

**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”**

Andressa Merlo Bernardes

**Padrões de Enterramento Associados à Distribuição Larval e Predação
Intraguilda em Moscas-varejeiras**

Botucatu
2009

Andressa Merlo Bernardes

**Padrões de Enterramento Associados à Distribuição Larval e Predação
Intraguilda em Moscas-Varejeiras**

Trabalho Científico apresentado
para a obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas –
Modalidade Médica na
Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”

Professor Orientador: Wesley Augusto Conde Godoy

Botucatu
2009

Trabalho escrito no formato exigido pela revista científica "Journal of Insect Behavior"

Padrões de Enterramento Associados à Distribuição Larval e Predação Intraguilda em Moscas-Varejeiras

Andressa Merlo Bernardes

Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo

Endereço para Correspondência:

Departamento de Entomologia e Acarologia, Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz", Avenida Pádua Dias, 11, Caixa Postal 9, CEP: 13418-900, Piracicaba – SP
e-mail: dressa2004@gmail.com

Resumo

Um dos fatores mais estudados recentemente em populações de moscas-varejeiras importantes para a Entomologia Forense é a dispersão larval. A dispersão é um importante processo para o ciclo das moscas-varejeiras, já que durante esse período as larvas deixam o substrato alimentar procurando um lugar apropriado para se enterrarem, e se tornarem pupas e adultos. Moscas-varejeiras também exibem geralmente intensa atividade interativa, sobretudo durante o período larval, competindo por recursos alimentares e/ou agindo como predadora intraguilda, principalmente no caso específico de *Chrysomya albiceps*. Estas interações têm resultado no declínio de espécies nativas. Neste estudo pretende-se investigar o comportamento larval de *Chrysomya megacephala* e *C. albiceps*, concentrando-se na análise da dispersão larval pós-alimentar em sítios previamente ocupados por pupas, para avaliar se a presença prévia de pupas da mesma e de espécie diferente pode influenciar os padrões de dispersão larval.

Palavras-chave: predação intraguilda Calliphoridae dispersão larval

Introdução

A Entomologia Forense é uma subárea da Medicina Legal utilizada principalmente para a determinação do intervalo pós-morte, em investigações criminais (Anderson, 2004). Os insetos são atraídos por corpos em estados específicos de decomposição; com espécies particulares colonizando um cadáver por um período limitado de tempo. A sucessão faunística, associada ao conhecimento das taxas de desenvolvimento em condições específicas, fornece uma estimativa do intervalo pós-morte (Benecke, 2001). No Brasil, é recente a pesquisa desenvolvida na área, sendo que, no momento, atividades intensas têm sido desenvolvidas para a criação de um banco de dados capaz de auxiliar a perícia no que diz respeito à diversidade da fauna de artrópodes necrófagos (Souza et al. 1997, Carvalho & Linhares, 2001; Carvalho et al. 2000). Boa parte das publicações científicas no Brasil tem a sucessão ecológica de artrópodes em carcaças animais como tema principal, considerando a sazonalidade e priorizando áreas silvestres, onde normalmente há maior interesse forense (Carvalho et al. 2000, Carvalho et al. 2004).

A fauna necrófaga brasileira ainda não é plenamente conhecida, principalmente no que diz respeito às espécies silvestres, apesar dos intensos estudos realizados nos últimos anos constituírem contribuição substancial à Entomologia Forense (Souza et al. 1997, Carvalho & Linhares, 2000; Carvalho et al. 2000, 2001). Os Dípteros califorídeos têm recebido maior atenção em razão da introdução há cerca de trinta anos, de espécies de moscas-varejeiras do Gênero *Chrysomya*, originárias do Velho Mundo (Guimarães et al. 1978, 1979). Estas espécies interagem intensamente com outras, competindo por recursos alimentares e/ou agindo como

predadoras intraguilda, principalmente no caso específico de *C. albiceps* (Faria et al. 1999; Rosa et al. 2006). Estas interações têm resultado no declínio de *Cochliomyia macellaria*, uma espécie nativa abundante antes da invasão biológica (Guimarães et al. 1978, 1979).

As espécies do gênero *Chrysomya* são consumidoras primárias de matéria orgânica animal em decomposição (Braack, 1987), o que torna o estudo dos aspectos ecológicos e comportamentais das diferentes populações, importante para auxiliar peritos na determinação do intervalo pós-morte. Um dos fatores mais estudados recentemente é a dispersão larval. A dispersão é um importante processo para o ciclo das moscas varejeiras, já que durante esse período as larvas deixam o substrato alimentar procurando um lugar apropriado para se enterrarem, e se tornarem pupas e adultos (Levot et al., 1979; Godoy et al., 1995, 1996; Reigada & Godoy, 2005).

Após o processo competitivo que ocorre geralmente durante a fase alimentar, as larvas começam a procurar por um sítio de pupação, esse fenômeno é conhecido como dispersão larval pós-alimentar (Greenberg, 1990). A distribuição espacial das pupas pode influenciar a susceptibilidade de ataque de predadores ou parasitas (Legner, 1997; Peschke et al., 1987; Von Zuben et. al., 1996). Vários fatores podem ter influência sobre o padrão de dispersão, tais como: luminosidade, temperatura, umidade, grau de compactação do solo e presença de outras espécies. A análise dos padrões de dispersão larval e da especificidade local pode determinar se o cadáver encontrado foi removido do lugar original, ou mesmo se foi colocado ali após algum tempo. (Benecke, 2001).

Além da dispersão larval pós alimentar, algumas pesquisas têm sido direcionadas para a investigação da predação larval intraguilda em duas espécies do

gênero *Chrysomya*, *C. albiceps* e *C. rufifacies* (Wells & Kurahashi, 1997; Faria et al. 1999, 2004; Reigada & Godoy, 2005; Rosa et al. 2006). A predação intraguilda é uma interação trófica em que um dos competidores torna-se predador (Polis et al. 1989). A interação é normalmente freqüente em ambientes sujeitos à escassez alimentar, sobretudo em moscas-varejeiras (Faria et al. 1999). A predação intraguilda tem influência sob vários aspectos ecológicos das moscas necrófagas. Pode, por exemplo, diminuir o número de indivíduos da espécie que tem suas larvas predadas (Faria et al. 1999) ou alterar o padrão de distribuição de freqüência em larvas (Andrade et al. 2002, Reigada & Godoy, 2005). Portanto, a predação larval pode ter forte influência sobre a fauna presente nos sítios criminais além de interferir na dinâmica populacional das espécies, tanto presas como predadora. Além disso, pode alterar padrões ecológicos de flutuação espaço-temporal e/ou agir sobre a taxa de desenvolvimento das espécies (Grassberger, 2003).

1. Objetivos

Os objetivos específicos do estudo foram:

1. Investigar a distribuição larval de cada espécie sem indivíduos previamente colocados
2. Investigar se a presença prévia de larvas pode influenciar padrões de distribuição de frequência larval
3. Investigar se a presença prévia de pupas pode influenciar padrões de distribuição de frequência larval

Material e Métodos

As populações experimentais de *C. albiceps* e *C. megacephala* foram formadas a partir de coletas de espécimes no campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo, Brasil. Os adultos foram mantidos em sala climatizada, a $25 \pm ^\circ\text{C}$ e UR de 70% em gaiolas (30 X 30 X 30 cm) cobertas com nylon. Foram fornecidos água e açúcar *ad libitum*. Os ovos foram obtidos provendo fígado fresco para as fêmeas e transferidos para frascos contendo carne moída suficiente para a manutenção das larvas, as quais foram mantidas em câmaras climáticas nas condições acima especificadas.

Os experimentos foram realizados utilizando recipientes em forma de cruz com “braços” de 40cm de comprimento e 20cm de largura, confeccionados com madeira compensada. Os recipientes foram preenchidos com serragem fina.

Para o primeiro experimento, 50 larvas de *C. albiceps* ou *C. megacephala* foram colocadas no centro para que dispersassem. Para o segundo experimento, 10 larvas foram colocadas em tubos *ependorf* perfurados para que o odor das larvas pudesse ser liberado, cada tubo com uma espécie, na seguinte configuração (Figura 1):

- Setor 1: 4 *ependorfs* contendo 10 larvas de *C. albiceps* cada,
- Setor 2: 4 *ependorfs* contendo 10 larvas de *C. megacephala* cada,
- Setor 3: 2 *ependorfs* contendo 10 larvas de *C. albiceps* cada e 2 *ependorfs* contendo 10 larvas de *C. megacephala* cada,
- O setor 4 permaneceu vazio

Para o terceiro experimento, pupas foram colocadas perto do local de soltura das 50 larvas na seguinte configuração (Figura 2)

- Setor 1: 50 pupas de *C. albiceps*,

- Setor 2: 50 pupas de *C. megacephala*,
- Setor 3: 25 pupas de *C. albiceps* e 25 pupas de *C. megacephala*,
- O setor 4 permaneceu vazio

Os recipientes foram deixados em sala climatizada a $25 \pm ^\circ\text{C}$ até que todas as larvas se enterrassem para a formação das pupas. A serragem foi, então, peneirada, e as pupas de cada “braço” recolhidas e armazenadas conforme a espécie. Após a emergência dos adultos, para identificação, o número de pupas encontrado foi registrado em cada extremidade da caixa. Cinco réplicas foram feitas para cada experimento.

Os resultados foram analisados pela aplicação do teste G para determinação da homogeneidade entre as réplicas dos experimentos realizados e comparação entre os padrões de dispersão larval encontrados. (Zar, 1999).

Resultados

O número de indivíduos encontrados em cada experimento é apresentado nas tabelas de I a VI. Os resultados apresentados nas tabelas foram tabulados de forma a produzir os gráficos de tendência de dispersão larval para cada espécie, em cada réplica (figuras 3 a 8).

Cada setor da caixa utilizada nos experimentos é representado por um ângulo específico no gráfico. O ângulo de 90° representa o setor 1, o ângulo 0° representa o setor 2, 270° representa o setor 3 e o ângulo 180° é equivalente ao setor 4. Os eixos X e Y representam o número de pupas recolhidas para um determinado setor. Os 4 pontos do gráfico, os quais representam o número de pupas e o setor em que elas foram encontradas, foram conectados para que o gráfico fornecesse o padrão de dispersão de uma espécie em uma determinada réplica de um experimento. Os gráficos de cor vermelha representam os padrões de dispersão das larvas de *Chrysomya megacephala* (Figuras 3, 5 e 7); e os gráficos de cor azul, representam os padrões de dispersão das larvas de *Chrysomya albiceps* (Figuras 4, 6 e 8).

Aplicou-se então, o Teste G para testar a homogeneidade entre réplicas. O resultado para o experimento onde as larvas dispersavam em substrato limpo foi:

- *Chrysomya megacephala*: $G=7,83$; $p=0,7975$; G crítico= 21,023
- *Crysomya albiceps*: $G= 19,10$; $p= 0,0860$; G crítico= 21,023

O mesmo teste estatístico foi aplicado para o experimento onde haviam larvas confinadas em tubos ependorfs perfurados, tendo como saída o resultado a seguir:

- *Chrysomya megacephala*: $G=7,98$; $p=0,7861$; G crítico= 21,03
- *Crysomya albiceps*: $G= 21,88$; $p= 0,0388$; G crítico= 21,03

Assim como nos dois primeiros, o experimento onde foram colocadas pupas perto do local de soltura das larvas foi testado para homogeneidade de réplicas e teve como resultado os seguintes valores:

- *Chrysomya megacephala*: $G=27,49$; $p=0,0065$; G crítico= 21,03
- *Crysomya albiceps*: $G= 16,29$; $p= 0,1779$; G crítico= 21,03

Discussão

Os gráficos do experimento onde as larvas dispersavam em substrato limpo, apresentados nas figuras 3 e 4, indicam, a priori, que ambas as espécies apresentam um padrão de distribuição de frequência. O valor de significância no teste G aplicado nesse experimento, tanto para *C. albiceps* e *C. megacephala*, foi maior que 0.05, confirmando a observação dos gráficos; sugerindo, assim, que ambas as espécies exibem um padrão similar de dispersão, embora sejam diferentes para cada espécie, como evidenciado nas figuras 3 e 4.

Em trabalhos anteriores, verificou-se a mudança de padrão de dispersão para *Chrysomya albiceps* quando haviam pupas previamente colocadas no meio de pupação. O mesmo comportamento se nota quando colocamos larvas em ependorfs perfurados dentro do sítio de pupação. A observação dos gráficos mostra uma possível manutenção do padrão de dispersão de *C. megacephala* e a aparente aleatorização do padrão de dispersão ocorre com larvas de *C. albiceps* (Figuras 5 e 6). Reigada & Godoy (2005) estudaram a migração larval em *C. albiceps* e *C. megacephala*, observando que *C. megacephala* altera o seu padrão tornando-o aleatório, provavelmente em função da presença da larva predadora. No presente estudo um comportamento reverso foi observado. O teste G mostra que o padrão se torna heterogêneo no tocante à distribuição entre réplicas ($p < 0.05$) quando larvas de *C. albiceps* dispersam em substrato onde os ependorfs contendo larvas se encontram. A diferença entre os resultados dos dois estudos, Reigada & Godoy (2005) e o atual, pode estar relacionada à diferença de dimensões entre as duas caixas. Nos experimentos de Reigada & Godoy (2005) foi utilizada uma caixa que permitia que as larvas se movessem apenas bidirecionalmente, enquanto que neste

estudo as larvas poderiam escolher múltiplas direções para realizar a dispersão pós alimentar.

Nos experimentos realizados com pupas colocadas nas proximidades do local de soltura das larvas observou-se uma inversão do comportamento larval. As larvas de *Chrysomya megacephala* tiveram seu padrão de dispersão alterado com a presença das pupas; enquanto que as larvas de *Chrysomya albiceps* mantiveram réplicas homogêneas entre si ($p > 0,05$), confirmando assim os resultados obtidos por Reigada & Godoy (2005). Pode-se supor, portanto, que as espécies se guiam por diferentes mecanismos para encontrar o melhor lugar de pupação. *C. megacephala* pode ter seu padrão de dispersão alterado devido ao contato físico com pupas de outras espécies; já o padrão de dispersão das larvas de *C. albiceps* pode mudar quando o odor de outra espécie está presente no substrato; uma vez que nos experimentos com larvas confinadas em ependorfs essa espécie teve seu padrão perturbado.

Modificações comportamentais são observadas em diversos grupos taxonômicos, sobretudo insetos, em resposta à predação, parasitismo, ações patogênicas ou mecanismos dependentes da densidade quando a escassez alimentar se faz presente (Polis, 1981; Horton and Moore, 1993; Dennis *et al.*, 1995; Faria *et al.*, 1999). As mudanças comportamentais são, geralmente, alterações nas relações animais, incluindo fuga para presas ou agressividade para predadores. Analisando tanto a distribuição quanto as mudanças comportamentais, podem ocorrer interferências decorrentes uma da outra, mas interferências podem influenciar significativamente a conduta da população presente no substrato alimentar, com conseqüências para a estrutura da fauna local, dinâmica

populacional e repercussões para avaliações forenses, quando se tratar de populações colonizando corpos.

Contudo, os resultados obtidos são promissores e indicam que o sistema larval é altamente influenciado por substâncias químicas e condições físicas capazes de alterar padrões de distribuição de frequência em larvas de moscas, sugerindo a realização de futuros estudos envolvendo ecologia química.

Referências

- Anderson, G.S. 2004. Determining time of death using blow fly eggs in the early postmortem interval. *Int. J. Legal Med.* 118: 240 – 241.
- Andrade, J.B.A., F.A. Rocha, P. Rodrigues, G.S. Rosa, L.D.B. Faria, C.J. Von Zuben, M.N. Rossi & W.A.C. Godoy. 2002. Larval dispersal and predation in experimental populations of *Chrysomya albiceps* and *Cochliomyia macellaria*. *Mem. Inst. Oswaldo*
- Benecke, M. 2001. A brief history of forensic entomology. *For. Sci. Int.* 120: 2 – 14.
- Braack, L. E. O. 1987. Community dynamics of carrion-attendant arthropods in tropical african woodland. *Oecologia*, 72: 402-409.
- Carvalho, L.M.L.; Thyssen, P.J.; Goff, M.L. & Linhares, A.X. 2004. Observations on the succession patterns of necrophagous insects onto a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil. *Aggrawal's Int. J. For. Med. Toxicol.*, 5: 33-39.
- Carvalho, L.M.L. & Linhares, A.X. 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. *J. For. Sci.* 46: 604-608.
- Carvalho, L.M.L.; Thyssen, P.J.; Linhares, A.X. & Palhares, F.B. 2000. A checklist of arthropods associated with carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 95 (1): 135-138.
- Faria, L. D. B., Orsi, L., Trinca, L. A. & Godoy, W. A. C. 1999. Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*. *Ent. Exp. App.* 90: 149-155.
- 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* (Diptera: Calliphoridae). *J. App. Ent.* 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 implications of aggregation behavior. J. App. Ent. 120: 423-426.
- Grassberger, M., E. Fridrich, & C. Reiter. 2003. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe Int. J. Legal Med. 117: 75-81.
- Greenberg, B. 1990. Behavior of postfeeding larvae of some Calliphoridae and a muscid (Diptera). Ann. Entomol. Soc. Am. 83: 1210–1214.
- Guimarães, J. H., Prado, A. P., Linhares, A. X. 1978. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). Revta. Bras. Entomol., 22: 53-60.
- Guimarães, J. H., Prado, A. P., Buralli, G. M. 1979. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). Revta. Bras. Entomol., 23: 245-255.
- Legner, E. F. (1977) Temperature, humidity and depth of habitat influencing host destruction and fecundity of muscoid fly parasites. Entomophaga 22:199–206.
- Levot, G. W., Brown, K. R., Shipp, E. 1979. Larval growth of some Calliphoridae and Sarcophagidae Diptera. Bull. Entomol. Res. 69: 469-475.
- Peschke, K., Krapf, D., Fuldner, D. 1987. Ecological separation, functional relationships, and limiting resources in a carrion insect community. Zool Jb Syst 114: 241–265.
- Polis, G.A., C.A. Myers & R.D. Holt. 1989. The ecology and evolution of intraguild predation: Potential competitors that eat other. Annu. Rev. Ecol. System. 20: 297-330.

- Reigada, C., Godoy, W. A. C. 2005. Dispersal and Predation Behavior in Larvae of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). J. Ins. Beh. 18: 543-555.
- Rosa, G. S., Carvalho, L. R., Reis, S. F., Godoy, W. A. C. 2006. The Dynamics of Intraguild Predation in *Chrysomya albiceps* Wied. (Diptera: Calliphoridae): Interactions between Instars and Species under Different Abundances of Food. Neot. Ent. 35: 775-780.
- Souza, A.M. & Linhares, A.X. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in Southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. Med. Vet. Entomol., 11: 8-12.
- Von Zuben, C. J., Bassanezi, R. C., Reis, S. F., Godoy, W. A. C., Von Zuben, F. J. V. 1996. Theoretical approaches to forensic entomology: I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. J. Appl. Entomol. 120: 379–382.
- Wells, J. D. & H. Kurahashi, 1997. *Chrysomya megacephala* (Fabr.) is more resistant to attack by *Chrysomya rufifacies* (Macquart) in laboratory arena than is *Cochliomyia macellaria* (Fabr.) (Diptera: Calliphoridae). Pan-Pac. Entomol. 73: 16–20.

Tabelas

Tabela I

Setor	R1	R2	R3	R4	R5
1	12	14	14	8	7
2	13	6	13	20	22
3	20	20	16	15	15
4	5	10	7	7	6
Σ	50	50	50	50	50

Pupas encontradas em cada setor nos experimentos onde larvas de *C. albiceps* dispersavam em substrato limpo.

Tabela II

Setor	N1	N2	N3	N4	N5
1	15	17	16	10	10
2	14	13	15	15	14
3	9	8	17	14	14
4	12	12	12	7	12
Σ	50	50	50	50	50

Pupas encontradas em cada setor nos experimentos onde larvas de *C. megacephala* dispersavam em substrato limpo.

Tabela III

Setor	N1	N2	N3	N4	N5
1	21	16	15	10	18
2	13	12	6	8	15
3	10	17	15	22	11
4	6	5	14	10	6
Σ	50	50	50	50	50

Pupas encontradas em cada setor nos experimentos onde larvas de *C. albiceps* dispersavam em substrato contendo larvas confinadas em ependorfs..

Tabela IV

Setor	N1	N2	N3	N4	N5
1	14	12	10	9	9
2	14	11	20	14	14
3	11	11	9	15	11
4	11	16	11	12	16
Σ	50	50	50	50	50

Pupas encontradas em cada setor nos experimentos onde larvas de *C. megacephala* dispersavam em substrato contendo larvas confinadas em ependorfs..

Tabela V

Setor	N1	N2	N3	N4	N5
1	10	19	12	7	11
2	17	9	18	13	13
3	10	10	8	18	15
4	9	12	11	8	11
meio	2	0	1	4	0
Σ	50	50	50	50	50

Pupas encontradas em cada setor nos experimentos onde larvas de *C. albiceps* dispersavam em substrato contendo pupas perto do local de soltura.

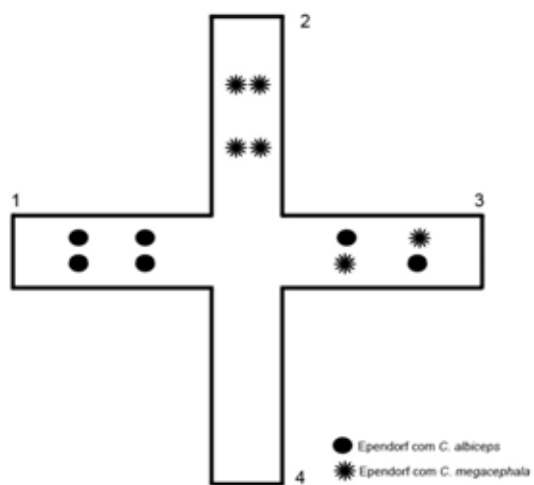
Tabela VI

Setor	N1	N2	N3	N4	N5
1	10	7	12	9	19
2	14	6	12	10	14
3	15	10	7	13	7
4	9	24	16	16	8
meio	5	3	3	2	2
Σ	50	50	50	50	50

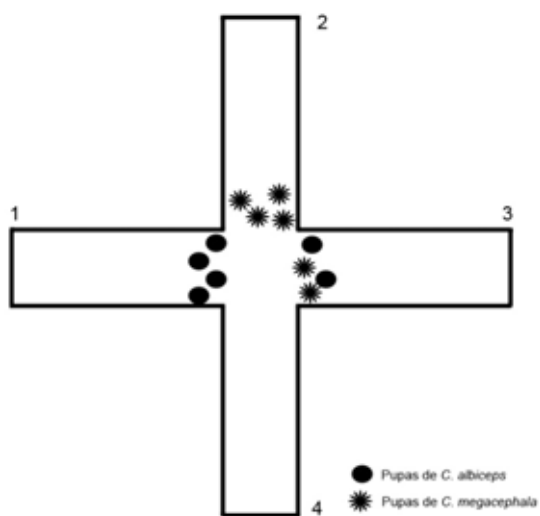
Pupas encontradas em cada setor nos experimentos onde larvas de *C. megacephala* dispersavam em substrato contendo pupas perto do local de soltura.

Figuras

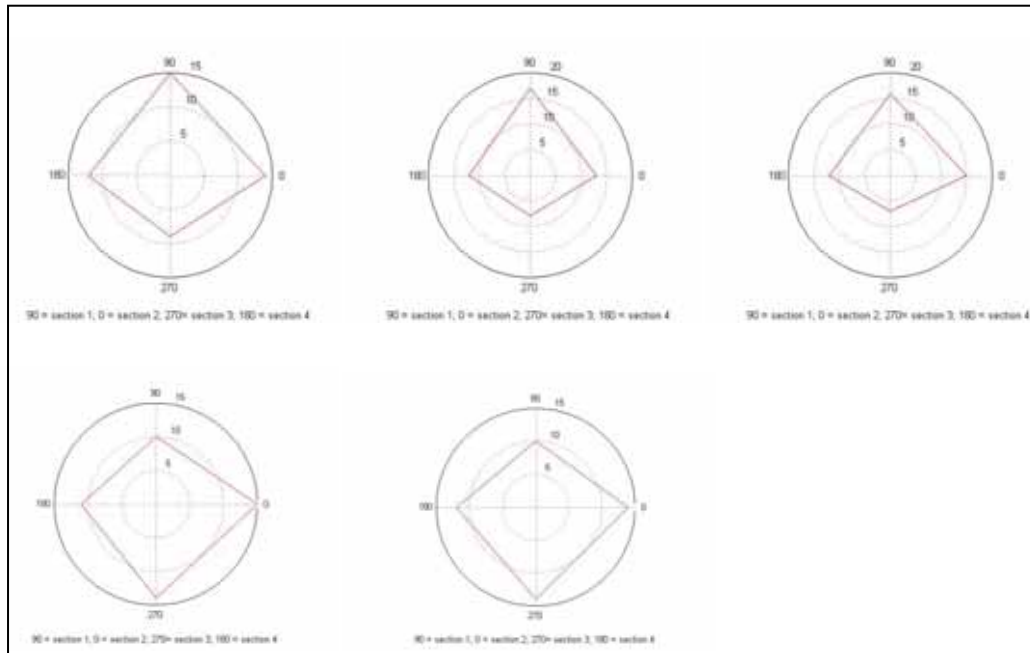
1.



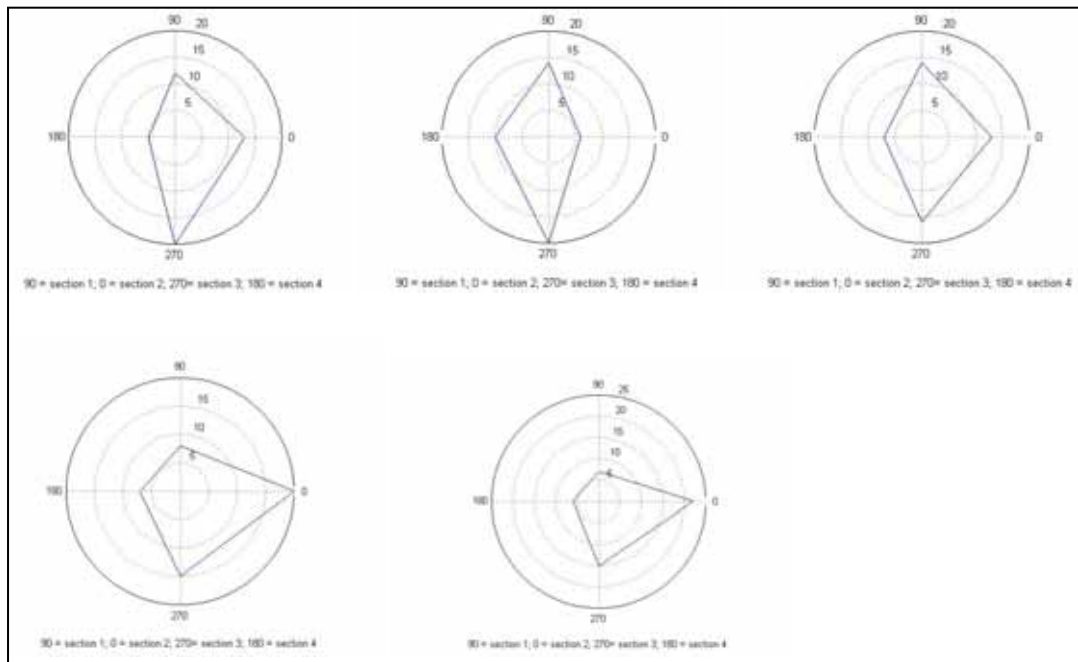
2.



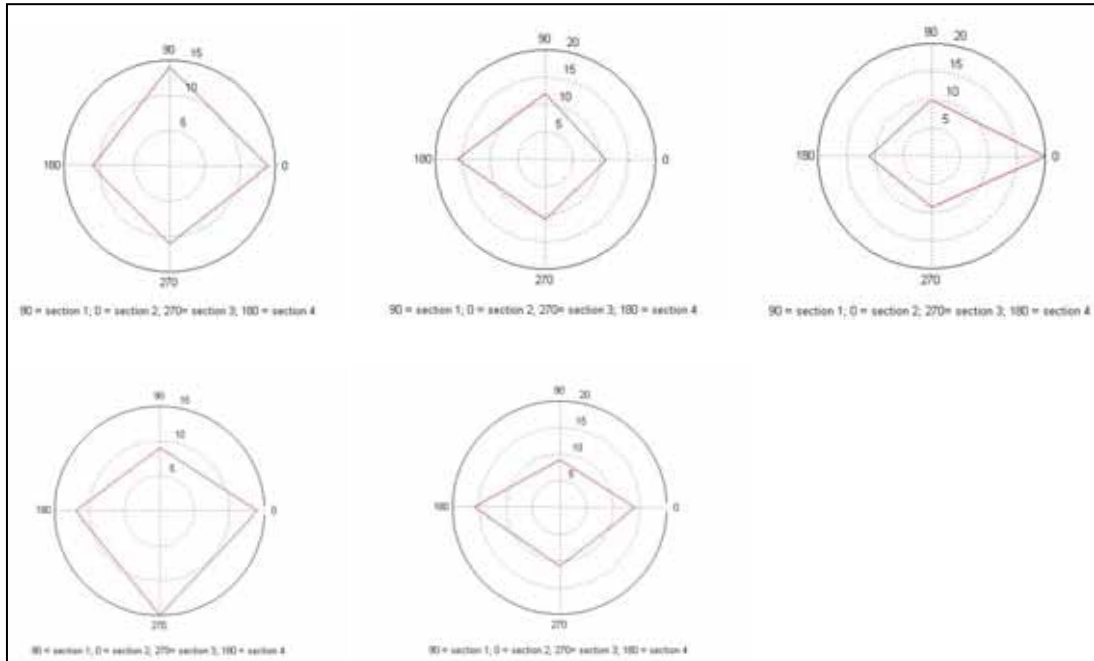
3.



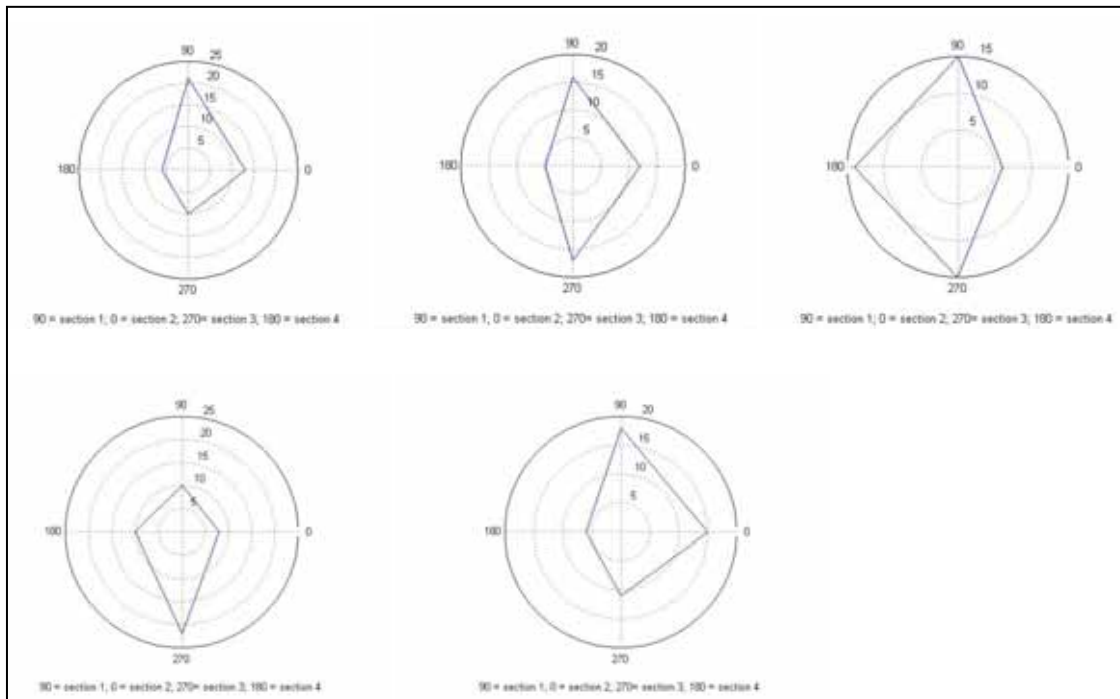
4.



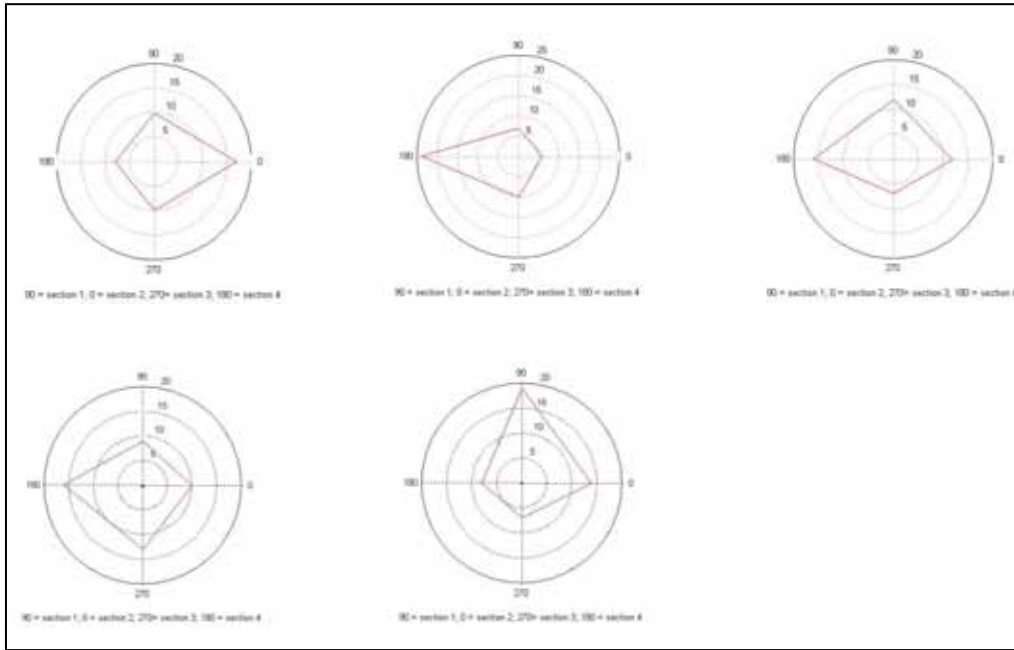
5.



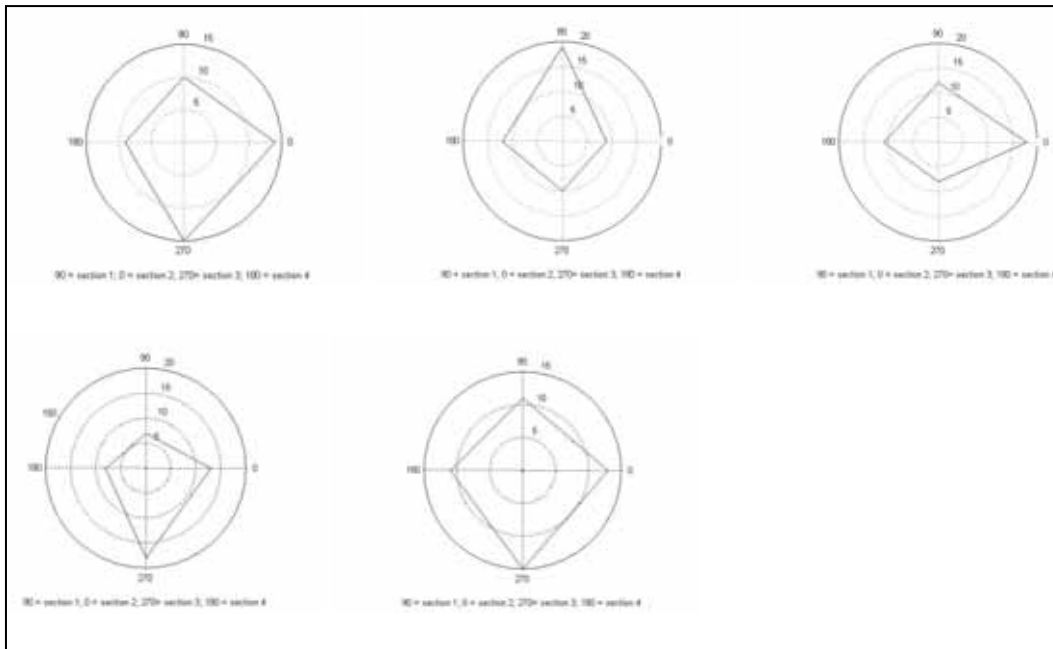
6.



7.



8.



Legendas das figuras

1. Configuração da posição de ependorfs no recipiente
2. Configuração da posição das pupas no recipiente
3. Gráficos de Tendência - Experimento com larvas de *C. megacephala* dispersando em substrato limpo
4. Gráficos de Tendência - Experimento com larvas de *C. albiceps* dispersando em substrato limpo
5. Gráficos de Tendência - Experimento apenas com larvas de *C. megacephala* dispersando em substrato com larvas confinadas em tubos ependorfs
6. Gráficos de Tendência - Experimento apenas com larvas de *C. albiceps* dispersando em substrato com larvas confinadas em tubos ependorfs
7. Gráficos de Tendência - Experimento apenas com larvas de *C. megacephala* dispersando em substrato com pupas colocadas próximas ao local de soltura
8. Gráficos de Tendência - Experimento apenas com larvas de *C. albiceps* dispersando em substrato com pupas colocadas próximas ao local de soltura