

ECOLOGY, BEHAVIOR AND BIONOMICS

Comportamento de Propagação Radial de Larvas de *Muscina stabulans* (Fallén) (Diptera: Muscidae) em Condições de Laboratório

CRISTINE R ZIMMER^{1,2}, SABRINA M PIRES², MARCIAL C CÁRCAMO², PAULO B RIBEIRO^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Depto de Fitossanidade, FAEM, UFPel, CP 354, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil

²Lab de Biologia de Insetos, Depto de Microbiologia e Parasitologia, IB, UFPel, CP 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil

Edited by Eunice Galati – FSP/USP

Neotropical Entomology 39(2):194-197 (2010)

Behavior of Radial Larval Propagation of *Muscina stabulans* (Fallén) (Diptera: Muscidae) under Laboratory Conditions

ABSTRACT - *Muscina stabulans* (Fallén) is a synanthropic fly commonly found in decomposing animal matter. Once food resources are exhausted, larvae will disperse in search for a suitable place to pupariate or for an additional source of food. The behavior of propagation of postfeeding L3 larvae was studied by analyzing the distance of propagation, the depth of pupariation site, the pupal weight and sex ratio using a 50 cm circular arena divided in four quadrants, and filled with a 10 cm thick layer of humid sawdust. The total of 70.9% of the larvae pupariate up to 20 cm away from the arena's center, with 41.8% of them from 2.1 cm to 4.0 cm deep. Pupae that did not yield adults were lighter, and were originated by larvae that moved longer away and dug deeper to pupariate in relation to those from which adults emerged.

KEY WORDS: Larval dispersal, distance of propagation, depth of pupariation

O processo de decomposição de vertebrados é determinado pela ação de microrganismos como fungos e bactérias, com efetiva participação de insetos, os primeiros animais a colonizarem cadáveres. O estudo da fauna cadavérica constitui a aplicação mais importante da entomologia forense e é baseado na sucessão da entomofauna na carcaça (Grassberger & Frank 2004). A diferença na exploração do cadáver ao longo de cada etapa de decomposição e o conhecimento do tempo ocupado por cada estágio de desenvolvimento do inseto, associado a parâmetros abióticos como temperatura, permitem a utilização desses artrópodes para auxiliar na estimativa do intervalo pós-morte (Catts & Goff 1992).

A compreensão do processo de propagação larval envolvendo cadáveres humanos pode ter importantes implicações para investigações médico-criminais (Greenberg 1990, Von Zuben *et al* 1996, Gomes & Von Zuben 2005). Muitos muscídeos utilizam matéria orgânica em decomposição para posturas de ovos e alimentação das larvas (D'Almeida & Almeida 1998), onde estas competem pelo alimento procurando ingerir o máximo possível antes da exaustão dos recursos (Ulyett 1950). As larvas desses insetos dispersam em busca de novas fontes de alimento ou de um local para pupação (Greenberg 1990), sendo que o local onde a pupa é encontrada indica a exata localização onde a larva parou de dispersar (Roux *et al* 2006).

Muscina stabulans (Fallén) apresenta distribuição mundial (Skidmore 1985), ocorrendo frequentemente na Região Sul do Brasil (Raffi 1997). Possui importância na colonização de cadáveres humanos (Benecke & Lessig 2001, Amendt *et al* 2004, Benecke *et al* 2004), sendo relatada como dos primeiros colonizadores do cadáver (Smith 1973).

A utilização de insetos como indicadores do intervalo pós-morte ainda não é frequente pela falta de observações sistemáticas (Gomes & Von Zuben 2006). O objetivo deste trabalho foi estudar, em condições de laboratório, a propagação larval radial pós-alimentar de *M. stabulans*, relacionando a dispersão às variáveis sexo, peso, distância e profundidade de enterramento em uma arena, permitindo, assim, o deslocamento das larvas em todas as direções.

Material e Métodos

Adultos de *M. stabulans* foram capturados no Campus da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), na cidade de Capão do Leão, RS (31°45'48''S e 52°29'02''W) e a colônia foi mantida durante o período de experimentação em câmara climatizada (26 ± 2°C, 75% UR, fotofase de 12h). Os adultos foram mantidos em gaiolas teladas e alimentados com açúcar refinado e farinha de carne (2:1), tendo água à vontade.

Posturas foram obtidas em meio de cultura composto por

farinha de carne e serragem (2:1), ao qual foi adicionada água o suficiente para tornar a consistência do meio pastosa. As posturas foram transferidas para novo recipiente contendo o mesmo meio, dentro de um funil de coleta. Nesse meio, após a eclosão, as larvas foram alimentadas até o terceiro instar, quando então abandonaram o substrato, caindo em um recipiente contendo serragem úmida. As pupas foram mantidas a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, em recipientes contendo serragem úmida até a emergência dos adultos.

Para a montagem dos experimentos, foram obtidas 800 larvas de terceiro instar de forma aleatória em estágio pós-alimentar, as quais foram colocadas no centro de uma arena circular. Foram montadas para esse estudo quatro réplicas com 200 larvas em cada, em arenas com 50 cm de raio, dividida em quatro quadrantes e preenchida com serragem úmida alcançando 10 cm de profundidade. As arenas foram mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições descritas anteriormente, com luminosidade e serragem com umidade uniforme. Após 48h, as pupas foram localizadas de acordo com seus quadrantes, sendo avaliados para cada uma, a distância percorrida do centro da placa, a profundidade e o peso. As pupas foram individualizadas em tubos de ensaio e o sexo dos adultos determinado para se estabelecer relações entre sexo, peso, distância e profundidade de pupação.

As variáveis foram submetidas a análise de variância ($F < 0,05$), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), sempre que diferenças significativas foram verificadas. A associação de frequências entre as variáveis profundidade, distância e sexo foi verificada pelo teste de qui-quadrado a 0,05 de significância.

Resultados e Discussão

Para o total de 656 pupas de *M. stabulans* recuperadas, considerando a distância percorrida do centro da placa, a maior concentração de larvas esteve próximo ao ponto de liberação, entre as distâncias de 0 a 20 cm (Tabela 1), o que resultou em 70,9% de pupas nesse limite. Do total de pupas utilizadas no experimento, 328 deram origem a machos e 242 a fêmeas, sendo 86 inviáveis. Analisando as distâncias percorridas por larvas que deram origem a pupas viáveis e inviáveis, verificou-se que houve diferença significativa entre os dois grupos ($P = 0,0407$).

Tabela 1 Distribuição de frequência das distâncias percorridas por larvas de *Muscina stabulans* em uma arena circular com serragem úmida, em condições de laboratório ($26 \pm 2^\circ\text{C}$, 75% UR, fotofase de 12h).

Classes (cm)	Pupas inviáveis n (%)	Machos n (%)	Fêmeas n (%)	Total n (%)
0 – 10	19 (8,7)*	111 (50,7)	89 (40,6)	219 (33,4)
10,1 – 20	24 (9,8)	125 (50,8)	97 (39,4)	246 (37,5)
20,1 – 30	18 (18,6)	47 (49,0)	31 (32,3)	96 (14,6)
30,1 – 40	14 (21,2)	34 (51,5)	18 (27,3)	66 (10,1)
40,1 – 50	11 (37,9)	11 (37,9)	7 (24,1)	29 (4,42)

n = número de indivíduos (n total = 656)

*Os valores entre parênteses das três primeiras colunas devem ser considerados na horizontal, enquanto os valores entre parênteses da última coluna, na vertical.

Em experimentos de dispersão com espécies da família Calliphoridae, o número de larvas que dispersam também diminuiu com o aumento da distância (Greenberg 1990, Godoy *et al* 1995, 1996, Bassanezi *et al* 1997, de Andrade *et al* 2002, Gomes *et al* 2005). Nas maiores distâncias, compreendidas entre 40,1 cm e 50 cm, foram encontrados apenas 29 indivíduos, sendo que somente um atingiu a distância máxima possível durante o processo de dispersão (50 cm).

No presente estudo, algumas larvas alcançaram pontos muito distantes do centro da arena e apresentaram tendência homogênea na concentração de pupas nos quadrantes do substrato de pupariação, mesmo com a pequena predileção ao terceiro quadrante (35,1%) (Fig 1). Esse fato pode estar relacionado à percepção de larvas já enterradas ou, ainda associado à busca por novo substrato alimentar para terminar seu ciclo de desenvolvimento, assim como sugerido por Boldrini *et al* (1997).

Com relação à profundidade total de enterramento, houve maior agrupamento entre as profundidades de 2,1 cm a 4,0 cm, totalizando 274 pupas (41,8% do total delas) (Tabela 2). As pupas que não originaram adultos viáveis concentraram-se entre as profundidades de 5,1 cm e 6,0 cm (23,2%). As pupas que originaram adultos tiveram concentrações

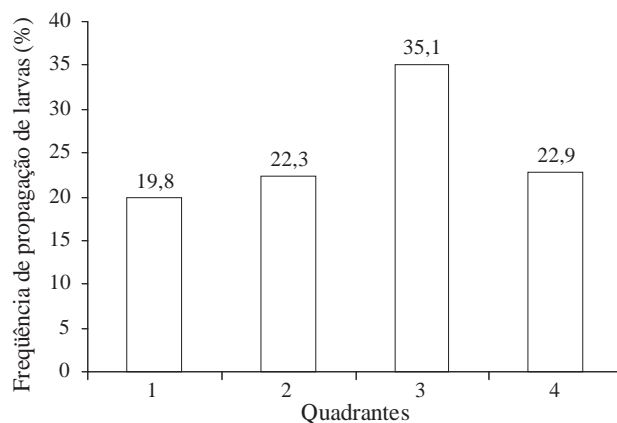


Fig 1 Distribuição de frequências da propagação de larvas pós-alimentar de *Muscina stabulans* por quadrante, em uma arena circular com serragem umedecida, em condições de laboratório ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; 75% UR; fotofase: 12h) (n = 656).

Tabela 2 Distribuição de frequência da profundidade de pupariação de *Muscina stabulans*, em uma arena circular com serragem úmida, em condições de laboratório ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: 75% e fotofase: 12h).

Classes (cm)	Pupas inviáveis n (%)	Machos n (%)	Fêmeas n (%)	Total n (%)
0 – 1	4 (7,7)*	29 (55,8)	19 (36,5)	52 (7,9)
1,1 – 2	10 (10,5)	47 (49,5)	38 (40,0)	95 (14,5)
2,1 – 3	18 (13,0)	65 (46,8)	56 (40,3)	139 (21,2)
3,1 – 4	11 (8,2)	73 (54,1)	51 (37,8)	135 (20,6)
4,1 – 5	14 (14,9)	46 (48,9)	34 (36,2)	94 (14,3)
5,1 – 6	20 (27,0)	33 (44,6)	21 (28,4)	74 (11,3)
6,1 – 7	7 (16,7)	21 (50,0)	14 (33,3)	42 (6,4)
7,1 – 8	1 (6,67)	7 (46,7)	7 (46,7)	15 (2,3)
8,1 – 9	1 (20,0)	3 (60,0)	1 (20,0)	5 (0,8)
9,1 – 9,8	-	4 (80,0)	1 (20,0)	5 (0,7)

n = número de indivíduos (n total = 656)

*Os valores entre parênteses das três primeiras colunas devem ser considerados na horizontal, enquanto os valores entre parênteses da última coluna, na vertical.

diferenciadas, 22,2% do total de machos concentraram-se entre as profundidades de 3,1 cm e 4,0 cm e 23,1% das fêmeas entre 2,1 cm e 3,0 cm de profundidade (Tabela 2). Não houve diferença significativa entre a profundidade de enterramento de pupas que originaram adultos e aquelas inviáveis ($P = 0,1079$).

Os resultados referentes às médias de distância de dispersão, profundidade de enterramento e peso de pupas, quando separadas por sexo (Tabela 3), sugerem que as larvas de *M. stabulans* em estágio pós-alimentar que originaram pupas inviáveis estavam, possivelmente, em busca de outras fontes de alimento. As mesmas percorreram maiores distâncias (22,8 cm) e enterraram-se mais profundamente (4,1 cm), além de apresentarem peso médio (26,5 mg) inferior ao das pupas que deram origem a fêmeas (28,0 mg) e machos (30,6 mg) ($P < 0,001$). Dessa forma, não originaram adultos, possivelmente por não terem alcançado o peso mínimo de pupariação. O maior deslocamento de larvas menores (mais leves) já foi relatado na literatura (Gomes et al 2002, 2005, Gomes & Von Zuben 2004), sendo sugerido que esse comportamento ocorre devido à procura por nova fonte de alimento para que a larva possa atingir o peso mínimo necessário para completar seu desenvolvimento (Gomes et al 2002). Ainda, é provável que as larvas mais leves movimentem-se por distâncias mais longas não somente porque não alcançaram o peso mínimo para a pupariação, mas por não apresentarem capacidade de competir por alimento

com larvas maiores e mais aptas (Gomes et al 2007).

O comportamento de dispersão larval pós-alimentar, e o consequente padrão de distribuição espacial das pupas nos locais de pupariação, pode estar associado à suscetibilidade das larvas ou pupas ao ataque de inimigos naturais, como predadores e parasitóides, expostas em ambientes naturais (Legner 1977), bem como, à fuga de adversidades abióticas.

Os estudos de dispersão podem ter importantes implicações para investigações médico-legais, porque indicam onde resgatar larvas em estágio pós-alimentar e pupas em cadáveres ou nas circunvizinhanças, com o objetivo de estimar o intervalo de tempo entre a morte e a descoberta do cadáver, referido como intervalo pós-morte (IPM) (Von Zuben et al 1996). Essa estimativa do IPM constitui um aspecto fundamental em estudos de medicina legal (Smith 1986), podendo ser seriamente prejudicada, por subestimativa do IPM, caso não sejam consideradas as larvas dispersantes (Von Zuben et al 1996).

Sob as condições deste experimento, apenas um espécime atingiu a distância máxima. Quanto à profundidade de pupariação, limitada a apenas 10 cm, cinco espécimes enterraram-se entre 9,1 cm e 9,8 cm para formarem seus pupários. Os resultados obtidos permitem concluir que as larvas em estágio pós-alimentar que não atingiram o peso mínimo necessário para pupariação, apresentaram maior atividade sobre o substrato do que as que originaram machos

Tabela 3 Médias da distância percorrida por larvas, da profundidade de pupariação e do peso de pupas de *Muscina stabulans* por sexo, cujas larvas em estágio pós-alimentar, foram mantidas em arena circular com serragem úmida, em condições de laboratório ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; 75% UR; fotofase: 12h).

	Pupas inviáveis ($X \pm EP$) (n = 86)	Machos ($X \pm EP$) (n = 328)	Fêmeas ($X \pm EP$) (n = 242)
Distância (cm)	$22,8 \pm 1,34$	$17,0 \pm 0,59$	$15,3 \pm 0,62$
Profundidade (cm)	$4,1 \pm 0,19$	$3,7 \pm 0,11$	$3,6 \pm 0,11$
Peso (mg)	$26,5 \pm 0,0003$	$30,60 \pm 0,10$	$28,0 \pm 0,0003$

X = média; EP = erro padrão; n = número de indivíduos (n total = 656)

e fêmeas, apresentando distância de dispersão e profundidade de pupariação maiores, mas todas seguindo padrão aleatório de dispersão.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de doutorado para o primeiro autor, e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pela concessão de bolsa de iniciação científica para o terceiro autor.

Referências

- Amendt J, Krettek R, Zehner R (2004) Forensic entomology. *Naturwissenschaften* 91: 51-65.
- Bassanezi R C, Leite M B F, Godoy W A C, Von Zuben C J, Von Zuben F J, Reis S F dos (1997) Diffusion model applied to postfeeding larval dispersal in blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 281-286.
- Benecke M, Josephib E, Zweihoff R (2004) Neglect of the elderly: forensic entomology cases and considerations. *Forensic Sci Int* 146: 195-199.
- Benecke M, Lessig R (2001) Child neglect and forensic entomology. *Forensic Sci Int* 120: 155-159.
- Boldrini J L, Bassanezi R C, Moretti A C, Von Zuben F J, Godoy W A C, Von Zuben C J, Reis S F dos (1997) Non-local interactions and the dynamics of dispersal in immature insects. *J Theor Biol* 185: 523-531.
- Catts E P, Goff M L (1992) Forensic entomology in criminal investigations. *Annu Rev Entomol* 37: 253-272.
- D'Almeida J M, Almeida J R (1998) Nichos tróficos em dípteros caliptrados, no Rio de Janeiro, RJ. *Rev Bras Biol* 58: 563-570.
- De Andrade J B, Rocha F A, Rodrigues P, Rosa G S, Faria L D B, Von Zuben C J, Rossi M N, Godoy W A C (2002) Larval dispersal and predation in experimental populations of *Chrysomya albiceps* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 1137-1140.
- Godoy W A C, Fowler H G, Von Zuben C J, Ziti L, Ribeiro O B (1995) Larval dispersion in *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* and *Cochliomyia macellaria* (Dipt. Calliphoridae). *J Appl Entomol* 119: 263-266.
- Godoy W A C, Von Zuben C J, Reis S F (1996) Larval dispersal in *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* and *Cochliomyia macellaria* (Dipt., Calliphoridae) ecological consequences of aggregation behavior. *J Appl Entomol* 120: 423-426.
- Gomes L, Gomes G, Oliveira H G, Von Zuben C J, Silva I M da, Sanches M R (2007) Efeito do tipo de substrato para pupação na dispersão larval pós alimentar de *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *Iheringia, Ser Zool* 97: 239-242.
- Gomes L, Sanches M R, Von Zuben C J (2005) Dispersal and burial behavior in larvae of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *J Insect Beh* 18: 281-292.
- Gomes L, Von Zuben C J (2004) Dispersão larval radial pós-alimentar em *Lucilia cuprina* (Diptera, Calliphoridae): profundidade, peso e distância de enterramento para pupação. *Iheringia, Ser Zool* 94: 135-138.
- Gomes L, Von Zuben C J (2005) Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. *Forensic Sci Int* 155: 61-64.
- Gomes L, Von Zuben C J (2006) Forensic entomology and main challenges in Brazil. *Neotrop Entomol* 35: 1-11.
- Gomes L, Von Zuben C J, Govone J C (2002) Comportamento da dispersão larval radial pós-alimentar em moscas-varejeiras do gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae): busca por novas fontes de alimento. *Entomol Vect* 9: 115-132.
- Grassberger M, Frank C (2004) Initial study of arthropod succession on pig carrion in a central european urban habitat. *J Med Entomol* 41: 511-523.
- Greenberg B (1990) Behavior of postfeeding larvae of some Calliphoridae and a muscid (Diptera). *Ann Entomol Soc Am* 83: 1210-1214.
- Legner E F (1977) Temperature, humidity and depth of habitat influencing host destruction and fecundity of muscoid fly parasites. *Entomophaga* 22: 199-206.
- Raffi L L (1997) Exigências térmicas, longevidade e viabilidade dos estágios de desenvolvimento da *Muscina stabulans* Fallén, 1825 (Diptera: Muscidae), em condições de laboratório, em Pelotas, RS. Dissertação de mestrado, Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 45p.
- Roux O, Gers C, Telmon N, Legal L (2006) Circular dispersal of larvae in the necrophagous Diptera *Protophormia terraenovae* (Diptera: Calliphoridae). *Ann Soc Entomol France* 42: 51-56.
- Skidmore P (1985) The biology of the Muscidae of the world. Dordrecht, Dordrecht Kunk, 550p.
- Smith K G V (1986) A manual of forensic entomology. Ithaca, Cornell University, 475 p.
- Smith K G V (1973) Forensic entomology, p.483-486. In Smith K G V (ed.) Insects and other arthropods of medical importance. London, The Trustees of the British Museum (Natural History), 561p.
- Ullyett G C (1950) Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Philosophical. Trans Roy Soc London, Series B* 234: 77-174.
- Von Zuben C J, Bassanezi R C, Reis S F, Godoy W A C, Von Zuben F J (1996) Theoretical approaches to forensic entomology. I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. *J Appl Entomol* 120: 379-382.

Received 24/VIII/08. Accepted 02/XII/09.