

DIETAS ARTIFICIAS PARA CRIAÇÃO DE IMATUROS DE DÍPTEROS DE IMPORTÂNCIA FORENSE

*Fernanda Pamponet**
*Daniele Santos Lopes**
*Anna Carolina Soares**
*Jefferson França**
*Janine Oliveira Melo**
*Paulo David Santana**
*Priscila Boaventura***
*Torriceli Souza Thé****
*Favízia Freitas de Oliveira*****

* Pesquisadores colaboradores do Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos da Universidade Federal da Bahia.
nanda.pamponet@hotmail; danys_lopes@hotmail.com

** Colaboradora do Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos da Universidade Federal da Bahia

***Coordenador do Laboratório de Entomologia Forense do Departamento de Polícia Técnica do Estado da Bahia.
torricelithe@yahoo.com.br

**** Coordenadora do Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos da Universidade Federal da Bahia (BIOSIS).
favosgyrl@gmail.com

RESUMO: Para a criação dos imaturos de Díptera (Insecta) necrófagos em condições de laboratório, o fator nutricional é de extrema importância, motivo pelo qual muitos pesquisadores têm optado por utilizar as dietas artificiais que, além da eficiência nutritiva, minimizam os odores causado pelas dietas orgânicas. Visando contribuir com as atividades periciais de Cálculo de IPM, este trabalho tem como objetivo relatar a eficiência de dois tipos de dietas artificiais para criação de dípteros de importância forense. Para isso, foram oferecidos aos imaturos da Ordem Díptera dietas de ração canina enlatada sabor carne e frango e dieta a base de ração de peixe. As dietas à base de ração canina enlatada, se mostraram eficientes para a criação dos imaturos, apresentando vários benefícios como: praticidade no uso, maior validade do produto, facilidade em estocagem e aquisição, e menor mortalidade das larvas, além de exalar menos odor que as dietas orgânica.

Palavras-chave: Criação de dípteros; Entomologia Forense; Bionomia

ABSTRACT: For the creation of the immature of necrophagous Diptera (Insecta) in laboratory conditions, the nutritional factor is of extreme importance, reason why many researchers has chosen to use artificial diets that besides the nutritive efficiency minimize the odors caused by the organic diets. Aiming to contribute to the expert activities of Calculus of IPM, this work aims to report the efficiency of two types of artificial diets for the creation of Diptera of forensic importance. For this, the immature of the Order Diptera were offered canned

canine meat and chicken flavor diets and diet based on fish feed. The diets based on canned canine ration were efficient for the creation of the immature, presenting several benefits such as: practicality in use, greater validity of the product, ease of storage and acquisition, and lower mortality of the larvae, besides exhaling less odor than the diets organic.

Key words: Creation of dipteros; Forensic Entomology; Bionomy

INTRODUÇÃO

A Entomologia Forense é a área das Ciências Biológica que utiliza o estudo dos insetos associados a diversas questões criminais (PUJOL-LUZ et al., 2008). Dentre os insetos considerados de importância forense, os dípteros (ordem Diptera) são fundamentais para o processo de decomposição cadavérica em carcaças de animais, uma vez que utilizam a matéria orgânica para o desenvolvimento de suas formas imaturas, o que é essencial para a realização do cálculo da estimativa de Intervalo pós-morte (IPM) (KEH, 1985; SMITH, 1986; CATTS & HASKELL, 1991; OLIVEIRA-COSTA, 2007; SOUZA & LINHARES, 1997).

Estudar a bionomia dos dípteros que colonizam carcaças é de fundamental importância para minimizar os erros na estimativa de cálculo de Intervalo Pós-Morte (IPM), uma vez que fatores como temperatura, umidade e a dieta utilizada pelos insetos podem influenciar o tempo de desenvolvimento dos imaturos, bem como o potencial reprodutivo dos mesmos.

Para a criação dos imaturos em condições de laboratório tem se utilizados tanto dietas artificiais como orgânicas. Dentre as orgânicas, a carne bovina se destaca como uma das mais utilizadas (ULLYETT, 1950; MARCKENKO, 1985; BARBOSA, 2004), além disso, utilizam-se as dietas a base de carne equina, sardinha, coração de frango e fígado bovino (QUEIROZ & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1991; RIBEIRO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1997, ESTRADA et al., 2009). No entanto, nota-se que no segundo ou terceiro dia de uso, essas dietas já encontram-se em processo avançado de decomposição, exalando um forte odor desagradável que pode atrair outros artrópodes, comprometendo a higiene e a coleção entomológica presente no laboratório (Barbosa et al., 2004).

Como o fator nutricional é de extrema importância para o sucesso da criação, para não comprometer os resultados dos experimentos, muitos pesquisadores têm optado por utilizar as dietas artificiais que, além da eficiência nutritiva, minimizam os odores causado pelas dietas orgânicas (OLIVEIRA-COSTA, 2007; 2011; FERRAZ, 2011; BARBOSA, 2004).

Nesse contexto, visando contribuir com as atividades periciais de Cálculo de IPM desenvolvidos por pesquisadores de diferentes instituições no Brasil, o presente trabalho tem como objetivo relatar a eficiência de dietas artificias para criação de dípteros de importância forense em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Os imaturos da ordem Diptera foram coletados em uma carcaça de suíno exposta em um fragmento de Mata Atlântica localizado no 51º Centro de Telemática, no Quartel da Polícia do Exército, em Salvador, Bahia (12° 58' 27,54" S; 38° 26' 47,68" W), no período de novembro a dezembro de 2012. Os imaturos foram colocados em potes plásticos tipo filme, contendo papel filtro umedecido para evitar a desidratação. Logo depois de tampados e devidamente identificados, foram transferidos para uma caixa térmica com gelo químico para diminuir o metabolismo durante o transporte. As formas imaturas coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos (BIOSIS), do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (Bairro de Ondina em Salvador, Bahia), e colocados em potes plástico de 250 ml, sendo acondicionados em estufa ~~estufa~~-B.O.D. (câmara climática) sob temperatura controlada de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa de $60 \pm 10\%$, e alimentados com as seguintes dietas: (1) Dieta Padrão: Ração de peixe + leite em pó+ nipagim+ levedura de cerveja+água (DP), conforme OLIVEIRA-COSTA (2007); (2) dieta de ração canina enlatada sabor carne (DC) (Ferraz et al. 2011); (3) dieta de ração canina enlatada sabor frango (DF); (4) Ração enlatada para cães sabor carne aditivada com polivitamínico Glicopan PET® (DCA); (5) Ração enlatada para cães sabor frango aditivada com polivitamínico Glicopan PET® (DFA). Nas dietas aditivadas, DFA e DCA, foi acrescentado 1ml do polivitaminico Glicopan PET® para cada 10 g da ração. Todas as dietas (DP, DC, DF, DCA e DFA) foram disponibilizadas seguindo a regra 1g para cada larva e em cada pote de criação foram colocadas 10 larvas.

Os adultos emergidos foram transferidos para caixas de criação e alimentados com: (1) dieta a base de leite em pó, açúcar refinado e farinha de peixe (2:2:1); (2) carne moída crua com sangue (estímulo à maturação dos ovários/ serve como substrato de oviposição); (3) algodão encharcado com solução de água e mel (1:1) oferecidas ad libitum. Todas as espécies foram colocadas em temperatura ambiente e as caixas de criação foram inspecionadas diariamente, sendo feita a troca da dieta e do substrato de oviposição à procura de imaturos – 1º geração (F1). Após a oviposição, os ovos foram colocados em B.O.D. (câmara climática) sob temperatura controlada de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de

12 horas e umidade relativa de $60 \pm 10\%$, e após a eclosão foi seguido o mesmo padrão para as larvas descrito acima.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados um total de 453 imaturos de dípteros nas carcaças de suínos em decomposição, dentre os quais 329 morreram ainda na fase larval ou ficaram presas nas pupas não completando seu desenvolvimento e 124 chegaram à fase adulta.

Dentre os indivíduos resultantes das criações em laboratório, obtivemos exemplares das espécies *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Calliphoridae) e *Ophyra aenescens* (Wiedemann, 1830) (Muscidae) e representantes da família Sarcophagidae (MACQUART, 1834). Esses dípteros são amplamente encontrados associados a carcaças de vertebrados em decomposição (DE FARIA et al., 2017; ROSA et al., 2009; VASCONCELOS & ARAUJO, 2012; LOPES et al., 2018) e visitando ou colonizando cadáveres, demonstrando sua grande importância para estudos forense (GUIMARÃES et al., 1979; CARVALHO et al., 2000; OLIVEIRA-COSTA et al., 2001; RAMOS et al., 2018).

Comparando-se o tempo de desenvolvimento (de larva de primeiro instar até a sua fase adulta) das espécies encontradas, não houve diferença entre o tempo de desenvolvimento dos imaturos criados em nenhuma das dietas oferecidas (Figura 02). Ferraz et al. (2011), utilizando como dieta alimento para cães enlatado e carne bovina, também não observou diferença entre os tempos de desenvolvimento dos imaturos de indivíduos de Calliphoridae das espécies *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830), já para *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775), os estágios de larva e de neolarvas a adulto apresentaram desenvolvimento mais demorado quando criados na dieta artificial do que na carne bovina.

Analisando as dietas utilizadas no presente estudo, além dos aspectos nutricionais, as mesmas apresentaram boa consistência, homogeneização e conteúdo de água, fatores que segundo Parra (1990) são importantes para um bom desenvolvimento dos imaturos.

Observou-se que os adultos que na fase larvar foram alimentados com a Dieta Padrão não produziram indivíduos da geração F1, nem nesse nem em outros experimentos realizados por nosso grupo, além de apresentarem uma maior mortalidade das larvas, em comparação com as outras dietas (Figura 01). A DP é amplamente utilizada para alimentação de larvas de dípteros em laboratório e possui resultados positivos em vários estudos de criação de imaturos, principalmente na criação de imaturos em rotinas periciais para o Cálculo de IPM (OLIVEIRA-COSTA, 2011).

As dietas à base de ração canina enlatada, sendo estas aditivadas ou não, se mostraram eficientes para a criação dos imaturos, apresentando vários benefícios como: praticidade no uso, maior validade do produto, facilidade em estocagem e aquisição, o que possibilita um melhor planejamento da pesquisa, e menor mortalidade das larvas, além de exalar odor menos fétido do que as dietas orgânicas.

Uma vez que os nutrientes do estágio larval são transferidos para o adulto garantindo as necessidades energéticas e reprodutivas destes, as dietas à base das rações enlatadas (aditivadas ou não) mostraram-se mais eficientes quando o objetivo do trabalho é a manutenção de colônias de dípteros.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conhecer os fatores que interferem na estimativa de Cálculo de Intervalo Pós-Morte é essencial para minimizar os erros desse cálculo e contribuir com a qualidade dos laudos periciais realizados no Departamento de Polícia Técnica.

A dieta é um fator essencial para o desenvolvimento de imaturos de dípteros, sendo utilizadas com frequência em experimentos dietas orgânicas a base de tecidos de animais, que, apesar de eficientes, trazem sérios problemas para a rotina do laboratório.

Nesse contexto, as dietas artificiais tem se mostrado como alternativas viáveis para trabalhos de bionomia de dípteros. No presente estudo, concluímos que a dieta a base de ração enlatada para cães sabor Carne e Frango com aditivo de polivitamínico ou não, apresentam componentes nutritivos, consistência e quantidade de água adequadas para o bom desenvolvimento dos imaturos, sendo mais eficiente para produção de F1 do que a dieta a base de ração de peixe (DP).

Além disso, fatores como a praticidade no uso, maior validade do produto, facilidade em aquisição e estocagem, menor custo benefício, e diminuição do odor exalado contribuem para a viabilidade dessa dieta em estudos com dípteros.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento do projeto (Termo de Outorga N° PET0009/2011). À Universidade Federal da Bahia (UFBA) pelo apoio logístico. À equipe do Laboratório de Entomologia Forense do Departamento de Polícia Técnica da

Bahia e do Laboratório de Bionomia, Biogeografia e Sistemática de Insetos (BIOSIS-UFBA) pelo auxílio nas coletas, criação, montagem e identificação do material. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida à segunda autora. À FAPESB, também pelas bolsas de apoio técnico concedidas ao projeto celebrado pelo Termo de Outorga N° PET0009/2011.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L.S.; DE JESUS, D. M. L.; COELHO, V.M.A. 2004. **Longevidade e capacidade reprodutiva de casais agrupados de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera, Calliphoridae) oriundos de lavras criadas em dieta natural e oligídica.** Rev. bras. Zoociências. Juiz de Fora. 6(2): 207-217
- 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: 135-138
- CATTS, E. P. & N. H. HASKELI. 1991. **Entomology and death: a procedural guide,** Clemson, Joyce's Print Shop, 182 p.
- DE FARIA, L.S.; PASETO, M.L.; COURI, M.S.; MELLO-PATIU, C.A.; MENDES, J. 2017. **Insects Associated with Pig Carrion in Two Environments of the Brazilian Savanna.** Neotrop Entomol. 47(2):181-198
- ESTRADA, D. A.; GRELLA, M. D. THYSSEN, P.J. e LINHARES, A. X. 2009. **Taxa de Desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em Dieta Artificial Acrescida de Tecido Animal para Uso Forense.** Neotropical Entomology 38(2):203-207 (2009)
- FERRAZ, A. C. P.; BOSISIO, D. D. & COELHO, V. M. A., 2011. **Dieta para larvas de *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* e *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae).** EntomoBrasilis 4 (3): 125-129 (2011).
- 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).** Rev Bras Entomol 23: 245-255
- KEH, B. 1985. **Scope and applications of forensic entomology.** Annual Review of Entomology 30: 137-154.
- SMITH, K. G.V. 1986. **A manual of Forensic Entomology,** Cornell Univ. Press Ithaca, NY, 205p
- LOPES, D. S.; OLIVEIRA, F. F.; MELLO-PATIU, C.A.; PAMPONET, F. M.; THÉ, T.S. 2018. **associadas a carcaças de suínos (*Sus scrofa* Linnaeus) expostas em um fragmento de Mata Atlântica no município de Salvador, Bahia.** EntomoBrasilis 11 (2): 103-106.
- MARCKENKO, M.I., 1985. **Development of *Chrysomya albiceps* (Wd.) (Diptera: Calliphoridae).** Entomologicheskoye Obozreniye, 1: 79-84.
- OLIVEIRA-COSTA, J.; MELLO-PATIU, C.A. LOPES, S.M. 2001. **Dípteros muscóides associados com cadáveres humanos na cena da morte no estado do Rio de Janeiro, Brasil.** Boletim do Museu Nacional. Rio de Janeiro. 464, 1-6p.
- OLIVEIRA-COSTA, J. 2007. **Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios.** 2 ed. São Paulo: Millennium.

OLIVEIRA-COSTA, J. 2011. **Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios**. 3 ed. São Paulo: Millennium.

PARRA, J.R. 1990. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba, ESALQ, 125p.

PUJOL-LUZ, J.R.; ARANTES, L.C.; CONSTANTINO, R. **Cem anos da entomologia Forense no Brasil (1908 – 2008)**. *Revista Brasileira de Entomologia*. Volume 52 (4): 485-492. Dezembro. 2008.

QUEIROZ, M.M. C., & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V., 1991. **Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (wiedemann, 1819; Diptera: Calliphoridae), em condições de laboratório**. *Revta bras Zool*, v.8, n. 1-4, p. 75-84.

RAMOS, R.L.; LOPES, D.S.; PAMPONET, F.M.; THÉ, T.S.; MORATO, V.C.G. 2018. **Primeiro registro de *Peckia* (Squamotodes) trivittata (Curran) (Diptera: Sarcophagidae) colonizando cadáver humano carbonizado em área de restinga da Bahia, Brasil**. *EntomoBrasilis* 11 (2): 151-153.

RIBEIRO, R. C. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V., 1997. **Dietas naturais na criação de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819; Diptera: Calliphoridae): estudo comparado**. *Ciencia Rural*, Santa Maria, v.27, n.4, p641-644.

ROSA, T.A.; BABATA, M.L.Y; SOUZA, C.M.; SOUSA D.; MELLO-PATIU, C.A.; MENDES, J. 2009. **Dípteros de interesse forense em dois perfis de vegetação de Cerrado em Uberlândia, MG**. *Neotropical Entomology*, 38: 859-866.

SMITH, K. G.V.; 1986. **A manual of Forensic Entomology**. *British Museum* (Natural History) London. 205 p

SOUZA, A. M. & A. X. LINHARES. 1997. **Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: Relative abundance and seasonality**. *Medical and Veterinary Entomology* 11: 8–12.

ULLYETT, G.C, 1950. **Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations**. *Philosophical Transactions of The Royal Society London*, 234: 77-174.

VASCONCELOS, S.D.; ARAUJO, M. 2012. **Necrophagous species of Diptera and Coleoptera in northeastern Brazil: state of the art and challenges for the Forensic Entomologist**. *Revista Brasileira de Entomologia*, 56: 7-14.