

## 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

### BIOMEDICINA

#### INFLUÊNCIA DO ALIMENTO LARVAL NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE LUCILIA CUPRINA (WIEDEMANN, 1830) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

<sup>1</sup> Marcela Teixeira Rebello (PIBIC-CNPq); <sup>1</sup> Daniela Procaci de Araujo (IC UNIRIO); <sup>1</sup> Wellington Thadeu de Alcantara (Mestrado PPGBIO UNIRIO); <sup>1</sup> Rafaela Pereira de Carvalho (Mestrado PPGBIO UNIRIO); <sup>1</sup> Adriana Leal de Figueiredo (Mestrado PPGBIO UNIRIO); <sup>1</sup> Cláudia Soares Santos Lessa, <sup>1</sup> Valéria Magalhães Aguiar (Orientadora)  
1-Departamento de Microbiologia e Parasitologia; Instituto Biomédico; Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, FINEP, FAPERJ, UNIRIO

Palavras-chaves: Entomologia Forense; dieta larval; mosca varejeira.

#### INTRODUÇÃO

Entomologia forense é a utilização de insetos e outros artrópodes como evidência em investigação, seja ela civil ou criminal (WILLIAMS e VILLET, 2006). A Entomologia médico-legal relaciona-se a utilização de artrópodes necrófagos colonizando e se alimentando de tecidos vivo ou morto, seja tecido humano ou animal em investigação criminal. Insetos encontrados em restos de vertebrados podem ser usados para estimar o intervalo mínimo pós-morte através do período da atividade do inseto (AMENDT, CAMPOBASSO, GAUDRY et al. (2007). Muitos desses insetos são da ordem Diptera, família Calliphoridae, incluindo a espécie *Lucilia cuprina*. Essa espécie também é responsável pela veiculação de microorganismos patogênicos de importância médica e sanitária, mantendo alto grau de associação com ambientes modificados pelo homem, sendo comumente encontrada em carcaças e lixões (LINHARES, 1981; FERREIRA e LACERDA, 1993).

É uma espécie dominante durante a fase de decomposição ativa de carcaças, sendo responsabilizada por parte da remoção destas. Além disso, a importância das larvas desta espécie como causadora de miíases primárias em ovinos e no homem, foi vastamente relatada na literatura internacional (DALLWITZ, ROBERTS e KITCHING, 1984; TWNEND, 1987; HALL e WALL, 1995).

Temperatura é provavelmente o fator ambiental mais influente na história de vida das populações, particularmente em organismos com curtos ciclos de vida como os insetos (LEVINE e LEVINE, 1991). Habilidade competitiva, fecundidade, taxa de sobrevivência, além de peso e tamanho corpóreo, se mostraram altamente sensíveis a variações ambientais nas populações de insetos, especialmente em mucoides (JAMES e PARTRIDGE, 1998). O alimento também é um fator regulador do número e da flutuação populacional de dípteros necrófagos, pois dele dependerá o sucesso da prole. Assim, o conhecimento da influência desses fatores sobre os aspectos bioecológicos de dípteros muscóides da família Calliphoridae, especialmente da espécie *L. cuprina* contribuirá para investigações criminais e para uma estimativa do intervalo pós-morte (IPM) mais acuradas.

#### OBJETIVO

Estudar a influência de duas dietas naturais sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *Lucilia cuprina* em laboratório.

#### METODOLOGIA

A criação dos dípteros e toda a parte experimental foram realizadas no Laboratório de Estudos de Dípteros (LED), Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

A colônia de *L. cuprina* foi iniciada com adultos coletados em uma zona rural localizada em Rio Bonito, RJ. Foram utilizadas três armadilhas seguindo o modelo de MELLO, QUEIROZ e AGUIAR-COELHO (2007), contendo sardinha como isca. Após a coleta dos adultos e das larvas de dípteros muscóides, os insetos foram levados para o LED, onde foi feita a triagem e a identificação taxonômica dos mesmos de acordo com Mello (2003). As moscas foram criadas em gaiolas de plástico transparente (40x30x20cm) com abertura na parte superior para arejamento e abertura frontal para permitir o acesso ao interior da gaiola revestida com tecido de náilon em forma de manga de camisa, sendo alimentadas com água, com solução de mel e água (50 %) e moela de frango como fonte de proteína, substrato de oviposição e maturação de ovários. A metodologia de criação seguiu descrição de BARBOSA, JESUS e AGUIAR-COELHO (2004), FERRAZ, ALMEIDA, JESUS et al. (2011).

Quarenta larvas de primeiro instar da 3ª geração em laboratório foram transferidas com o uso de pincel fino para bécheres de vidro de 100mL contendo 60 gramas de dieta para cada tratamento em quatro repetições. Os tratamentos constituíram-se da dieta moela de frango e carne bovina. Cada béquer de cada repetição foi inserido em outro béquer maior (400 mL) contendo serragem esterilizada para permitir a pupariação das larvas maduras após o abandono da dieta, este foi vedado com tecido de náilon e elástico. Os tratamentos foram mantidos em câmara climatizada a 30°C dia e 28°C noite, 70 + 10% U.R. e 14 horas de fotofase. Foram realizadas observações diárias sempre no mesmo horário (12:00 horas). A massa corporal das larvas, após abandono da dieta, foi registrada em balança analítica em lotes de cinco e armazenadas em tubos de ensaio vedados com tecido de náilon e elástico para observação da emergência.

Foram acompanhadas as datas de pupariação, emergência e a verificada a razão sexual, assim como anormalidades morfológicas dos adultos. Para a análise bruta dos dados utilizou-se o programa Microsoft Excel e para as demais análises o programa PAST. A variação entre as médias da massa corporal

### 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

de larvas e as durações dos estágios larval, pupal e total (neolarvas a adultos) foram analisadas por meio do Teste t de Student ( $\alpha=5\%$ ). As viabilidades e as taxas de normalidade foram comparadas por ANOVA.

#### RESULTADOS

A duração média da inoculação das larvas até abandono da dieta foi de 4,082 dias para os insetos criados na dieta carne e 4,047 dias para a dieta moela, a duração do estágio larval foi de 5,883 dias (carne) e 5,752 dias (moela) e para o estágio pupal foi de 7,346 dias (carne) e 7,535 dias (moela), não houve diferença significativa na taxa de desenvolvimento comparando as dietas carne e moela, ou seja,  $p > 0,05$ . Por outro lado, a duração média do período de larva a adulto foi significativamente superior ( $p = 0,02507$ ) para os insetos criados dieta carne (12,223 dias) comparado aos criados na dieta moela (11,832 dias). Em relação ao ritmo de abandono de larvas maduras da dieta verificou-se que em ambos os substratos o início do abandono das larvas maduras da dieta ocorreu no 4º dia. Já o pico de pupariação dos insetos criados em carne foi no 6º dia, posterior a pupariação dos insetos criados na moela que foi no 5º dia, no entanto, o pico de emergência em ambos os tratamentos foi no 12º dia após a inoculação de larvas na dieta. Em relação a massa corporal dos insetos, também não foi registrado diferença significativa entre os tratamentos ( $p = 0,27645$ ), pois os imaturos apresentaram massa corporal muito semelhante (0,034g, carne/ 0,032g, moela). As viabilidades larvais para insetos criados em carne e moela foram respectivamente 87,14% e 91,62%. As viabilidades do estágio de pupa foram 77,71% e 80,12% e as viabilidades de larva a adulto foram 61,25% e 61,50%, respectivamente, para o tratamento carne e moela, não sendo registrada diferença significativa entre os tratamentos. A razão sexual foi próxima de 0,5 para ambos os tratamentos, foi observado nascimento de 51% de insetos machos e 49% de fêmeas no tratamento carne e 54% de machos e 46% de fêmeas para o tratamento moela.

#### CONCLUSÃO

A massa corporal média individual dos insetos criados nas dietas carne e moela foram muito próximas, não sendo constatada diferença significativa entre elas. Larvas mais pesadas potencializam a capacidade reprodutiva do adulto (RIBEIRO e MILWARD-DE-AZEVEDO, 1997), no entanto, ambas as dietas foram capazes de suprir as necessidades dos dípteros que obtiveram ganho de peso similar.

Houve uma extensão da duração do desenvolvimento de neolarvas a emergência para os insetos criados na dieta carne, que emergiram mais tardiamente, o que mostra maior rapidez no desenvolvimento das larvas criadas na dieta moela que alcançaram sua maturidade mais rapidamente. Como a massa corporal média individual dos insetos criados nas dietas carne e moela não diferiu significativamente indica que essa rapidez no desenvolvimento, não impediu que a larva atingisse peso ideal, desta forma, não comprometendo a capacidade reprodutiva do adulto.

É possível perceber também que a duração dos estágios de larva e pupa foi semelhante entre os dois tratamentos (carne e moela). CLARK, EVANS e WALL (2006) observaram o desenvolvimento de *Lucilia sericata* alimentadas com pulmão, fígado e coração, tanto de bovinos quanto de suínos, e foi determinado que as larvas cresceram significativamente mais rápido em suínos do que em bovinos, indicando que a dieta pode alterar o desenvolvimento do inseto.

A viabilidade de larvas criadas na dieta carne (61,25%) não diferiu significativamente das criadas na moela (61,50%). No entanto, FERRAZ, BOSISIO e AGUIAR-COELHO (2011) trabalhando com outra espécie de Calliphoridae observaram que viabilidade de larvas mantidas na carne (71%) foi menor que as viabilidades dos insetos mantidas na dieta moela (87%). Em dípteros, viabilidades acima de 60% são consideradas promissoras (LOUREIRO, OLIVEIRA, D'ALMEIDA, 2005), indicando que as dietas testadas no presente estudo foram satisfatórias, pois viabilizaram o desenvolvimento de cerca de 60% dos insetos.

A razão sexual nas dietas testadas ficou próxima de 50%, padrão considerado normal (ESSER, 1990), assim como não foram gerados indivíduos anormais em ambas as dietas, o que é considerado um fator positivo.

Deve-se considerar que uma boa dieta para criação de dípteros em laboratório deve ter uma relação custo-benefício favorável (CHAUDHURY, ALVAREZ, VELASQUEZ, 2000). Sabe-se a carne bovina é adquirida a custos elevados no mercado nacional, onde atualmente 1 kg de carne acém custa em média 20% mais caro que 1 kg de moela de frango, e tendo em vista, que a carne e a moela proporcionaram aos insetos um bom desenvolvimento pós-embriônico, considerando o ganho de massa corporal, taxa de desenvolvimento, razão sexual e indivíduos sem anormalidades, recomenda-se o uso da moela de frango como dieta natural para manutenção destes dípteros em laboratório, por apresentar um melhor custo-benefício.

#### REFERÊNCIAS

- AGUIAR-COELHO, V.M.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E.M.V. Combined rearing of *Cochliomyia macellaria* (Fabricius), *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) under laboratory conditions. *Journal Applied Entomology*, n. 122, p. 551-554, 1998.
- AMENDT.; CAMPOBASSO, J.C.P.; GAUDRY, E.; REITER. C.; LEBLANC, H.N.; HALL, M.J.R. Best practice in forensic entomology: standards and guidelines. *The International Journal of Legal Medicine*, n.121, p. 90-104, 2007.
- BARBOSA, L.S.; JESUS, D. M. L. & AGUIAR-COELHO, V.M. Longevidade e capacidade reprodutiva de casais agrupados de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) oriundos de larvas criadas em dieta natural e oligídica. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 6, p. 207-217, 2004.
- CHAUDHURY, M. F.; ALVAREZ, L.A.; VELASQUEZ, L.L. A new meatless diet for adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Economic Entomology*, v.4, n. 93, p. 1398-1401, 2000.
- CLARK, K.; L. EVANS; R. WALL. Growth rates of the blowfly, *Lucilia sericata* on different body tissues. *Forensic Science International*, n.156, p. 145-149, 2006.

### 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

- DALLWITZ, R.; ROBERTS, J.A; KITCHING, R.L. Factors determining the predominance of *Lucilia cuprina* larvae in blowfly strikes of sheep in southern new south wales. *Journal of the Australian Entomological Society*, n.23, p. 175-177, 1984.
- ESSER.J.R. Factors influencing oviposition, larval growth and mortality in *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), a pest of salted dried fish in south-east Ásia. *Bulletin of Entomological Research*, v. 4, n. 80, p. 369-376, 1990.
- FERRAZ, A.C.P.; BOSISIO, D.D.; AGUIAR-COELHO, V.M. Dietas para larvas de *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* e *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *EntomoBrasilis*, v.4, n. 3, p. 125 – 129, 2011.
- FERRAZ, A.C.P; ALMEIDA V.R.G; JESUS D.M.; NUNES R.V; NASCIMENTO B.P; COELHO V.M.A; LESSA C.S.S. Epidemiological Study of Myiases in Hospital do Andaraí, Rio de Janeiro, with the Occurrence of an Exotic Etiological Agent. *Neotropical Entomology*, n. 40, p. 393 – 397, 2011.
- FERREIRA, M.J.M.; LACERDA, P.V. Muscóides Sinantrópicos associados ao lixo urbano em Goiânia, Goiás. *Revista Brasileira de Zoologia*, n.10, p. 185-195, 1993.
- HALL, M.; WALL, R. Myiasis of humans and domestic animals. *Advances in Parasitology*, n.35, p. 257-334, 1995.
- JAMES, A.C. PARTRIDGE, L. Geographic variation in competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *The American Naturalist*, n. 151, p. 530-537, 1998.
- LEVINE, O.S.; LEVINE, M.M. Houseflies (*Musca domestica*) as mechanical vectors of Shigellosis. *Infection and Immunity*, n. 31, p. 445-452, 1991.
- LEVOT, G. W.; BROWN, K. R.; SHIPP, E. Larval growth of some calliphorid and sarcophagid diptera. *Bulletin of Entomological Research*, n.69, p. 469-75, 1979.
- LINHARES, A.X. Sinantropy of Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) in city of Campinas, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, n.25, p. 189-215, 1981.
- LOUREIRO M.S.; OLIVEIRA V.C.; D'ALMEIDA J.M. Desenvolvimento pós-embriônico de *Pattonella intermutans* (Thomson) (Diptera: Sarcophagidae) em diferentes dietas. *Revista Brasileira de Entomologia*, v.1, n. 49, p. 127-129, 2005.
- MELLO, R.S.; QUEIROZ M.M.C.; AGUIAR-COELHO, V.M. Population fluctuations of calliphorid species (Diptera, Calliphoridae) in the Biological Reserve of Tinguá, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia Série Zoologia*, v. 4, n. 97, p. 481-485, 2007.
- MELLO, R.P. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera: Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomología y Vectores*, v. 2, n. 10, p. 255-268, 2003.
- NICHOLSON, A. J. Population oscillations caused by competition for food. *Nature*, n. 165, p. 476-7, 1950.
- RIBEIRO, R.C; MILWARD-DE-AZEVEDO, E.M.V. Dietas naturais na criação de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819; Diptera: Calliphoridae): estudo comparado. *Ciência Rural*, n. 27, p. 641-644, 1997.
- TWNEND, C. Sheep strike and mulesing. *Parasitology Today*, n.11, p. 252-261, 1987.
- ULLYETT, F. Observation sur des larves *Lucilia* se développant dans des plaies. *Revue de Zoologie africaine Brucssels*, n. 7, p. 197-8, 1950.
- WILLIAMS, K.A.; M.H.Villet. A history of southern African research relevant to forensic entomology. *South African Journal of Science*, n.102, p. 59-65, 2006.