNA. *Science* 168: 1356-1358, 1970.

- PARISH, H.E. · Fight tests on screwworm flies. *J. Econ. Ent.*, 30(5): 740-743, 1937.
- PARISH, H.E. & CUSHING, E.C. Location for blowflies traps: Abundance and activity of blowflies and other flies Me-nard County, Texas. *J. Econ. Ent.*, 31(6): 750-763, 1938.
- PARMAN, D.C. Effect of weather on *Cochliomyia americana* and a review of methods and economic application of the study. *J. Econ. Ent.*, 38(1): 66-76, 1945.
- PAVAN, C. Two types of heterochromatin in *Drosophila nebulosa*. *Genetics*, 32: 137-145, 1946.
- PAVAN, C. & da CUNHA, A.B. Chromosomal activities in normal and infected cells of Sciaridae. In: Sharma, A.K. & Sharma, A. Proceedings of the International Seminar on the chromosome its structure and function. Calcutta, supplementary volume, pp. 183-196, *The Nucleos*.
- PAVAN, C. & PERONDINI, A.L.P. Heterozygous puffs and bands in *Sciara ocellaris* Comstock 1882. *Exp. Cell. Res.*, 48: 202-205, 1967.
- PERONDINI, A.L.P. Fisiologia dos cromossomos politênicos de *Bradysia tritici* (Coquillet, 1895). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1968.
- PIMPINELLI, S.; SANTINI, G. & GATTI, M. Characterization of *Drosophila* heterochromatin II. C- and N-banding. *Chromosoma*, 57: 377-386, 1976.

- PRINS, A.J. Discovery of the Oriental Latrine fly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius) along the Southwestern coast of South Africa. *Ann. South African Mus.*, 78(5): 39-47, 1979.
- RAE, P.M. Chromosomal distribution of rapidly reannealing DNA in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 67: 1018-1025, 1970.
- RICHARDSON, R.H.; ELIISON, J.R. & AVERHOFF, W.W. Genetic differences among screwworm populations. *Univ. Texas Public.*, 58-7B30-9-120: 1-24, 1980.
- RICHARDSON, R.H.; ELLISON, J.R. & AVERHOFF, W.W. Autocidal control of screwworms in North America. *Science*, 215: 361-370, 1982.
- ROCHA, U.F. & VAZ, Z. Miãase e perfuração do rumen de bezerro por larvas de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858). Significação econômica. *Revta. Fac. Med. Vet. Univ. S. Paulo*, 4(2): 281-286, 1950.
- ROY, D.N. & SIDONS, L.B. On the life history and bionomics of *Chrysomya rufifacies* Macq. (Order Diptera, Family Calliphoridae). *Parasitology*, 31: 442-447, 1939.
- RUBINI, P.G. Ulteriori osservazioni sui determinanti sessuali di *Musca domestica* L. *Genet. Agrar.*, 21: 363-384, 1967.
- RUBINI, P.G. & FRANCO, M.G. Localizzazione genetics del fattore autosomico di mascolinita M in *Musca domestica*

L. *Boll. Zool.*, 36: 414, 1969.

SCHMIDT, E.R. Two AT-rich satellite DNAs in the chironomid *Glyptotendipes barbipes* (Staeger). Isolation and localization in polytene chromosomes of *G. barbipes* and *Chironomus thummi*. *Chromosoma*, 79: 315-328, 1980.

SCHMIDT, E.R.; VISTORIN, G.; KEYL, H.G. An AT-rich DNA component in the genomes of *Ch. th. thummi* and *Ch. th. piger*. *Chromosoma*, 76: 35-45, 1980.

SCHMIDT, M. Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma*, 66: 361-388, 1978.

SCHNEDL, W. Analysis of the human karyotype using a reassociation technique. *Chromosoma*, 34: 448-454, 1971.

SCHNEDL, W. & CZAKER, R. Centromeric heterochromatin and comparison of G-banding in cattle goat and sheep chromosomes (Bovidae). *Cytogenet. Cell. Genet.* 13: 246-255, 1974.

SIEGER, M.; GARWEG, G. & SCHWARZACHER, H.G. Constitutive heterochromatin in *Microtus agrestis*: binding of actinomycin-D and transcriptional inactivity. *Chromosoma*, 35: 84-98, 1971.

SIEGER, M.; PERA, F. & SCHWARZACHER, H.G. Genetic inactivity of heterochromatin and heteropycnosis in *Microtus agrestis*. *Chromosoma*, 29: 349-364, 1970.

SMIT, B. A study of the sheep blow-flies of South Africa.

- Onderst. Jour. Vet. and Anim. Indust.*, 17: 299-421 ,
1931.
- SNOW, J.W. & COPPEDGE, J.R. The screwworm *Cochliomyia ho-
minivorax* (Diptera: Calliphoridae) reinfests the islands
of Curaçao, Netherlands Antilles. *J. Med. Entomol.*, 14:
(5): 592-593, 1978.
- SNOW, J.W.; SIEBENALER, A.J. & NEWELL, F.G. Annotated bi-
bliography of the screwworm *Cochliomyia hominivorax* (Co-
querel). *U.S. Dep. Agric. Sci. Educ. Adm.*, 1-32, 1980.
- SPATES, G.E. & HIGHTOWER, B.G. Variation in the size and
reproductive capacity of wild-type and laboratory adap-
ted populations of the screwworm fly. *J. Econ. Entomol.*
63(5): 1381-1385, 1970.
- SPIETH, H.T. Evolutionary implications of sexual behavior
in *Drosophila*. *Entomol. Bull.* 2: 157-193, 1968.
- STEBBINS, G.L. *Variation and Evolution in Plants*. New
York, Columbia Univ., 1950, p. 643.
- STEFOS, K. & ARRIGHI, F.E. Heterochromatin nature of W
chromosomes in birds. *Exp. Cell. Res.*, 68: 228 -231,
1971.
- STEVENS, N.M. A study of the germ cells of certain Dipte-
ra, with reference to the heterochromosomes and the phe-
nomena of synapsis. *J. exp. Zool.*, 5: 359-374, 1908.
- 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.). *J. Zool.* 52: 981, 1974.
- STRASBURGER, E.H. Über den Formwechsel des Chromatins in der Entwicklung der fliege *Calliphora erythrocephala* Meigen. *Z. Zellforsch.*, 17: 83-117, 1933.
- SUMMER, A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell. Res.*, 75: 304- 306 , 1972.
- TANNAHILL, F.H.; COPPEDGE, J.R. & SNOW, J.W. Screwworm (Diptera: Calliphoridae) myiasis on Curaçao: reinvasion after 20 years. *J. Med. Entomol.*, 17(3): 265-267, 1980.
- ULLERICH, F.H. Monogene Fortpflanzung bei der Fliege *Chrysomya albiceps*. *Z. Naturforsch* 13b: 473-474, 1958.
- ULLERICH, F.H. Geschlechtschromosomen und Geschlechtsbestimmung bei einigen Calliphorinen (Calliphoridae, Diptera). *Chromosoma*, 14: 45-110, 1963.
- ULLERICH, F.H. Sex-linkage and sex determination in a monogenic blowfly. *Naturw.*, 58: 626, 1971.
- ULLERICH, F.H. Die genetische Grundlage der Monogenic bei der Schmeißfliege *Chrysomya rufifacies* (Calliphoridae, Diptera). *Molec. gen. Gent.*, 125: 157-172, 1973.
- ULLERICH, F.H. Identifizierung der genetischen Geschlechtschromosomen bei der monogenen Schmeißfliege *Chryso-*

- mya rufifacies* (Calliphoridae, Diptera). *Chromosoma*, 50: 393-419, 1975.
- ULLERICH, F.H. Chromosomenverhältnisse, konstitutives Heterochromatin und Geschlechtsbestimmung bei einigen Arten der Gattung *Chrysomyia* (Calliphoridae, Diptera). *Chromosoma*, 58: 113-136, 1976.
- VAZ, Z. *Cochliomyia hominivorax* agente causal das miíases em animais domésticos do Brasil. *Rev. Biol. Hyg.*, 6(1): 13-18, 1935.
- VAZ, Z. & CARVALHO, G.T. Sobre um tipo interessante de miíase dos bezerros e seu agente causal. *Revta. Med. Vet. Univ. S. Paulo*, 1(1): 43-48, 1938.
- WAGONER, D.E. Linkage group-karyotype correlation in the housefly determined by cytological analysis of X-ray induced translocations. *Genetics*, 57: 729-739, 1967.
- WAGONER, D.E. Presence of male determining factors found in three autosomes in the housefly *Musca domestica*. *Nature*, 223(5202): 187-188, 1969.
- WHITE, M.J.D. "Animal cytology and evolution". 3a. ed. London, Cambridge University Press, 1977, p. 961.
- WEBB, C.G. Chromosome organization in the Australian plague locust *Chortoicetes terminifera*. I. Banding relationship of the normal and supernumerary chromosomes. *Chromosoma*, 55: 229-246, 1976.

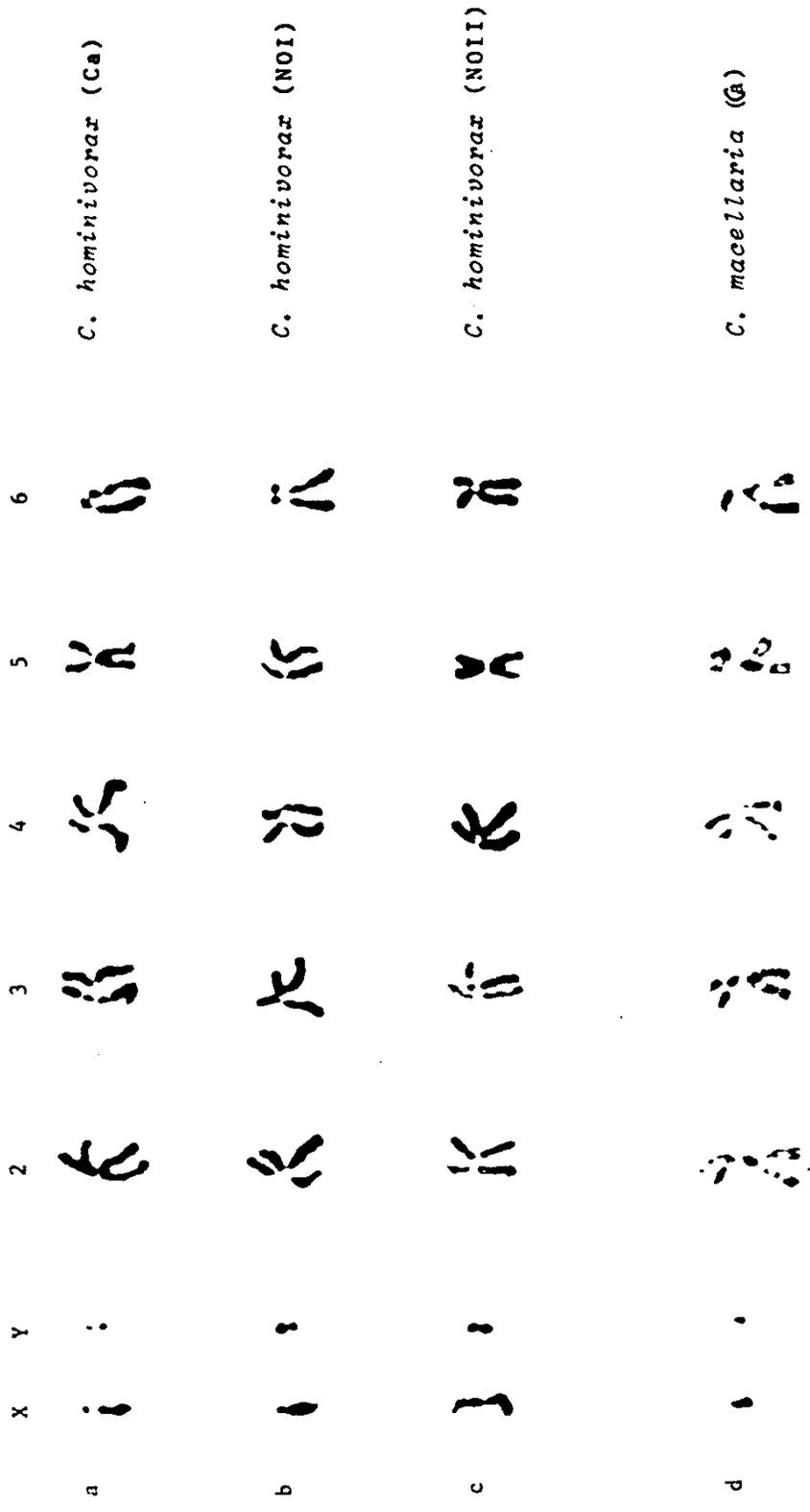
- YASMINEH, W.G. & YUNIS, J.J. Satellite DNA in mouse au
tosomal heterochromatin. *Biochem. biophys. Res. Comm.*,
35: 779-782, 1969.
- YASMINEH, W.G. & YUNIS, J.J. Localization of mouse satelli
te DNA in constitutive heterochromatin. *Exp. Cell. Res.*,
5: 69-75, 1970.
- YASMINEH, W.G. & YUNIS, J.J. Repetitive DNA of *Microtus*
agrestis. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 43: 580-587,
1971.
- YUNIS, J.J. ROLDAN, L., YASMINEH, W.G. & LEE, J.C. *Staining*
of satellite DNA in metaphase chromosomes. *Nature*
new Biol., 231: 533-535, 1971.
- ZUMPT, F. *Myiasis in man and animals in the Old World*. London
don, Butterworths, 1965, 267 p.
- ZUMPT, F. Notes on Diptera (Sarcophagidae; Calliphoninae)
from the Ethiopian geographical region. *Z. Angew. Zool.*
59(4): 439-445, 1972.

X. ILUSTRAÇÕES E TABELAS



Figura 1 - Cariótipos do complemento somático de machos de: a) *Chrysomya chloropyga*, b) *Chrysomya megacephala* e c) *Chrysomya albiceps*.

*O pequeno par I de *C. albiceps* corresponde em comprimento ao par sexual de *C. chloropyga* e *C. megacephala* analisadas.



10 μm

Figura 2 - Cariótipos do complemento somático de machos das linhagens de *Cochliomyia hominivorax* de: a) Caraguatatuba (Ca); b) Nova Odessa tipo I (NOI); c) Nova Odessa tipo II (NOII) e de *Cochliomyia macellaria*: d) Caraguatatuba (Ca).

FIGURAS 3 - 12 - *Chrysomya chloropyga*. Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas corados com orceína lacto-acética da linhagem de Campinas. (3, 6, 7) Prometáfases de machos. (5 e 8) de fêmeas. (9) Metáfase de machos. O X não aparece na foto. (10, 11 e 12) metáfase de fêmeas. Cromossomo Y bem condensado na prometáfase (Figuras 3, 6 e 7). Os autossomos estão representados por algarismos romanos de II a VI e os sexuais por X e Y. CS representa a constrição secundária (4 e 5) e S o satélite (6 e 7). A escala, 10 μ m, é válida para todas as Figuras.

FIGURA 97 - Idiogramas representativos dos cariótipos das linhagens de *Cochliomyia macellaria* analisadas por BOYES (1961) e BOYES & SHEWELL (1975).

As constrições secundárias observadas estão indicadas por duas linhas paralelas e transversais no (s) braço (s) do (s) cromossomo (s) em que ocorrem. O estrangulamento coincidindo com o ponto de origem do eixo da abscissa representa a posição do centrômero.

Cochliomyia macellaria

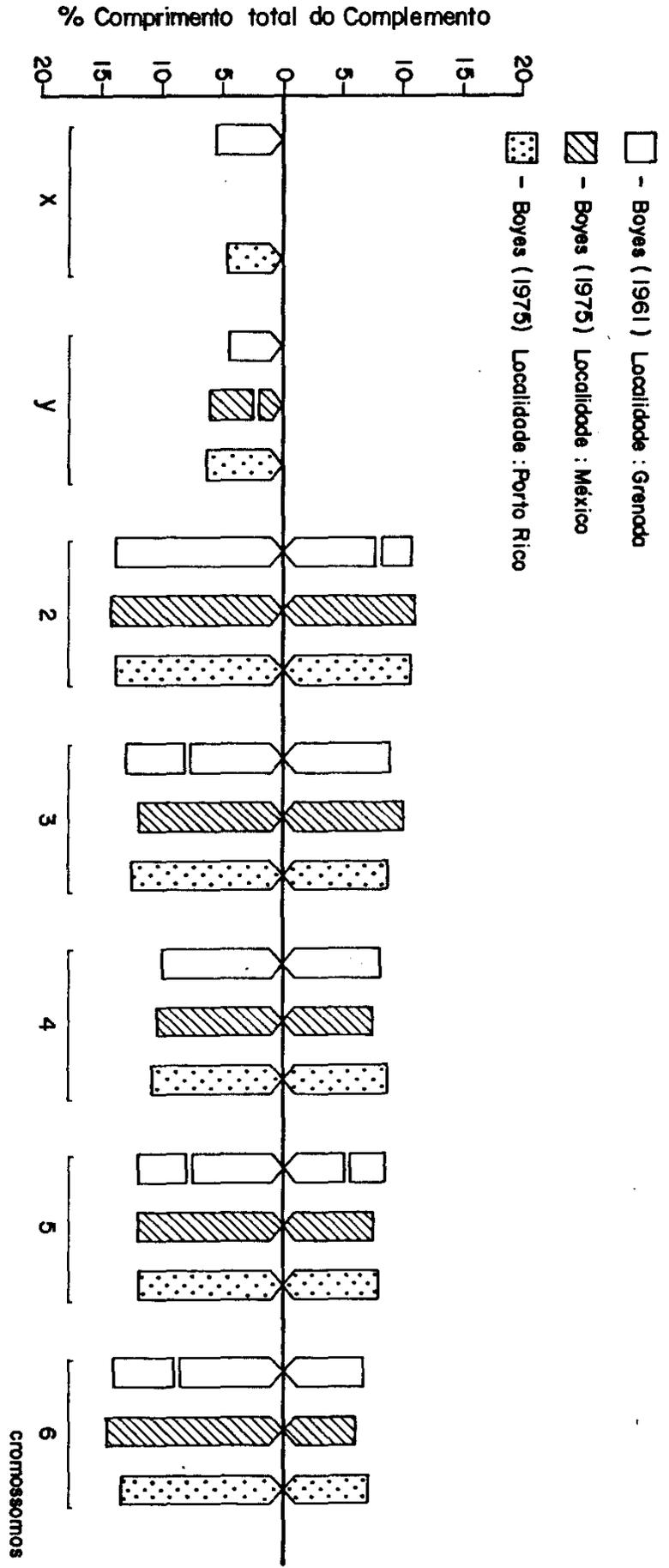
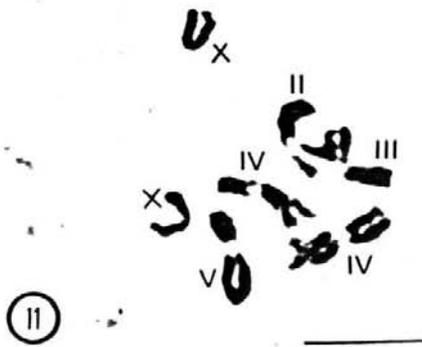
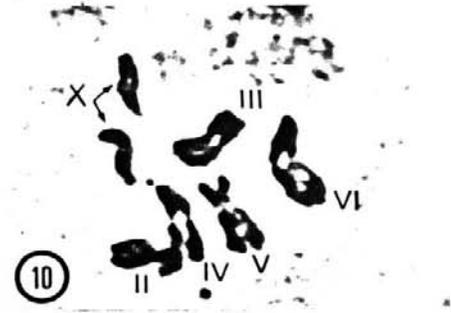
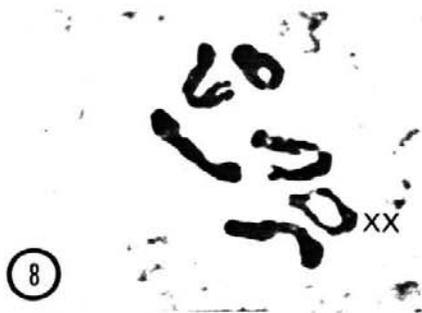
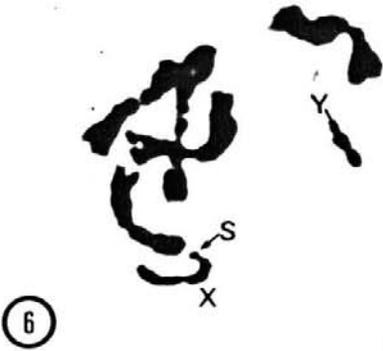
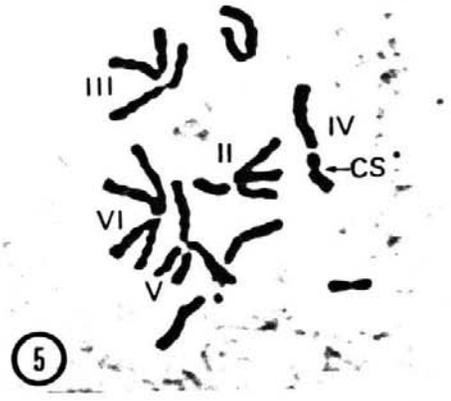
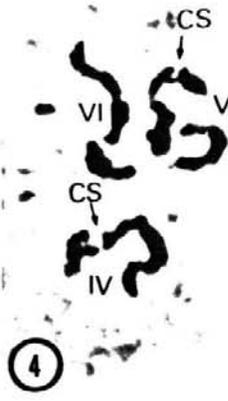


TABELA 11 - Análise de Variância a dois níveis.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F
Total	7,6769	209	0,367	
Grupos	6,6654	20	0,3333	
Cromossomos	5,8906	6	0,9818	183,43***
Linhagens	0,5353	2	0,2677	50,02***
Cromossomos X Linhagens	0,2394	12	0,0200	3,74***
Resíduo	1,0116	189	0,0054	

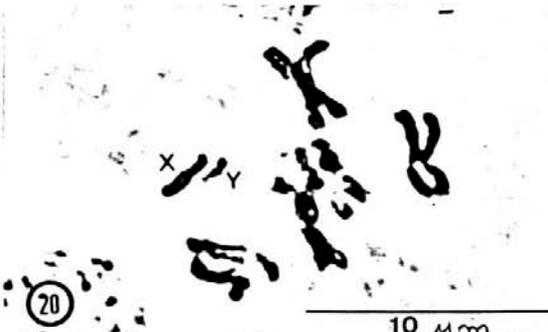
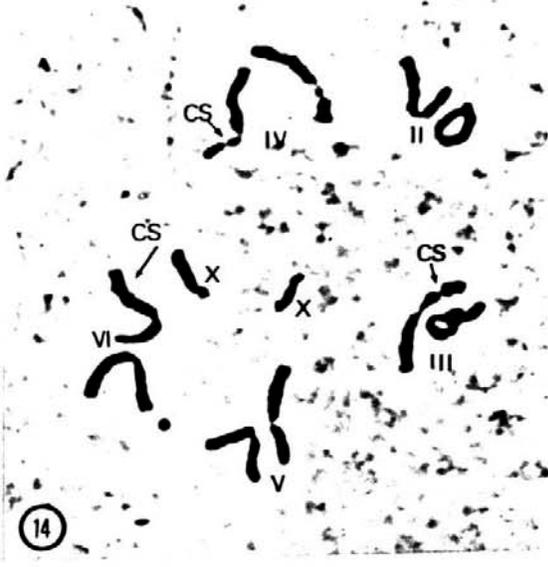
F _{críticos} (5%)	Cromossomos	$F_{0,05; 6,189} = 2,15$
	Linhagens	$F_{0,05; 2,189} = 3,05$
	Interação (Cromossomos X Linhagens)	$F_{0,05; 12,189} = 1,81$

FIGURA 98 - Diagrama de barras do comprimento médio dos pares de cromossomos (expressos em μm), correspondentes as linhagens Ca, NOI e NOII de *Cochliomyia hominivorax*.

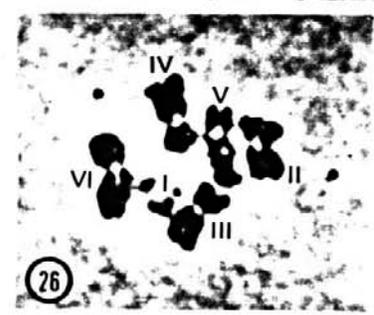
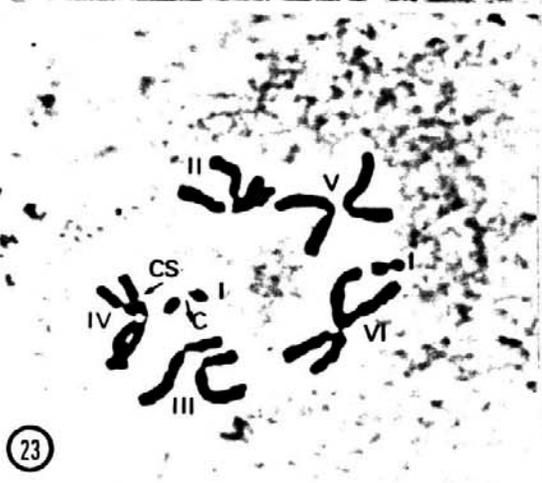
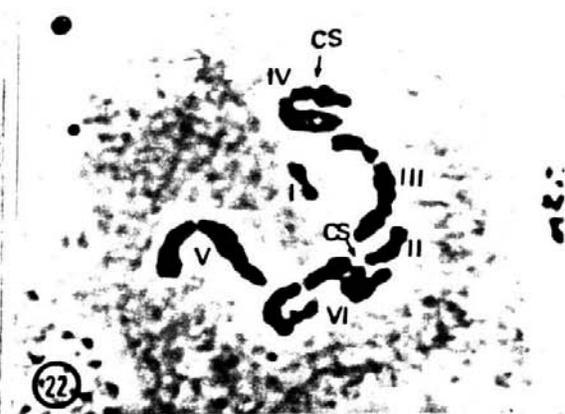


10 μ m

FIGURAS 13-20 - *Chrysomya megacephala*. Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas corados com orceína lacto-acética da linhagem de Campinas. (13 e 14) Prometáfases de fêmeas. (15-18) Metáfases de fêmeas, (19 e 20) de machos. Na Figura 20 a região do centrômero do Y está localizada na metade inferior do cromossomo. Os autossomos estão representados por algarismos romanos de II a VI (13, 14, 17 e 18) e os sexuais por X e Y. CS representa a constrição secundária (13 e 14) e C a localização do centrômero (18). A escala, 10 μ m, é válida para todas as Figuras.

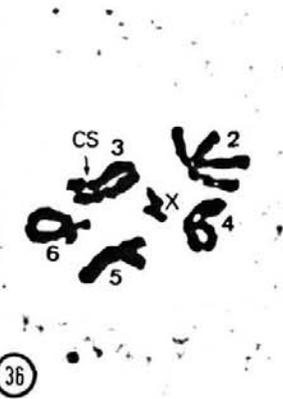


FIGURAS 21-29 - *Chrysomya albiceps albiceps*. Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas corados com orceína lacto-acética da linhagem de Caraguatatuba. (21, 23 e 29) Prometáfases de fêmeas. (22 e 24) de machos. (25, 26) Metáfases de fêmeas, (27 e 28) de machos. Os cromossomos foram representados por algarismos romanos de I a VI (21, 22, 23, 25 e 29). As Figuras 23 e 24 mostram que o cariótipo de ambos os sexos são iguais morfologicamente. Nesta espécie não sabemos quais são os cromossomos sexuais (vide detalhes no texto). A escala 10 μ m é válida para todas as Figuras.



10 μ m

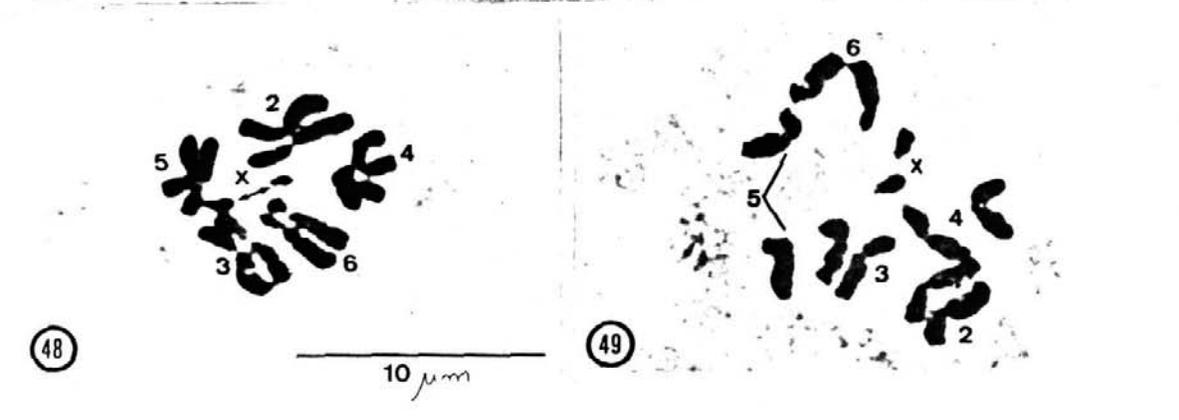
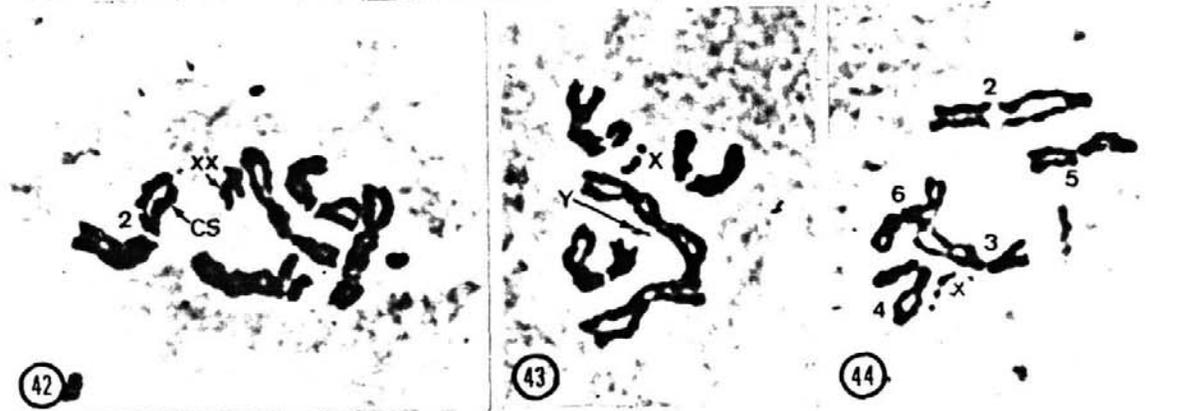
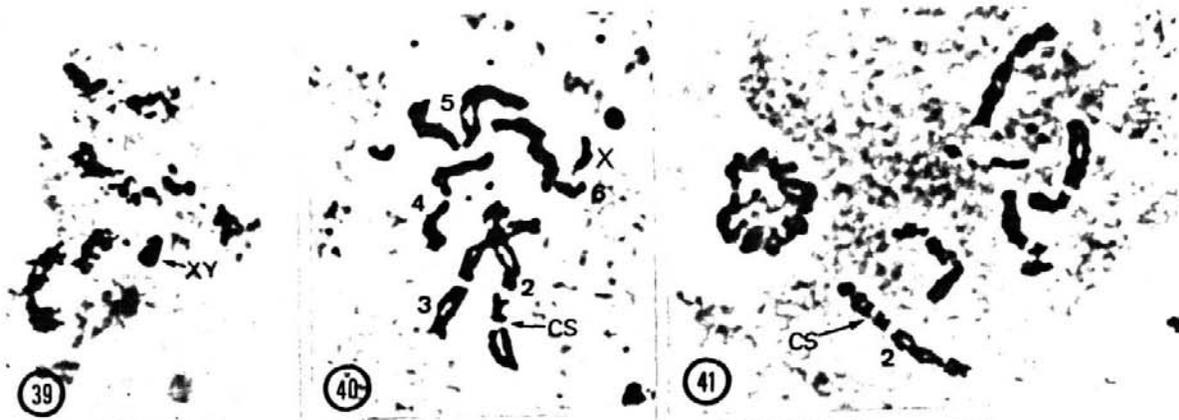
FIGURAS 30-38 - *Cochliomyia hominivorax* (Ca). Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas corados com orceína lacto-acética da linhagem de Caraguatatuba. (30) Prófase em que se observa os cromossomos X e Y condensados. (31, 33 e 35) Prometáfases de fêmeas, (32, 34) de machos. (36, 37) Metáfases de fêmeas, (38) de macho. Nas Figuras 31, 33, 35 e 36 a seta indica a localização da constrição secundária (CS) no autossomo 3 característico dessa linhagem. A escala 10 μ m é válida para todas as Figuras, com exceção da nº 38 (5 μ m).



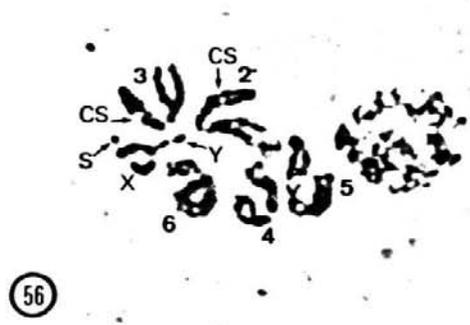
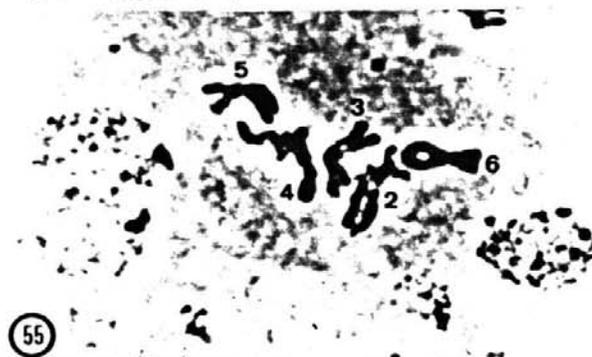
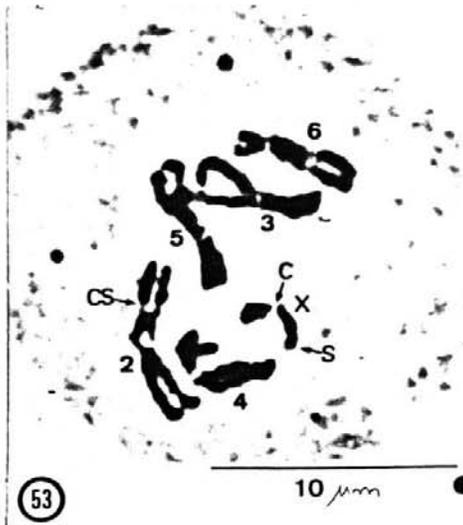
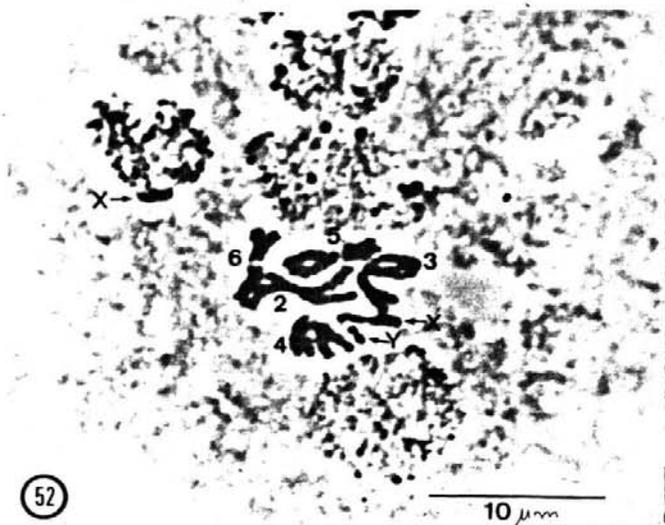
10 μ m

5 μ m

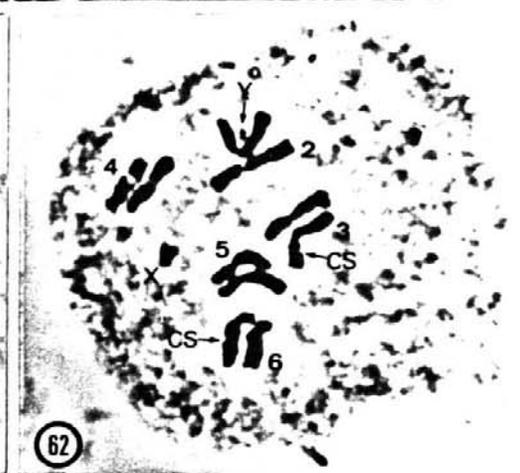
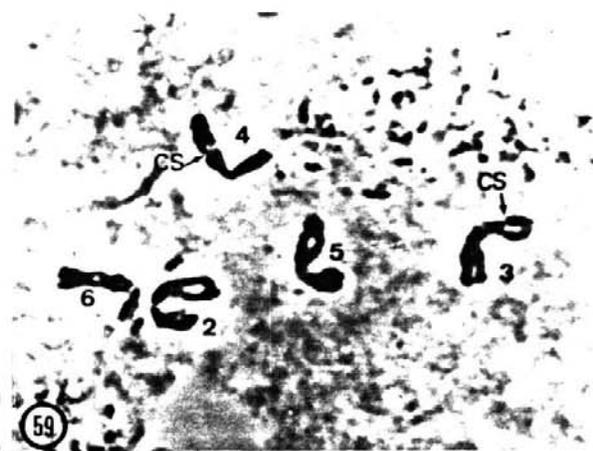
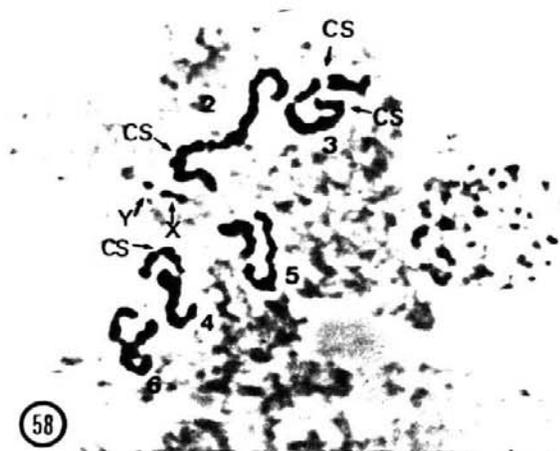
FIGURAS 39-49 - *Cochliomyia hominivorax* (NOI). Cromossomos mi
tóticos de gânglios nervosos de larvas corados
com orceína lácto-acética, da linhagem de Nova
Odessa, tipo I. (39) Prófase tardia em que se
observa os cromossomos sexuais (X e Y) condensa
dos. (40, 42 e 44) Prometáfases de fêmeas,
(43 e 45) de machos. (46, 47, 48 e 49) Metáfa
ses de fêmeas. Nas Figuras 40, 41, 42 e 45 a
seta indica a localização da constricção secundá
ria (CS) no autossomo 2, característica dessa
linhagem. A escala 10 μ m é válida para todas as
Figuras.



FIGURAS 50-70 - *C. hominivorax* (NOII). Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas coradas comorceína lacto-acética da linhagem de Nova Odessa tipo II. (50, 51, 54, 56) Prometáfases de machos, (53, 57) de fêmeas. (52) Metáfase de macho, (55) de fêmea. Na Figura 52 observa-se a condensação precoce do cromossomo X durante a prófase (seta na região superior esquerda da Figura). CS representa constrição secundária, S o satélite e C a localização do centrômero. A escala 10 μ m é válida para todas as Figuras.



FIGURAS 58-65 - *Cochliomya macellaria*. Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas corados comorceína lacto-acética na linhagem de Caraguatatuba. (58, 59) Prometáfase de macho e fêmeas, respectivamente. (60, 62, 63, 64 e 65) Metáfases de machos. (61) de fêmea. Nas Figuras 58, 59 e 62 as setas indicam a localização das constrições secundárias (CS) e os cromossomos sexuais X e Y. A escala 10 μ m é válida para todas as Figuras.

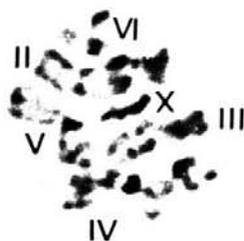


FIGURAS 66-71 - *Chrysomya chloropyga*. Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas submetidas ao método de banda C. (66) Prófase, onde são observados os cromossomos X e Y mais fortemente corados. (67) Prometáfase de fêmea, (68 e 70) de machos. (69 e 71) Metáfases de fêmeas. As regiões centroméricas dos autossomos exibem um padrão de banda semelhante (67 e 68). No cromossomo Y algumas bandas podem ser evidenciadas ao longo do seu comprimento (70). Nas Figuras 67 e 70 observam-se bandas intersticiais (seta no par VI). Na Figura 70 pode-se verificar que a metade distal do braço longo do cromossomo X apresenta-se menos corada (seta). A escala 10 μ m é válida para todas as Figuras.



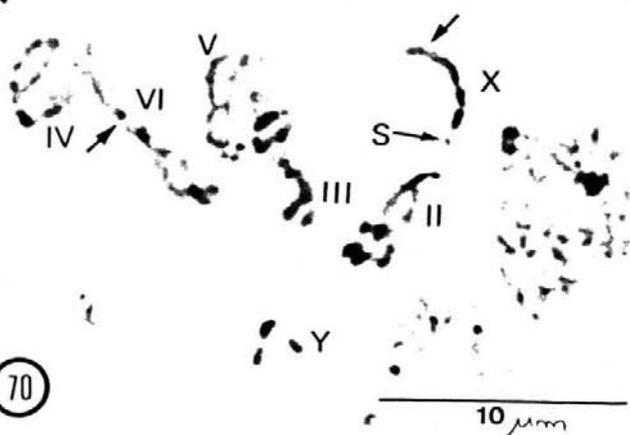
66

67



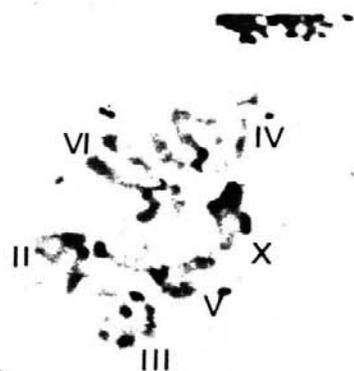
68

69



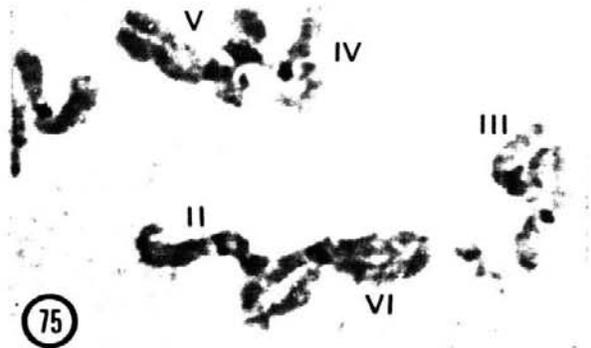
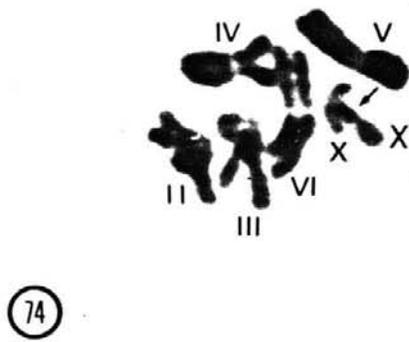
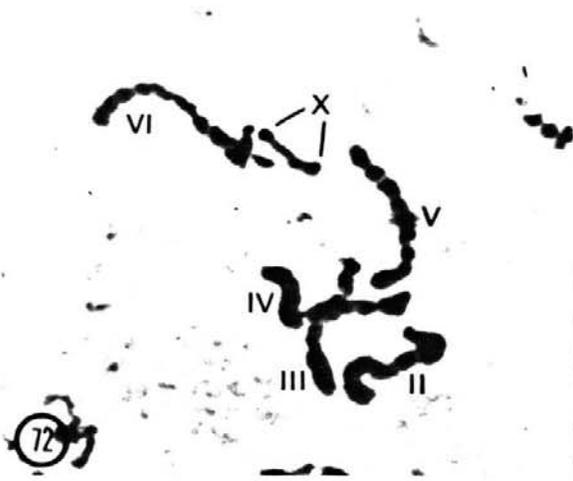
70

71



FIGURAS 72-75 - *Chrysomya megacephala*. Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas submetidos ao método da banda C. (72, 73 e 75) Prometáfase de fêmea, (74) metáfase de fêmea. Na Figura 72 o cromossomo X parece intensamente corado na região terminal de ambos os braços e na Figura 74 o braço curto do X cora-se de forma mais intensa que o braço longo.

FIGURAS 76 e 77 - *Chrysomya albiceps albiceps*. (76) Prometáfase de macho em que se observa no par autossômico I um segmento de heterocromatina constitutiva na região distal do braço longo e um segmento menor na região distal do braço curto. Esta Figura ainda evidencia banda C intersticial nos pares IV e VI. (77) Metáfase de fêmea. A escala 10 μ m é válida para todas as figuras.



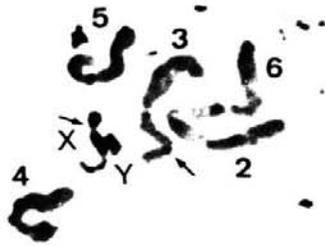
FIGURAS 78-83 - *Cochliomyia hominivorax* (Ca). Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas da linhagem de Caraguatatuba, submetidos ao método de banda C. (78) Prófase tardia com as regiões heterocromáticas mais fortemente coradas, (79 a 82) metáfase e (83) prometáfase . Nas Figuras 80 e 83 observam-se as regiões centroméricas dos autossomos com um padrão de coloração semelhante entre si. O cromossomo X é quase que totalmente heterocromático, exceto na região distal do braço longo (Figura 80). A escala 10 μ m é válida para todas as figuras.



78



79



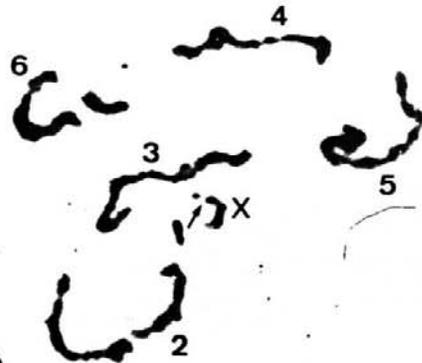
80



81



82



83

10 μ m

FIGURAS 84 a 86 - *Cochliomyia hominivorax* (NOI). Cromossomos mitóticos de gânglios nervosos de larvas da linhagem de Nova Odessa tipo I submetidos ao método de banda C. (84) Prometáfase em que se observam: banda C intersticial no braço curto do par autossômico 2 e um volume maior de heterocromatina constitutiva centromérica no par 4.

FIGURAS 87 - 89 - Idem para *Cochliomyia macellaria*, linhagem de Caraguatatuba. (86) Metáfase de fêmea em que se observa banda-C intersticial no braço curto dos pares 2 e 3, (88) de macho, onde evidencia-se banda C intersticial nos pares 2, 3 e 6. A escala 10 μm é válida para todas as Figuras.

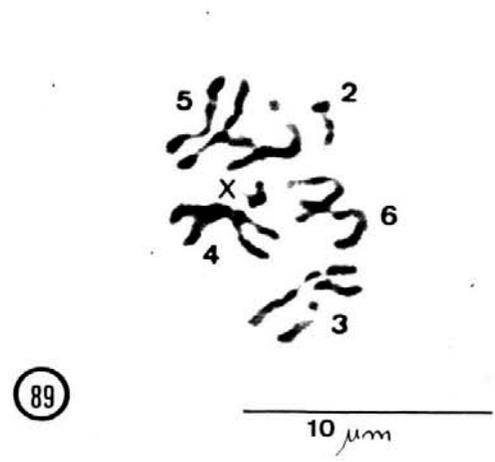
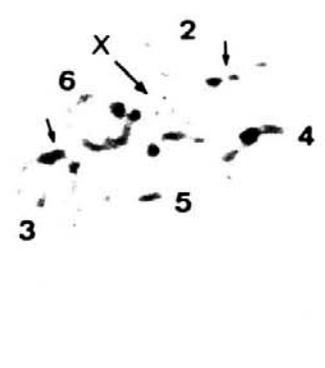
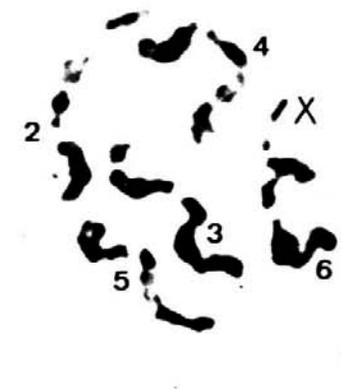
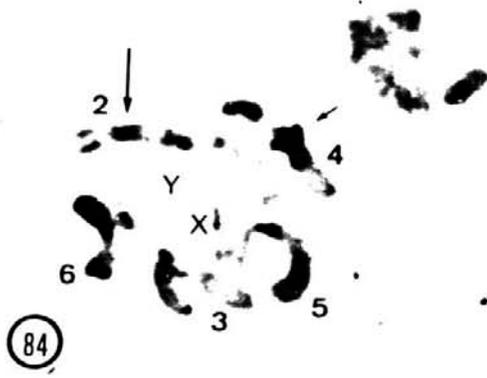


TABELA 1 - Comprimento relativo dos pares de cromossomos, expressos em percentagens do comprimento total do complemento (% CTC) de *Chrysomya chloropyga*, *C. megacephala* e *C. a. albiceps* (média e desvio padrão de dez metáfases de cada espécie).

Espécies	Pares de cromossomos (% CTC)*										Média do comprimento total do complemento em μm		Comprimento em μm		Localidade
	Y**	X	II	III	IV	V	VI	Média do comprimento total do complemento em μm		Comprimento em μm					
<i>C. chloropyga</i>	6,22	11,80	15,25	16,33	17,74	18,50	20,34	30,45		3,56		1,81	Nova Odessa		
	0,88	1,10	0,62	0,74	0,44	0,73	0,68	2,32		0,34		0,33			
<i>C. megacephala</i>	5,32	10,54	15,82	16,83	17,62	19,01	20,24	32,6		2,78		1,42	Campinas		
	2,08	1,85	0,69	1,06	0,66	0,76	1,29	3,55		0,77		0,39			
<i>C. a. albiceps</i>	-	6,57***	16,48	17,68	18,66	19,18	21,42	28,1		1,65		-	Caraguatatuba		
	-	1,22	0,90	0,53	0,66	0,47	0,90	1,96		0,24		-			

* - % CTC = Porcentagem do Comprimento Total do Complemento.

** - A medida do comprimento do cromossomo Y não está incluída como parte do (% CTC) que inclui os dois cromossomos X da fêmea ou o único X do macho e os autosomos.

*** - O cromossomo X de *C. chloropyga* e *C. megacephala* corresponde ao par I em *C. a. albiceps*.

TABELA 2 - Relação de braços dos pares de cromossomos de *C. chloropyga*, *C. megacephala* e *C. a. albiceps* (média e desvio padrão de dez metáfases de cada espécie).

Espécies	Pares de cromossomos						Localidade	
	Y	X	II	III	IV	V		VI
<i>C. chloropyga</i>	1,18	1,24	1,31	1,36	1,24	1,66	1,27	Nova Odessa
	0,18	0,30	0,17	0,22	0,10	0,30	0,12	
* Tipo de cromossomo	m	m	m	m	m	m	m	
<i>C. megacephala</i>	5,32	2,25	1,34	1,36	1,64	1,30	1,26	Campinas
	2,08	0,87	0,16	0,16	0,46	0,19	0,12	
Tipo de cromossomo	t	sm	m	m	mm	m	m	
<i>C. a. albiceps</i>	-	1,38**	1,30	1,64	1,44	1,40	1,31	Caraguatatu-
	-	0,44	0,24	0,24	0,26	0,26	0,22	ba
Tipo de cromossomo	-	m	m	m	m	m	m	

* De acordo com o sistema de LEVAN *et alii* (1964): m = metacêntrico; sm = submetacêntrico; t = centrômero.

** O cromossomo X de *C. chloropyga* e *C. megacephala* corresponde ao par I em *C. a. albiceps*.

FIGURA 90 - Idiogramas representativos dos cariótipos das espécies do gênero *Chrysomya*, construídos a partir dos dados contidos na Tabela 1 e 2: a) *C. chloropyga* (Campinas), b) *C. megacephala* e c) *C. a. albiceps* (Caraguatatuba).

As constrições secundárias estão indicadas por duas linhas paralelas e transversal no braço do cromossomo.

O estrangulamento representa a posição do centrômero em cada cromossomo.

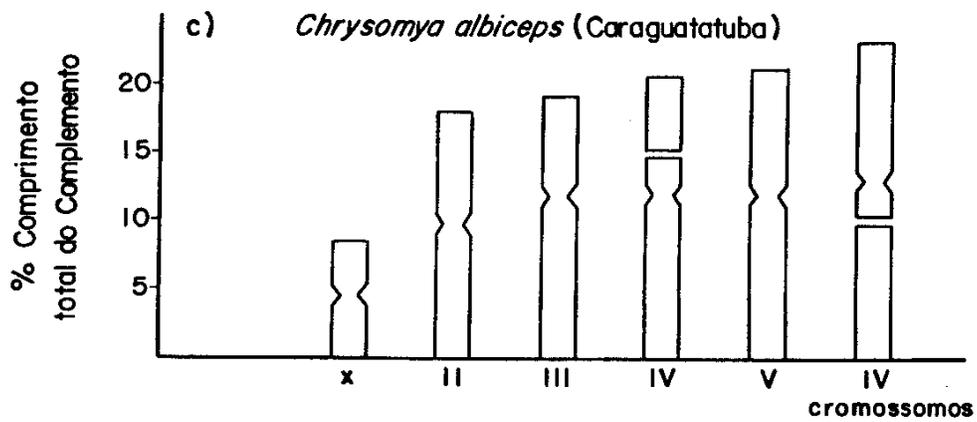
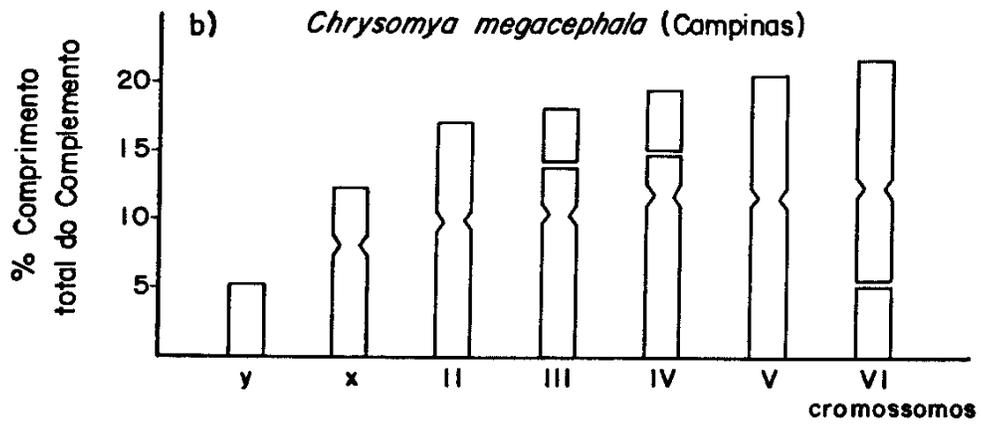
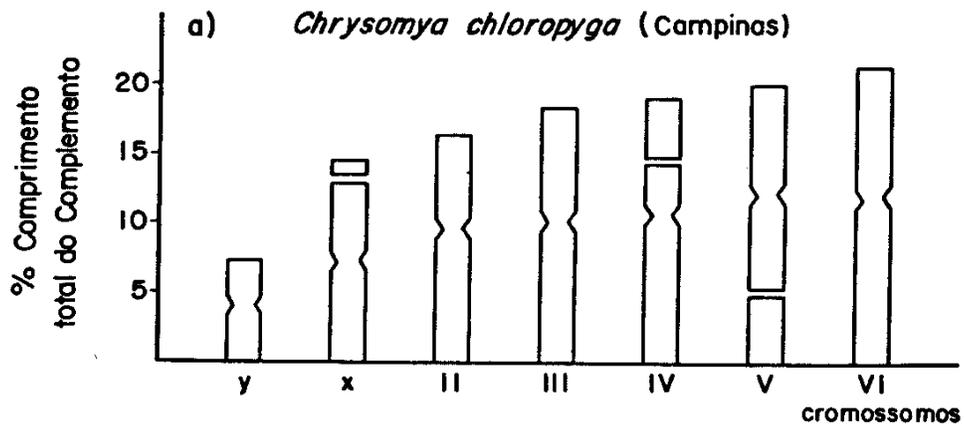
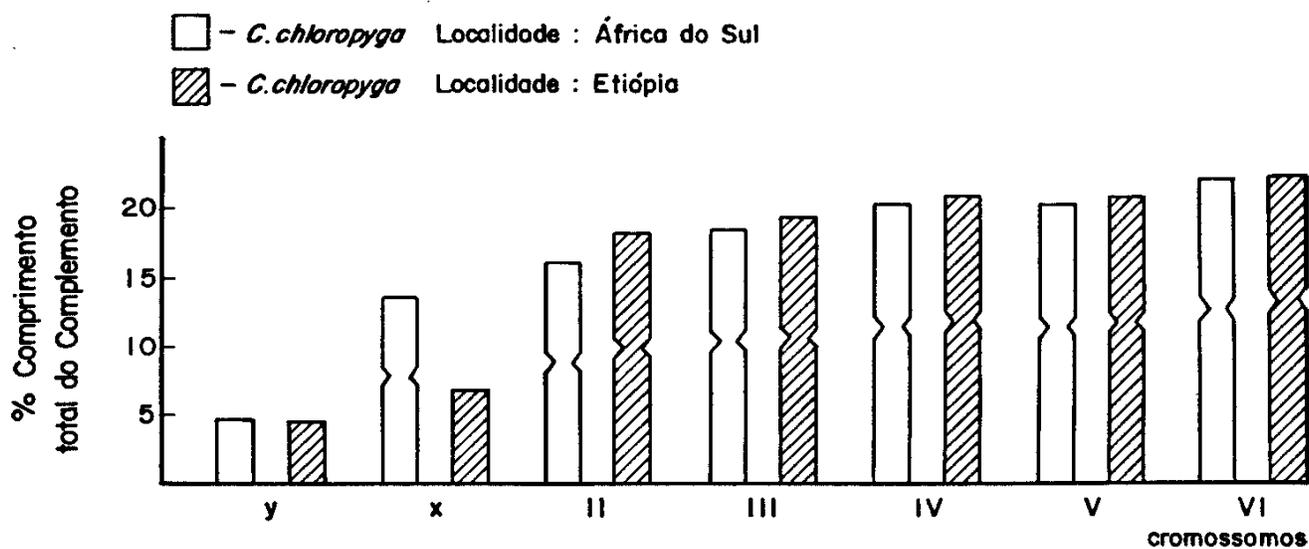


FIGURA 91 - Idiogramas representativos dos cariôtipos das espécies: a) *Chrysomya chloropyga* e b) forma *Chrysomya putoria* descritos por BOYES & SHEWELL (1975). O estrangulamento representa a posição do centrômero em cada cromossomo.

C. chloropyga Boyes (1975)



forma *Chrysomya putoria*

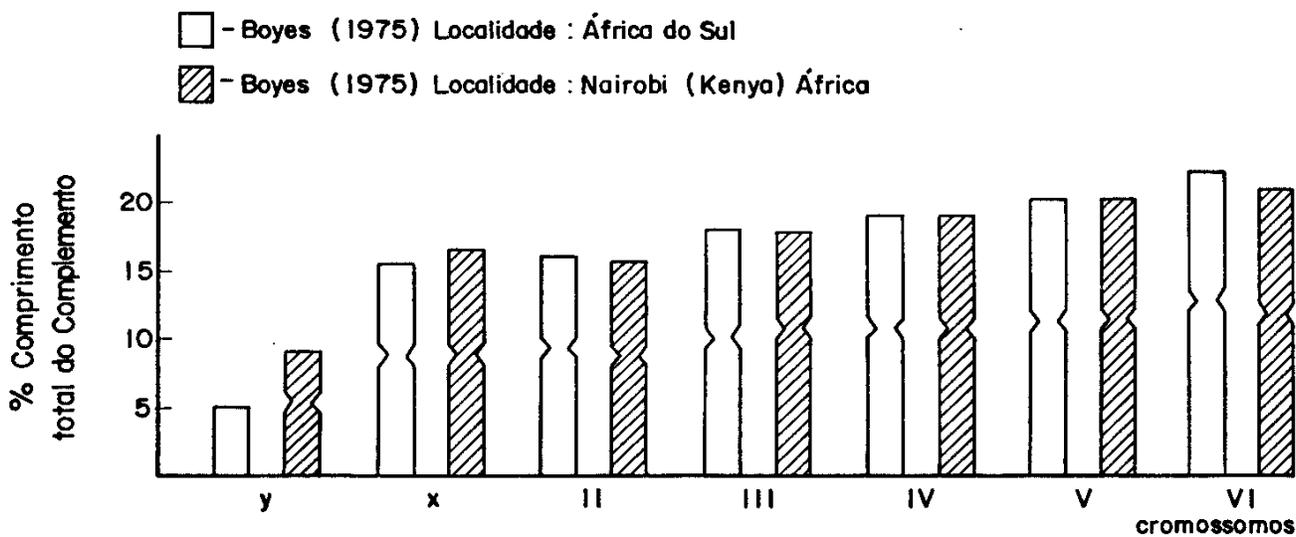


TABELA 3 - Comprimento relativo dos pares de cromossomos, expressos em porcentagens do comprimento total do complemento (% CTC), das linhagens de *Cochliomyia hominivorax* (média e desvio padrão de dez metafases de cada linhagem) de Caraguatatuba (Ca) e Nova Odessa (NOI e NOII).

Espécies	Pares de cromossomos (% CTC)						Comprimento em μm			
	X	Y**	2	3	4	5	6	Média do CTC em μm		
								X	Y	
<i>C. hominivorax</i> Ca	6,86	4,70	22,22	19,28	16,43	18,21	16,89	27,75	2,0	1,18
	1,09	1,12	0,85	0,81	1,03	0,66	0,73	4,41	0,18	0,17
<i>C. hominivorax</i> NOI	6,02	4,50	22,32	20,12	16,14	18,76	16,66	28,64	2,10	1,10
	1,34	1,02	1,58	0,66	0,75	0,77	0,98	4,59	0,28	0,22
<i>C. hominivorax</i> NOII	12,38	4,25	21,14	19,06	14,29	17,53	15,55	35,35	4,15	1,46
	2,18	0,85	1,56	1,04	0,88	0,86	1,02	3,60	0,78	0,42

* - % CTC = Porcentagem do Comprimento Total do Complemento.

** - A medida do comprimento do cromossomo Y não está incluída como parte do)% CTC) que inclui os dois cromossomos X da fêmea ou o único X do macho e os autossomos.

TABELA 4 - Relação de braços dos pares de cromossomos das linhagens de *Cochliomyia hominivorax* (média e desvio padrão de dez metáfases de cada linhagem) de Caraguatatuba (Ca) e Nova Odessa (NOI e NOII).

Espécies	Pares de Cromossomos						
	X	Y	2	3	4	5	6
<i>C. hominivorax</i> Ca	3,05	1,07	1,39	1,39	1,46	1,51	3,0
	0,44	0,15	0,12	0,09	0,18	0,24	0,72
Tipo de cromossomo	st	m	m	m	m	m	sm
<i>C. hominivorax</i> NOI	3,55	1,20	1,50	1,31	1,54	1,45	2,68
	1,38	0,45	0,20	0,29	0,29	0,20	0,28
Tipo de cromossomo	st	m	m	m	m	m	sm
<i>C. hominivorax</i> NOII	1,39	1,06	1,12	1,21	1,19	1,27	1,35
	0,49	0,13	0,05	0,19	0,07	0,18	0,16
Tipo de cromossomo	m	m	m	m	m	m	m

* De acordo com o sistema de LEVAN *et alii* (1964): m = metacêntrico; sm = submetacêntrico; st = centrômero localizado na região subterminal.

TABELA 5 - Comprimento relativo (C.R.) dos pares de cromossomos, expressos em percentagem do comprimento total do complemento (% CTC) e relação de braços (R.b.) de *Cochliomyia macellaria* (média e desvio padrão de dez metáfases de cada espécie).

Espécies	Pares de cromossomos (% CTC)*						Média do comprimento total do complemento em μm			
	X	Y**	2	3	4	5	6	X	Y	
<i>C. macellaria</i> CR	3,22	1,58	23,38	20,34	16,07	18,16	18,80	25,3	0,90	0,40
	0,80	0,51	0,70	0,59	0,84	0,65	0,60	0,88	0,14	0,16
Rb	1,4	1,5	1,40	1,32	1,48	1,70	2,92	-	-	-
*** Tipos de cromossomos	0,94	0,58	0,18	0,16	0,24	0,43	0,80			
somo	m	t	m	m	m	m	sm			

* - % CTC - Porcentagem do Comprimento Total do Complemento.

** - A medida do comprimento do cromossomo Y não está incluída como parte do (% CTC) que inclui os dois cromossomos X da fêmea ou o único X do macho e os autosomos.

*** - De acordo com o sistema de LEVAN *et alii* (1964): m = metacêntrico; t = centrômero localizado na região terminal.

TABELA 6 - Comprimento relativo dos cromossomos expressos em % TCL*, das linhagens de *Cochiomya hominivora* do Texas descritas por KAUFMAN & WASSERMAN (1957), BOYES (1961) e LA CHANCE *et alii* (1964).

Espécies	Pares de cromossomos (% TCL*)						Localidade
	Y	X	II	III	IV	V	
<i>C. hominivora</i>							
Kaufman & WASSERMAN (1957)	3,5	12,4	13,7	16,1	16,7	18,6	22,5 Texas (USA)
Boyes (1961)	4,70	8,83	16,53	16,93	17,52	19,0	21,18 Texas (USA)
La Chance <i>et alii</i> (1964)	3,35	7,82	16,48	17,59	19,54	19,54	21,78 Texas (USA)

* % TCL (Percentagens of the Total Complement Length) = Comprimento Total do Complemento.

TABELA 7 - Relação de braços (braços longo/braço curto) dos cromossomos das linhagens de *C. hominivorax* do Texas descritos por KAUFMAN & WASSERMAN (1957), BOYES (1961) e LA CHANCE *et alii* (1964).

Espécies	Pares de cromossomos					Localidade		
<i>C. hominivorax</i> Kaufman & Wasserman (1957)	-	4,5	5,15	1,07	1,63	1,72	Texas (USA)	
<i>C. hominivorax</i> Boyes (1961)	-	4,25	1,38	3,11	2,38	1,58	1,43	Texas (USA)
<i>C. hominivorax</i> La Chance <i>et alii</i>	-	0,54	1,42	2,92	1,60	1,33	1,29	Texas (USA)

TABELA 8 - Comprimento relativo médio dos dez cariótipos da *Cochliomyia hominivorax* expressos em porcentagem total do comprimento do complemento descritos por RICHARDSON *et alii* (extraídos do relatório e manuscrito não publicados, com permissão dos autores).

Tipo	X	Y	2	3	4	5	6	Localidade
A	6,84	4,83	22,33	19,52	16,70	18,11	16,50	Novo México, Arizona e Califórnia
	0,2	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	
B	8,58	4,10	21,76	20,96	17,76	16,17	14,77	Novo México e Arizona
C	7,26	4,64	22,78	18,75	18,55	17,14	15,52	Norte do Pacífico
D	7,27	4,65	22,63	18,79	17,98	16,57	16,77	Oeste do Texas e Califórnia
E	7,62	5,84	21,84	18,64	18,24	17,23	16,43	Sul do México
	0,5	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,3	
F	7,44	5,84	22,33	18,31	17,10	17,30	17,51	Novo México e Oeste do Texas
	0,4	0,4	0,4	0,35	0,5	0,5	0,4	
G	7,98	7,36	23,31	17,79	15,75	15,95	19,22	México
H	7,03	3,82	22,49	19,28	16,67	18,07	16,47	México
I	8,27	4,64	22,18	19,56	16,73	16,53	16,73	Sul do México
J	7,41	-	23,05	18,44	17,23	16,63	17,23	Oeste do Texas
	0,2	0,2	0,2	0,4	0,6	0,2	0,4	

TABELA 9 - Relação dos braços dos cromossomos dos dez cariótipos descritos por RICHARDSON *et alii* (comunicação pessoal) para *Cochliomyia hominivorax* (extraídos do relatório e manuscrito não publicados, com a permissão dos autores).

Tipo	X	Y	2	3	4	5	6	Localidade
A	3,69	5,88	1,39	1,33	1,29	1,63	2,29	Novo México, Arizona e Califórnia
B	3,13	-	1,22	1,47	1,39	1,83	1,93	Novo México e Arizona
C	3,73	-	1,50	1,68	1,48	1,66	1,90	Novo México e Arizona
D	4,27	1,77	1,39	1,25	1,72	1,72	2,49	Oeste do Texas e Califórnia
E	3,94	-	1,48	1,35	1,32	1,53	3,23	Sul do México
F	4,31	2,76	1,39	1,26	1,36	1,51	2,85	Novo México e Oeste do Texas
G	3,57	1,56	1,49	1,42	1,55	1,64	2,20	México
H	3,26	6,17	1,39	1,26	1,30	1,59	3,09	México
I	4,83	2,07	1,41	1,22	1,32	1,56	2,80	Sul do México
J	3,64	-	1,38	1,31	1,35	1,56	2,48	Oeste do Texas

FIGURA 92 - Idiogramas representativos dos cariótipos das linhagens de *Cochliomyia hominivorax* de: a) Caraguatatuba (Ca), b) Nova Odessa tipo I (NOI), c) Nova Odessa tipo II (NOII).

As constrições secundárias observadas estão indicadas por duas linhas paralelas e transversais no braço do cromossomo. O estrangulamento coincidindo com o ponto de origem do eixo da abscissa representa a posição do centrômero.

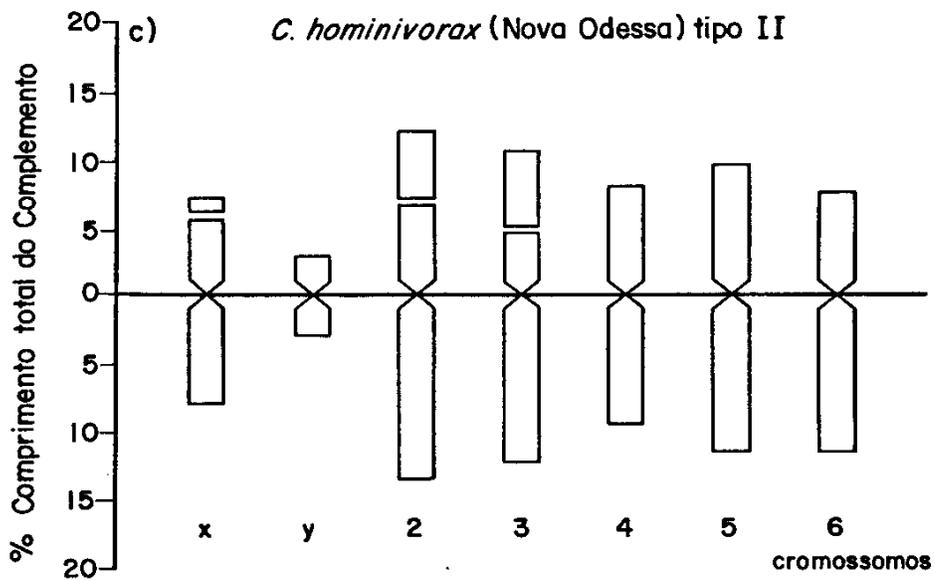
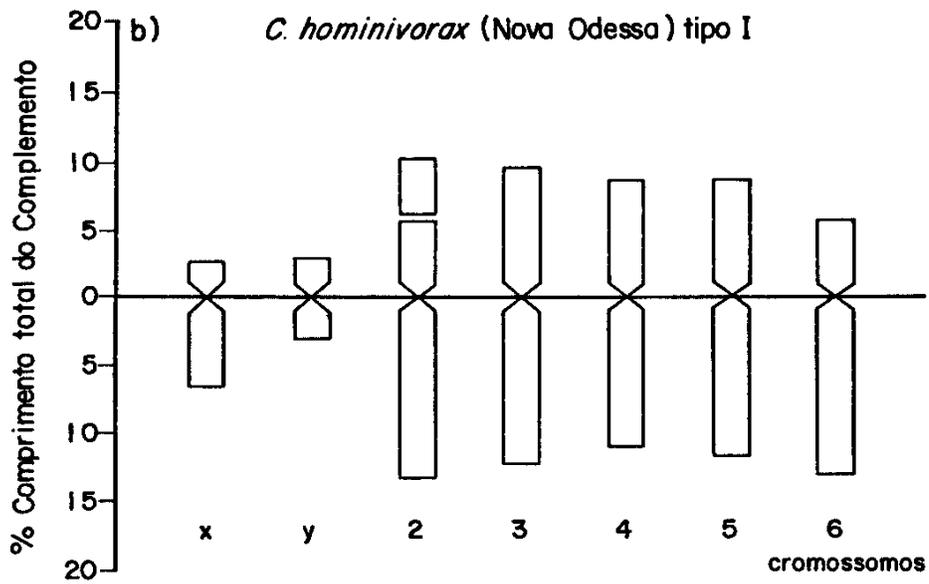
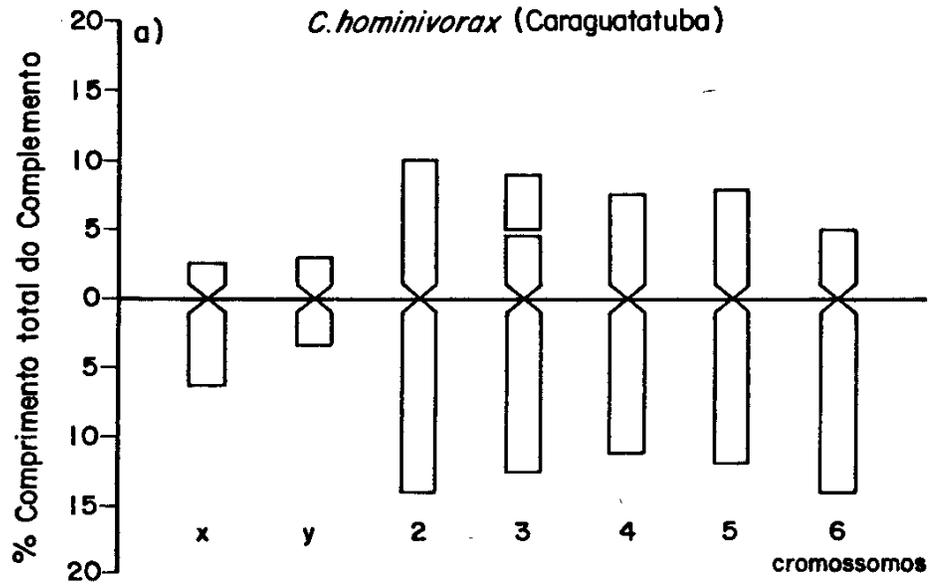


FIGURA 93 - Idiogramas representativos dos cariótipos das linhagens de *C. hominivorax* do Texas (USA), descritos por a) KAUFMANN & WASSERMAN (1957), b) BOYES (1961), c) LA CHANCE *et alii* (1964), construídos a partir dos dados contidos nas Tabelas 6 e 7.

As constricções secundárias observadas estão indicadas por duas linhas paralelas no interior dos cromossomos. O estrangulamento coincidindo com o ponto de origem do eixo da abscissa apresenta a posição do centrômero.

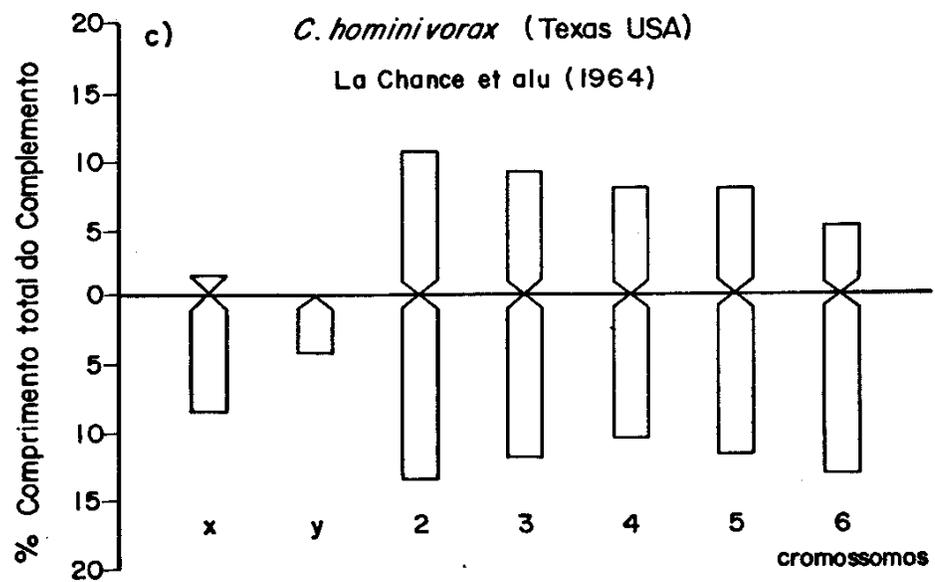
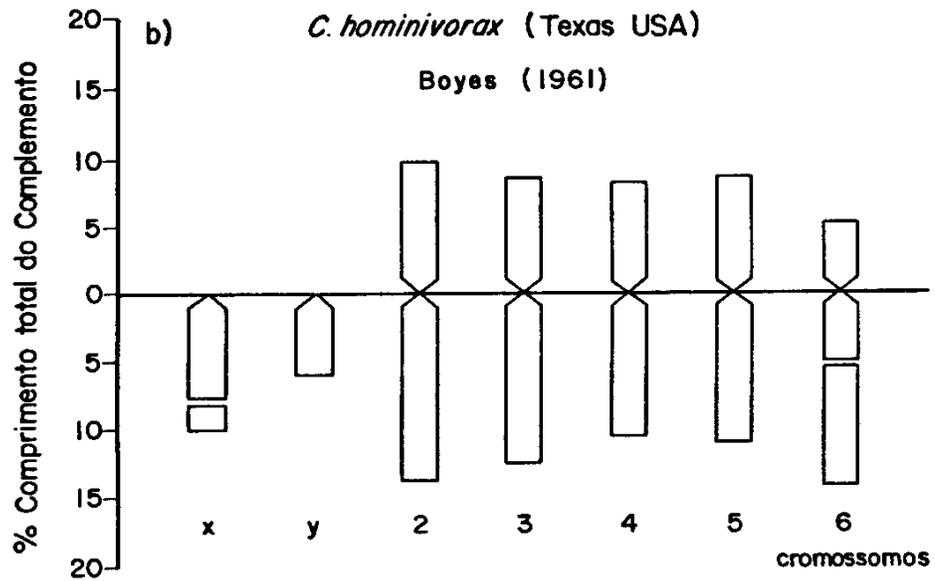
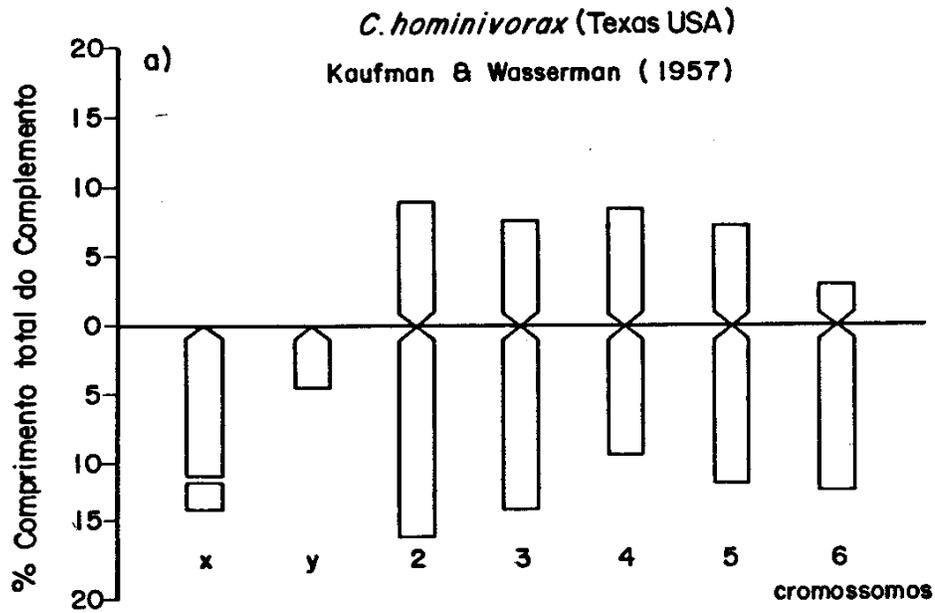
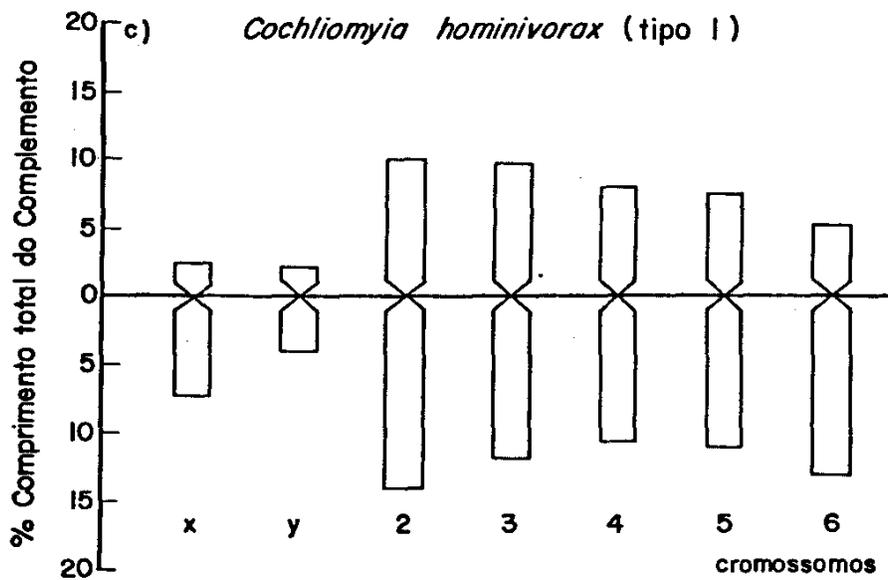
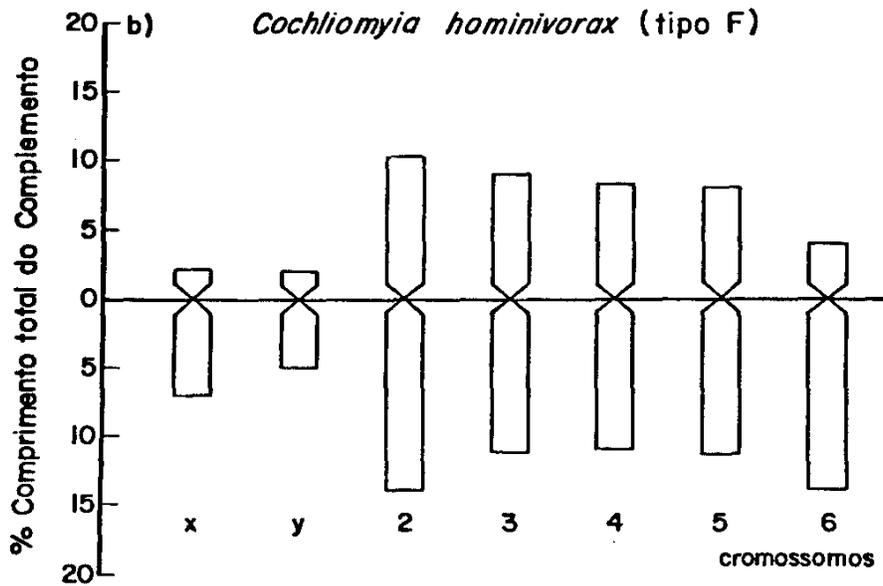
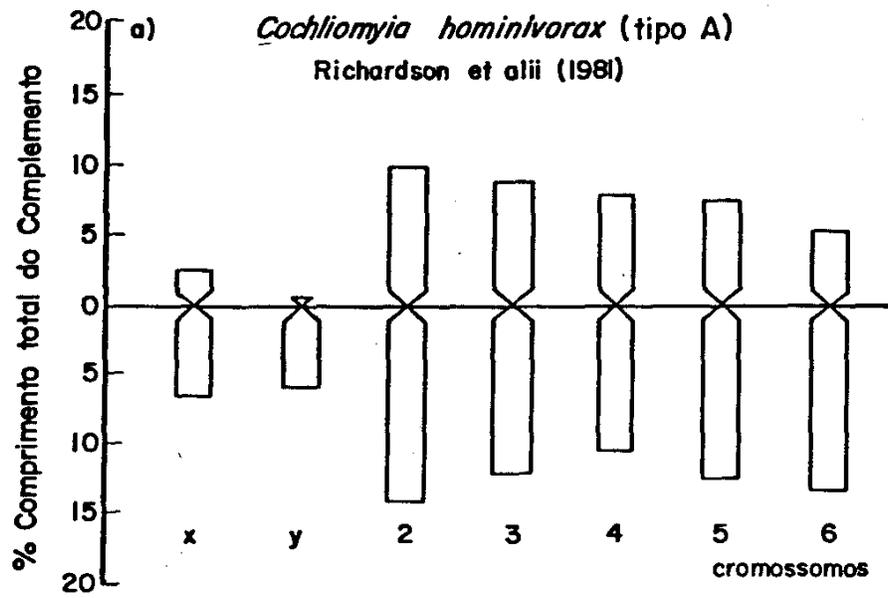


FIGURA 94 - Idiogramas representativos dos cariótipos das linhagens de *C. hominivorax* analisadas por RICHARDSON *et alii* (1981, 1982) de: a) Tipo A (distribuição Novo México, Arizona e Sul da Califórnia), b) Tipo F (Oeste do Texas, Novo México); c) Tipo I (distribuição México). Estes três idiogramas foram construídos a partir dos dados contidos nas Tabelas 8 e 9. Os estrangulamentos coincidindo com o eixo da abscissa representa a posição do centrômero.



Idiogramas representativos dos cariótipos de *Cochliomyia hominivorax*

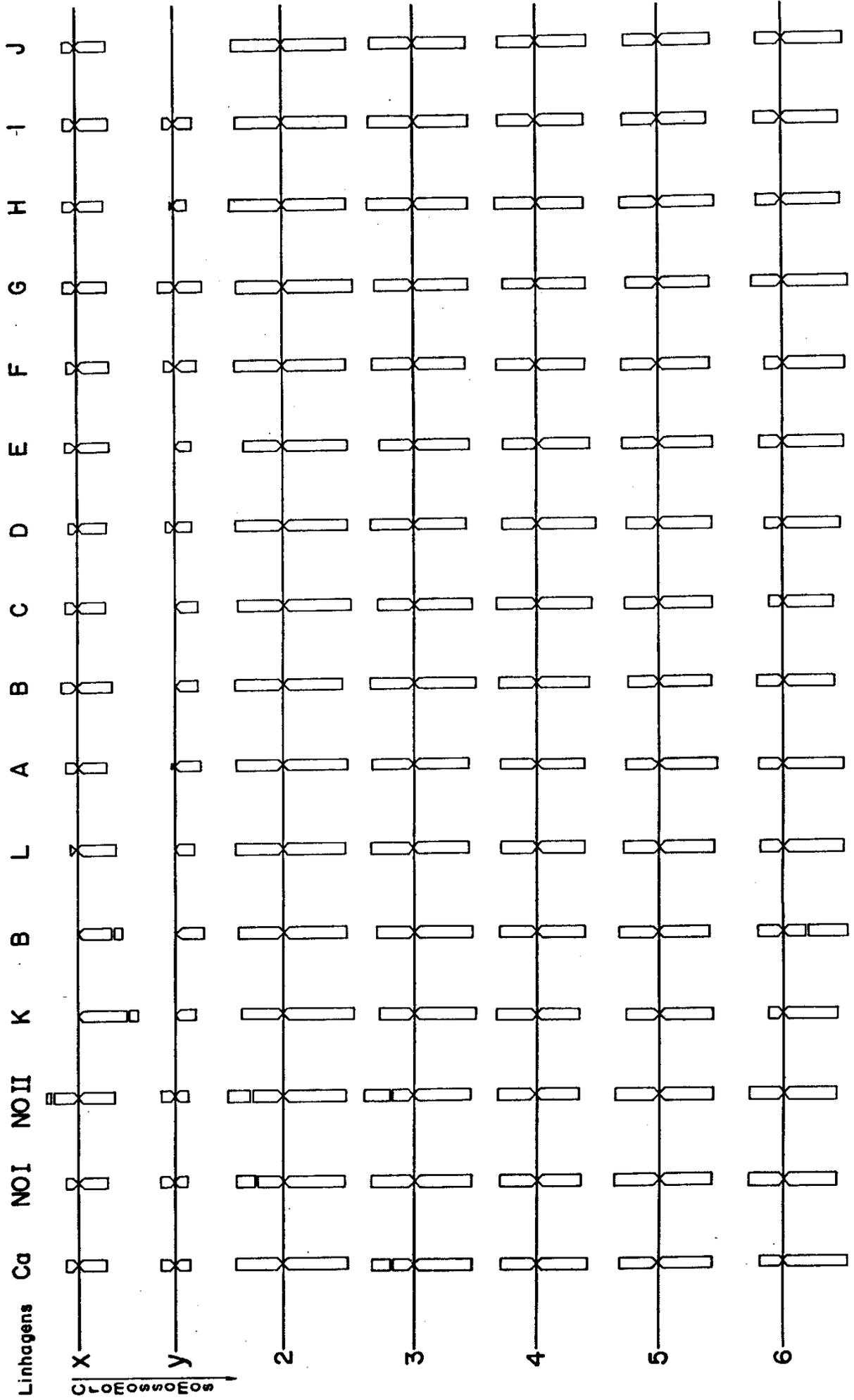


FIGURA 96 - Idiogramas representativo do cariótipo de *Cochliomyia macellaria* de Caraguatatuba, construído a partir dos dados contidos na Tabela 5. As constrições secundárias observadas estão indicadas por duas linhas paralelas transversais no braço do cromossomo. O estrangulamento coincidindo com o ponto de origem do eixo da abscissa representa a posição do centrômero.

Cochliomyia macellaria (Caraguatatuba)

