
Desarrollo post-embrionario de *Microcerella acrydiorum* (Diptera: Sarcophagidae) bajo condiciones de laboratorio

DE ARRIBA, Andrea V. y Sixto R. COSTAMAGNA

Cátedra de Parasitología Clínica, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia.
Universidad Nacional del Sur, San Juan 670 (8000) Bahía Blanca, Buenos Aires,
Argentina. e-mail: avdearriba@hotmail.com

Post-embrionary development of *Microcerella acrydiorum* (Diptera: Sarcophagidae) under laboratory conditions

■ **ABSTRACT.** We studied *Microcerella acrydiorum* (Weyenbergh) post-embrionary development and we determined the following biological parameters: time of larval and pupal development, prelarviposition period, survival, and sexual rate; under controlled conditions (average temperature: $27.50 \pm 2.60^\circ\text{C}$, average relative humidity: $36.47 \pm 8.10\%$ and artificial photoperiod: 14 hours light). The average time of larval development was of 3.78 ± 0.81 days, the average time of pupal development was of 8.63 ± 1.45 days, the prelarviposition period was of 18.25 ± 4.06 days, and the total cycle was of 30.66 days. Survival probability to the adult stage was of 75.80%. At least, 98.73% of the larvae reached the pupal stage; 85.81% of the latter fully completed metamorphosis, and once transformed into adults, they abandoned the puparium. Only 89.47% of adults did emerge to the surface. Pupal stage was the most susceptible concentrating approximately 58% of the deaths. Sex rate was very similar to the expected relation, i.e. 1:1 ($p > 0,15$).

KEY WORDS: *Microcerella acrydiorum*. Biological parameters. Life cycle. Sarcophagidae.

■ **RESUMEN.** Se estudió el desarrollo post-embrionario de *Microcerella acrydiorum* (Weyenbergh) bajo condiciones controladas (temperatura media: $27,50 \pm 2,60^\circ\text{C}$, humedad relativa media: $36,47 \pm 8,10\%$ y fotoperíodo artificial: 14 horas luz) y se determinaron los siguientes parámetros biológicos: tiempo de desarrollo larval y pupal, período de prelarviposición, supervivencia y razón sexual. El tiempo de desarrollo larval fue de $3,78 \pm 0,81$ días, el tiempo de desarrollo pupal de $8,63 \pm 1,45$ días, el período de prelarviposición de $18,25 \pm 4,06$ días y el ciclo completo fue de 30,66 días. La probabilidad de supervivencia al estado adulto fue de 75,80%. Al menos el 98,73% de las larvas lograron formar el pupario, de estas el 85,81% completó la metamorfosis y transformadas en adultos abandonaron los puparios; sólo el 89,47% de los adultos emergió a la superficie. El estado pupal resultó ser el más susceptible, concentrando casi el 58% de las muertes. La proporción de sexos no se apartó de la relación esperada 1:1 ($p > 0,15$).

PALABRAS CLAVE: *Microcerella acrydiorum*. Parámetros biológicos. Ciclo de vida. Sarcophagidae.

INTRODUCCIÓN

El género *Microcerella* Macquart está representado por varias especies ampliamente distribuidas en América del Sur. Hasta el momento, se han registrado para la fauna de la Patagonia Argentina más de 20 especies

(Pape, 1996; Mariluis, 2002a, 2004).

La sistemática de la familia Sarcophagidae es controvertida y poco clara. Algunos especialistas que objetan el empleo de estructuras no comunes a ambos sexos y siguen la nomenclatura tradicional, distinguen sólo dos géneros: *Sarcophaga* y

Wohlfahrtia. Otros, separan a *Sarcophaga* en varios géneros diferentes reconociendo alrededor de 400, los cuales resultan imposibles de identificar con el solo estudio de las hembras (Lane & Crosskey, 1993). Los órganos sexuales del macho en la mayoría de los casos, presentan la prueba final de la relación entre las especies y entre los géneros (Blanchard, 1939).

Los sarcófagidos, dípteros de hábitos sinantrópicos, son importantes como vectores mecánicos de agentes patógenos y por su capacidad para causar una parasitosis conocida como miasis, que define la infestación producida por larvas de moscas que invaden los tejidos y los órganos del hombre o de otros animales vertebrados (Rey, 1991). Las hembras de Sarcophagidae, todas larvíparas, depositan las larvas de primer estadio sobre carroña o cadáveres frescos, debido a ello muchas especies de esta familia son de interés forense.

Blanchard (1942) trata a *Microcerella acrydiorum* (Weyenbergh) como *Doringia acridiorum* y señala que esta especie es uno de los parásitos de la langosta *Schistocerca paranensis* Burmeister más importante y de mayor difusión en la República Argentina.

La mayoría de las especies que, siguiendo la nomenclatura tradicional, se agrupan dentro de *Sarcophaga*, entre ellas *M. acrydiorum*, son agentes productores de miasis facultativa (Mangarelli & Andreadis, 1981; Burgess & Spraggs, 1992). Dado que en la literatura médica con frecuencia se registran los casos de miasis como producidos por *Sarcophaga* sp., sin identificar con exactitud la especie, no puede descartarse que *M. acrydiorum* sea la responsable de miasis cavitarias, traumáticas e intestinales (Cilla *et al.*, 1992; Mielke, 1997).

Los estudios que se han realizado hasta el momento sobre el género *Microcerella*, se basan principalmente en características morfológicas de importancia taxonómica (Pape, 1996; Mariluis 2002b, 2005), por lo tanto se desconocen aún aspectos de su ciclo de vida. El presente trabajo tiene como objetivos describir el desarrollo post-embriionario de *Microcerella acrydiorum*, criada en condiciones de laboratorio y estimar el tiempo de desarrollo larval y pupal; el

período de prelarviposición; la supervivencia en cada etapa y la razón sexual de los adultos.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el laboratorio de Parasitología Clínica de la Universidad Nacional del Sur se estudió el ciclo completo de *Microcerella acrydiorum*. Las larvas, las pupas y los adultos se desarrollaron en una habitación con temperatura media de $27,50 \pm 2,60^{\circ}\text{C}$, humedad relativa (HR) media de $36,47 \pm 8,10\%$ y fotoperíodo artificial de 14 horas luz / 10 horas oscuridad. La temperatura y la humedad relativa fueron registradas diariamente mediante un higrotermómetro HT05.

Para comenzar la experiencia, se seleccionaron al azar 10 hembras grávidas que provenían de la tercera generación de una colonia establecida con anterioridad en el laboratorio. Cada hembra fue colocada en un recipiente cilíndrico de vidrio, de 350 ml de capacidad, que se cubrió con una malla muy fina de nylon sujeta a los bordes mediante una banda elástica.

Cada frasco contenía un trozo de carne vacuna magra sobre el cual las hembras larvipusieron; como fuente de alimento de las larvas se utilizó el mismo sustrato que estimuló la puesta, el cual era humedecido diariamente y cada dos días se le agregaba una nueva porción.

De cada recipiente se tomaron al azar dos larvas de tercer estadio (L III) que fueron colocadas para su fijación en agua a 95°C durante 5 minutos. Luego fueron guardadas en alcohol etílico diluido al 75% con agua destilada. Siguiendo la técnica de transparentización y montaje para larvas fijadas (Mazza & Jörg, 1939) se hicieron preparados para microscopio óptico del esqueleto cefalofaríngeo y de los espiráculos. Estos elementos, junto con los adultos permitieron la clasificación taxonómica.

Cuando se observó que las primeras L III dejaban de alimentarse, las larvas que quedaban sin fijar se transfirieron para que iniciaran la etapa de pupa, a recipientes limpios de vidrio, de 350 ml de capacidad que contenían como mínimo 5 cm de tierra

Tabla I. Larvas de *M. acrydiorum* que se contaron en cada frasco (**submuestra**), se fijaron y se transfirieron a los recipientes con tierra para que empupen. **n:** tamaño de la muestra considerando todos los frascos de manera conjunta.

| Submuestras | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | n |
|-------------------|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|-----|
| LIII | 22 | 23 | 17 | 27 | 9 | 11 | 12 | 25 | 17 | 14 | 177 |
| LIII fijadas | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 20 |
| LIII transferidas | 20 | 21 | 15 | 25 | 7 | 9 | 10 | 23 | 15 | 12 | 157 |

húmeda (Tabla I). Sobre la tierra se colocó un trozo de carne que llevaba 24 horas fuera de la heladera y sobre él se depositaron las larvas que continuaron separadas por puestas; cada frasco se cubrió con una malla de nylon asegurada con una banda elástica y la humedad del suelo se mantuvo agregándole 2 ml de agua diarios.

Para determinar la duración media del período larval, se registró el número de individuos que se encontraban enterrados o cavando galerías diariamente, y se estimó el tiempo transcurrido desde que nacen hasta que se entierran.

Al permitir que las larvas empupen en la tierra, como naturalmente lo hacen, no se pudo observar el proceso de pupariación, durante el cual las larvas postalimentarias se retraen y oscurecen formando el pupario; en consecuencia no se diferenciaron los estados de prepupa y pupa, y se los consideró en forma conjunta bajo la denominación de período pupal. Para determinar este período se midió el tiempo transcurrido entre el ocultamiento de las larvas debajo de la tierra y la emergencia de los adultos.

En forma diaria los adultos fueron retirados de los frascos con tierra y sexados *in vivo* por la genitalia. En recipientes de vidrio de 350 ml de capacidad se colocó, en los casos que fue posible, una hembra y un macho. Cada frasco fue provisto de una pequeña cápsula, con un algodón embebido en una solución azucarada al 3% como fuente de alimento.

Como en los estudios previos no se registraron puestas antes de la semana y en el caso de los sarcófagos, no es necesaria la proteína de la carne para que se produzca la cópula (Kamal, 1958), recién a los siete días se les suministró como fuente proteica y estímulo de larvificación un trozo de carne

de vaca sin grasa ni nervios, que llevaba 24 horas a temperatura ambiente. El medio fue observado diariamente para constatar la presencia de larvas, con el fin de estimar el período medio de prelarvificación.

Para determinar el número de puestas por hembra, estas fueron separadas de las larvas al detectar las primeras larvas sobre la carne, y trasladadas a otro recipiente que contenía solución azucarada y un trozo de carne de iguales características que los anteriores.

A los 15 días de la emergencia del último adulto se tamizó la tierra, se colectaron y se contabilizaron los puparios vacíos y los enteros (con pupa o adulto en su interior).

Para no interferir en el normal desarrollo de las larvas, optamos por comenzar el análisis de supervivencia con las larvas de tercer estadio (L III). Se estimó la probabilidad de supervivencia como el porcentaje de individuos vivos en cada etapa, en relación con el número inicial de larvas III que se pusieron a empupar y se determinó la supervivencia relativa de cada estado, calculada como porcentaje de supervivientes al final del estado en relación con el número de individuos al inicio del mismo (Rabinovich, 1980).

La proporción sexual fue estimada como número de hembras emergidas / número de machos emergidos y luego mediante una prueba Chi-cuadrado de bondad de ajuste, se probó si la relación era diferente de la esperada 1:1 (Zar, 1999).

RESULTADOS

La mayoría de las hembras de *M. acrydiorum* depositaron larvas, con

Tabla II. Duración del período larval, pupal y de prelarvificación de *M. acrydiorum* a $27,50 \pm 2,60$ °C, $36,47 \pm 8,10\%$ de HR y fotoperíodo artificial de 14 horas luz. X: media S: desvío estándar n: tamaño de la muestra.

| Período | X ± S (días) | Rango (días) | n |
|-------------------------|--------------|--------------|-----|
| Larval | 3,78 ± 0,81 | 3-5 | 157 |
| Pupal (prepupa + pupal) | 8,63 ± 1,45 | 7-14 | 155 |
| Larva- adulto | 12,41 | 10-19 | 119 |
| Prelarvificación | 18,25 ± 4,06 | 10-25 | 9 |
| Larva-Larva | 30,66 | 20-34 | -- |

preferencia sobre el sustrato que presentaba un cierto grado de descomposición. En muy pocas ocasiones, ovipusieron pequeños huevos que después de ser incubados cuidadosamente no eclosionaron.

La Tabla II muestra: la duración del período larval; el tiempo medio para el desarrollo pupal que incluye los estados de prepupa y pupa; el período de desarrollo de larva a adulto, y el tiempo medio de prelarvificación. Al considerar el período medio de prelarvificación más el período de larva a adulto, se obtiene la duración media del ciclo completo de larva a larva; es decir, el tiempo que demora en producirse una nueva generación.

El tiempo de emergencia de las hembras fue el mismo que el de los machos, y a los 2 días éstos comenzaron a fecundar a las hembras. Del total de hembras, sólo el 14,75% larvipuso entre 7 y 55 larvas; de este porcentaje, el 55,56% lo hizo en una sola puesta; el 22,22% en dos, con una diferencia entre una y otra de 3 a 6 días; el 22,22% restante larvipuso en tres tandas con una diferencia entre las pariciones de 4 a 10 días.

Para el estudio de supervivencia se subdividió el estado adulto en preemergente y emergente. El primer término se usó para

denominar a los adultos que lograron salir del pupario, cuya cantidad se estimó a partir de los puparios vacíos; el segundo para nombrar los adultos que emergieron y fueron contados en la superficie.

Aquellos que consiguieron salir del pupario, pero que por diversas razones no pudieron emerger a la superficie se denominaron adultos no emergentes. Éstos fueron encontrados parcialmente descompuestos cuando se tamizó la tierra.

En la Tabla III, se expone la cantidad de individuos vivos en cada estado y la probabilidad de supervivencia en relación con el número inicial de larvas III que se pusieron a empupar. En la Tabla IV se muestra la supervivencia relativa de cada estado o estadio.

La mortalidad en los distintos estados se expone en la figura 1, observándose un mayor porcentaje de individuos muertos en el estado de prepupa-pupa.

De los 119 adultos que se obtuvieron, 61 (51%) fueron hembras y 58 (49%) machos. De acuerdo con el resultado de la prueba Chi-cuadrado de bondad de ajuste, no se hallaron evidencias de que la proporción de sexos sea diferente de la relación esperada 1:1 ($p > 0,15$).

Tabla III. Probabilidad de supervivencia (%) en cada etapa del desarrollo de *M. acrydiorum* a $27,50 \pm 2,60$ °C, $36,47 \pm 8,10\%$ de HR y fotoperíodo artificial de 14 horas luz. Ad. preem: adultos preemergentes Ad. emerg: adultos emergentes.

| Estado/io | Nº de individuos | Probabilidad de supervivencia (%) |
|------------|------------------|-----------------------------------|
| Larvas III | 157 | - |
| Pupas | 155 | 98,73 |
| Ad. preem. | 133 | 84,71 |
| Ad. emerg. | 119 | 75,80 |

Tabla IV. Supervivencia relativa (%) de cada etapa del desarrollo de *M. acrydiorum* a $27,50 \pm 2,60$ C, $36,47 \pm 8,10\%$ de HR y fotoperíodo artificial de 14 horas luz. **Ad. preem:** adultos preemergentes **Ad. emerg:** adultos emergentes.

| Estado/ io | N° inicial | N° final | Supervivencia relativa |
|------------------|------------|----------|------------------------|
| Larva III - Pupa | 157 | 155 | 98,73% |
| Pupa – Ad. Preem | 155 | 133 | 85,81% |
| Ad. – Ad. Emerg. | 133 | 119 | 89,47% |

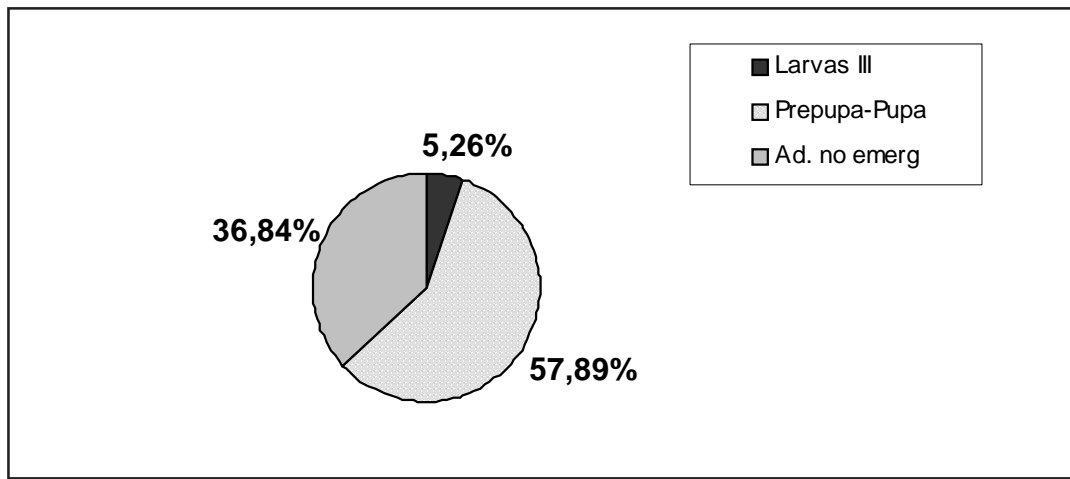


Fig. 1. Mortalidad de *M. acrydiorum* a $27,50 \pm 2,60$ °C, $36,47 \pm 8,10\%$ de HR y fotoperíodo artificial de 14 horas luz.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En muy pocas ocasiones las hembras de *M. acrydiorum* depositaron sobre el sustrato pequeños huevos, a pesar de ello no pueden definirse como ovíparas ya que los huevos nunca eclosionaron. Kamal (1958) y Abasa (1970) encontraron resultados semejantes para *Sarcophaga bullata* y *Sarcophaga tibialis* respectivamente. Es probable que los huevos depositados en estos casos no se encuentren fertilizados, pero para afirmarlo deberíamos realizar estudios histológicos que lo confirmen.

El desarrollo larval involucra tres estadios muy breves, el tercer estadio se alcanza, en general, antes del cuarto día de vida. Si bien no se pudo estimar el tiempo de desarrollo para larva I, larva II y larva III, logramos determinar el tiempo que necesitan para alcanzar la madurez y empupar las larvas de *M. acrydiorum*, criadas en un ambiente cálido

con baja HR. Este tiempo, que hemos denominado duración del período larval, depende del tamaño corporal de los individuos inmaduros, ya que para lograr una pupación exitosa las larvas deben adquirir antes una masa corporal mínima, que les asegure las reservas alimenticias necesarias para satisfacer los requerimientos fisiológicos de la metamorfosis y de su desarrollo posterior (Kamal, 1958).

Levot et al. (1979) y Salviano et al. (1996) estudiaron el desarrollo larval de diferentes especies de sarcófagos a $27-28^{\circ}\text{C}$ y $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ respectivamente, encontrando que a esas temperaturas la duración del período larval es de aproximadamente 3 días. Este valor resulta similar al observado para las larvas de *M. acrydiorum* desarrolladas a $27,50 \pm 2,60$ °C.

El período pupal estimado en esta experiencia para *M. acrydiorum*, que incluye los estados de prepupa y pupa y los procesos de pupariación y de pupación, fue similar al

registrado por Kamal (1958) para otras especies del género *Sarcophaga*.

El período de prelarvificación calculado para *M. acrydiorum* fue extenso comparado con el de las especies del género *Sarcophaga*, todas larvíparas, estudiadas bajo condiciones similares de temperatura, humedad y fotoperíodo por Kamal (1958), Abasa (1970) y Krüger et al. (2003).

En el ciclo de vida de *M. acrydiorum*, la etapa crítica donde se registra el mayor porcentaje de muertos, es la de prepupa-pupa. En general, la mayor parte de los insectos que tienen estadios larvales bien destacados, seguidos por una metamorfosis para llegar a la condición de adulto, suelen evidenciar mortalidades relativamente altas en las transiciones de un modo de vida a otro (Rabinovich, 1980).

Es importante destacar la existencia de un porcentaje de adultos que, una vez fuera del pupario, no consiguen salir a la superficie y quedan atrapados en la tierra. Ninguno de los autores antes citados hace referencia a este resultado, que representa el 36,84% de la mortalidad, probablemente porque al trabajar con aserrín, papel u otro sustrato que no ofrecen al insecto las dificultades de la tierra, no han obtenido adultos no emergentes.

Los parámetros biológicos estudiados, si bien han sido evaluados en el laboratorio, pueden dar una orientación acerca de la supervivencia de las pupas y de los adultos, y del tiempo en que se desarrollan las larvas y las pupas de *M. acrydiorum* en una franja de temperatura próxima a los 27 °C.

Estos datos pueden ser de interés en entomología forense.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Juan Carlos Mariluis, Dto. de Vectores, ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán» por la determinación taxonómica de los adultos.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. ABASA, R. O. 1970. Reproductive biology of *Sarcophaga tibialis* (Diptera: Sarcophagidae). I. Life history with notes on prepupation mortality and pupation habits. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63 (2): 466-469.
2. BLANCHARD, E. E. 1939. Los Sarcófágidos argentinos, contribución a su conocimiento. *Physis* 17: 791-856.
3. BLANCHARD, E. E. 1942. Los Sarcófágidos argentinos, segunda contribución a su conocimiento. *Physis* 19 (52): 133-172.
4. BURGESS, I. & P. D. R. SPRAGGS. 1992. Myiasis due to *Parasarcophaga argyrostoma*, first recorded case in Britain. *Clin. Exp. Dermatol.* 17: 261-263.
5. CILLA, G., F. PICÓ, A. PERIS, P. IDÍGORAS, M. URBIETA & E. PÉREZ TRALLERO. 1992. Miasis genital humana por *Sarcophaga*. *Rev. Clín. Esp.* 190 (4): 189-190.
6. KAMAL, A. S. 1958. Comparative study of thirteen species of sarcosaprophagous Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera). I. *Bionomics. Ann. Entomol. Soc. Am.* 51 (3): 261-271.
7. KRÜGER, R. F., P. B. RIBEIRO & P. R. PEIXOTO COSTA. 2003. Ciclo de vida de *Sarcophaga (Liopygia) crassipalpis* (Macquart) (Diptera, Sarcophagidae). *Entomol. Vect.* 10 (1):85-98.
8. LANE, R. & R. CROSSKEY. 1993. *Medical insects and arachnids*. Chapman & Hall, London.
9. LEVOT, G. W., K. R. BROWN & E. SHIPP. 1979. Larval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. *Bull. Entomol. Res.* 69: 469-475.
10. MANGARELLI, L. & T. ANDREADIS. 1981. Human cases of furuncular, traumatic and nasal myiasis in Connecticut. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 30 (2): 98-99.

11. MARILUIS, J. C. 2002a. A new species and new records of *Microcerella* Macquart (Diptera: Sarcophagidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 104 (1): 91-96.
12. MARILUIS, J. C. 2002b. Redescription of the female of *Microcerella chilensis* (Diptera: Sarcophagidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 61 (3-4): 43-47.
13. MARILUIS, J. C. 2004. *Microcerella* (Diptera: Sarcophagidae) from Argentinean Patagonia: new records and new species. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 63 (1-2): 41-44.
14. MARILUIS, J. C. 2005. Redescription of the female of *Microcerella acrydiorum* (Diptera: Sarcophagidae) and new from Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 64 (1-2): 17-22.
15. MAZZA, S. & M. JÖRG. 1939. *Cochliomyia hominivorax*, estudio de sus larvas y consideraciones sobre miasis. Investigaciones sobre Dípteros argentinos. *Mis. Estud. Patol. Reg. Argent.* 41: 3-46.
16. MIELKE, U. 1997. Nosocomial myiasis. *J. Hosp. Infect.* 37: 1-5.
17. PAPE, T. 1996. Catalogue of Sarcophagidae of the world (Insecta: Diptera). *Mem. Entomol. Inter.* 8: 1-558.
18. RABINOVICH, J. 1980. *Introducción a la ecología de las poblaciones animales*. Compañía Editorial Continental, México.
19. REY, L. 1991. *Parasitología*. Editorial Guanabara-Koogan, Río de Janeiro.
20. SALVIANO, R., R. PINTO DE MELLO, L. BECK & J. M. D' ALMEIDA. 1996. Aspectos bionômicos de *Squamatoides trivittatus* (Diptera, Sarcophagidae) sob condições de laboratório. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 91 (2): 249-254.
21. ZAR, J. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey.

Recibido: 21-X-2005

Aceptado: 15-III-2006