ESTUDO COMPARADO DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE *COCHLIOMYIA MACELLARIA* (FABRICIUS) (DIPTERA, CALLIPHORIDAE) EM DUAS DIETAS À BASE DE CARNE, EM LABORATÓRIO

Sandra L. da Cunha e Silva [1]
Eliane M. Milward-de-Azevedo [2]

ABSTRACT. COMPARATIVE STUDY OF POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT OF *COCHLIOMYIA MACELLARIA* (FABRICIUS) (DIPTERA, CALLIPHORIDAE) UNDER TWO MEAT DIETS, IN LABORATORY. The influence of a diet based on putrid horse meat over the post-embryonic development of *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) under controlled conditions (UR 65 10% and 14 hours of photophase) was compared with the results obtained using a meat broth diet to which other sources of animal and vegetable protein were added. The flies were maintained at 30°C, from egg until mature larvae spontaneously abandoned the diet. They were then transfered to a climatized chamber at 27°C. The larvae and pupae viability and the weight of the mature larvae were significantly inferior, when a diet based on meat broth was used, even though the larvae period was significantly increased with this diet. This type of diet did not charge the time of development of the pupae. The inoculation of the egg mass directly over the diet was recommend, instead of the technique in which the egg masses are transfered to humid filter paper, followed by the handling of the recently ecloded larvae.
KEY WORDS. Insecta, blowfly diet, biology, blowfly

O balanceamento dietético vem despertando o interesse por parte dos entomologistas, sobretudo na elaboração de métodos econômicos e viáveis que permitam produzir um grande número de insetos, em condições de laboratório, visando subsidiar técnicas que possam ser incorporadas ao manejo integrado de pragas.

Muitas substâncias foram descobertas como requisitos essenciais na alimentação de dípteros necrófagos (GINGRICH *et al.* 1971; STOFFOLANO 1973; DADD *et al.* 1973). As necessidades específicas (qualitativas e quantitativas) de vitaminas e esteróis foram determinadas em vários estudos clássicos (HOBSON 1935; KADNER & LA FLEUR 1951; BRUST & FRAENKEL 1955, entre outros) sendo que, em sua revisão, SINGH (1977) apresentou uma relação das principais dietas artificiais preconizadas por especialistas nesta área.

1) Departamento de Estudos Básicos e Instrumentais, Campus de Itapetinga, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 45700-000 Itapetinga, Bahia, Brasil.
2) Parasitologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23851-970 Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil.

O presente estudo teve por finalidade verificar o efeito de uma dieta à base de caldo de carne sobre a ontogenia de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775), comparando-a à dieta natural (carne putrefata). Paralelamente, foi conduzido um experimento visando observar o desempenho do desenvolvimento larval desta espécie à partir da inoculação de larvas recém-eclodidas, contrastando-a com a inoculação direta de massas de ovos, nas duas dietas testadas.

MATERIAL E MÉTODOS

As massas de ovos de *C. macellaria* utilizadas neste estudo foram oriundas de uma colônia mantida no laboratório de acordo com a metodologia preconizada por CUNHA-E-SILVA (1990). O desenvolvimento da fase larval foi monitorado utilizando-se duas diferentes dietas: uma dieta constituída de carne equina putrefata à partir de carne fresca moída e congelada. Após o descongelamento, este substrato foi mantido em refrigerador (8±12°C) durante 11 dias. A outra dieta, à base de caldo de carne, está relatada na tabela I. O método de elaboração desta última foi o seguinte: 1 Kg de carne equina foi previamente desembaraçada de tendões, gorduras e vasos. Adicionou-se, em seguida 1000 ml de água destilada. Esse material foi mantido durante 24 horas no refrigerador, em recipiente hermeticamente fechado para evitar a evaporação. Após esse período, essa mistura foi fervida durante 10 minutos e, em seguida, coada com o auxílio de uma peneira. O líquido amarelo pálido obtido é denominado de caldo de carne. Este caldo atingiu 100°C durante a dissolução do ágar. Paralelamente, foram adicionados os ingredientes sólidos e líquidos.

Tabela I. Composição da dieta à base de carne.

Ingredientes	Quantidade (%)
Caldo de carne eqüina	81,77
Formaldeído (37%)	0,24
Levedo de cerveja comercial	8,18
Proteinato de cálcio [1]	4,09
Sais de Wesson	0,82
Ágar	2,45
Ovo de galinha cru	2,45

1) Integralmédica Produtos Naturais ®.

As duas dietas foram distribuídas em recipientes de vidro transparente (9,5cm de altura x 5,0cm de diâmetro), tampados com tecido de algodão e mantidos em refrigerador por 24 horas, após o que foram realizadas as inoculações dos espécimens. Utilizou-se 100g de dieta/recipiente. Em cada recipiente, foram inoculadas 0,02g de massas de ovos.

Paralelamente, conduziu-se outro experimento, no qual larvas recém-eclodidas foram inoculadas nas duas dietas testadas. Estas larvas originaram-se de 0,02g de massa de ovos oriunda do mesmo lote de fêmeas e previamente colocada

em placa de Petri, forrada com papel de filtro umedecido com água destilada e incubada a 30°C, durante 12 horas. Utilizou-se quatro repetições/tratamento, nos dois experimentos.

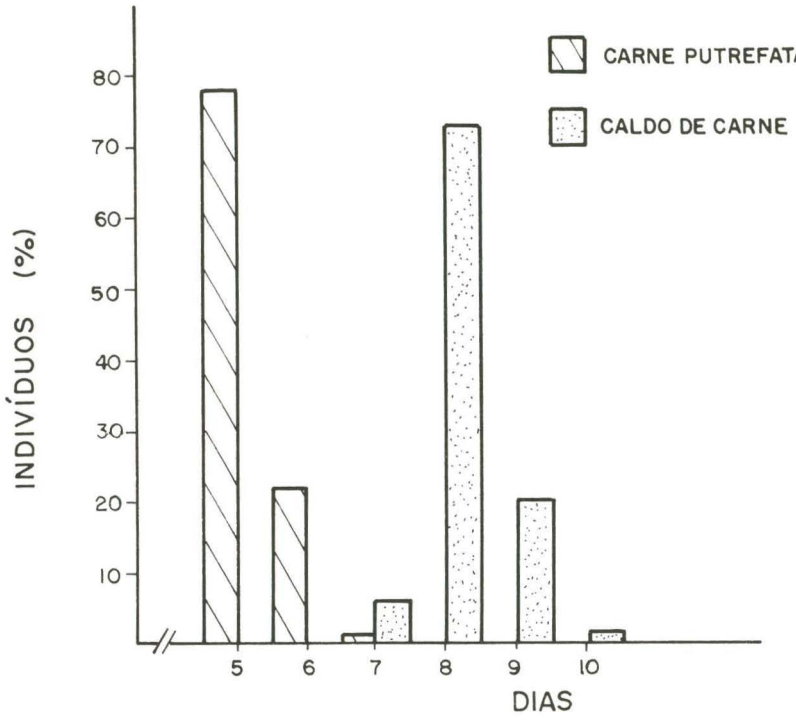

Fig. 1. Ritmo de pupação de *Cochliomyia macellaria* criada em duas dietas à base de carne e oriundas de inoculações realizadas com massas de ovos (30°C - período de ovo ao abandono de larvas maduras da dieta, e 27°C - fase de pré-pupa, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

Três dias após à inoculação dos espécimens nas dietas, o tecido foi retirado e os recipientes foram colocados dentro de vasilhas plásticas (9cm de altura x 14cm de diâmetro) contendo vermiculite como substrato de pupação. O desenvolvimento larval foi conduzido em câmara climatizada regulada a 30°C. Diariamente, o pH do meio à base de caldo de carne foi verificado utilizando-se o indicador especial (pH 5,2-7,2) para medição na carne (Merck).

Após o abandono do meio, as pré-pupas oriundas dos diferentes tratamentos, foram pesadas individualmente. Apenas as pré-pupas provenientes das inoculações realizadas através de massa de ovos foram individualizadas, em recipientes de vidro contendo vermiculite, para as observações biológicas relativas aos estágios larval e pupal. Por outro lado, as pré-pupas oriundas da inoculação de larvas foram individualizadas, apenas para as observações biológicas relativas

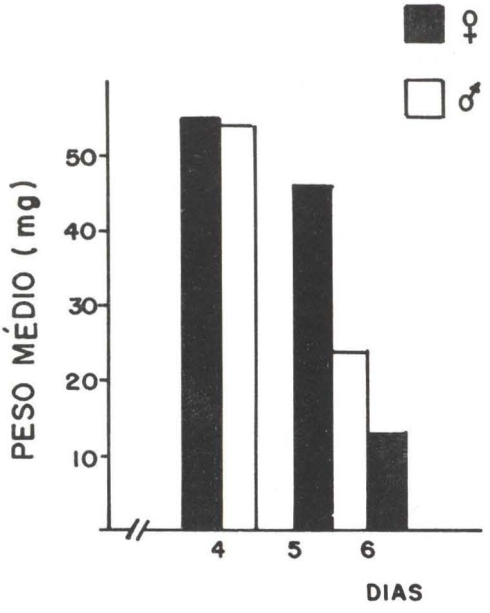

Fig. 2. Peso médio de pré-pupas de *Cochliomyia macellaria* criadas em dieta à base de carne putrefata e oriundas de inoculações realizadas com massa de ovos, em relação ao sexo e ao dia de abandono da dieta (30°C, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

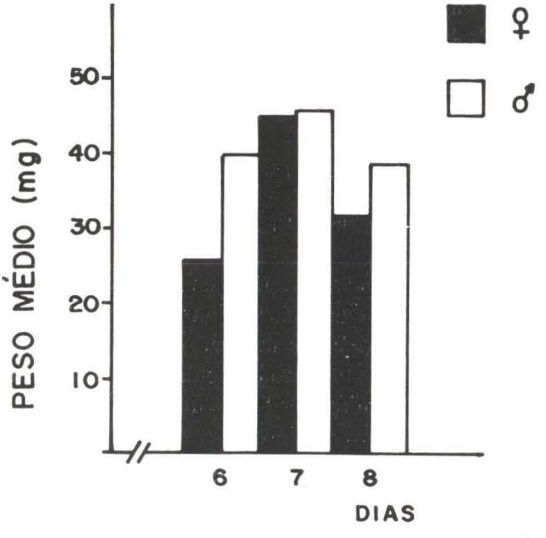

Fig. 3. Peso médio de pré-pupas de *Cochliomyia macellaria* criadas em dieta à base de caldo de carne e oriundas de inoculações realizadas com massa de ovos, em relação ao sexo e ao dia de abandono da dieta (30°C, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

ao estágio larval. As pré-pupas e as pupas foram mantidas em câmara climatizada regulada a 27°C, até a emergência dos adultos, quando os espécimens foram sexados.

A viabilidade larval estimada no experimento em que foi inoculada massa de ovos, foi inferida através de estudos anteriores, que demonstraram que 0,02g de massa de ovos equivale a uma média de 151,6 larvas recém-eclodidas de *C. macellaria* (manuscrito em preparação).

Os dados experimentais foram submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para fins de análise, os valores relativos à viabilidade larval e pupal foram tranformados em SQR (X/100).

Tabela II. Características biológicas de *Cochliomyia macellaria*, criadas em duas dietas à base de carne, em relação ao método de inoculação dos espécimens no meio (30°C, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

Tipo	Inoculação de massa de ovos [1]						Inoculação de larvas [2]			
	Peso de pré-pupa (mg)	Período de ovo a pupa (dias)				Viabilidade estimada (%)	Peso de pré-pupa (mg)	Período de ovo a pupa (dias)		Viabilidade (%) [3]
		Macho		Fêmea						
	$\bar{X}\pm\bar{S}$	$\bar{X}\pm\bar{S}$	I.V.	$\bar{X}\pm\bar{S}$	I.V.	$\bar{X}$	$\bar{X}\pm\bar{S}$	$\bar{X}\pm\bar{S}$	I.V.	$\bar{X}$
Carne putrefata	56,01±2,6 Ab	5,2±0,02	5-6	5,2±0,01	5-7	76,7 Aa	46,90±0,8 Aa	5,3±0,08	5-7	73,1 Aa
Caldo de carne	40,97±1,7 Ba	8,1±0,06	7-9	8,1±0,06	7-10	48,6 Bb	42,15±2,7 Aa	8,9±0,24	7-10	4,4 Ba

1) A partir de 0,02g de massa de ovos/repetição.
2) Larvas recém-eclodidas provenientes de 0,02g de ovos/repetição.
3) 0,02g = 151,6 larvas recém-eclodidas (x).
*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (entre dietas) e minúsculas (entre métodos de inoculação) não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A duração média do período de ovo a pupa de *C. macellaria* em dieta à base de carne putrefata para o método em que foram inoculadas massas de ovos (8,1 e 5,2 dias, respectivamente), e para o método em que foram inoculadas larvas (8,9 e 5,3 dias, respectivamente) (Tab II e Fig. 1). A tabela II mostra uma diferença significativa no peso médio de pré-pupas oriundas das dietas à base de caldo de carne (40,97mg) e carne putrefata (56,01mg) quando inoculadas massas de ovos. Não ocorreu diferença significativa entre o peso médio de pré-pupas em relação ao sexo (Tab. III). Contudo, na dieta à base de carne putrefata, pré-pupas mais pesadas que abandonaram a dieta no quinto dia originaram fêmeas (Fig. 2); o mesmo não foi observado na dieta a base de caldo de carne na qual pré-pupas mais pesadas, que abandonaram a dieta no sexto e oitavo dia, originaram machos (Fig. 3). A figura 4 mostra que no nono dia ocorreu abandono de pré-pupas na dieta à base de caldo de carne, porém, nenhuma dessas larvas atingiu o estágio adulto,

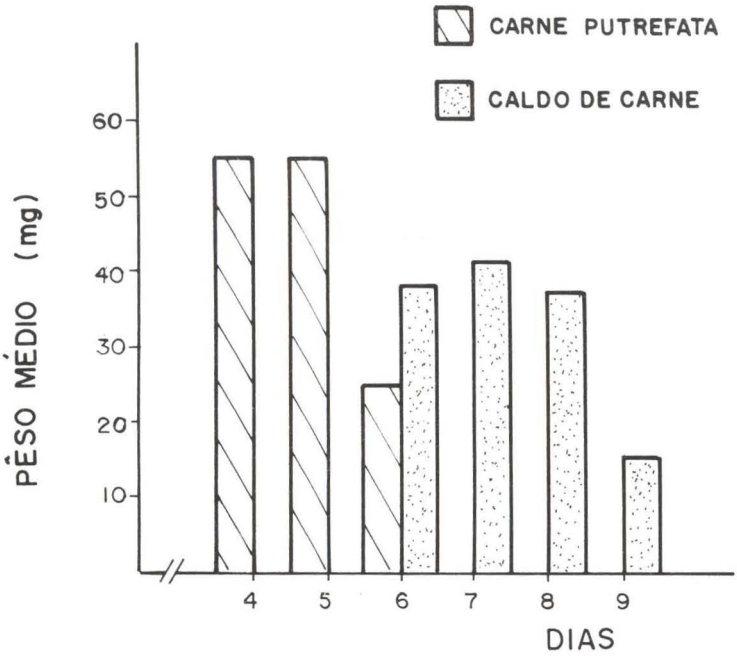

Fig. 4. Peso médio de pré-pupas de *Cochliomyia macellaria* criadas em duas dietas à base de carne e oriundas de inoculações realizadas com massa de ovos, em relação ao dia de abandono da dieta (30°C, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

como pode-se observar na figura 3. Essas larvas, provavelmente, atingiram o peso mínimo crítico para a pupação, porém este não foi suficiente para atender às exigências requeridas para a realização da metamorfose que daria origem aos indivíduos adultos. HIGHTOWER *et al.* (1972) reportaram que larvas de *C. hominivorax* (Coquerel, 1885) podem alcançar o estágio crítico de pupação apenas após atingirem cerca de 50% do seu potencial de peso total e que o peso larval final influencia diretamente o tamanho do adulto e, portanto, a fertilidade das fêmeas e o vigor sexual dos machos. No experimento em que foram inoculadas larvas, o peso médio de pré-pupas não diferiu significativamente entre os tratamentos (Tab. II).

Ao comparar-se os dois métodos de inoculação de espécimens no meio (massa de ovos e larvas recém-eclodidas) na dieta à base de carne putrefata, observou-se que o peso de pré-pupas foi significativamente maior ao inocular-se massas de ovos. Segundo IGNOFFO (1966) (*apud* VAIL *et al.* 1968), reportou que o peso final é influenciado pelo manuseio das larvas quando estas são inoculadas na dieta. Nos tratamentos em que inoculou-se larvas recém-eclodidas nas dietas, a viabilidade larval no meio à base de caldo de carne (4,4%) foi quase nula comparada à dieta a base de carne putrefata, que foi de 73,1%. Por outro lado, nos tratamentos onde inoculou-se massas de ovos, a viabilidade foi de 48,6 e

Tabela III. Peso e viabilidade de pré-pupas de *Cochliomyia macellaria* que originaram machos e fêmeas, oriundas de duas dietas à base de carne inoculadas com massa de ovos (30°C, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

Tipo de dieta	Peso de pré-pupa (mg) [1]		Viabilidade (%)
	Macho	Fêmea	
	$\bar{X}\pm\bar{S}$	$\bar{X}\pm\bar{S}$	
Carne putrafata	55,00±3,0 Aa	55,75±2,8 Aa	100,0
Caldo de carne	45,25±1,6 Ba	44,50±2,4 Ba	100,0

1) Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (entre tratamentos) e minúsculas (entre sexos) não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela IV. Duração e viabilidade do estágio pupal, taxa de anormalidade e razão sexual de machos e fêmeas de *Cochliomyia macellaria*, oriundos de duas dietas à base de carne inoculadas com massa de ovos (27°C, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

Tipo de dieta	Estágio pupal [1]				Adultos normais (%)	Razão sexual
	Duração (dias)			Viabilidade (%)		
	Macho	Fêmea	I.V.	$\bar{X}$		
	$\bar{X}\pm\bar{S}$	$\bar{X}\pm\bar{S}$	Macho - Fêmea	Macho - Fêmea		
Carne putrefata	5,0±0,02 Aa	5,0±0,03 Aa	4 - 7	93,5 A	1,7	0,6
Caldo de carne	4,9±0,15 Aa	5,0±0,82 Aa	4 - 7	71,0 B	0,8	0,6

1) Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (entre tratamentos) e minúsculas (entre sexos) não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

76,7%, respectivamente (Tab. II). Todas as larvas que abandonaram o meio, puparam (Tab. III); no entanto, houve diferença significativa na viabilidade pupal observada à partir dos espécimens oriundos das dietas à base de caldo de carne e carne putrefata: 71% e 93,5%, respectivamente. Não houve diferença significativa na duração do estágio pupal entre os indivíduos oriundos das dietas testadas, em relação ao sexo (Tab. IV). O pico de emergência, para machos e fêmeas, ocorreu no quinto dia após a pupação (Figs 5 e 6). A razão sexual não diferiu da esperada (0,5).

A consistência física da dieta à base de caldo de carne, dificultando a dispersão e evaporação de substâncias oriundas do produto de excreção das larvas, além da qualidade dietética não satisfatória da dieta, pode também ter contribuído para o aumento do período larval, para redução do peso de pré-pupas e da viabilidade nas diferentes fases de desenvolvimento. Também a adição de formaldeído nesta dieta pode ter influenciado os resultados obtidos. MELVIN & BUSHLAND (1938) citaram o efeito retardador desta substância no crescimento de larvas de *C. hominivorax*.

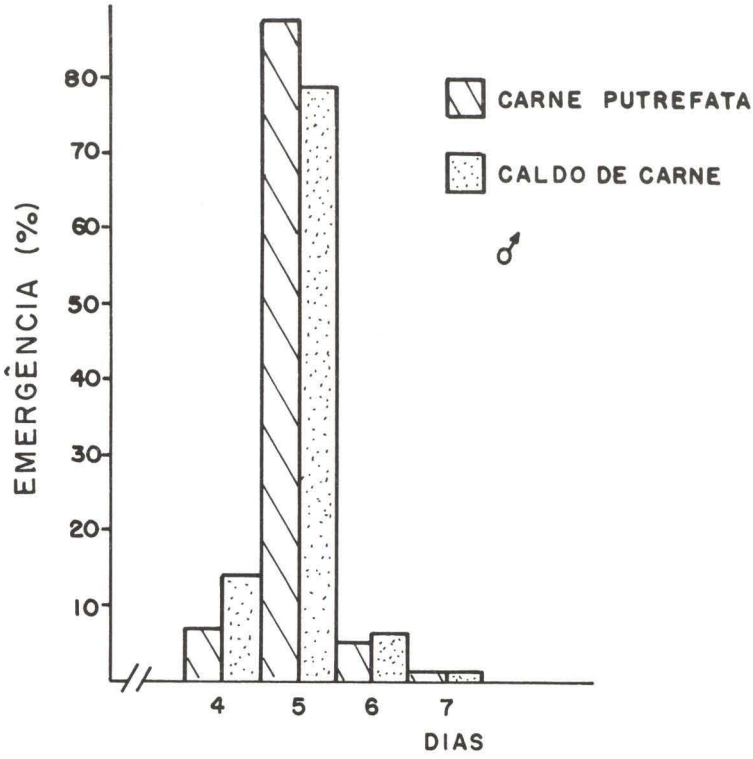

Fig. 5. Ritmo de emergência de machos de *Cochliomyia macellaria* criados em duas dietas à base de carne e oriundos de inoculações realizadas com massa de ovos (30°C - período de ovo ao abandono de larvas maduras da dieta, e 27°C - fase de pré-pupa e estágio pupal, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

O pH médio, mínimo e máximo, obtido na dieta à base de caldo de carne foi de 6,2-6,6. Esta variável é importante (HANSKI 1987) e deve ter influenciado os resultados finais observados para este tratamento, visto que, determinadas enzimas proteolíticas atuam apenas em pH neutro ou alcalino (HOUSE 1972). Por outro lado, a esterilização por auto-clavagem ou aquecimento pode destruir os valores nutritivos da dieta (SINGH & MOORE 1985). Assim sendo, o método pelo qual foi preparado o caldo de carne, pode ter afetado o valor nutricional final da dieta, interferindo no consumo e utilização da mesma pelas larvas de *C. macellaria*.

CONCLUSÕES

A dieta à base de caldo de carne mostrou-se inadequada para a criação de *C. macellaria*. Entretanto, pode ser usada como uma dieta básica para estudos referentes às exigências dietéticas desta espécie, através do balanceamento de seus ingredientes.

Por outro lado, a inoculação de massa de ovos em dietas deve ter preferência em detrimento da inoculação de larvas recém-eclodidas sobre o papel de filtro umedecido utilizado como substrato de incubação de ovos, para a obtenção de melhores resultados em relação ao potencial reprodutivo desta espécie.

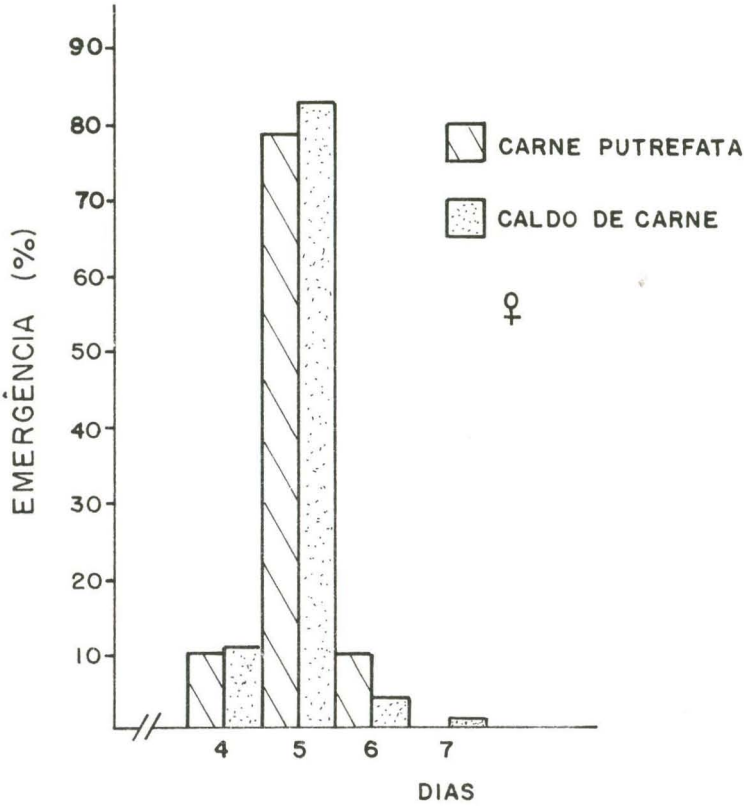

Fig. 6. Ritmo de emergência de fêmeas de *Cochliomyia macellaria* criadas em duas dietas à base de carne e oriundas de inoculações realizadas com massa de ovos (30°C - período de ovo ao abandono de larvas maduras da dieta, e 27°C - fase de pré-pupa e estágio pupal, 65±10% de UR e 14 horas de fotofase). Itaguaí, Rio de Janeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUST, M. & G. FRAENKEL. 1955. The nutritional requirements of the larvae of a blowfly, *Phormia regina* (Meig.). **Physiol. Zool. 28**: 186-204.

CUNHA-E-SILVA, S.L. 1990. **Aspectos da biologia de Cochliomyia macellaria (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae), sob condições de laboratório.** Tese de mestrado, não publicada, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Itaguaí, 90p.

DADD, R.H.; I. GOMEZ & M. NAMBE. 1973. Requirement for ribonucleic acid

in a semi-synthetic larval diet for the mosquito *Culex pipiens*. **J. Med. Ent. 10** (1): 47-52.

GINGRICH, R.E; A.J. GRAHAN & B.G. HIGHTOWER. 1971. Media containing liquefied nutrients for mass-rearing larvae of the screw-worm. **J. Econ. Entomol. 64** (3): 678-683.

HANSKI, I. 1987. Nutritional ecology of dung and carrion feeding insects. *In*: **Nutritional Ecology of Insects, Mits, Spiders and Related Invertebrates.** An: Overview. New York, 1016p.

HIGHTOWER, B.G.; G.E. SPATES JR. & J.J. GARCIA. 1972. Growth and critical size at pupation for larvae of the screwworm developing in fresh wouds. **J. Econ. Entomol. 65** (5): 1349-1352.

HOBSON, R.P. 1935. CLVI on a fat soluble growth facto required by blow-fly larvae. I. Distribution and properties. **Biochem. J. 29**: 1292-1296.

HOUSE, H.L. 1972. Insect nutritional. *In*: **Biology of Nutrition.** Pergamon Press, **18**: 513-573.

KADNER, C.G. & F.M. LA FLEUR. 1951. The vitamin requirements of *Phaenicea sericata* (Meigen) larvae (Diptera: Calliphoridae). **Wasmann Journ. Biology 9** (2): 129-136.

MELVIN, R. & R.C. BUSHLAND. 1938. The nutritional requirement of screwworm larvae. **J. Econ. Entomol. 33** (6): 850-852.

SINGH, P. 1977. **Artificial diets for insects, mites and spiders.** New York, Plenum Press, 594p.

SINGH, P. & R.P. MOORE. 1985. **Handbook of Insect Rearing.** Elservier Scince Publishers B.V., Vol. II, 514p.

STOFFOLANO JR., J.G. 1973. Influence of diapause and diet on the development of the gonads and accessory reproductive. **Can. J. Zool. 52**: 981-988.

VAIL, P.V.; T.J. HENNEBERRY; A.N. VISHABA & K.Y. ARAKAWA. 1968. Sodium hypochlorite and formalin as antiviral agents against nuclear - polyhedrosis virus in larvae of the Cabbage looper. **J. Invert. Pathology 10**: 84-93.

Recebido em 15.III.1994; aceito em 11.X.1994.