



DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E ECLOSÃO DE LARVAS DE DUAS POPULAÇÕES DE *LUCILIA CUPRINA* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) EM AMBIENTES *INDOOR* E *OUTDOOR*

Palavras-Chave: INCUBAÇÃO, VAREJEIRAS, ENTOMOLOGIA FORENSE

MARIA EDUARDA TICHAUER DA ROCHA, IB, UNICAMP

GUSTAVO MIGUEL CAXIAS ALVES, IB, UNICAMP

JANAÍNA PEREIRA DE MELO, IB, UNICAMP

JENIFER REIS VERGILIO, IB, UNICAMP

JÚLIA DO NASCIMENTO, IB, UNICAMP

LETÍCIA BIANCA DOS SANTOS, IB, UNICAMP

ALINE VIEIRA E SILVA, IB, UNICAMP

LUCAS COSTA-SILVA, IB, UNICAMP

MATHEUS SALUSTIO CAMPISTA PETRUCCI, IB, UNICAMP

Profª Drª PATRÍCIA J. THYSSEN (orientadora), IB, UNICAMP

INTRODUÇÃO:

No âmbito jurídico e legal, insetos e outros artrópodes podem contribuir com a elucidação de questionamentos associados a casos de homicídio e até mesmo de alimentos contaminados (Amendt *et al.*, 2011; Thyssen *et al.*, 2018).

Moscas da família Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea) se destacam, entre outros insetos, por serem os primeiros organismos a colonizar cadáveres e por estarem presentes em todo o processo de decomposição (Carvalho *et al.*, 2004). Por exemplo, *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) é uma espécie de mosca necrófaga, conhecida popularmente como varejeira, amplamente distribuída e por habitar

ambientes modificados como a área urbana ganha importância nas áreas médico e veterinária, ao veicularem patógenos do lixo para o interior de residências e hospitais, mas também forense por se criarem em corpos de animais (Mendonça *et al.*, 2014; Byrd e Tomberlin, 2019).

No âmbito forense, para estimar o intervalo pós-morte (IPM) é essencial conhecer os dados de desenvolvimento de uma espécie (Catts, 1992). Em geral, há pouca informação consistente sobre a duração do desenvolvimento embrionário de muitas varejeiras, isto é, o período desde a postura de ovos até a eclosão das larvas de primeiro

estádio (Alonso *et al.*, 2015), e isto inclui também *L. cuprina*.

Compreender como distintos fatores influenciam o tempo de desenvolvimento de uma espécie tais como temperatura e umidade, e até mesmo provenientes de diferentes populações possibilitam estimar o IPM com maior confiabilidade e precisão (Alonso *et al.*, 2015). Assim, este estudo objetivou avaliar a influência da temperatura e umidade, abordando os ambientes como *indoor* e *outdoor*, sobre o desenvolvimento embrionário e tempo de eclosão de duas populações de *Lucilia cuprina*, buscando ampliar os dados existentes sobre esta espécie e trazer informações mais acuradas para a estimativa do IPM.

METODOLOGIA:

A partir de coletas ativas em campo usando iscas putrefeitas, colônias de adultos de *L. cuprina* de Campinas, SP, e de Pelotas, RS, foram estabelecidas em laboratório, mantidas sob condições controladas ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR; 12:12h fotoperíodo) com água *ad libitum* e açúcar. Para estimular a postura pelas fêmeas, uma porção de carne moída bovina fresca foi oferecida por três horas.

Após a postura, e para cada população, foram montados grupos experimentais, divididos por ambiente – *indoor* e *outdoor*. Para cada parâmetro avaliado foram feitas quatro réplicas, nas quais os recipientes contendo carne moída bovina fresca receberam 90 ovos, totalizando então 8 grupos para cada população. Temperatura ambiente e umidade relativa do ar foram mensurados de hora em hora, após a

postura e até a eclosão das primeiras larvas com auxílio de um termohigrômetro.

Para avaliar possíveis diferenças entre o tempo de desenvolvimento embrionário e a eclosão nos distintos ambientes e entre populações foram realizados testes de ANOVA de um fator, com auxílio do programa PAST (Hammer *et al.*, 2001). Adicionalmente, para avaliar o efeito das variáveis ambientais (temperatura e umidade) tendo como resposta a taxa de eclosão em distintos ambientes foi conduzido um teste de correlação de Pearson através do R (R Core Team, 2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A eclosão das larvas (N= 169) das duas populações de *L. cuprina* iniciou 22 horas após a postura no ambiente *indoor* (Figura 1). Já no ambiente *outdoor*, a eclosão (N= 160) iniciou a partir de 24 horas após a postura (Figura 1).

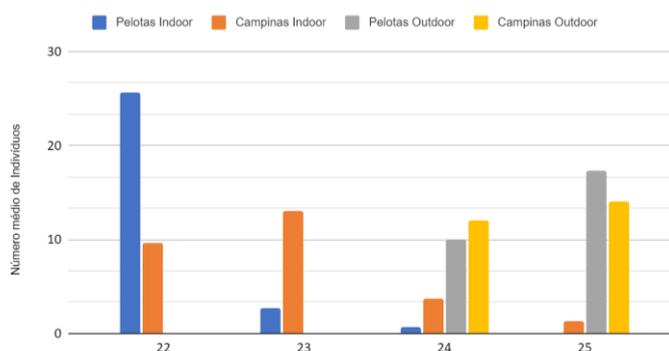


Figura 1. Frequência de eclosão das larvas de *Lucilia cuprina*, por população e tipo de ambiente.

No ambiente *indoor*, larvas da população de Pelotas eclodiram significativamente mais rápido do que as de Campinas ($F= 3,898$; $p < 0,01$). As comparações entre os ambientes e considerando uma mesma população também mostraram que larvas sob a condição *indoor*

eclodiram mais rapidamente do que aquelas sob condição *outdoor* em ambas populações (Campinas: $F= 3,901$; $p< 0,01$; Pelotas: $F= 3,901$; $p< 0,01$). Distintamente, no ambiente *outdoor* para ambas populações não houve diferença significativa em relação ao tempo de eclosão das larvas ($F= 3,901$; $p= 0,22$). Como foram asseguradas que as condições *indoor* e *outdoor* fossem as mesmas para ambas populações, de fato o resultado distinto entre populações no ambiente *indoor* precisa ser melhor investigado.

Durante todo o experimento, observou-se que as temperaturas nos dois ambientes variaram muito pouco (Figura 2). Em ambas condições, as larvas estiveram expostas a uma temperatura média muito próxima do limite térmico ótimo para o seu desenvolvimento, de acordo com Kotzé *et al.* (2015).

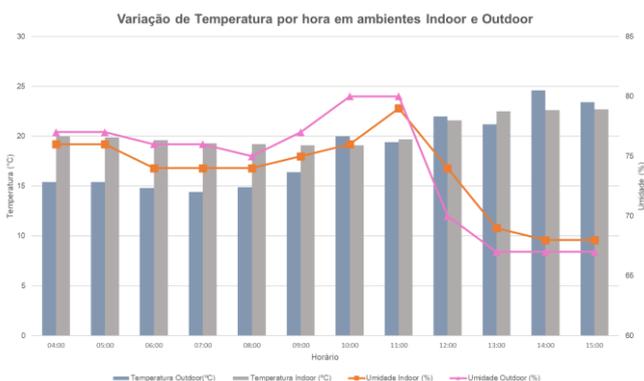


Figura 2. Variação das temperaturas ambientes nas duas condições avaliadas, indoor e outdoor.

Larvas mantidas no ambiente *outdoor* foram expostas a uma temperatura média de $18\pm 1^{\circ}\text{C}$, enquanto aquelas do ambiente *indoor* estiveram sob $20\pm 1^{\circ}\text{C}$. Nossos registros de intervalo de desenvolvimento embrionário são similares aos observados por Wang *et al.* (2020)

para espécies do gênero *Lucilia* que permaneceram sob temperaturas próximas a 20°C , onde fora observado um período médio de incubação de 18 horas. A partir do teste de correlação fica evidente a influência da temperatura sobre a taxa de eclosão (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados do teste de Correlação de Pearson para temperatura ambiente e umidade relativa do ar.

Grupo	Valor de R para Temperatura	Valor de R para Umidade
Pelotas Indoor	0,3031	- 0,0120
Campinas Indoor	0,6890	- 0,4951
Pelotas Outdoor	0,6470	- 0,6396
Campinas Outdoor	0,6864	- 0,6643

Assim como para a temperatura, foi observada uma variação pequena na umidade entre os ambientes *indoor* e *outdoor* (Figura 2). As larvas no ambiente *outdoor* foram expostas a uma média de $74\pm 1\% \text{UR}$, comparada a uma média de $76\pm 1\% \text{UR}$ no *outdoor*. O teste de correlação de Pearson revelou uma correlação negativa entre a umidade e a taxa de eclosão em ambiente *outdoor* (Tabela 1). Por outro lado, no ambiente *indoor* a correlação não foi significativa (Tabela 1). De acordo com esses resultados, quanto menor a umidade, maior a taxa de eclosão. Existem poucas informações na literatura a respeito de como a umidade afeta a incubação de ovos de espécies do gênero *Lucilia*. Segundo Davies (1948), espera-se que os valores estejam acima de 50% UR para que ocorra a eclosão de larvas de *Lucilia sericata*. Os valores aqui registrados mostram que os ovos

de *L. cuprina*, aparentemente, estiveram sob condições ótimas também de umidade.

CONCLUSÕES:

O tempo de eclosão das larvas não variou sob as mesmas condições e entre diferentes populações, exceto no ambiente *indoor*, sugerindo que este fato precisa ser melhor investigado para assegurar confiabilidade na estimativa do IPM. Além disso, os resultados mostraram que dados biológicos não devem ser generalizados sem ampla investigação sobre os fenômenos que influenciam o ciclo de distintas espécies.

BIBLIOGRAFIA

- Alonso, M. A., Souza, C. M., Linhares, A. X., & Thyssen, P. J. (2015). **Egg developmental time and survival of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) under different temperatures.** *Journal of Medical Entomology*, 52(4), 551-556.
- Amendt, J., Richards, C. S., Campobasso, C. P., Zehner, R., & Hall, M. J. (2011). **Forensic entomology: applications and limitations.** *Forensic science, medicine, and pathology*, 7, 379-392.
- Byrd, J.H., Tomberlin, J.K. (2019). **Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations.** 3rd ed. CRC press. pp. 64-84.
- Carvalho, LML, Thyssen PJ, Goff ML, Linhares AX (2004). **Observations on the succession patterns of necrophagous insects onto a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil.** *Aggrawal's International Journal of Forensic Medicine Toxicology*, 5(1), 33-39.
- Catts, E.P. (1992). **Problems in estimating the PMI in death investigations.** *Journal of Agriculture Entomology*, 9(1), 245-255
- Davies, L. (1948). **Laboratory studies on the egg of the blowfly *Lucilia Sericata* (MG).** *The Journal of Experimental Biology*, 25(1), 71–85.
- Hammer, Ø., Harper, D. A., & Ryan, P. D. (2001). **PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis.** *Palaeontologia electronica*, 4(1), 9.
- Kotzé, Z., Villet, M. H., & Weldon, C. W. (2015). **Effect of temperature on development of the blowfly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann)(Diptera: Calliphoridae).** *International journal of legal medicine*, 129, 1155-1162.
- Mendonça, P. M., Barbosa, R. R., Carriço, C., Cortinhas, L. B., dos Santos-Mallet, J. R., & de Carvalho Queiroz, M. M. (2014). **Ultrastructure of immature stages of *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy.** *Acta tropica*, 136, 123-128.
- R Core Team (2021). **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Stevens, J., & Wall, R. (1996). **Species, subspecies and hybrid populations of the blowflies *Lucilia cuprina* and *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae).** *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 263(1375), 1335-1341
- Thyssen, P.J., Aquino, M.F.K., Purgato, N.C.S., Martins, E., Costa, A.A., Lima, C.G.P., Dias, C.R. (2018) **Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil.** *Journal of Forensic Science and Research*, 2, 1-8.
- Wang, M., Wang Y., Hu, G., Y., Xu, W., M., & Wang J. (2020). **Development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) Under Constant Temperatures and its Significance for the Estimation of Time of Death.** *Journal of Medical Entomology*, 57(5), 1373–1381.