



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL
NÍVEL MESTRADO

Kaynara Cecília Nery Rabêlo

INFLUÊNCIA DA DIETA SOBRE A BIONOMIA DE
DUAS ESPÉCIES DE DíPTEROS CALIFORÍDEOS DE
IMPORTÂNCIA FORENSE

Recife
2010

Kaynara Cecília Nery Rabêlo

**INFLUÊNCIA DA DIETA SOBRE A BIONOMIA DE
DUAS ESPÉCIES DE DÍPTEROS CALIFORÍDEOS DE
IMPORTÂNCIA FORENSE**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre pelo Programa
de Pós-graduação em Biologia Animal da
Universidade Federal de Pernambuco

Orientador: Prof. Dr. Simão Dias Vasconcelos

Recife

2010

Rabêlo, Kaynara Cecília Nery

Influência da dieta sobre a bionomia de duas espécies de dípteros califorídeos de importância forense / Kaynara Cecília Nery Rabêlo. – Recife: O Autor, 2010.

67 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Simão Dias Vasconcelos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Biologia Animal, 2010.

Inclui bibliografia e apêndice.

1. Moscas 2. Entomologia forense 3. Insetos necrófagos I. Título.

595.77 CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2010-84

Kaynara Cecília Nery Rabêlo

**INFLUÊNCIA DA DIETA SOBRE A BIONOMIA DE DUAS ESPÉCIES DE DíPTEROS
CALIFORÍDEOS DE IMPORTÂNCIA FORENSE.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, pelo programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco.

Defendida em 23/02/2010

BANCA EXAMINADORA

Orientador: _____

Prof. Dr. Simão Dias Vasconcelos (orientador) - UFPE.

Examinador I: _____

Profa. Dra. Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque – UFPE.

Examinador II: _____

Prof. Dr. José Roberto Botelho de Souza – UFPE.

Examinador III: _____

Profa. Dra. Patrícia Jacqueline Thyssen – UNICAMP.

Suplente I: _____

Prof. Dr. Paulo Jorge Parreira dos Santos - UFPE.

Suplente II: _____

Prof. Dr. Cláudio Galvão de Souza Júnior - UFRPE.

Dedico este trabalho à minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Ele sempre me fornecer a necessária coragem para atingir meus objetivos e superar os desafios, e pela proteção da minha família.

Aos meus pais Zelita e Rabêlo e a toda minha família, um agradecimento que não se traduz com as palavras, pois sem eles este sonho não teria se tornado realidade. Obrigada por sempre apoiarem e incentivarem nas minhas decisões em todos os momentos da minha vida.

Um agradecimento especial a minha irmã Yonara pela amizade, apoio, confiança e carinho.

Ao “amor da minha vida”, Rodrigo Almendra, por estar ao meu lado e oferecer seu amor, paciência, compreensão, estímulo e cumplicidade incondicionais.

Ao meu orientador Prof. Dr. Simão Dias Vasconcelos, pela oportunidade de ter me acolhido em sua equipe de trabalho e pela confiança em mim depositada desde o início. Obrigada também, por ter emprestado a resplandecência de seus talentos, ensinando-me durante essa jornada acadêmica.

Aos Professores constituintes da banca pela leitura crítica e avaliação do trabalho.

A Prof. Dr. Patrícia Thyssen pela colaboração no desenvolvimento desse experimento, através da sua contribuição intelectual, pela amizade conquistada e por sempre me atender com muita atenção.

Aos professores Dr. Arício Linhares e ao Dr. José Roberto pelas contribuições na análise estatística.

Aos novos colegas adquiridos através do estágio na Unicamp.

Ao prof. Dr. Artur Bidiano pela análises químicas das amostras. E a João Nahare, pelo imenso favor prestado e pela amizade.

À prof^a Arlene Santos, pela colaboração e por sempre estar disponível em ajudar.

A todos os colegas de turma do mestrado em Biologia Animal, no qual no início, éramos unidos apenas por um objetivo comum, e aos poucos a convivência foi nos aproximando.

A todos do LIT, sem exceção, por proporcionarem um ambiente de trabalho alegre, companheiro e de uma amizade única.

Um agradecimento especial a Roberta por sempre se referir a mim como um anjo, mas quem lhe agradece sou eu por iluminar a minha vida com sua valiosa amizade; e a Manuela também pela amizade construída com o convívio diário e pelo companheirismo nas horas de trabalho. Agradeço a vocês pela valiosa ajuda com o experimento... principalmente pela abdicação dos fins de semana!!!

A Tatiana e a Lucrecia pela estima da amizade verdadeira. E a Carolina Liberal por sempre estar disposta e disponível em me ajudar e escutar, além da valiosa amizade construída.

A Viviane por ser tão solícita nos momentos que precisei.

A todos os funcionários da UFPE que me auxiliaram nas minhas necessidades técnicas do laboratório, principalmente Roberto, Aurenice e Ana Elisabeth.

Ao Instituto de Medicina Legal Antônio Persivo da Cunha (IMLAPC) pelas coletas.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE), pelo auxílio financeiro (IBPG 0407 2.04/08) vinculado sob forma de concessão de bolsa concedida durante dois anos. Além da aprovação do Auxílio à Mobilidade Discente (AMD 0081-2.00/09), onde foi possível a realização do estágio na Unicamp.

Enfim, meus agradecimentos a todos aqueles que estiveram envolvidos direta ou indiretamente, contribuindo desde a preparação até a conclusão deste trabalho.

Aos insetos de laboratório, as moscas-varejeiras *Chrysomya megacephala* e *C. putoria*. Sem elas, esta pesquisa não teria sido concretizada.

Muito obrigada!

*“Ao verme que primeiro roeu as frias
carnes do meu cadáver dedico como
saudosas lembranças estas memórias
póstumas”*

Machado de Assis (Memórias Póstumas De
Brás Cubas) primeiro grande escritor brasileiro
a homenagear a fauna cadavérica.

*“Who saw him die? I, said the fly, with my
little eye.
I saw him die”.*

Anonymous.

RESUMO

A consolidação da Entomologia Forense no Brasil exige a utilização de dados quantitativos sobre a bionomia das espécies associadas à decomposição de cadáveres, especialmente em condições semi-sintéticas de criação. Este trabalho visou estudar parâmetros bionômicos de duas espécies de dípteros necrófagos da família Calliphoridae: *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830) em laboratório criadas em quatro tipos de dietas. Os seguintes parâmetros foram avaliados: tempo de desenvolvimento, peso, largura, comprimento e mortalidade de imaturos e adultos, além da razão sexual e longevidade. Para cada dieta semi-sintética utilizada à base de leite em pó integral, caseína e levedo de cerveja, foram inclusos sardinha, rúmen de boi e ovo de galinha. Como controle, para observar o desempenho nutricional dos imaturos foi usada a carne moída bovina. Os experimentos foram conduzidos em condições controladas na Universidade Federal de Pernambuco de abril a outubro de 2009. Das quatro réplicas para cada dieta foram aferidos o peso a cada 12 h e parâmetros como largura, comprimento e identificação do ínstar a cada 24 h, de forma que cada larva fosse observada no máximo uma única vez para evitar estresse resultante da manipulação. O tempo total de desenvolvimento variou de 231.1 h (dieta com carne) a 242.6 h (dieta com ovo) para *C. megacephala* e para *C. putoria* variou de 319 h (dieta com carne) a 347 h (dieta com sardinha). Os valores de peso para *C. megacephala* foram significativos para todos os estádios de desenvolvimento ($p < 0.05$), e para *C. putoria* somente o 2º ínstar foi não significativo. Caracteres morfológicos dos imaturos, como comprimento e largura, foram significativamente afetados pelo tipo de dieta em *C. megacephala*, contudo para *C. putoria* no parâmetro largura no 2º e 3º ínstar e para o comprimento no 2º ínstar e pupa não apresentaram diferença significativa. A mortalidade foi maior na fase de larva e entre indivíduos mantidos em dieta acrescida de ovo. A alimentação à base de carne resultou em adultos maiores e mais pesados. A longevidade dos adultos variou de 47 a 61 dias (*C. megacephala*) e de 37 a 51 dias (*C. putoria*) de acordo com a dieta sendo estatisticamente significativo. A razão sexual não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, não sendo afetada pelo tipo de substrato oferecido às larvas para ambas às espécies. Conclui-se que a utilização de dietas semi-sintéticas pode ser favorável para o trabalho do perito forense, uma vez que não causa variações deletérias no desenvolvimento das espécies testadas. A homogeneidade de sua composição, a eliminação de odores dentro do local de trabalho e a adequabilidade para mais de uma espécie são vantagens do uso das dietas semi-sintéticas.

Palavras-chave: Entomologia Forense. Ciclo de vida. Califorídeos. Insetos necrófagos.

ABSTRACT

The consolidation of the Forensic Entomology in Brazil demands the use of quantitative data about the bionomy of the species associated with the decomposition of cadaver, especially under semi-synthetic growth conditions. This work aimed studying the bionomic parameters of two scavenger diptera species of the Calliphoridae family: *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) and *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830), both of them maintained in laboratory with four different diets. The analyzed factors were: time of development, weight, width, length, mortality of immature and adult individuals, sex ratio and longevity. For each semi-synthetic diet was used powered milk, casein and yeast as base, then was added sardines, rumen of beef and chicken egg. In order to observe the nutritional development of the immature, chopped meat was used as a control. The experiments were conducted under controlled conditions at the Universidade Federal de Pernambuco from April to October of 2009. Each diet had four replicates. The weight was measured every 12 hours, while the width, length and the instar identification occurred every 24 hours. This precaution was taken in order to avoid the stress related to the manipulation. The total developmental time ranged from 231.1 h (meat diet) to 242.6 h (egg diet) for *C. megacephala* and *C. putoria* ranged from 319 h (meat diet) to 347 h (sardines diet). The weight values for *C. megacephala* were significant for all instars ($p < 0.05$), except for *C. putoria* on the 2^o instar. Morphological characters of the immatures as width and length were significantly affected by the type of diet for *C. megacephala*. Although for *C. putoria* width parameter in the 2^o and 3^o instar and the length in the 2^o instar and pupae did not differ significantly. The mortality rate was higher on the larval phase and between individuals kept under chicken egg diet. The feeding based on chopped meat resulted in bigger and heavier adults. The longevity of the adults ranged between 47 to 61 days (*C. megacephala*) and from 37 to 51 days (*C. putoria*) and depending of the diet, this rate was significantly. The sexual ratio did not differ significantly among the treatments, not being affected by the different diets offered to the larvae of both species. We conclude that the use of semi-synthetic diets can be useful for the crime scene investigator, once there is not a deleterious effect on the development of the studied species. The homogeneity of their composition, the lack of odors on the work place and the fitness for more than one species, are advantages in the use of semi-synthetic diets.

Key words: Forensic Entomology. Life cycle. Calliphorids. Necrophagous insects.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 01** - Esquema dos hábitos alimentares de dípteros muscóides. 17
- FIGURA 02** - Imaturo e adulto de dípteros califorídeos (esp: espiráculo protorácico; ce: cerda estigmática): A) *Chrysomya megacephala* ; B) *Chrysomya putoria*. 18
- FIGURA 03** - Desenvolvimento de califorídeos com a duração de cada estágio, do ovo até a emergência do adulto. 20
- FIGURA 04** – Curva sigmóide do crescimento larval. M: peso larval máximo; N e P: início e fim do período crítico de alimentação (PCA); * período de crescimento mais rápido. 21
- FIGURA 05** – Canal alimentar de larva do terceiro estágio de *Chrysomya megacephala*. O estomodeu é composto pela boca (Mo), glândulas salivares (SG), esôfago (Es) e estômago (Cr). A cardia (Ca) representa a junção do estomodeu e do mesêntero. O mesêntero consiste de cecos gástricos (GC), seguido pelo intestino anterior (AMG), intestino médio (MMG) e intestino posterior (PMG). O proctodeu (HG) começa com o piloro (Py) de onde partem os túbulos de Malpighi (MT) íleo (Il), cólon (Co), reto (Re), e ânus (An). 23
- FIGURA 06** – Larvas de *Chrysomya* em carne moída. 28
- FIGURA 07** – A) Gaiola em polietileno para criação dos muscóides; B) Alimentação dos muscóides nas gaiolas. 28
- FIGURA 08** – Porcentagem da duração de cada estágio do ciclo de vida de *Chrysomya megacephala* de acordo com cada dieta. A) Dieta com carne; B) Dieta semi-sintética com inclusão de sardinha; C) Dieta semi-sintética com inclusão de rúmen; D) Dieta semi-sintética com inclusão de ovo. 35
- FIGURA 09** - Porcentagem da duração de cada estágio do ciclo de vida de *Chrysomya putoria* de acordo com cada dieta. A) Dieta com carne; B) Dieta semi-sintética com inclusão de sardinha; C) Dieta semi-sintética com inclusão de rúmen; D) Dieta semi-sintética com inclusão de ovo. 36
- FIGURA 10** – Média do ganho de peso (mg) por fase de desenvolvimento (imaturo a adulto) de acordo com o substrato alimentar. A) *Chrysomya megacephala* e B) *Chrysomya putoria*. As barras verticais indicam o desvio padrão. 38

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – Análise centesimal dos substratos alimentares experimentais.	31
TABELA 02 - Duração média de cada estágio de desenvolvimento (horas) ± DP de <i>Chrysomya megacephala</i> e <i>Chrysomya putoria</i> nos diferentes tipos de dietas.	34
TABELA 03 - Média do peso (mg) ± DP de larva a adulto de <i>Chrysomya megacephala</i> e <i>Chrysomya putoria</i> nos diferentes tipos de dietas, em cada fase de desenvolvimento	37
TABELA 04 - Comprimento médio (mm) ± DP de larva a adulto de <i>Chrysomya megacephala</i> e <i>Chrysomya putoria</i> nos diferentes tipos de dietas.	40
TABELA 05 - Largura média (mm) ± DP de larva a pupa de <i>Chrysomya megacephala</i> e <i>Chrysomya putoria</i> nos diferentes tipos de dietas.	41
TABELA 06 – Mortalidade Média (% ± DP) de larvas e pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> e <i>Chrysomya putoria</i> .	42
TABELA 07 - Razão sexual e média da longevidade (dias) ± DP de adultos de <i>Chrysomya megacephala</i> e <i>Chrysomya putoria</i> nos diferentes tipos de dietas.	43
TABELA 08 – Síntese da análise dos parâmetros bionômicos de indivíduos de <i>Chrysomya megacephala</i> mantidos sobre diferentes dietas	46
TABELA 09 – Síntese da análise dos parâmetros bionômicos de indivíduos de <i>Chrysomya putoria</i> mantidos sobre diferentes dietas	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 INSETOS DE IMPORTÂNCIA FORENSE	15
2.2 BIONOMIA	19
2.3 NUTRIÇÃO DE INSETOS NECRÓFAGOS	21
2.4 CRIAÇÃO DE DÍPTEROS COM DIETAS SEMI-SINTÉTICAS	23
3 OBJETIVOS E HIPÓTESES	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3.3 HIPÓTESES	26
4 METODOLOGIA	27
4.1 OBTENÇÃO DOS ESPÉCIMENS E ESTABELECIMENTO DE UM PROTOCOLO DE CRIAÇÃO	27
4.2 DIETAS SEMI-SINTÉTICAS E MONTAGEM DO EXPERIMENTO	28
4.3 PARÂMETROS BIONÔMICOS ANALISADOS	29
4.4 ANÁLISE FÍSICO - QUÍMICA	30
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5 RESULTADOS	33
5.1 TEMPO DE DESENVOLVIMENTO	34
5.2 PESO	36
5.3 TAMANHO DOS INDIVÍDUOS	39
5.4 MORTALIDADE	41
5.5 RAZÃO SEXUAL E LONGEVIDADE	42
5.6 CONFECÇÃO DAS DIETAS	43
6 DISCUSSÃO	45
6.1 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALISADOS	45
6.1.1 TEMPO DE DESENVOLVIMENTO	48
6.1.2 PESO	49

6.1.3 TAMANHO	51
6.1.4 MORTALIDADE	51
6.1.5 RAZÃO SEXUAL	52
6.1.6 LONGEVIDADE	53
6.2 CARACTERÍSTICAS DAS DIETAS E SUA APLICABILIDADE	53
FORENSE	
7. CONCLUSÕES	57
8 REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE – PREPARO DE 1000 G DE DIETA SEMI-SINTÉTICA CONTENDO TECIDO ANIMAL PARA MOSCAS VAREJEIRAS	67



1 INTRODUÇÃO

Entomologia forense, em seu âmbito médico-legal, refere-se à aplicabilidade do estudo de insetos e outros artrópodes associados ao cadáver humano em procedimentos relativos a aspectos do sistema judicial (BYRD; CASTNER, 2001; GENNARD, 2007). Trata-se de uma ferramenta ainda de prática relativamente recente em investigação criminal que utiliza principalmente espécies de insetos da Ordem Diptera, as quais, visitam a carcaça também como recurso para os estágios imaturos em desenvolvimento. Nesse caso, a determinação do período de desenvolvimento das larvas no substrato possibilita, com base em informações bionômicas, ecológicas e ambientais, o cálculo do intervalo pós-morte (IPM).

Informações sobre o ciclo de vida de espécies necrófagas são geralmente adquiridas em experimentos sob condições controladas de temperatura, umidade relativa, luminosidade e alimentação. Esta última é dificultada pela nem sempre homogeneidade dos componentes naturais que compõem um determinado tipo de alimento e também por causa do odor putrefeito da carne em decomposição, principal substrato utilizado em pesquisas de laboratório. Para fins de padronização, é necessário que as dietas semi-sintéticas sejam tão eficientes quanto o substrato natural, viabilizando alta sobrevivência dos imaturos e produção de adultos com boa capacidade reprodutiva (COHEN, 2005; GENNARD, 2007).

A dieta adequada para insetos é definida como tudo o que possa por ele ser ingerido para satisfazer suas necessidades fisiológicas. Também contribui na tentativa de substituir o alimento natural por outro que seja mais propício em interesse técnico ou econômico (COHEN, 2005). Nesse caso, dietas semi-sintéticas oligídicas são definidas como as que contêm componentes orgânicos, principalmente matéria orgânica crua (PARRA, 2001).

Esse trabalho espera contribuir para o conhecimento dos ciclos de vida de duas espécies de dípteros de importância forense, *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830). Trata-se do primeiro estudo desta natureza conduzido na região nordeste, selecionando espécies de ocorrência comprovada na região. Três tipos de dietas semi-sintéticas foram

testadas, assim como a influência destes diferentes substratos quando comparados ao meio natural. Parâmetros como tempo de desenvolvimento, peso, comprimento, largura, viabilidade, razão sexual e longevidade de larvas e adultos foram quantificados.

A dissertação consiste em uma versão ampliada do manuscrito “Bionomics of Two Forensically Important Blowfly Species *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) Reared on Four Types of Diet”, submetido ao periódico Forensic Science International.



2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INSETOS DE IMPORTÂNCIA FORENSE

Insetos são seres vivos indispensáveis em processos fundamentais para a manutenção da vida terrestre. Participam de reciclagem de nutrientes, propagação de plantas através da dispersão de sementes e polinização, manutenção da composição e estrutura da comunidade de plantas, alimento para vertebrados insetívoros, manutenção da estrutura da comunidade de animais, dentre outras funções nos ecossistemas (GULLAN; CRANSTON, 2007).

Contribuem, ainda, em investigações legais quando associados a procedimentos periciais envolvendo cadáveres humanos em decomposição decorrente de crimes, como homicídios, além de esclarecer dúvidas sobre negligência para com crianças e idosos, identificação de suspeitos, tráfico de entorpecentes, contaminação de alimentos e ações cíveis com presença de insetos em imóveis (BENECK, 1998a, 1998b, 2001; BENECK; LESSIG, 2001; BYRD; CASTNER, 2001; CATTS; GOFF, 1992; MERRIT *et al.*, 2000; OLIVEIRA-COSTA, 2007).

No Brasil, trabalhos publicados de Oscar Freire e Roquette Pinto representam os primeiros estudos de entomologia forense nos trópicos (PUJOL-LUZ *et al.*, 2008). Em 1908 foi publicado o trabalho de Bogdanov sobre criação de dípteros necrófagos, sendo a espécie *Calliphora vomitoria* (Calliphoridae) o primeiro inseto criado axenicamente em laboratório (COHEN, 2005; D'ALMEIDA; OLIVEIRA, 2002).

Após a morte, a forma de ocupação de insetos em um corpo pode auxiliar a tanatocronognose (do grego, *kronos* = tempo; *thanatos* = morte; *gnosis* = conhecimento), que significa o estudo dos meios de determinação do tempo transcorrido entre a morte e o exame necroscópico. Os insetos podem ser úteis na estimativa do tempo de morte, contudo seu desenvolvimento pode ser influenciado por fatores extrínsecos tais como condições do cadáver, temperatura e umidade ambiental (CROCE; CROCE JR., 1996; HEIN, 2007; MERRIT *et al.* 2000). A importância das espécies de insetos em uma cena criminal deve-se à capacidade de localização do substrato alimentar. Isso é possível por possuírem órgãos sensitivos

extremamente adaptados para a detecção de odores, sendo assim os primeiros a chegarem ao local do crime (BRAACK, 1987; CATTS; GOFF, 1992).

A ordem Diptera é o mais importante grupo de insetos utilizados na estimativa do intervalo pós-morte – IPM (MERRIT *et al.*, 2000), dada sua íntima associação e adaptação em explorar o recurso alimentar animal em decomposição. Além de possuírem capacidade de reconhecimento de odores extremamente apurada (BRAACK, 1987; CATTS; GOFF, 1992), utilizam a matéria orgânica em decomposição com finalidade de obter fonte protéica para oviposição ou desenvolvimento de suas fases imaturas (OLIVEIRA-COSTA, 2007). Representantes dessa ordem caracterizam-se por apresentar olhos compostos grandes, asas anteriores membranosas e funcionais, asas posteriores reduzidas (halteres). Os principais caracteres empregados na identificação taxonômica são a morfologia das antenas e pernas, a disposição das nervuras das asas, a quetotaxia (disposição das cerdas, principalmente na cabeça e no tórax) e a morfologia do edeago (BORROR; DELONG, 1986; CARVALHO; MELLO-PATIU, 2008; CARVALHO; RIBEIRO, 2000; MERRIT *et al.*, 2000).

Os representantes das famílias Calliphoridae e Sarcophagidae pertencentes à subordem Brachycera se alimentam de variadas fontes como néctar, excrementos, carcaças de animais, ou mesmo de tecidos do corpo humano (BOONSRIWONG *et al.*, 2007; RATCLIFFE, 1998). A diversidade de hábitos alimentares pode ser vista na figura 01, a qual esquematiza a radiação desses meios (FERRAR, 1987).

As moscas-varejeiras pertencem à família Calliphoridae que inclui cerca de trinta espécies (DEAR, 1985). Segundo Carvalho e Mello-Patiu (2008), há 17 espécies de califórídeos de interesse forense registradas no Brasil. Nesta família, o gênero *Chrysomya* era restrito até recentemente ao Velho Mundo e Austrália, registrando-se sua distribuição no Brasil a partir do sul do país após 1974 (GUIMARÃES *et al.*, 1978). Além da aplicabilidade forense, as espécies *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830) também são conhecidas, em outros países, pela capacidade de causar miíases, em que as larvas podem se desenvolver em tecido vivo penetrando, por exemplo, através de ferimentos preexistentes. Miíases também podem ser do tipo gastrointestinal como a provocada por ingestão acidental de ovos e/ou larvas, consumidos com alimentos e que são capazes de sobreviver no aparelho digestivo do homem (GUIMARÃES *et al.*, 1978; KETTLE, 1984; SOUZA, 1994; ZUMPT, 1965).

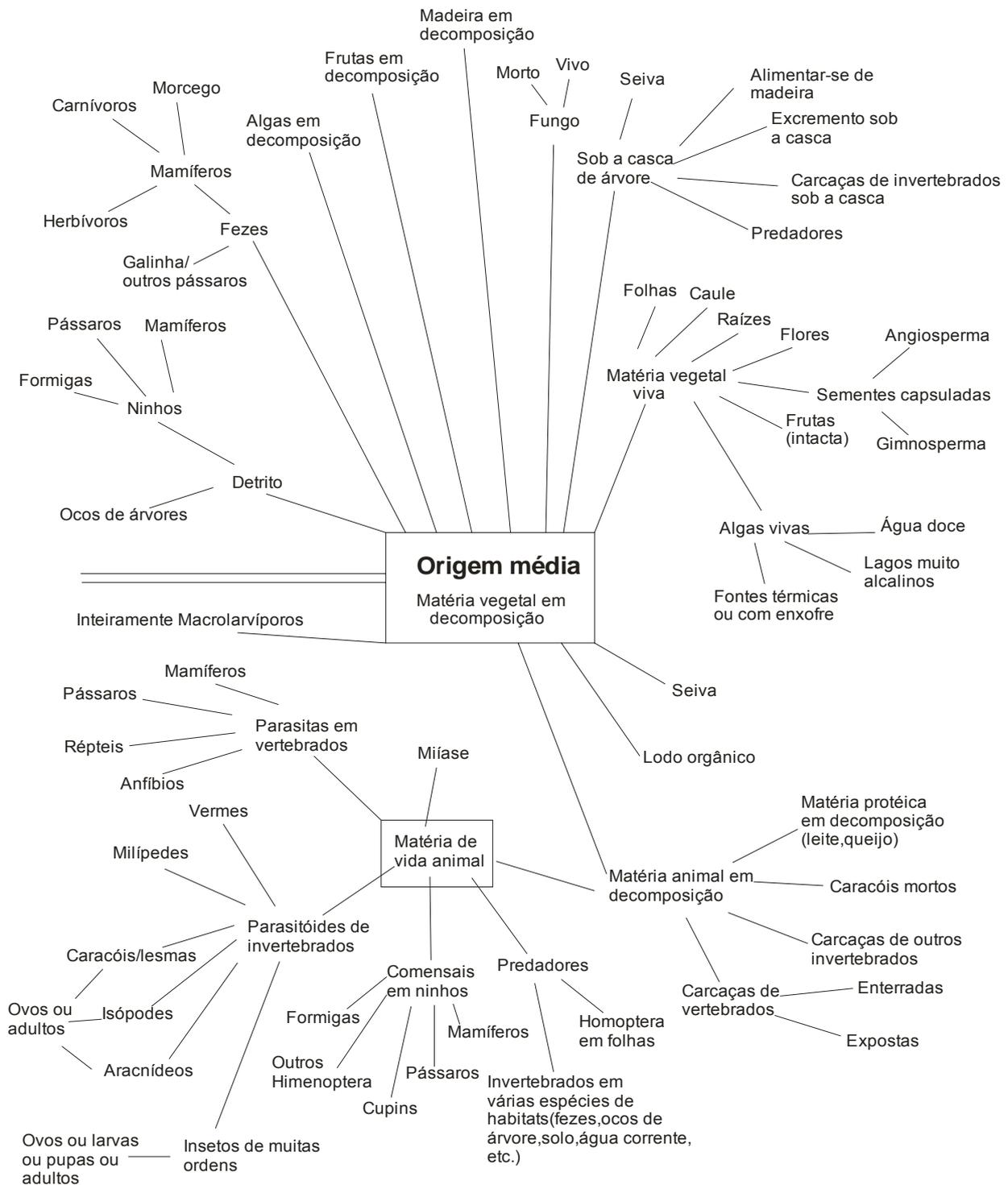


Figura 01 – Esquema dos hábitos alimentares de dípteros muscóides (modificado de FERRAR, 1987).

As larvas de *C. megacephala* e *C. putoria* apresentam peritrema incompleto (Figura 02). Além da observação de estruturas como tubérculos e forma do peritrema, a diferenciação das espécies larvais também inclui a análise do esqueleto

cefalofaringeano. O adulto de *C. megacephala* (Figura 02 a) apresenta coloração verde-azulada ou roxa e o espiráculo protorácico e caliptra inferior escuros. As antenas e genas são avermelhadas e os machos apresentam a parte superior dos olhos com grandes facetas. O adulto de *C. putoria* (Figura 02 b) apresenta coloração verde, distinguindo-se por apresentar uma cerda estigmática robusta próxima ao espiráculo protorácico de coloração branca (CARVALHO; RIBEIRO, 2000; QUEIROZ; CARVALHO 1987).

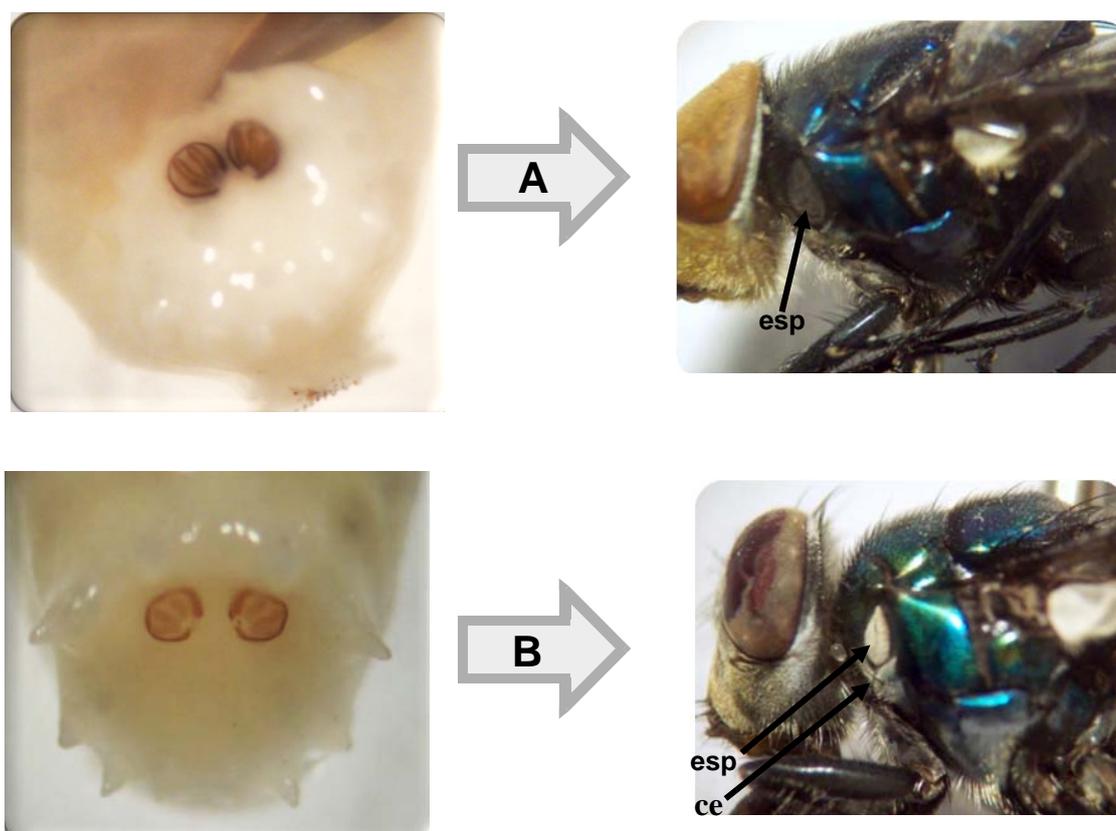


Figura 02 - Imaturo e adulto de dípteros necrófagos (esp: espiráculo protorácico; ce: cerda estigmática): A) *Chrysomya megacephala* ; B) *Chrysomya putoria*. (Fotos da autora).

As larvas de dípteros encontradas com maior frequência em um corpo em decomposição pertencem às famílias Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae (KULSHRESTHA; SATPATHY, 2001). Thyssen (2000) estudando carcaças de porcos em decomposição, relatou o predomínio das ordens Diptera e Coleoptera como principais invertebrados consumidores deste tipo de material. Diversos autores (PAYNE, 1965; RODRIGUEZ; BASS, 1983) descrevem as etapas de colonização, sendo o cadáver fresco primeiramente visitado por *Calliphora* (moscas-

varejeiras) e *Musca* (moscas-domésticas), as quais ovipõem ou deixam larvas vivas sobre o cadáver.

A fase de pupariação, que ocorre em geral no solo afastado do recurso, depende principalmente da temperatura. Sendo assim, conhecendo-se a espécie e a temperatura no cadáver (e no ambiente), pode-se tentar elaborar uma estimativa do intervalo pós-morte. Contudo, esse padrão de colonização pode sofrer alterações devido à formação geográfica e topológica; dificuldade de identificação larval dos primeiros estádios por causa da recente formação dos tubérculos e do esqueleto cefalofaríngeo; variação da temperatura ambiental; exposição do cadáver, se o mesmo estiver enterrado, seja total ou parcialmente; em decorrência da causa e local de morte - por exemplo, em mortes por afogamento a dipterofauna associada pode variar consideravelmente (GULLAN; CRANSTON, 2007).

2.2 BIONOMIA

O desenvolvimento dos dípteros holometábolos compreende os estágios de ovo, larva, pupa e adulto. Segundo Leal (1980), Greenberg e Kunich (2002), o tamanho, principalmente no segundo e terceiro estádios, depende de fatores como espécie, nutrição e temperatura. Larvas de terceiro estágio apresentam o comportamento de alimentação voraz devido à necessidade de consumir o alimento antes dos seus competidores. Possuem duas fases distintas, uma correspondente ao período de alimentação e a posterior quando a larva, ainda no terceiro estágio, encontra-se saciada para abandonar o meio e empupar (FRANKEL; BHASKARAN, 1973 *apud* KRÜGER *et al.*, 2002).

Segundo Leal (1980), Greenberg e Kunich (2002), na fase de transição do último estágio para pupa (pré-pupa), os indivíduos apresentam um decréscimo no tamanho (Figura 03) e peso, pois ocorrem fenômenos como a pausa na alimentação e contração do corpo para preparação da metamorfose e das mudanças no trato digestivo em relação à fase adulta. Nesse estágio ocorre a histólise e a histogênese, com a dissolução e reconstrução dos tecidos, havendo completa transformação nos hábitos e aspectos externos do inseto. De acordo com Greenberg e Kunich (2002), o tamanho do estômago pode ser indicativo da idade larval, já que cada estágio apresenta características peculiares, as quais podem confirmar a idade da larva e consequentemente contribuir na estimativa do intervalo pós-morte.

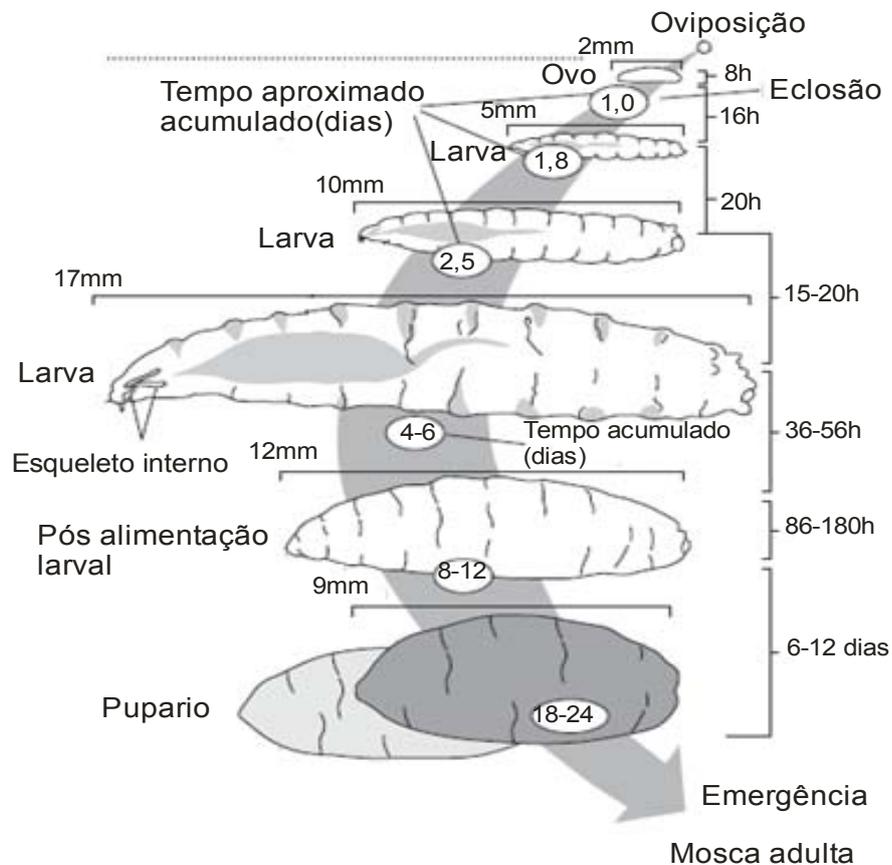


FIGURA 03 – Desenvolvimento de califorídeos: ovo até a emergência do adulto (modificada de CATTs; HASKELL, 1990).

A curva de crescimento das mais variadas espécies de muscóides apresenta uma forma sigmóide (Figura 04), podendo ser dividida em três seções: a fase inicial, na qual a larva se ajusta à dieta, a fase exponencial ou logarítmica, quando ocorre um crescimento extremamente rápido, e a fase estacionária, na qual a larva já alcançou seu tamanho ótimo de crescimento, para conseqüentemente torna-se uma pupa com peso adequado a formar um adulto viável (LEVOT *et al.*, 1979 *apud* LEAL, 1980).

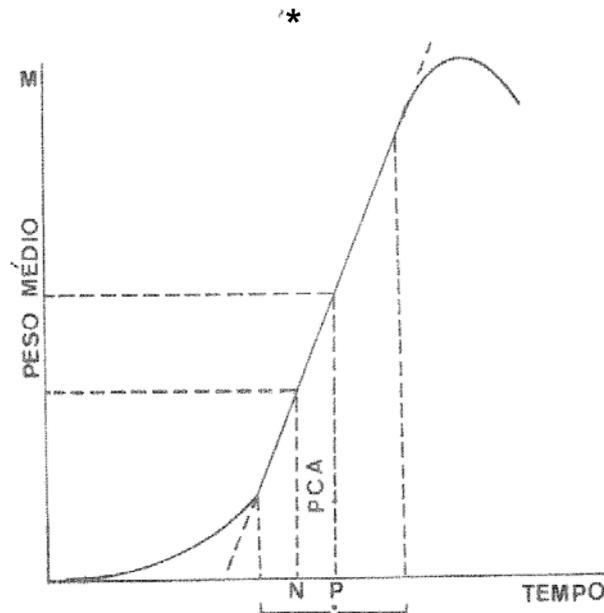


FIGURA 04 – Curva sigmóide do crescimento larval. M: peso larval máximo; N e P: início e fim do período crítico de alimentação (PCA); * período de crescimento mais rápido (Fonte: LEVOT *et al.*, 1979 *apud* LEAL, 1980).

2.3 NUTRIÇÃO DE INSETOS NECRÓFAGOS

Nutrição refere-se ao processamento de alimentos necessários para prover o desenvolvimento dos insetos, tais como crescimento, sobrevivência e reprodução. Estes parâmetros relacionam-se diretamente com a ingestão equilibrada de alimentos adequados (COHEN, 2005; HOUSE, 1962, 1969). Por exemplo, o requerimento nutricional de fêmeas adultas difere do estágio imaturo, pela necessidade de nutrientes específicos para o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos com a finalidade da formação de ovos (HOUSE, 1962).

Os insetos possuem requerimentos nutricionais básicos que devem ser balanceados coerentemente com outros componentes como a água (PARRA, 2001). Segundo Chapman, Boer (1995) e Parra (2001), componentes como os aminoácidos são importantes para o crescimento ótimo dos insetos; as vitaminas normalmente são exigidas em pequenas quantidades e atuam no processo metabólico; os minerais influenciam no balanceamento iônico e na permeabilidade da membrana dos insetos; os carboidratos contribuem significativamente na obtenção da energia total dos Diptera, sendo responsável pelo sucesso evolucionário deste grupo; e os esteróis contribuem para o crescimento e a reprodução.

A disponibilidade de água na dieta também é um fator importante, pois em pouca quantidade o substrato pode adquirir consistência rígida e tornar-se indisponível para as larvas, por possuírem aparelho bucal rudimentar, e a água em excesso forma uma barreira entre a larva e os nutrientes da dieta, retardando seu crescimento (LEAL, 1980).

Segundo Ruppert *et al.* (2005), Boonsriwong *et al.* (2007), Gullan e Cranston (2007), a morfologia do trato digestivo (Figura 05) reflete as propriedades mecânicas e a composição nutricional do alimento ingerido. Os insetos apresentam três regiões principais do trato digestivo: o estomodeu, que está relacionado com a ingestão, armazenamento, trituração e transporte do alimento para a próxima região, e geralmente é dividido em faringe anterior, esôfago, papo e proventrículo; o mesêntero, onde são produzidas e secretadas enzimas digestivas e onde ocorre a maior parte da absorção dos produtos da digestão. O restante desse processo digestivo juntamente com a urina formada nos túbulos de Malpighi, chega à próxima região, o proctodeu, no qual há a absorção de água, sais e outras moléculas importantes antes da eliminação das fezes pelo ânus. O proctodeu é constituído pelo piloro, túbulos de Malpighi, íleo, cólon, reto e parte posterior do ânus.

No mesêntero, há uma rede de fibrilas de quitina presenciadas em uma matriz protéica-glicoprotéica, chamada de membrana peritrófica apresentada na forma de película fina (GULLAN; CRANSTON, 2007). Esta membrana envolve o alimento dentro do ventrículo e possui a função de uma barreira permeável que permite a passagem de moléculas pequenas, porém restringe o acesso de moléculas grandes, bactérias e partículas alimentares às células do mesênteron. Ainda tem como função auxiliar na compartimentalização das fases da digestão e proporciona proteção mecânica para as células do mesênteron. Os túbulos excretores apresentam-se em pares, e unem-se formando um túbulo comum no limite entre o mesênteron e o proctodeu (CHAPMAN, 1998; GULLAN; CRANSTON, 2007; REIS *et al.*, 1994).

A glândula salivar na maioria dos dípteros muscóides possui duas longas estruturas tubulares que se unem para formar um duto que desemboca na faringe. As secreções salivares têm a finalidade de diluir o alimento ingerido e ajustar o pH e o conteúdo iônico. No alimento dos insetos há principalmente polímeros de carboidratos e proteínas, os quais são ingeridos através da quebra enzimática destas moléculas grandes em monômeros pequenos (GULLAN; CRANSTON, 2007; REIS *et al.*, 1994).

Em muitos insetos, principalmente em larvas holometábolos, há um corpo gorduroso abaixo da cutícula e uma camada central em torno do trato digestivo. Em insetos hemimetábolos o corpo gorduroso persiste na fase adulta sem maiores mudanças, contudo nos holometábolos o corpo gorduroso é totalmente reconstruído após a metamorfose. Apresenta funções metabólicas, incluindo metabolismo de carboidratos, lipídeos e compostos nitrogenados; armazenamento de glicogênio, gordura e proteínas; síntese e regulação da concentração de açúcar no sangue; síntese de proteínas na hemolinfa (CHAPMAN, 1998). Estas células do tecido gorduroso podem sofrer mudanças nas suas atividades de acordo com as respostas nutricionais e hormonais, com a finalidade de prover as necessidades de crescimento, metamorfose e reprodução dos insetos (GULLAN; CRANSTON, 2007).

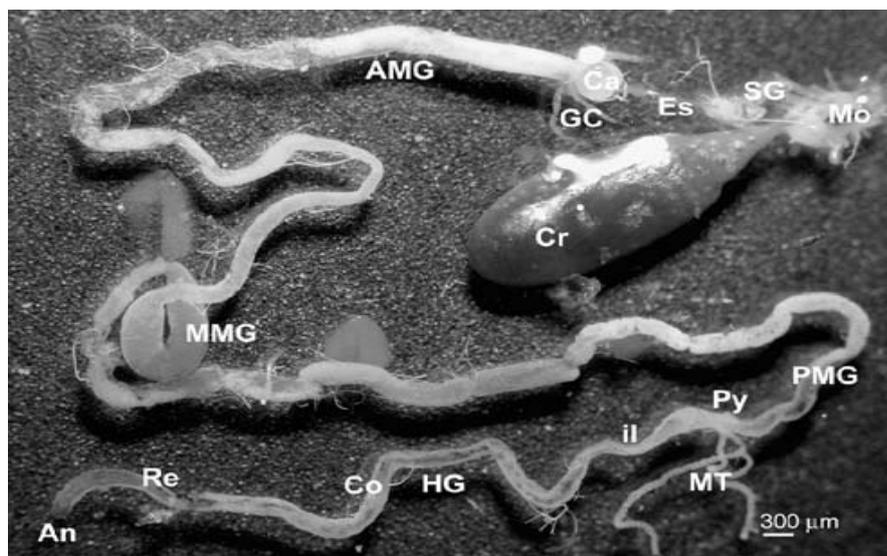


Figura 05 – Canal alimentar de larva do terceiro estágio de *Chrysomya megacephala*. O estomodeu é composto pela boca (Mo), glândulas salivares (SG), esôfago (Es) e estômago (Cr). A cardia (Ca) representa a junção do estomodeu e do mesêntero. O mesêntero consiste de cecos gástricos (GC), seguido pelo intestino anterior (AMG), intestino médio (MMG) e o intestino posterior (PMG). O proctodeu (HG) começa com o piloro (Py) de onde partem os túbulos de Malpighi (MT) íleo (Il), cólon (Co), reto (Re), e ânus (An) (Fonte: BOONSRIWONG *et al.*, 2007).

2.4 CRIAÇÃO DE DÍPTEROS NECRÓFAGOS EM DIETAS SEMI-SINTÉTICAS

A necessidade da criação de dípteros necrófagos após sua coleta em cadáveres é indispensável para o sucesso de uma investigação forense, pois a partir das informações sobre o desenvolvimento larval, em condições experimentais associadas a informações do ambiente, é possível estimar a idade larval que por sua

vez, pode contribuir na estimativa do IPM (VON ZUBEN *et al.*,1998). Contudo, na criação destes dípteros deve-se levar em consideração o comportamento da espécie estudada, por exemplo, a agregação dos imaturos de moscas-varejeiras nos substratos alimentares, fato mediado por feromônios que remete a preocupação com a densidade de indivíduos/alimento (HANSKI, 1987; NORRIS, 1965).

A dieta semi-sintética contribui na tentativa de substituir o alimento natural por outro que seja mais propício em interesse técnico ou econômico, e com isso obter informações mais detalhadas a respeito da biologia e comportamento de insetos (COHEN, 2005). Sendo assim, é importante a realização de testes com dietas semi-sintéticas para criação de insetos em laboratório para solucionar problemas, como odor pútrido e desigualdade nutricional da dieta natural, podendo ser ministradas como recurso alternativo na criação de muscóides.

Segundo Parra (2001), para que uma dieta semi-sintética seja classificada como ideal é necessário que esta apresente características como alta sobrevivência larval, duração da fase larval próxima ao do controle, adultos com capacidade reprodutiva, composição de baixo custo, adequabilidade para mais de uma espécie, controle de qualidade dos insetos produzidos e controle de microrganismos, entre outras características.

Para obtenção de dietas semi-sintéticas adequadas e eficientes é necessário teste de alimentação com os espécimes a serem manipulados em dietas nos quais substâncias específicas sejam adicionadas ou omitidas, controlando-se a quantidade de nutrientes no substrato alimentar. Diversos trabalhos que retratam sobre dietas para insetos, remetem à necessidade de vitamina B dentre as substâncias essenciais nas dietas semi-sintéticas, sendo encontrada, por exemplo, na levedura. Esta vitamina funcionaria como catalisadora do crescimento, acelerando a reação que prosseguiria mesmo em sua deficiência, contudo num ritmo demasiadamente mais lento (HOBSON, 1933). Além de vitamina, uma outra substância para o crescimento larval adequado seria o oferecimento de um fator gorduroso na dieta, como o lipídeo (colesterol), no qual atuaria não somente no estímulo do crescimento, mas também no combate ao agente infeccioso, ou seja, atuando na imunidade larval (HOBSON, 1935a, 1935b).

O trabalho de Leal, Prado e Antunes (1982), utilizado como referência em dietas semi-sintéticas para muscóides, relata a comparação da taxa de crescimento de *C. putoria* em substratos contendo leite em pó, levedura de cerveja e caseína,

que são componentes básicos deste tipo de dieta. A classificação dos tipos de dietas semi-sintéticas é bastante variada: compostas por alimentos naturais (oligídicas), não completamente definidas (merídicas) ou quimicamente definidas (holídicas) (COHEN, 2005; PARRA, 2001).

Conforme Chapman (1998) e Parra (2001), as variações na quantidade ou qualidade dos componentes de uma dieta refletem diretamente no desenvolvimento do inseto, afetando o crescimento e a duração do estágio larval. A premissa da proporcionalidade é importante na adequação do alimento. Parâmetros como duração de cada fase de desenvolvimento, peso, sobrevivência, razão sexual e tamanho de imaturos e adultos são normalmente utilizados para avaliar a eficiência da dieta semi-sintética experimental (PARRA, 2001).



3 OBJETIVOS E HIPÓTESES

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os parâmetros bionômicos relativos ao desenvolvimento das espécies *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* alimentadas com diferentes substratos alimentares em laboratório.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Propor três dietas semi-sintéticas acrescidas de matéria orgânica animal como substrato alimentar para duas espécies de califorídeos;
- Analisar comparativamente os parâmetros biológicos de peso, comprimento, largura e mortalidade de imaturos (larvas e pupas) das espécies estudadas;
- Avaliar o peso, o comprimento, a razão sexual e a longevidade dos adultos quando expostos as diferentes dietas na fase larval;
- Estabelecer uma comparação entre dietas semi-sintéticas e o meio natural do ponto de vista do cientista forense, considerando os diferentes aspectos envolvidos na confecção, conservação e uso desses substratos em laboratório;

3.3 HIPÓTESES

- As dietas naturais podem ser passíveis de substituição por dietas semi-sintéticas acrescida de tecido animal na criação de moscas necrófagas, apresentando parâmetros bionômicos equivalentes ao substrato à base de carne putrefeita;
- A razão sexual terá proporção equilibrada (1:1);
- A duração do ciclo de vida será semelhante em todas as dietas experimentais.



4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DOS ESPÉCIMES E PROTOCOLO DE CRIAÇÃO

Larvas de *Chrysomya megacephala* foram coletadas sobre cadáveres humanos no Instituto de Medicina Legal Antônio Persivo da Cunha (IMLAPC), procedimento aprovado pelos comitês de ética da Universidade Federal de Pernambuco e da Secretaria de Defesa Social do Governo do Estado de Pernambuco. Pupas de *Chrysomya putoria* foram cedidas pela Dra. Patrícia Thyssen, do Departamento de Parasitologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Os insetos foram criados no Departamento de Zoologia da UFPE da seguinte forma: larvas (Figura 06) foram acondicionadas em recipientes plásticos (250 mL) contendo carne moída bovina putrefeita, que foram colocados dentro de outro recipiente de plástico maior (500 mL), contendo maravalha para garantir a pupariação e coberto com tecido de malha fina. Adultos foram mantidos em gaiolas de polietileno (Figura 07 A) transparentes (25 cm X 35 cm X 40 cm) alimentados com água, açúcar, levedura de cerveja em pó e leite em pó (Figura 07 B) *ad libitum*. Para estimulação dos folículos ovarianos, no processo inicial da criação também foi oferecido fígado de galinha e como substrato para oviposição foi disponibilizada carne moída bovina crua (DEAR, 1985). As dietas de larvas e adultos foram substituídas a cada 24 h, com cuidado para garantir mínima perturbação aos indivíduos.

A criação ocorreu em casa-de-vegetação sob condições ambientais locais, isto é, temperatura média de 32 ± 2 °C, umidade relativa de $95 \pm 2\%$ e fotoperíodo de 12 h. As larvas de *C. megacephala* e *C. putoria* utilizadas neste experimento pertenciam à 3^a e à 12^a geração respectivamente.



Figura 06 – Larvas de *Chrysomya* em carne moída.



Figura 07 – A) Gaiola em polietileno para criação dos muscóides; B) Alimentação dos muscóides nas gaiolas.

4.2 DIETAS SEMI-SINTÉTICAS E MONTAGEM DO EXPERIMENTO

No experimento foram testados quatro substratos alimentares: carne moída bovina crua (controle) e três dietas semi-sintéticas, modificadas a partir de Leal, Prado e Antunes (1982) contendo, como ingredientes adicionais, sardinha, rúmen bovino e ovo de galinha. A forma de preparo das dietas semi-sintéticas encontra-se no Apêndice. As dietas semi-sintéticas apresentaram consistência pastosa com exceção da dieta semi-sintética acrescida de ovo que apresentou consistência menos solidificada que as demais. A textura das dietas foi planejada levando-se em consideração facilitar a alimentação dos imaturos devido aos mesmos possuírem aparelho bucal rudimentar (PARRA, 2001).

O experimento foi realizado no Laboratório de Ecologia de Artrópodos do Departamento de Zoologia da UFPE em sala climatizada sob temperatura de

26 ± 2 °C, umidade relativa de 70-80% e fotofase de 12:12 horas C:E. Os testes foram realizados com 10 neolarvas por pote, com a finalidade de garantir um comportamento mínimo natural de agregação larval (BONATTO, 1996; IVES, 1991) e evitar que a individualização das larvas comprometesse a fidedignidade das observações, uma vez que essas espécies são encontradas em grandes quantidades no recurso em decomposição. O experimento foi realizado mantendo-se a proporção de 1 g de alimento para cada neolarva, para que não houvesse interferência nos resultados do experimento devido à competição pelo substrato alimentar (SAUNDERS; WHEELER; KERR., 1999). Ao total, o experimento consistiu de oito grupos experimentais, ou seja, quatro dietas testadas para as duas espécies de *Chrysomya*.

4.3 PARÂMETROS BIONÔMICOS ANALISADOS

Os parâmetros verificados na fase de larva e de pupa foram: tempo total de desenvolvimento para completar cada estágio, peso, comprimento, largura corporal e mortalidade. A mensuração do peso foi realizada com o auxílio de uma balança analítica com precisão de ± 0.1 mg. As medições dos comprimentos das larvas e das pupas foram aferidas de uma extremidade a outra e a largura larval foi medida entre o oitavo e décimo segmento abdominal. A fim de garantir a homogeneidade das amostras todas as neolarvas foram pesadas (em miligramas) e medidas (em milímetros) antes do início do experimento. Os resultados da mortalidade foram obtidos utilizando 10 réplicas / dieta.

As observações foram realizadas em intervalos de 12 horas e consistiu de amostragem destrutiva, sendo 4 réplicas / tratamento / observação. Cada inseto foi observado apenas uma vez durante o curso do experimento para evitar o estresse causado pelo manuseio e também para permitir a independência das amostras para as análises estatísticas.

Após a pesagem, os imaturos foram mortos por submersão em água destilada aquecida a 90 °C, por 5 min, para garantir a uniformidade da mensuração. As aferições do comprimento e da largura corporal foram realizadas com o auxílio do paquímetro manual (precisão de 0.1 mm). O estágio larval foi identificado sob estereoscópio com aumento de 20 X, baseado na observação da quantidade de fendas dos espiráculos posteriores nos imaturos. Após este procedimento, as larvas

foram transferidas para frascos contendo solução de álcool etílico a 70% para preservação. Os parâmetros analisados sobre indivíduos adultos foram: peso, comprimento do corpo, razão sexual e média da longevidade. Para aferição destes parâmetros, adultos foram mortos por acetato de etila, pesados em balança analítica e medidos com o auxílio do paquímetro manual. Para acompanhamento do estudo da longevidade foram selecionados 80 indivíduos / tratamento, colocados em quatro gaiolas (20 indivíduos / cada) de polietileno transparente (25 cm X 35 cm X 40 cm) alimentados com água e açúcar *ad libitum*, mantidos em sala climatizada sob temperatura de 26 ± 2 °C, umidade relativa de 70-80% e fotofase de 12:12 horas C:E. Este parâmetro foi analisado em dias e considerado desde a emergência até a morte espontânea do adulto. A razão sexual foi efetuada pela contagem dos indivíduos de acordo com o sexo.

Para a análise da confrontação das vantagens e desvantagens da manutenção experimental de cada tipo de dieta foi realizada uma comparação de itens como custo, equipamentos eletrônicos, armazenamento a 4°C, durabilidade, odor, homogeneidade, reprodutibilidade e contaminação.

4.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

A análise físico-química dos componentes para cada substrato alimentar testado foi realizada por especialistas do Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A metodologia empregada foi baseada nas normas analíticas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1998). Componentes como umidade, gorduras, proteínas, teor de cinzas e carboidratos foram mensurados por 100 g / dieta.

O teor de umidade foi avaliado através do método gravimétrico baseado na perda de peso das amostras submetidas a aquecimento em estufa a 105 °C até a obtenção de peso constante (AOAC, 1998; método 985.14); a fração lipídica foi obtida pelo método de extração de fluxo intermitente, utilizando-se éter etílico como solvente sob refluxo, em aparelho de Soxhlet (AOAC, 1998; método 963.15); a determinação das proteínas totais foi realizada utilizando-se o método Kjeldahl baseado na digestão ácida da matéria orgânica seguido da destilação, sendo o nitrogênio posteriormente dosado por titulação. O valor em nitrogênio foi multiplicado

pelo fator 6,25 (AOAC, 1998; método 992.15); para o resíduo mineral fixo (cinzas) foi utilizado o método gravimétrico baseado na determinação da perda de peso das amostras submetidas à incineração a 550 °C (AOAC,1998; método 923.03); os glicídios foram obtidos por diferença, através do somatório das determinações de umidade, proteínas, extrato etéreo e cinzas, subtraídos de 100.

A partir dos resultados estabeleceu-se uma tabela comparativa (Tabela 01) dos componentes constituintes entre a carne e as dietas semi-sintéticas. Esta comparação facilitou a visualização quantitativa dos componentes de cada dieta experimental.

Tabela 01. Análise centesimal dos substratos alimentares experimentais.

Componentes/ 100 g de dieta (%)	Carne	Dieta acrescida de sardinha	Dieta acrescida de rúmen	Dieta acrescida de ovo de galinha
Água	68.7	78.5	80.1	78.4
Proteínas	17.4	9.5	8.6	9.0
Minerais	1.3	1.1	0.9	1.1
Lipídeos	12.6	1.9	2.6	1.8
Carboidratos	---	9.0	7.8	9.7

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Cada observação / tratamento foi constituída de quatro réplicas com 10 indivíduos em cada, no qual foram conduzidas simultaneamente na análise de cada parâmetro estudado. As análises das médias e desvios padrões dos parâmetros estudados, e conseqüentemente a observação da duração do desenvolvimento de neolarva à pupa por dieta para cada espécie foram obtidas através dos programas estatísticos SAS[®] (SAS Institute, 2006) e Statistic 7.0 (Stat Soft, 2004). As curvas do tipo sigmóide que demonstram o crescimento larval (ganho de peso por fase de desenvolvimento) foram obtidas utilizando o Statistic 7.0.

Para a análise do desenvolvimento das espécies em relação ao substrato alimentar foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, sendo utilizado o teste a posteriori da mediana para discriminar quais grupos foram significativamente diferentes para os parâmetros de tempo de desenvolvimento, peso, comprimento e largura. Este

teste foi realizado no Statistic 7.0. Para avaliação da mortalidade foi utilizado a ANOVA e o teste de Duncan e a correção dos valores foi realizada com a transformação em arc seno \sqrt{p} . A longevidade também foi verificada pela ANOVA e pelo teste de Duncan, sendo a média de dias da longevidade calculada da emergência do adulto até a sua morte espontânea. Todos os testes utilizaram $\alpha = 0.05$ ($p < 0.05$) de significância.

A razão sexual foi obtida através do cálculo: *razão sexual = número de fêmeas / (número de fêmeas + número de machos)*. A significância de eventuais desvios foi analisada por meio do teste do qui-quadrado (χ^2), também com $\alpha = 0.05$.



5 RESULTADOS

5.1 TEMPO DE DESENVOLVIMENTO

Um padrão de aumento da duração de cada estágio em todo o ciclo de vida foi observado para ambas as espécies (Tabela 2). Em *Chrysomya putoria* foi notada uma necessidade temporal maior para atingir a fase adulta quando comparado com *C. megacephala*.

O tempo total de desenvolvimento, definido como o intervalo entre a eclosão das larvas e emergência de adultos, não variaram entre os quatro tipos de dieta para *C. megacephala* ($H = 5.30$; g.l. = 3; $p = 0.623$), ou *C. putoria* ($H = 10.507$; g.l. = 3; $p = 0.397$). A comparação temporal nos estádios de desenvolvimento (segundo ínstar ($H = 5.174$; g.l. = 3; $p = 0.159$), o terceiro ínstar ($H = 2.304$; g.l. = 3; $p = 0.512$) e a pupa ($H = 5.312$; g.l. = 3; $p = 0.150$)) não apresentaram diferenças para a espécie *C. megacephala* em nenhum dos substratos alimentares. Contudo, para *C. putoria* a dieta com carne apresentou menor necessidade de tempo, com valores significativos no terceiro ínstar ($H = 19.940$; g.l. = 3; $p = 0.0002$) em contradição com o segundo estágio ($H = 6.334$; g.l. = 3; $p = 0.096$) e pupa ($H = 6.614$; g.l. = 3; $p = 0.085$).

Tabela 02. Duração média de cada estágio de desenvolvimento (horas) ± DP de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* nos diferentes tipos de dietas.

<i>Chrysomya megacephala</i>				
Dieta	Estádios de desenvolvimento			
	2°	3°	pupa	TTD **
carne	24.0 ± 0 a* (n= 33)	68.1 ± 21.0 a (n= 83)	121.0 ± 18.0 a (n= 83)	231.1 ± 40.0 a (n= 279)
sardinha	24.0 ± 0 a (n= 29)	70.0 ± 21.5 a (n= 85)	120.0 ± 18.5 a (n= 80)	232.0 ± 40.0 a (n= 274)
rúmen	25.0 ± 5.5 a (n= 36)	72.2 ± 21.7 a (n= 98)	123.2 ± 17.6 a (n= 71)	238.4 ± 41.0 a (n= 285)
ovo	24.0 ± 0 a (n= 38)	72.2 ± 22.1 a (n= 91)	128.4 ± 15.7 a (n= 51)	242.6 ± 43.0 a (n= 260)
<i>Chrysomya putoria</i>				
Dieta	Estádios de desenvolvimento			
	2°	3°	pupa	TTD
carne	31.0 ± 11.0 a (n= 44)	90.0 ± 25.4 a (n= 116)	180.0 ± 28.2 a (n= 52)	319.0 ± 62.4 a (n= 292)
sardinha	38.0 ± 14.3 a (n= 59)	102.0 ± 25.4 b (n= 93)	189.0 ± 22.0 a (n= 21)	347.0 ± 64.0 a (n= 253)
rúmen	35.1 ± 12.0 a (n= 69)	104.5 ± 25.0 b (n= 74)	181.6 ± 24.0 a (n= 41)	339.2 ± 63.5 a (n= 264)
ovo	35.0 ± 15.0 a (n= 61)	103.0 ± 22.0 b (n= 56)	185.0 ± 25.0 a (n= 21)	341.0 ± 65.1 a (n= 218)

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes dentro da mesma fase de desenvolvimento ($\alpha = 0.05\%$). ** TTD – Tempo Total de Desenvolvimento de neolarva (incluído 6 h para ambas as espécies em todos os tratamentos) a emergência do adulto (incluído 12 h para ambas as espécies em todos os tratamentos).

Foi realizada uma comparação temporal, em porcentagem (Figuras 08 e 09), entre a proporção da duração de cada estágio nos substratos alimentares testados, entre as duas espécies necrófagas em estudo. *C. putoria* apresentou a predominância de uma porcentagem maior na duração de cada estágio do que *C. megacephala*, necessitando de mais horas para atingir os estágios subsequentes de desenvolvimento. O segundo ínstar apresentou 1.3% do tempo total na dieta semi-sintética acrescida de ovo para a espécie *C. megacephala*, enquanto que para a dieta acrescida de sardinha em *C. putoria* necessitou de um valor temporal maior (3%). No terceiro ínstar foi observada uma maior duração nas dietas que continham sardinha para ambas as espécies. Na forma de pupa, *C. megacephala* apresentou

os maiores valores na duração temporal (8%) para as dietas semi-sintéticas contendo sardinha e ovo, enquanto *C. putoria* apresentou o maior valor em percentagem (13.6%) somente para a dieta que continha sardinha em sua formulação.

Houve uma progressão no tempo gasto em cada fase de desenvolvimento, sendo o terceiro estágio a mais longa etapa larval. Notou-se ainda que a fase de pupa apresentou duração mais longa que os estágios larvais, e a fase adulta representou mais de 70% do tempo total do ciclo de vida nas duas espécies testadas.

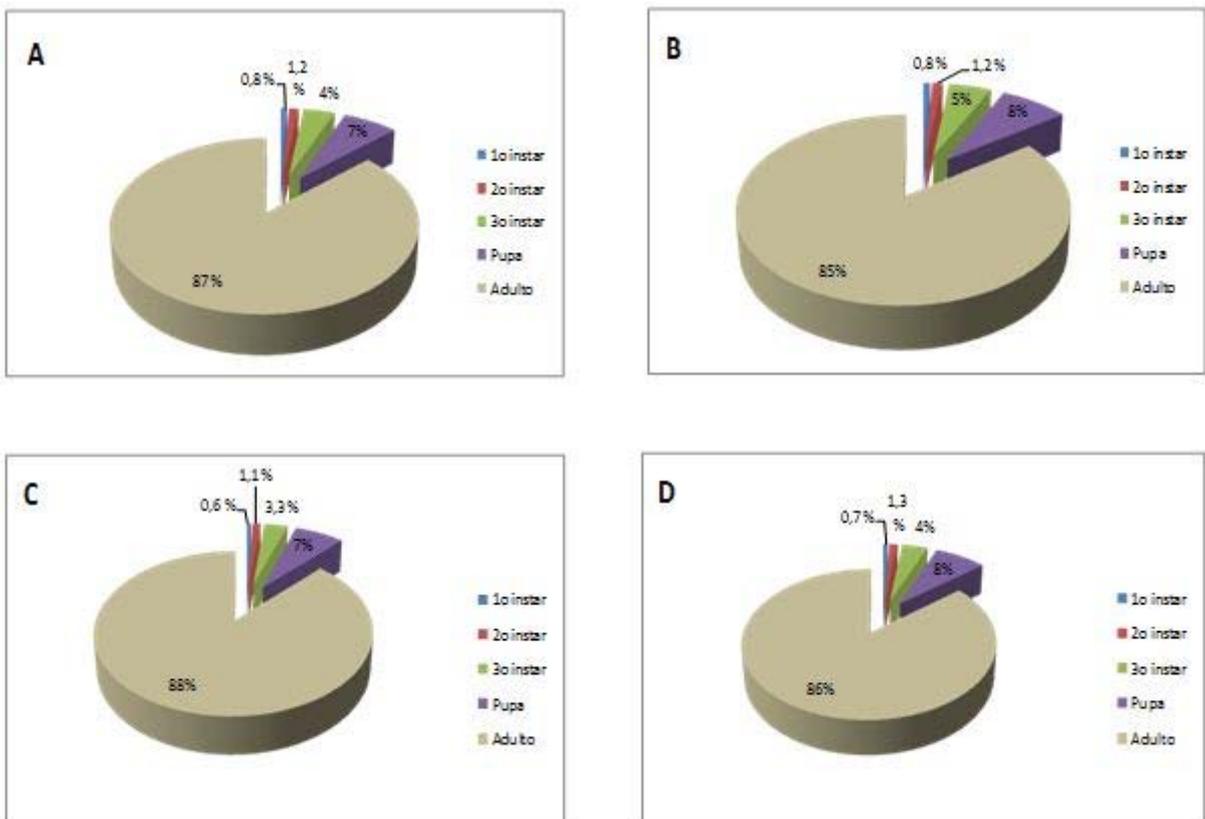


Figura 08 - Porcentagem da duração de cada estágio do ciclo de vida de *Chrysomya megacephala* de acordo com cada dieta. A) Dieta com carne; B) Dieta semi-sintética com inclusão de sardinha; C) Dieta semi-sintética com inclusão de rúmen; D) Dieta semi-sintética com inclusão de ovo.

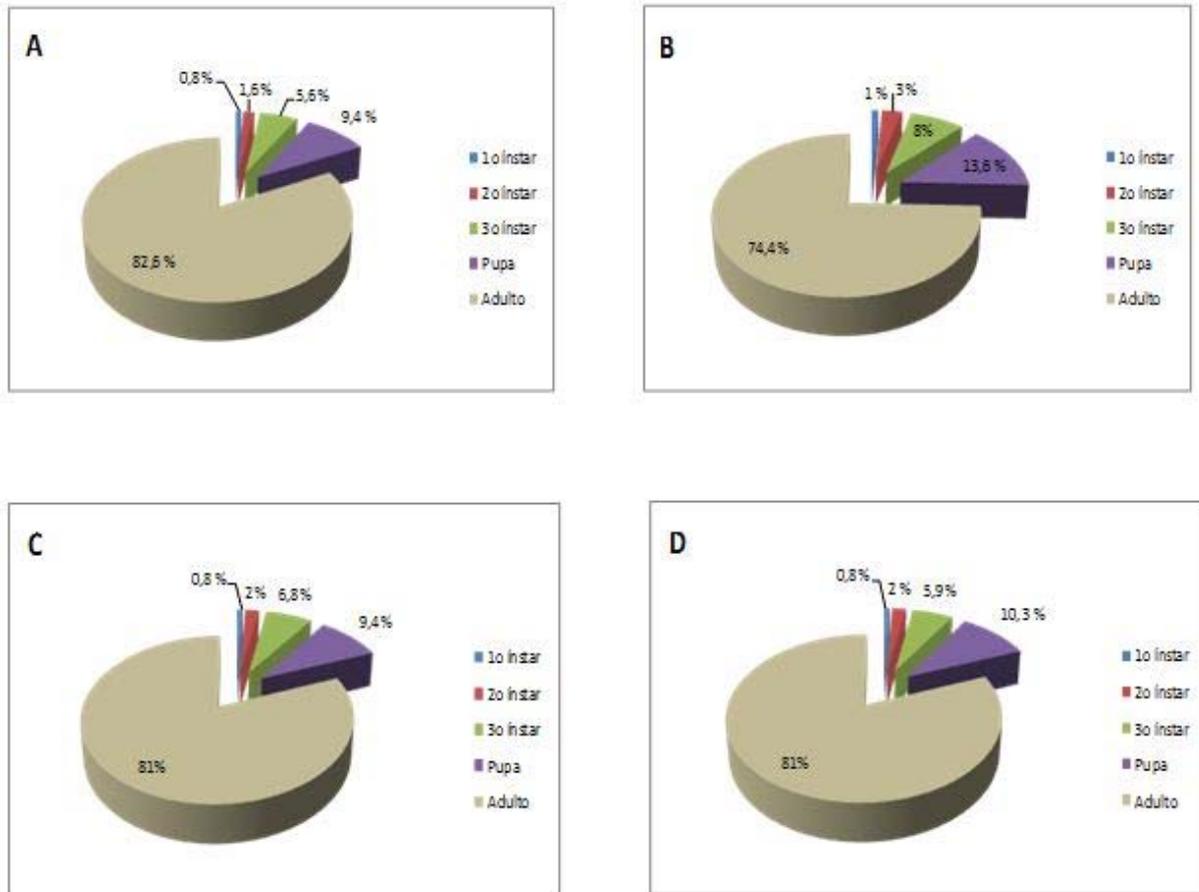


Figura 09 - Porcentagem da duração de cada estágio do ciclo de vida de *Chrysomya putoria* de acordo com cada dieta. A) Dieta com carne; B) Dieta semi-sintética com inclusão de sardinha; C) Dieta semi-sintética com inclusão de rúmen; D) Dieta semi-sintética com inclusão de ovo.

5.2 PESO

O peso corporal (Tabela 3) variou de forma significativa para *C. megacephala* alimentadas com diferentes dietas no segundo ínstar ($H = 81.40$; g.l. = 3; $p < 0.0001$), no terceiro ínstar ($H = 89.66$; g.l. = 3; $p < 0.0001$), nas pupas ($H = 183.82$; g.l. = 3; $p < 0.0001$) e nos adultos ($H = 69.12$, g.l. = 3; $p < 0,0001$). Um efeito similar foi observado para *C. putoria* no terceiro estágio ($H = 49.49$; g.l. = 3; $p < 0,0001$), nas pupas ($H = 32.21$; g.l. = 3; $p < 0.0001$) e nos adultos ($H = 108.14$; g.l. = 3; $p < 0.0001$), contudo para o segundo estágio ($H = 3.214$; g.l. = 3; $p = 0.359$) não foi observada diferença entre os substratos alimentares. Em geral, o terceiro ínstar e as pupas foram mais pesadas nas dietas com carne para ambas as espécies, quando comparado com as outras dietas.

Tabela 03. Média do peso (mg) \pm DP de larva a adulto de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* nos diferentes tipos de dietas, em cada fase de desenvolvimento.

Dieta	<i>Chrysomya megacephala</i>				
	Estádios de desenvolvimento				
	1°	2°	3°	pupa	adulto
carne	0.5 \pm 0.1 a *	2.8 \pm 1.0 a	45.1 \pm 15.8 a	55.2 \pm 5.6 a	43.8 \pm 4.2 a
	(n= 40)	(n= 33)	(n= 83)	(n= 83)	(n= 279)
sardinha	0.6 \pm 0.1 a	1.7 \pm 0.6 a	39.9 \pm 19.3 b	50.0 \pm 9.0 b	35.0 \pm 5.2 a
	(n= 40)	(n= 29)	(n= 85)	(n= 80)	(n= 274)
rúmen	0.6 \pm 0.1 a	5.3 \pm 2.1 b	35.4 \pm 13.2 b	30.0 \pm 11.3 c	19.4 \pm 7.2 b
	(n= 40)	(n= 36)	(n= 98)	(n= 71)	(n= 285)
ovo	0.5 \pm 0.1 a	4.3 \pm 1.2 b	19.4 \pm 18.6 c	21.0 \pm 7.2 c	16.5 \pm 3.7 b
	(n= 40)	(n= 38)	(n= 91)	(n= 51)	(n= 260)
Dieta	<i>Chrysomya putoria</i>				
	Estádios de desenvolvimento				
	1°	2°	3°	pupa	adulto
carne	0.3 \pm 0.1 a	1.8 \pm 1.0 a	29.5 \pm 12.2 a	31.3 \pm 4.8 a	24.7 \pm 3.2 a
	(n= 40)	(n= 44)	(n= 116)	(n= 52)	(n= 292)
sardinha	0.3 \pm 0.1 a	2.0 \pm 1.4 a	13.1 \pm 8.2 b	17.2 \pm 5.1 b	13.8 \pm 5.3 b
	(n= 40)	(n= 59)	(n= 93)	(n= 21)	(n= 253)
rúmen	0.2 \pm 0.1 a	2.8 \pm 2.0 a	16.8 \pm 7.5 b	20.7 \pm 6.5 b	14.7 \pm 1.7 b
	(n= 40)	(n= 69)	(n= 74)	(n= 41)	(n= 264)
ovo	0.2 \pm 0.1 a	2.3 \pm 1.6 a	17.0 \pm 11.5 b	16.2 \pm 8.0 b	21.4 \pm 5.9 a
	(n= 40)	(n= 61)	(n= 56)	(n= 21)	(n= 218)

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes dentro da mesma fase de desenvolvimento ($\alpha = 0.05\%$).

O ganho de peso ocorreu em um padrão sigmóide durante todo o período de desenvolvimento para ambas as espécies criadas em todas as dietas até o terceiro ínstar, após o qual foi observada uma ligeira diminuição no peso quando as larvas entraram na fase de pós-alimentação (Figura 10).

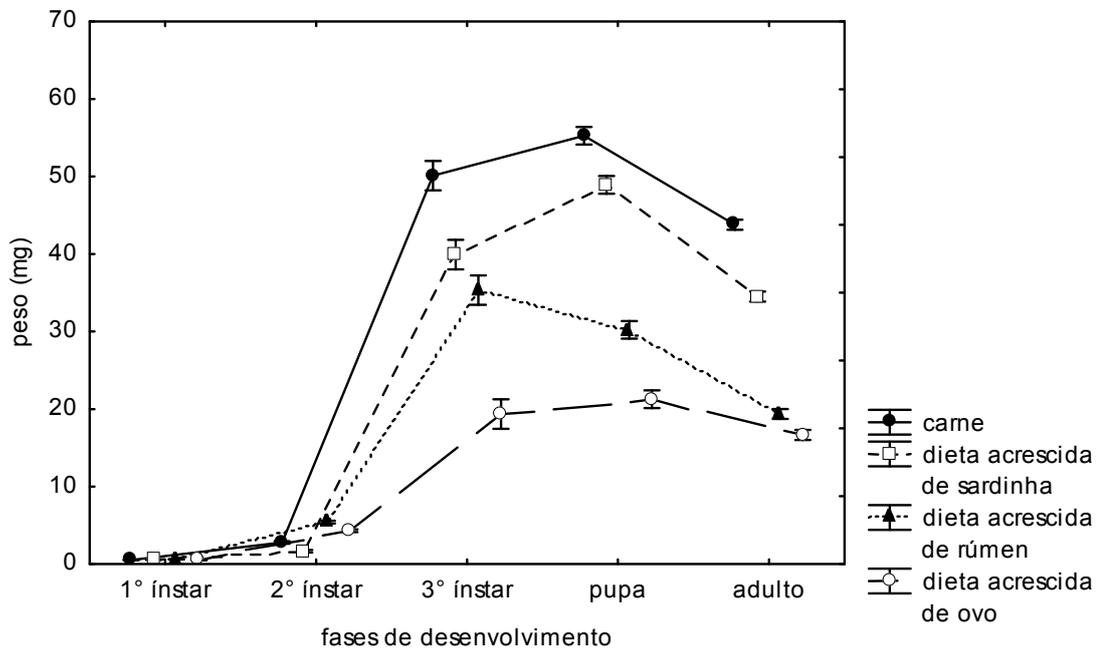
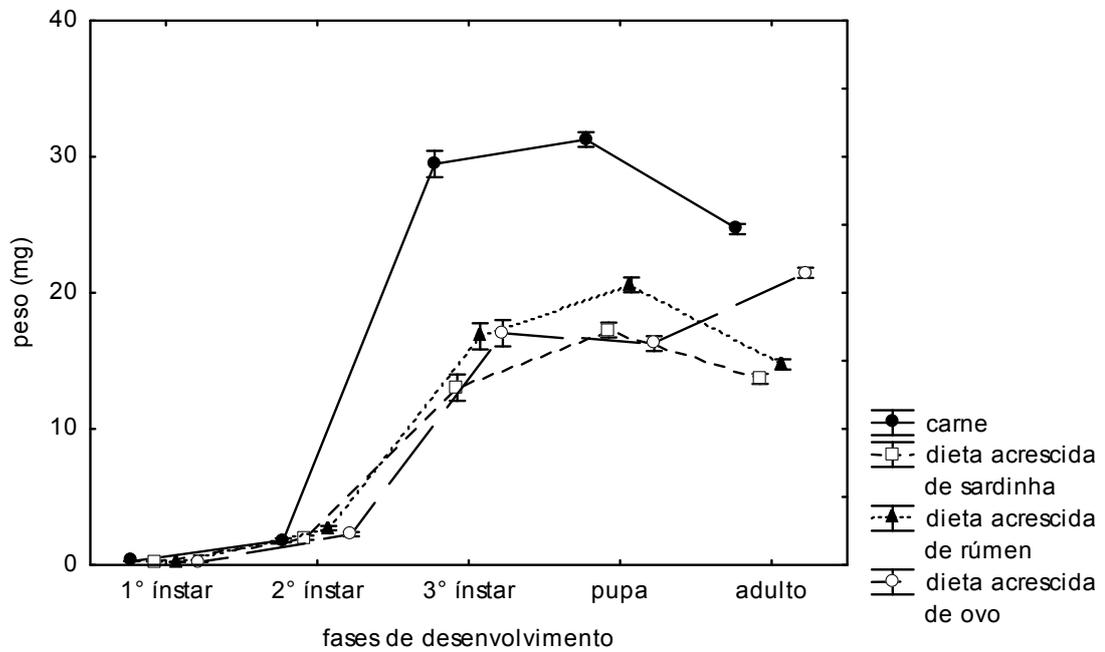
A**B**

Figura 10 – Média do ganho de peso (mg) por fase de desenvolvimento (imaturo a adulto) de acordo com o substrato alimentar. A) *Chrysomya megacephala* e B) *Chrysomya putoria*. As barras verticais indicam o desvio padrão.

5.3 TAMANHO DOS INDIVÍDUOS

O comprimento larval (Tabela 4) aumentou acentuadamente na transição do segundo para o terceiro ínstar, com uma ligeira diminuição no estágio de pupa, sendo esta uma característica observada em todos os tratamentos para ambas as espécies. As dietas influenciaram os valores dos comprimentos médios de *C. megacephala* no segundo ínstar ($H = 39.50$; g.l. = 3; $p < 0.0001$), no terceiro ínstar ($H = 98.86$; g.l. = 3; $p < 0.0001$) e nas pupas ($H = 112.20$; g.l. = 3; $p < 0.0001$). Foi observada diferença significativa para *C. putoria* apenas no terceiro ínstar ($H = 26.85$; g.l. = 3; $p < 0.0001$). Insetos criados em carne foram ligeiramente maiores do que aqueles alimentados com outros substratos, embora as diferenças foram mínimas, especialmente na fase de pupa. O comprimento do corpo dos adultos também diferiu de acordo com a dieta tanto para *C. megacephala* ($H = 40.02$; g.l. = 3; $p < 0.0001$) quanto para *C. putoria* ($H = 59.101$; g.l. = 3; $p < 0.0001$).

Tabela 04. Comprimento médio (mm) \pm DP de larva a adulto de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* nos diferentes tipos de dietas.

<i>Chrysomya megacephala</i>					
Dieta	Estádios de desenvolvimento				
	1°	2°	3°	pupa	adulto
carne	1.9 \pm 0.2 a* (n = 40)	6.0 \pm 0.4 a (n = 33)	10.7 \pm 1.5 a (n = 83)	9.0 \pm 0.2 a (n = 83)	8.5 \pm 0.5 a (n = 40)
sardinha	2.1 \pm 0.2 a (n = 40)	5.3 \pm 0.8 a (n = 29)	9.9 \pm 2.1 b (n = 85)	8.9 \pm 1.4 a (n = 80)	8.2 \pm 0.7 a;b (n = 40)
rúmen	2.1 \pm 0.2 a (n = 40)	6.5 \pm 0.8 b (n = 36)	11.0 \pm 2.3 a (n = 98)	7.4 \pm 1.8 b (n = 71)	7.5 \pm 0.9 b;c (n = 40)
ovo	2.0 \pm 0.2 a (n = 40)	5.8 \pm 0.8 a (n = 38)	8.6 \pm 2.2 b (n = 91)	6.6 \pm 1.2 b (n = 51)	6.7 \pm 0.7 c (n = 40)
<i>Chrysomya putoria</i>					
Dieta	Estádios de desenvolvimento				
	1°	2°	3°	pupa	adulto
carne	1.9 \pm 0.1 a (n = 40)	4.4 \pm 1.0 a (n = 44)	9.7 \pm 2.0 a (n = 116)	6.7 \pm 0.5 a (n = 52)	7.8 \pm 0.3 a (n = 40)
sardinha	1.9 \pm 0.1 a (n = 40)	4.8 \pm 0.9 a (n = 59)	7.6 \pm 1.7 b (n = 93)	7.1 \pm 0.7 a (n = 21)	7.0 \pm 0.5 b (n = 40)
rúmen	1.9 \pm 0.1 a (n = 40)	5.4 \pm 1.4 a (n = 69)	7.9 \pm 1.8 b (n = 74)	7.2 \pm 0.5 a (n = 41)	7.4 \pm 0.8 b;c (n = 40)
ovo	1.9 \pm 0.1 a (n = 40)	5.3 \pm 1.2 a (n = 61)	8.4 \pm 2.0 a;b (n = 56)	6.8 \pm 0.6 a (n = 21)	7.5 \pm 0.6 c (n = 40)

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes dentro da mesma fase de desenvolvimento ($\alpha = 0.05\%$).

Efeitos do substrato sobre a largura de larvas e pupas foram detectados entre *C. megacephala* no segundo ínstar ($H = 111.88$; g.l. = 3; $p < 0.0001$), de terceiro ínstar ($H = 65.85$; g.l. = 3; $p < 0.0001$) e pupas ($H = 115.91$; g.l. = 3; $p < 0.0001$) e apenas entre pupas de *C. putoria* ($H = 48.80$; g.l. = 3; $p < 0.0001$). Houve um aumento constante na largura de larvas e pupas em todo o seu desenvolvimento, com pupas aproximadamente três vezes maiores do que larvas do segundo estágio. Em termos absolutos, as diferenças na largura das larvas foram negligenciáveis, sobretudo entre os insetos criados em carne e sardinha (Tabela 5).

Tabela 05. Largura média (mm) \pm DP de larva a pupa de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* nos diferentes tipos de dietas.

Dieta	<i>Chrysomya megacephala</i>			
	Estádios de desenvolvimento			
	1°	2°	3°	pupa
carne	0.9 \pm 0.1 a * (n = 40)	1.0 \pm 0 a (n = 33)	2.7 \pm 0.5 a (n = 83)	3.0 \pm 0 a;b (n = 83)
sardinha	0.9 \pm 0.1 a (n = 40)	1.0 \pm 0 a (n = 29)	2.6 \pm 0.6 a (n = 85)	3.0 \pm 0.1 a (n = 80)
rúmen	0.9 \pm 0.1 a (n = 40)	1.5 \pm 0 b (n = 36)	2.4 \pm 1.3 a (n = 98)	2.8 \pm 0.2 b (n = 71)
ovo	0.9 \pm 0.1 a (n = 40)	1.2 \pm 0.2 b (n = 38)	1.9 \pm 0.4 b (n = 91)	2.3 \pm 0.4 c (n = 51)
Dieta	<i>Chrysomya putoria</i>			
	Estádios de desenvolvimento			
	1°	2°	3°	pupa
carne	0.9 \pm 0.1 a (n = 40)	1.0 \pm 0.2 a (n = 44)	2.2 \pm 0.4 a (n = 116)	2.8 \pm 0.4 a (n = 52)
sardinha	0.9 \pm 0.1 a (n = 40)	1.3 \pm 0.3 a (n = 59)	2.0 \pm 0.2 a (n = 93)	2.3 \pm 0.4 b (n = 21)
rúmen	0.9 \pm 0.1 a (n = 40)	1.3 \pm 0.2 a (n = 69)	2.0 \pm 0.2 a (n = 74)	2.2 \pm 0.4 b (n = 41)
ovo	0.9 \pm 0.1 a (n = 40)	1.3 \pm 0.3 a (n = 61)	2.0 \pm 0.3 a (n = 56)	2.1 \pm 0.2 b (n = 21)

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes dentro da mesma fase de desenvolvimento ($\alpha = 0.05\%$).

5.4 MORTALIDADE

A dieta influenciou a mortalidade de larvas de *C. megacephala* ($F = 13.99$; g.l. = 3; 36; $p < 0,0001$) e *C. putoria* ($F = 5.61$; g.l. = 3; 36; $p = 0.0029$), sendo observada que a mortalidade foi menor entre as larvas criadas em dietas com carne (Tabela 6). Uma maior mortalidade de *C. megacephala* ocorreu na dieta contendo ovo. Efeitos do tipo de dieta sobre a mortalidade pupal foram menos pronunciados. Apesar de uma menor proporção significativamente de pupas de *C. megacephala* terem sobrevivido em dietas que continham ovos ($F = 3.55$; g.l. = 3; 36; $p = 0.0239$), não houve diferenças significativas na mortalidade de pupas entre os insetos criados em

dietas que continham carne, sardinha ou rúmen. A dieta não influenciou a mortalidade de pupas de *C. putoria* ($F = 0.70$; g.l. = 3; 36; $p = 0.554$).

Tabela 06. Mortalidade Média (% \pm DP) de larvas e pupas de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria*.

Dietas	<i>Chrysomya megacephala</i>		<i>Chrysomya putoria</i>	
	Fase larval (%)	Fase de pupa (%)	Fase larval (%)	Fase de pupa (%)
carne	14.0 \pm 10.7 a* (n = 100)	12.7 \pm 10.1 a (n = 86)	26.0 \pm 21.2 a (n = 100)	11.7 \pm 17.6 a (n = 74)
sardinha	30.0 \pm 19.4 b (n = 100)	11.2 \pm 8.1 a (n = 70)	47.0 \pm 18.8 b (n = 100)	7.6 \pm 10.5 a (n = 53)
rúmen	36.0 \pm 17.7 b (n = 100)	10.6 \pm 15.5 a (n = 64)	47.0 \pm 14.9 b (n = 100)	8.1 \pm 11.7 a (n = 53)
ovo	68.0 \pm 18.1 c (n = 100)	43.3 \pm 37.0 b (n = 32)	53.0 \pm 10.6 b (n = 100)	14.0 \pm 10.1 a (n = 47)

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes dentro da mesma fase de desenvolvimento (teste de Duncan $\alpha = 0.05\%$).

5.5 RAZÃO SEXUAL E LONGEVIDADE

Nenhuma diferença significativa foi observada em relação ao sexo em ambas as espécies criadas em diferentes dietas (Tabela 7). A longevidade variou de acordo com o tipo de dieta, adultos de *C. megacephala* em dietas que continham sardinha teve uma vida significativamente reduzida ($F = 28.47$; g.l. = 3; 76; $p < 0.0001$), assim como *C. putoria* ($F = 65.11$; g.l. = 3; 36; $p < 0.0001$). A longevidade não diferiu entre os sexos, de qualquer espécie, independentemente do tipo de dieta ($p > 0.05$ para todas as comparações).

Tabela 07. Razão sexual e média da longevidade (dias) \pm DP de adultos de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* nos diferentes tipos de dietas.

Dieta	Razão sexual	Média da longevidade (dias)
<i>Chrysomya megacephala</i>		
carne	0.5 ns *	60 \pm 12.3 a ** (n = 80)
sardinha	0.6 ns	47 \pm 18.9 b (n = 80)
rúmen	0.5 ns	61 \pm 21.0 a (n = 80)
ovo	0.6 ns	55 \pm 21.7 a;b (n = 80)
<i>Chrysomya putoria</i>		
carne	0.5 ns	50 \pm 9.9 a (n = 80)
sardinha	0.6 ns	37 \pm 11.0 b (n = 80)
rúmen	0.5 ns	48 \pm 15.6 a (n = 80)
ovo	0.6 ns	51 \pm 7.6 a (n = 80)

* Não houve diferença significativa na razão sexual esperada. ** Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes entre as dietas (teste de Duncan $\alpha = 0.05\%$).

5.6 CONFECÇÃO DAS DIETAS

As dietas semi-sintéticas destacaram-se em alguns aspectos quando comparadas à dieta com carne em quesitos relacionados ao: menor custo total na confecção das dietas (dieta com carne – R\$ 9,79; dieta contendo sardinha – R\$ 7,19; dieta contendo rúmen – R\$ 8,28 e dieta contendo ovo – 7,32 para 1,000 g de dieta), odor menos fétido do que a carne em decomposição, alta homogeneidade quando se refere a total mistura dos componentes que compõe a dieta; alta reprodutibilidade adequando-se a reprodução fidedigna dos componentes nutricionais de cada dieta em estudo e rara contaminação por fungos e insetos.

Itens como a homogeneidade e a reprodutibilidade não foram detectados na dieta com carne. Contudo, itens operacionais como a falta de necessidade de equipamentos eletrônicos na confecção da dieta com carne, são elementos favoráveis para este tipo de dieta, além de uma maior durabilidade. O armazenamento a 4°C é igualmente comparável em termos de necessidade de conservação a todos os substratos experimentais em estudo.



6 DISCUSSÃO

6.1 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALISADOS

Peso, tamanho corporal e tempo de desenvolvimento, além de parâmetros populacionais, como taxas de mortalidade e razão sexual são aspectos fundamentais para o estudo da bionomia de dípteros necrófagos de importância forense. O fato de nenhuma diferença significativa ter sido encontrada nos pesos iniciais médios das larvas de primeiro instar, para ambas as espécies, mantidas nas diferentes dietas, sugere que todas as unidades experimentais tinham condições semelhantes antes do início do estudo e que quaisquer diferenças posteriores nos parâmetros estudados podem ser atribuídas as diferentes alimentações.

De modo geral, percebe-se que a dieta à base de carne moída representa um substrato eficiente para criação de *Chrysomya megacephala* e *C. putoria* (tabelas 08 e 09), uma vez que larvas, pupas e adultos se desenvolveram melhor neste substrato que lhes é natural. A atratividade das duas espécies por carcaças, cadáveres e iscas contendo carne de diversas espécies animais tem sido amplamente registrada em inventários faunísticos de campo realizados em diversas regiões do país, incluindo o estado de Pernambuco. (CRUZ, 2008; OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2010, VASCONCELOS; ARAÚJO, dados não publicados). A íntima associação evolutiva dessas espécies com substratos de origem animal ajuda a explicar o melhor desempenho dos indivíduos em meio mais próximo ao natural. Segundo Oliveira e Vasconcelos (2010) a espécie *C. megacephala* foi relatada colonizando cadáveres humanos em Pernambuco, enquanto *C. putoria* foi encontrada ao redor destes cadáveres no IMLAPC.

Tabela 08 – Síntese da análise dos parâmetros bionômicos de indivíduos de *Chrysomya megacephala* mantidos sobre diferentes dietas

Parâmetro analisado	fases de desenvolvimento	Tipos de dieta				mais eficiente *
		Carne	Sardinha	Rúmen	Ovo	
tempo de desenvolvimento	2°	+ ^A	+ ^A	++ ^A	+ ^A	C = S = O
	3°	+ ^A	++ ^A	+++ ^A	+++ ^A	C
	pupa	++ ^A	+ ^A	+++ ^A	++++ ^A	S
peso	2°	++ ^A	+ ^A	++++ ^B	+++ ^B	R
	3°	++++ ^A	+++ ^B	++ ^B	+ ^C	C
	pupa	++++ ^A	+++ ^B	++ ^C	+ ^C	C
	adulto	++++ ^A	+++ ^A	++ ^B	+ ^B	C
comprimento	2°	+++ ^A	+ ^A	++++ ^B	++ ^A	R
	3°	+++ ^A	++ ^B	++++ ^A	+ ^B	R
	pupa	++++ ^A	+++ ^A	++ ^B	+ ^B	C
	adulto	++++ ^A	+++ ^{A;B}	++ ^{B;C}	+ ^C	C
largura	2°	+ ^A	+ ^A	+++ ^B	++ ^B	R
	3°	++++ ^A	+++ ^A	++ ^A	+ ^B	C
	pupa	+++ ^{A;B}	+++ ^A	++ ^B	+ ^C	C = S
mortalidade	larva	+ ^A	++ ^B	+++ ^B	++++ ^C	C
	pupa	+++ ^A	++ ^A	+ ^A	++++ ^B	R
razão sexual	adulto	+ ^A	++ ^A	+ ^A	++ ^A	C = S = R = O
longevidade	adulto	+++ ^A	+ ^B	++++ ^A	++ ^{A;B}	R

+ = valores médios absolutos dos parâmetros analisados. Itens com a mesma letra não são significativamente diferentes no mesmo estágio de desenvolvimento (escala = + < ++ < +++ < ++++).

* mais eficiente (c = carne; s = sardinha; r = rúmen; o = ovo) = dietas com os valores médios absolutos maiores ou menores de acordo com o parâmetro estudado - ex.: tempo de desenvolvimento e mortalidade com valores menores foram mais eficientes, contrariamente aos parâmetros de peso, comprimento, largura e longevidade.

Tabela 09 – Síntese da análise dos parâmetros bionômicos de indivíduos de *Chrysomya putoria* mantidos sobre diferentes dietas

Parâmetro analisado	Tipos de dieta					
	fases de desenvolvimento	Carne	Sardinha	Rúmen	Ovo	mais eficiente *
tempo de desenvolvimento	2°	+ ^A	+++ ^A	++ ^A	++ ^A	C
	3°	+ ^A	++ ^B	++++ ^B	+++ ^B	C
	pupa	+ ^A	++++ ^A	++ ^A	+++ ^A	C
peso	2°	+ ^A	++ ^A	++++ ^A	+++ ^A	R
	3°	++++ ^A	+ ^B	++ ^B	+++ ^B	C
	pupa	++++ ^A	++ ^B	+++ ^B	+ ^B	C
	adulto	++++ ^A	+ ^B	++ ^B	+++ ^A	C
comprimento	2°	+ ^A	++ ^A	++++ ^A	+++ ^A	R
	3°	++++ ^A	+ ^B	++ ^B	+++ ^{A;B}	C
	pupa	+ ^A	+++ ^A	++++ ^A	++ ^{A;}	R
	adulto	++++ ^A	+ ^B	++ ^{B;C}	+++ ^C	C
largura	2°	+ ^A	+++ ^A	++ ^A	++ ^A	R
	3°	++ ^A	+ ^A	+ ^A	+ ^A	C
	pupa	++++ ^A	+++ ^B	++ ^B	+ ^B	C
mortalidade	larva	+ ^A	++ ^B	++ ^B	+++ ^B	C
	pupa	+++ ^A	+ ^A	++ ^A	++++ ^A	R
razão sexual	adulto	+ ^A	++ ^A	+ ^A	++ ^A	C = S = R = O
longevidade	adulto	+++ ^A	+ ^B	++ ^A	++++ ^A	O

+ = valores médios absolutos dos parâmetros analisados. Itens com a mesma letra não são significativamente diferentes no mesmo estágio de desenvolvimento (escala = + < ++ < +++ < ++++).

* mais eficiente (c = carne; s = sardinha; r = rúmen; o = ovo) = dietas com os valores médios absolutos maiores ou menores de acordo com o parâmetro estudado - ex.: tempo de desenvolvimento e mortalidade com valores menores foram mais eficientes, contrariamente aos parâmetros de peso, comprimento, largura e longevidade.

6.1.1 Tempo de desenvolvimento

Os resultados deste estudo confirmam que as dietas podem ser usadas como meio alternativo, sem fortes efeitos deletérios tanto para larvas como para adultos. *Chrysomya megacephala* e *C. putoria* conseguiram completar seu ciclo de vida, quando criadas em todos os substratos. O tempo de desenvolvimento e a duração de cada estágio - recursos que permitem o médico legista estimar o intervalo pós morte (IPM) - não variaram significativamente entre as dietas testadas. As diferenças no tempo médio necessário para atingir o estágio de pupa variou de menos de uma hora (*C. megacephala*, sardinha vs carne) a um máximo de 9 horas (*C. putoria*, sardinha vs carne). Máxima diferença entre os tempos de desenvolvimento total em diferentes substratos variou de menos de 5% para *C. megacephala* a 7% para *C. putoria*. Em contraste, diferenças marcantes no ciclo larval em diferentes tipos de substrato alimentar têm sido relatados em outros estudos (DAY; WALLMAN, 2006; ESTRADA *et al.*, 2009; PAES; MILWARD-DE-AZEVEDO, 1998), e de acordo com Villet *et al.* (2010), variações nas composições das dietas podem limitar a precisão global de 12 - 43% do mínimo estimado no IPM. Além disso, Kaneshrajah e Turner (2004) mostraram que um erro de quase dois dias na estimativa do IPM poderia ser esperado ocorrer, dependendo do tipo do substrato oferecido para larvas de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae).

Segundo Slansky e Rodriguez. (1987 *apud* BAVARESCO *et al.*, 2004), substratos alimentares que proporcionam menor duração do ciclo devem ser considerados os mais eficientes no desenvolvimento biológico dos indivíduos. D'Almeida, Fraga e Ferro (2000), ao avaliar o tempo de desenvolvimento de neolarva a adulto de *Chrysomya megacephala* em diferentes dietas, relataram que a duração no estágio larval foi menor em carne comparativamente aos demais substratos alimentares semi-sintéticos compostos por leite, levedo, caseína; leite de soja e gérmen de trigo; e por levedo e ração de peixe. No mesmo estudo, foi observado que a alimentação larval sobre carne moída resultava em pupas mais pesadas e adultos significativamente maiores. O experimento de Tachibana e Numata (2001) com dietas semi-sintéticas para a espécie *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) também demonstrou menor duração larval entre indivíduos mantidos sobre a dieta com carne. Parra (2001) alerta que uma combinação de menor tempo

de desenvolvimento aliado a uma menor mortalidade são indicadores de uma dieta adequada. Sendo assim, a menor duração do ciclo pode significar que os imaturos conseguiram obter os nutrientes necessários mais rapidamente para o seu desenvolvimento, conseqüentemente sendo capaz de produzir pupas viáveis. O fenômeno inverso poderia indicar que uma grande demora na troca dos estágios na fase imatura, e conseqüentemente maior necessidade no tempo de desenvolvimento, seria ocasionado pela pouca distribuição de nutrientes essenciais, fazendo com que permanecessem mais tempo se alimentando na tentativa de produzirem pupas com o peso mínimo necessário para produzir adultos viáveis.

O tempo total de desenvolvimento na dieta semi-sintética que continha peixe (sardinha) foi muito semelhante à dieta com carne (controle) na espécie *C. megacephala*. Este resultado corrobora com o de Pires *et al.* (2009), que estudaram *C. megacephala* e avaliaram a eficiência de um meio alimentar semi-sintética comparado ao peixe *in natura*. Seus resultados relataram que o período larval foi de 3,5 dias, ou seja, aproximadamente 84 h e para o estágio de pupa foi de 4,5 dias, equivalendo a 153,6 h, um padrão não muito divergente ao obtido no presente estudo.

6.1.2 Peso

Apesar do peso corporal ter sido de certa forma afetado pelo tipo de dieta, os indivíduos alimentados com sardinha conseguiram atingir valores próximos - em termos absolutos - para aqueles obtidos no substrato com carne, em especial para *C. megacephala*.

Adequação da dieta que contém sardinha tem sido documentada, embora nessas experiências o peixe cru inteiro foi oferecido. Além da carne moída, a dieta semi-sintética com inclusão de sardinha esteve associada com adultos mais pesados, o que não surpreende, uma vez que a espécie é conhecida no sudeste asiático como “praga do peixe seco” pelo fato de suas larvas se desenvolverem em peixe salgado (ESSER, 1990 *apud* PIRES *et al.*, 2009). Para *C. putoria* as maiores médias de peso foram visualizadas na carne e na dieta semi-sintética acrescida de rúmen, podendo sugerir que a composição da carne bovina seja a mais adequada para o desenvolvimento dos imaturos nesta espécie. Dentre todos os estádios de

desenvolvimento, de neolarva até a formação do adulto, a fase que demonstrou ser mais sensível em adquirir peso corporal foi no terceiro estágio, indicando ser esta fase a decisiva para a formação de adultos viáveis. A categorização das dietas resultou no seguinte gradiente: *ovo* < *rúmen* < *sardinha* < *carne* para *C. megacephala* e *ovo* ≤ *sardinha* ≤ *rúmen* < *carne* para *C. putoria*.

O fato da dieta com carne ter apresentado alto teor de gordura pode explicar parcialmente o maior peso larval. Como substâncias gordurosas são geralmente usadas e armazenadas para a obtenção de energia, então larvas com mais disposição de gordura (maior teor de lipídeos) serão capazes de gastar menos energia do que aquelas alimentadas com maiores quantidades de proteína, principalmente, para que possam utilizar a energia adquirida para o crescimento (DAY; WALLMAN, 2006; VANDERZANT, 1974).

O aumento gradual no ganho de peso para ambas as espécies, de neolarva a pupa e o leve decréscimo a partir desta fase resulta da interrupção da alimentação a partir do final do terceiro estágio - fase de pré-pupa. Contudo, no estágio de pupa ocorre a esclerotização da cutícula e processos internos da metamorfose os quais ajudam a manter o peso nesta fase semelhante ao estágio anterior (GULLAN; CRANSTON, 2007).

Adultos mais pesados foram oriundos de pupas mais pesadas, fato registrado para ambas as espécies. Apesar da dieta semi-sintética acrescida de ovo ter adquirido o menor peso dentre as dietas testadas, houve a emergência de adultos viáveis. Este fato pode ser explicado pela hipótese das dietas conterem os nutrientes básicos necessários para completar todos os estágios. Contudo, em algumas dietas esses nutrientes talvez não estivessem em quantidade suficientemente disponível – ou imediatamente assimilável - de acordo com o tipo de substrato alimentar. Segundo Hanski (1987 *apud* QUEIROZ; MILWARD-DE-AZEVEDO, 1991) algumas espécies de dípteros necrófagos conseguem pupariar mesmo apresentando peso final abaixo dos valores pré-estimados, como estratégia de sobrevivência para minimizar os efeitos deletérios da competição.

A curva do tipo sigmóide para todas as dietas utilizadas corrobora com o trabalho de Ribeiro, Prado e Guimarães (1993) que relataram padrão similar para *C. putoria*, demonstrando o comportamento de crescimento dos imaturos. Inicialmente ocorre uma adaptação da larva aos substratos alimentares, seguida de uma fase rápida de crescimento e acúmulo de peso no qual será refletido nas taxas de

sobrevivência e posterior pupariação. Estudos como de Wells, Kurahashi (1994), Gabre, Adham e Chi (2005) confirmam o padrão sigmóide de crescimento larval entre espécies de califorídeos.

6.1.3 Tamanho

Em termos absolutos, as diferenças no comprimento e na largura do corpo de larva e pupa foram mínimas entre as dietas. Comprimento tem sido um dos parâmetros mais freqüentes para estimar a idade larval com êxito (AMENDT *et al.*, 2007; MIDGLEY; VILLET, 2009; OLIVEIRA; MELLO; QUEIROZ, 2007; TANTAWI; GREENBERG, 1993; WANG *et al.*, 2008). Só recentemente a importância da medição da largura larval foi considerada como parâmetro importante para a determinação da idade das larvas - e, conseqüentemente, o IPM. Day e Wallman (2006) sugerem que a largura de larvas de *Calliphora augur* (Fabricius, 1775) pode representar uma medida alternativa ao comprimento na estimativa da idade da larva.

Segundo Greenberg e Kunich (2002), o tamanho, principalmente no segundo e terceiro estádios, depende de fatores como nutrição e temperatura. Afirmam ainda que larvas em transição, do terceiro estágio para pupa (pré-pupa), apresentam um decréscimo no peso e tamanho, como supracitado, devido a fenômenos como pausa na alimentação e contração do corpo para preparação da metamorfose e subsequentes modificações internas.

Ainda de acordo com Greenberg e Kunich (2002), para a prática forense a determinação da idade dos imaturos deve ser baseada em comparações das mensurações do peso *versus* comprimento. Por isso a importância no estudo da bionomia da mensuração de vários parâmetros.

6.1.4 Mortalidade

As taxas de mortalidade foram mais baixas nos substratos que continham carne moída e mais elevada nos substratos acrescidos de ovos para as duas espécies experimentais. Este fato reforça a necessidade de se reconsiderar a

composição e / ou a quantidade de ovos que foi incorporada à dieta. Além do mais, propriedades físicas e químicas das dietas podem afetar o desenvolvimento e a sobrevivência das larvas de califorídeos (CHAUDHURY; SKODA, 2009), uma vez que este substrato apresentou-se menos consistente do que os demais. Contudo, é pouco provável que as dietas semi-sintéticas testadas ofereciam dificuldades na digestão, porque a sua consistência pastosa favorece o seu consumo total pelos imaturos, a menos que as diferenças no teor de proteína e gordura possam alterar a disponibilidade dos nutrientes essenciais. Talvez, a quantidade de proteína requerida não estivesse em quantidade suficiente, podendo ser um fator contribuinte do resultado da mortalidade nessa dieta. Mendonça, Queiroz e D'Almeida (2009) descreveram que a pouca concentração da proteína albumina (concentrações de 2% e 10%) interferiram no desenvolvimento na fase larval numa dieta contendo ovo.

6.1.5 Razão sexual

A razão sexual mostrou-se uniforme, não havendo diferença significativa na proporção de machos e fêmeas para nenhuma das duas espécies de *Chrysomya* em estudo em nenhum dos substratos alimentares experimentais. Esse resultado encontra paralelo em outros estudos com dípteros forenses, como nos trabalhos de Bonatto (1996) para *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae) e Ribeiro e Milward-de-Azevedo (1997) para *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae).

O “princípio de Fisher” (1930) relata a tendência de uma população ao equilíbrio da razão sexual em 1:1 (FONSECA, 2000). A proporção 50:50 em uma população indica a importância igualitária entre machos e fêmeas. Essa abordagem da razão sexual é equilibrada e representativa para machos e fêmeas, pois os primeiros são responsáveis pela alocação de recursos e as fêmeas pela variabilidade genética. Com isso ocorre a heterogeneidade genética que é importante para a sobrevivência da população em ambientes heterogêneos (SCHOWALTER, 2006). As assimetrias de relacionamento genético ocorrem em populações com alto grau de variação onde este fenômeno apresente vantagens, em especial observado entre himenópteros.

6.1.6 Longevidade

A longevidade variou dependendo da espécie e do substrato alimentar, sendo a dieta semi-sintética com inclusão de sardinha para as duas espécies a que produziu valores médios menores de longevidade. Norris (1965) comentou que estudos laboratoriais com Calliphoridae apresentaram uma sobrevivência de pelo menos três ou quatro semanas, sendo que nos resultados obtidos a menor longevidade foi maior do que quatro semanas. Concluindo-se então, que todos os substratos excederam a expectativa de longevidade mínima esperada em laboratório.

6.2 CARACTERÍSTICAS DAS DIETAS E SUA APLICABILIDADE FORENSE

A maioria dos estudos com dietas semi-sintéticas apresentam a base da dieta descrita por Leal *et al.* (1982), pois componentes como a levedura, que contém vitamina B e aminoácidos essenciais, e o leite, que contém em sua composição proteínas como caseína e lactalbumina, são conhecidamente importantes para o desenvolvimento dos insetos (HOBSON, 1933; PARRA, 2001). Contudo, essa base ainda não é a completa para o desenvolvimento ótimo dos insetos, e ainda há a dificuldade de se achar uma dieta “universal” para que todas as espécies se adaptem as suas necessidades nutricionais. No presente estudo, as dietas semi-sintéticas foram preparadas de forma que contemplássemos as necessidades para o desempenho ótimo das espécies necrófagas em questão. O acréscimo do tecido animal foi um fator adicional essencial na base da dieta proposta por Leal *et al.* (1982), pois trata-se de espécies com hábitos necrófagos. O tipo de dieta, composta por alimento natural, como o tecido animal incorporado nas dietas experimentais, é referido como dieta oligídica (COHEN, 2005; PARRA, 2001). O tecido animal foi acrescentado levando-se em consideração parâmetros como composição nutricional, custo e possível preferência pelas espécies de *Chrysomya*. Conhecimento sobre mecanismos de alimentação de espécies necrófagas têm sugerido que a maceração mecânica e ação bacteriana, bem como enzimas

proteolíticas presentes na excreta larval podem ajudar a digerir partes estruturais de tecidos animais (HOBSON, 1932).

Os critérios para a escolha de uma dieta incluem fatores como custo, manuseio, armazenamento, facilidade de preparação e disponibilidade de nutrientes na proporção necessária para que o inseto efetivamente possa completar o seu ciclo. A análise comparativa das características das dietas revelam que as dietas semi-sintéticas podem ser tão eficazes quanto a carne e têm uma série de vantagens e desvantagens que devem ser levadas em consideração tendo em conta o seu potencial de uso em estudos de medicina legal ou jurídico. Desvantagens das dietas semi-sintéticas incluem a necessidade de equipamentos, tais como liquidificador, microondas e geladeira, o “trabalho técnico” (e tempo) para a preparação e instalações relativamente simples. Por outro lado, vários benefícios podem ser obtidos através da utilização de dietas semi-sintéticas. Em primeiro lugar, elas podem ser facilmente produzidas seguindo protocolos simples. O tempo de armazenamento a 4 ° C é similar para os tecidos animais e dietas semi-sintéticas. As dietas são meios eficientes em relação ao custo, pois os custos básicos de material são menores do que a carne. Compostos que fazem parte da dieta semi-sintética, como por exemplo, o agar, a caseína e o nipagin são constituintes da formulação que podem ser usados repetidas vezes devido a quantidade diminuta acrescida no uso de cada dieta. Um outro fator mais importante, o forte cheiro de decomposição de matéria animal justifica a sua substituição por dietas semi-sintéticas, principalmente quando a criação em laboratórios e outras instalações são compartilhadas com outros profissionais. Além disso, a dieta com carne é freqüentemente sujeita a contaminação por microrganismos e outros insetos, como Phoridae (Diptera), um fenômeno que ocorre com menos frequência na alimentação semi-sintética. Adicionalmente, a falta de homogeneidade e reprodutibilidade nos teores de nutrientes da matéria animal é uma grande desvantagem, especialmente quando da realização de estudos experimentais, por exemplo, em trabalhos na área de entomotoxicologia.

A avaliação da qualidade de um substrato semi-sintético, portanto, deve ser um reflexo da otimização de inúmeros parâmetros bionômicos relativos ao ciclo de vida, tamanho, viabilidade, taxa de sobrevivência, razão sexual, longevidade, entre outros, que, integrados, caracterizam o que se convencionou chamar de *fitness* - “vigor” (PARRA, 2001) . Uma dieta semi-sintética ideal deveria, então, proporcionar

um desenvolvimento compatível com as condições naturais. Nesse contexto, uma série de questionamentos pode ser formulada: considerando-se a polifagia registrada em diversas espécies necrófagas, as quais comprovadamente podem ser encontradas se alimentando de recursos variados, como carcaças animais, vísceras, carnes em decomposição e até fezes, como definir qual a dieta natural “adequada”? Neste estudo, que se propôs a instrumentalizar de forma aplicada, procedimentos da Entomologia Forense, optou-se por realizar comparações com o substrato mais convencionalmente utilizado em criações semi-sintéticas em laboratório, a carne bovina moída crua.

Embora alguns dos resultados dos parâmetros analisados possam sugerir uma maior eficiência da carne bovina *in natura* como substrato ideal, é fundamental estabelecer uma comparação que incorpore outros fatores. Em primeiro lugar, as dietas semi-sintéticas testadas, especialmente aquelas que tiveram como ingrediente alternativo o rúmen e a sardinha, proporcionaram as condições básicas para que as duas espécies completassem o desenvolvimento de neolarva até adulto com pesos, tamanhos, tempo de desenvolvimento, mortalidade e longevidade - se não semelhantes, ao menos, em alguns casos, pouco inferiores ao grupo controle (carne bovina). Isto já amplia a utilidade desses substratos e estimula a condução de pesquisas posteriores para produzir dietas ainda mais próximas aos substratos naturais.

A criação de modelos matemáticos relacionados ao efeito de substratos alimentares sobre o crescimento populacional também se constitui em poderosa ferramenta (VON ZUBEN; BASSANEZI; VON ZUBEN, 1998). Dados relativos a tabelas de vida oriundos de experimentos em laboratório são fundamentais na compreensão do ciclo de vida de uma espécie e de como fatores externos – alimentação, temperatura, entre outros, podem afetar este ciclo (D'ALMEIDA; MELLO, 1995). Entretanto, a representatividade dos valores obtidos deve ser interpretada com cuidado ao se tentar extrapolar os resultados para situações de campo – e este dilema faz parte do trabalho do entomologista forense. Por exemplo, valores como mortalidade tendem a ser mínimos em laboratório uma vez que as condições de criação são otimizadas e há controle de causas naturais que representam elevada ameaça à sobrevivência dos indivíduos, como a ação de inimigos naturais (patógenos, predadores e parasitóides, entre os mais freqüentes). Do mesmo modo, a longevidade pode não refletir com fidedignidade situações de

campo, uma vez que na natureza a média de vida dos adultos pode ser menor, devido à ação de inimigos naturais, escassez de alimento, entre outros. Dessa forma, cabe ao entomologista forense compreender que os valores obtidos devem ser fornecidos como intervalos dentro dos quais um determinado valor obtido em campo (a largura ou o comprimento de uma larva como indicador de idade, por exemplo) pode ser encaixado.

Para o entomologista forense, a combinação dessas informações – em qual substrato a larva foi encontrada (no caso da entomologia forense médico-legal, trata-se de cadáveres humanos), sob que temperatura encontrava-se o cadáver, entre outros, pode gerar intervalos de idade e conseqüentemente estimativas de intervalo pós-morte. A criação de larvas coletadas de cadáver exige um meio padronizado, homogêneo, de constituição conhecida, de fácil preparo e conservação e, se possível, de baixo custo. Além de uma característica importante, a reprodutibilidade, que é essencial na pesquisa básica para posteriores estudos com outras espécies de hábito necrófago.

A partir da análise dos resultados de todos os parâmetros estudados neste experimento, conclui-se que a utilização de dietas semi-sintéticas pode ser uma realidade para o perito forense, uma vez que não causa variações deletérias no desenvolvimento das espécies testadas. Além da possibilidade do cruzamento de informações como peso e comprimento, auxiliar na estimativa da idade larval.

Com esse trabalho, espera-se uma contribuição na divulgação da aplicabilidade dessa ciência no âmbito policial nacional, onde a perícia médico-legal baseia-se, infelizmente e quase exclusivamente, nas alterações macroscópicas do cadáver, no qual está suscetível a inúmeras variações. Sendo assim, o mais correto seria unir estes dois conhecimentos para um melhor diagnóstico do intervalo decorrido após a morte do indivíduo.

Considerando a enorme taxa de homicídios em Pernambuco, uma integração entre profissionais do meio acadêmico – que podem fornecer informações biológicas quantitativas e confiáveis – e o perito criminal – único profissional autorizado a coletar evidências entomológicas na cena do crime – certamente contribuirá para a consolidação da Entomologia Forense na região para a aplicação prática.



7 CONCLUSÕES

1. A espécie *Chrysomya megacephala* apresentou um melhor e mais adequado desenvolvimento na dieta semi-sintética acrescida de sardinha;
2. A espécie *Chrysomya putoria* apresentou um melhor e mais adequado desenvolvimento na dieta semi-sintética acrescida de rúmen;
3. A dieta semi-sintética com inclusão de ovo de galinha como principal fonte protéica deve ser considerada com cautela para as duas espécies em estudo;
4. As dietas semi-sintéticas são passíveis de uso para o estudo de bionomia das espécies de moscas varejeiras, e também como substrato para a criação de estágios imaturos obtidos de cadáveres humanos.



8 REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (**AOAC**). 16th ed. Arlington: Official Methods of Analysis of AOAC International, 1998.
- AMENDT, J. *et al.* (2007) Best practice in forensic entomology – standards and guidelines. **International Journal Legal Medicine**, 121 (2): 90 – 104.
- BAVARESCO, A. *et al.* (2004) Adequação de uma dieta semi-sintética para a criação de *Spodoptera* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Neotropical entomology**, 33 (2): 155 – 161.
- BENECK, M. (1998a) Six forensic entomology cases: description and commentary. **Journal of Forensic Science**, 43(4): 797-805.
- BENECK, M. (1998b) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) typing of necrophageous insects (Diptera, Coleoptera) in criminal forensic studies: validation and use in practice. **Forensic Science International**, 98: 157 – 168.
- BENECK, M. (2001) A brief history of forensic entomology. **Forensic Science International**, 120: 2-14.
- BENECK, M.; LESSIG, R. (2001) Child neglect and forensic entomology. **Forensic Science International**, 120: 155-159.
- BOGDANOV, E. A. (1908). Über das Ablängigkeit des Wachstums der Fliegenlarven von Bakterien und Fermenten und über Variabilität und Vererbung bei den Fleischfliegen. **Archives of Anatomy Physiology**, 173–200.
- BONATTO, S. R. (1996) Ciclo de vida de *Sarconesia chlorogaster* (Wiedmann) (Diptera, Calliphoridae, Toxotarsinae), criada sob condições de laboratório em dieta semi-sintética. **Revista Brasileira de Zoologia**, 13(3): 685 – 706.
- BOONSRIWONG, W. *et al.* (2007) Fine structure of the alimentary canal of the larval blow fly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). **Parasitology Research**, 100:561–574.
- BORROR, D. J.; DeLONG, D. M. **Introdução ao Estudo dos Insetos**. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 1986. 653 p.

BRAACK, L. E. O. (1987) Community dynamics of carrion – attendant arthropods in tropical african woodland. **Oecologia**, 72: 402 – 409.

BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. **Forensic Entomology: The utility of arthropods in legal investigation**. Florida: CRC Press. 2001. 418 p.

CARVALHO, C. J. B.; MELLO – PATIU, C. A. (2008) Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. **Revista Brasileira de Entomologia**, 52: 390-406.

CARVALHO, C. J.; RIBEIRO, P. B. (2000) Chave de Identificação das Espécies de Calliphoridae (Diptera) do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 9 (2): 169-173.

CATTS, E. P.; GOFF, M. L. (1992) Forensic Entomology in criminal investigations. **Annual Reviews Entomology**, 37: 253-272.

CATTS, E. P.; HASKELL, N. H. **Entomology and Death : A Procedural Guide**. Clemson: Joyce`s Print Shop. 1990. 182 p.

CHAPMAN, R. F. **The Insects: structure and fuction**. 4th ed. USA: Cambridge University Press. 1998. 770 p.

CHAPMAN, R. F. ; BOER, G. **Regulatory mechanisms in insect feeding**. New York: Thompson publishing. 1995. 398 p.

CHAUDHURY, M. F.; SKODA, S. R. (2009) Diet pH, and viscosity affect development and survival of screwworm larvae (Diptera: Calliphoridae), **Journal of economic entomology**, 102: 799–803.

COHEN, A. C. **Insect Diets: science and technology**. New York: CRC Press. 2005. 330 p.

CROCE, D.; CROCE JÚNIOR, D. **Manual de Medicina Legal**. 3. ed. São Paulo: Saraiva, p. 336-375, 1996.

CRUZ, T. M. **Diversidade e sucessão ecológica de insetos associados à decomposição animal em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco**. 2008. 102 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

- D` ALMEIDA, J. M.; FRAGA, M. B.; FERRO, C. L. (2000) Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), em dietas semi-sintéticas oligídicas. **Entomologia y Vectores**, 7 (2): 155-162.
- D`ALMEIDA, J. M.; MELLO, R. P.(1995) Eficiência de variadas dietas na criação de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1774) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae), sob condições de laboratório. **Entomologia y Vectores**, 2: 95 – 106.
- D`ALMEIDA, J. M. ; OLIVEIRA, V. C. (2002) Dietas semi-sintéticas para a criação, em laboratório, de *Chrysomya* (*C. megacephala*, *C. albiceps* e *C. putoria*) (Diptera : Calliphoridae). **Entomologia Y Vectores**, 9 (1) : 79 – 91.
- DAY, D. M.; WALLMAN, J. F. (2006) Width as an alternative measurment to length for post-mortem interval estimations using *Calliphora augur* (Diptera: Calliphoridae) larvae. **Forensic Science International**, 159: 158 – 167.
- DEAR, J. P. (1985) A revision of the new world Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae). **Revista Brasileira de Zoologia**, 3(3): 109-169.
- ESSER, J.R. (1990) Factors influencing oviposition, larval grow and mortality in *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), a pest of salted dried fish in southeast Ásia. **Bulletin of Entomological Research**, 80: 369-376.
- ESTRADA, D. A.; GRELLA, M. D.; THYSSEN, P. J., LINHARES, A. X. (2009) Taxa de desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedmann) (Diptera: Calliphoridae) em dieta semi-sintética acrescida de tecido animal para uso forense. **Neotropical entomology**, 38 (2): 203 – 207.
- FERRAR, P. **A guide to the breeding habits and immature stages of diptera cyclorrhapha. Entomonograph.** Copenhagen: Science Press. 1987. v. 8, parte 1. 478 p.
- FISHER, R. A. **The genetical theory of natural selection.** Oxford: Clarendon press. 1930.
- FONSECA, C. R. (2000) Cooperação, conflitos e razão sexual em himenópteros sociais: a perspectiva de uma formiga amazônica. **Oecologia Brasiliensis**, 8:131 – 148.

- FRAENKEL, G.; BHASKARAN,G. (1973) Pupariation and pupation in Cyclorrhaphous flies (Diptera): terminology and interpretation. **Annals of the entomological Society of America**, 66 (2): 418 – 422.
- FREIRE, O. (1923) Fauna cadavérica brasileira. **Revista de Medicina**, 24 (4): 27 - 41.
- GABRE, R. M.; ADHAM, F. K.; CHI, H. (2005) Life table of *Chysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). **Acta Oecologica**, 27: 179 – 183.
- GENNARD, D. E. **Forensic entomology: an introduction**. USA: John Wiley & Sons Ltda, 2007. 254 p.
- GREENBERG, B.; KUNICH, J. C. **Entomology and Law: flies as forensic indicators**. Cambridge: University press, 2002, 306 p.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; LINHARES, A. X. (1978) Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia**, 22(1): 53-60.
- GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os insetos: um resumo de entomologia**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2007. 440 p.
- HANSKI, I. (1987) **Nutritional ecology of dung and carrion – feeding insects**. *In*: Nutritional ecology of insects, mites, stidery and related invertebrates. New York: Overview, 1016 p.
- HEIN, E. K. **The forensic mission: investigate forensic science through a killer mystery**. New Jersey: Wiley Publishing. 2007. 266 p.
- HOBSON, R. P. (1932) Studies on the nutrition of Blow- Fly larvae. IV. The normal role of micro-organisms in larval growth. **Journal of Experimental of Biology**, 9: 366 – 377.
- HOBSON, R. P. (1933) Growth of blow-fly larvae on blood and serum. I. Response of aseptic larvae to vitamin B. **Biochemical Journal**, 27(6): 1899 – 1909.
- HOBSON, R. P. (1935a) On a fat-soluble growth factor required by blow-fly larvae. I. Distribution and properties. **Biochemical Journal**, 29 (9): 1292-1296.
- HOBSON, R. P. (1935b) On a fat-soluble growth factor required by blow-fly larvae. II. Identity of the growth factor with cholesterol. **Biochemical Journal**, 29 (9): 2023 – 2026.

- HOUSE, H. L. (1962) Insect nutrition. **Annual review of biochemistry**, 1: 653 – 672.
- HOUSE, H. L. (1969) Effects of different proportions of nutrients on insects. **Entomologia experimentalis et applicata**, 12: 651 – 669.
- IVES, A.R. (1991). Aggregation and coexistence in a carrion fly community. **Ecological Monographs**, 61(1): 75-94.
- KANESHRAJAH, G.; TURNER, B. (2004) *Calliphora Vicina* larvae grow at different rates on different body tissues. **International Journal Legal Medicine**, 118: 242-244.
- KETLLE, D. S. **Medical and Veterinary Entomology**, Australia: Croom Ltd. 1984. p. 241 – 261.
- KRÜGER, R. F. *et al.* (2002) Desenvolvimento de *Synthesiomyia nudiseta* (Diptera, Muscidae) em laboratório. **Iheringia**, Série Zoologia. 92 (4): 25 – 30.
- KULSHRESTHA, P.; SATPATHY, D. K. (2001) Use of beetles in forensic entomology. **Forensic Science International**, 120: 15-17.
- LEAL, T. T.S. **Estudos para o desenvolvimento de novo método de avaliação de qualidade protéica utilizando larvas de *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann)**. 1980. 144 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1980.
- LEAL, T. T. S. ; PRADO, A. P; ANTUNES, A. J. (1982) Rearing the larvae of the blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) on oligidic diets. **Revista Brasileira de Zoologia**, 1 (1) : 41 – 44.
- LEVOT, G. W.; BROWN, K. R.; SHIPP, P. E. (1979) Larval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. **Bulletin of Entomological Research**, 69: 469.
- MENDONÇA, P. M.; QUEIROZ, M. M.; D` ALMEIDA, J. M.; (2009) Rearing *Chrysomya megacephala* on semi-sintética diets composed of varying concentrations of albumin. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 52 (2): 421 – 426.
- MERRIT R. W.; HIGGINS, M.; WALLACE, J. R. **Entomology**. In: SIEGEL, J.; KNUPFER, G.; SAUKKO, P. Encyclopedia of forensic sciences. 3th ed. New York: Academic Press, 2000. p. 699 – 705.

- MIDGLEY, J. M.; VILLET, M. H. (2009) Effect of the killing method on post-mortem change in length of larvae of *Thanatophilus micans* (Fabricius 1794) (Coleoptera: Silphidae) stored in 70% ethanol. **International Journal Legal Medicine**, 123 (2): 103 – 108.
- NORRIS, K. R. (1965) The bionomics of blow flies. **Annual Review of Entomology**, 10: 47 – 68.
- OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia forense: quando os insetos são vestígios**. 2. ed. Campinas: Millennium editora, 2007. 420 p.
- OLIVEIRA, M. S.; MELLO, R. P.; QUEIROZ, M. M. C. (2007) Morfologia e duração dos instares larvais de *Chrysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**, 51 (2): 239 – 245.
- OLIVEIRA, T. C.; VASCONCELOS, S. D. (2010) Insects (Diptera) Associated With Cadavers at the Institute of Legal Medicine in Pernambuco, Brazil: Implications for Forensic Entomology. **Forensic Science International**. *In press*.
- PAES, M. J.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. (1998) Desenvolvimento pós-embrionário de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) criada em dietas naturais processadas em condições controladas. **Parasitología al día**, 22 (3-4): 90 – 96.
- PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de Insetos para programas de Controle Biológico**. 6. ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001. 134 p.
- PAYNE, J. A.; KING, E. W. (1965) A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. **Ecology**, 46 (5): 592 – 602.
- PIRES, S. M. *et al.* (2009) Influência da dieta no desenvolvimento e investimento reprodutivo de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae). **Arquivos do Instituto de Biologia**, 76 (1): 41 – 47.
- PUJOL-LUZ, J. R.; ARANTES, L. C.; CONSTANTINO, R. (2008). Cem anos da entomologia forense no Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 52(4): 485-492.
- QUEIROZ, S. M.; CARVALHO, C. J. (1987) Chave pictórica e descrições de larvas de 3° instar de Diptera (Calliphoridae, Muscidae e Fanniidae) em vazadouros de resíduos sólidos domésticos em Curitiba, Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 16 (2): 253-288.

QUEIROZ, M. M.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. (1991) Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedmann) (Diptera: Calliphoridae), em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, 8: 75-84.

RATCLIFFE, B. C. (1998) **Insects**. p. 143 – 154. *In*: BLEED, A. S.; FLOWERDAY, C. A., An Atlas of the Sand Hills. Conservation and Survey Division, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska. 260 p.

REIS, M. G. *et al.* (1994) Estudo comparativo do tubo digestivo de *Dermatobia hominis* (Linnaeus, 1781) (Diptera: Cuterebridae) e *Cochliomyia hominivorax* (Cocquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae). **Revista Brasileira de Parasitologia e Veterinária**, 3 (1): 71-73.

RIBEIRO, R. C.; MILWARD – DE – AZEVEDO, E. M. (1997) Dietas naturais na criação de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819; Diptera: Calliphoridae) : estudo comparado. **Ciência Rural**, 27 (4): 641 – 644.

RIBEIRO, O. B.; PRADO, A. P.; GUIMARÃES, J.H. (1993) Competição intra-específica em *Chrysomya putoria* (Wiedmann, 1830) (Diptera: Calliphoridae) em meio semi-sintético. **Revista Brasileira de Entomologia**, 37 (4): 641 – 652.

RODRIGUEZ, J. G. **Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates**. New York: John Wiley & Sons, 1016 p.

RODRIGUEZ, W. C.; BASS, W. M. (1983) Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in east Tennessee. **Journal of Forensic Science**, 28: 423 – 432.

ROQUETTE PINTO, E. (1908). Nota sobre a fauna cadavérica do Rio de Janeiro. **A Tribuna Médica**, 21: 413-417.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva**. 7. ed. São Paulo: Roca. 2005. 1145 p.

SAS Institute Inc. PROC user's manual, version 6th ed. Cary, NC. 2006.

SAUNDERS, D. S.; WHEELER, I.; KERR, A. (1999) Survival and reproduction of small blow flies (*Calliphora vicina*; Diptera: Calliphoridae) produced in severely overcrowded short – day larval cultures. **European Journal Of Entomology**, 96: 19-22.

SCHOWALTER, T. D. **Insect ecology: an ecosystem approach**. 2th ed. USA: Elsevier. 2006. 574 p.

SLANSKY Jr., R; RODRIGUEZ, J. G. **Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates**, USA: John Wiley, 1987. p. 1 – 69.

SOUZA, A. M. **Sucessão entomológica na decomposição de carcaça animal, com ênfase nas famílias Calliphoridae e Sarcophagidae (Diptera)**. 1994. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1994.

Stat Soft Incorporation, **Statistica** (data analysis software system), version 7th ed. USA. 2004.

TACHIBANA, SI.; NUMATA, H. (2001) Na artificial diet for blow fly larvae, *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). **Applied Entomology Zoological**, 36 (4): 521 – 523.

TANTAWI, T. I.; GREENBERG, B. (1993) The effect of killing and preservative solutions on estimates of maggot age in forensic cases. **Journal of Forensic Science**, 38 (3): 702 – 707.

THYSSEN, P. J. **Decomposição e sucessão entomológica em carcaças de suínos (*Sus scrofa* L.) de tamanhos diferentes: estudos em ambiente de mata natural na região de Campinas – SP**. 2000. 75 p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2000.

VANDERZANT, E. S. (1974) Development significance and application of semi-sintética diets for insects, **Annual Review Entomology**, 19: 1391 – 60.

VASCONCELOS, S. D.; ARAÚJO, M. S. C. **Estado da arte de dípteros e coleópteros de importância forense no Nordeste do Brasil**. Dados não publicados.

VILLET, M. H.; RICHARDS, C. S.; MIDGLEY, J. M. Contemporary precision, bias and accuracy of minimum post-mortem intervals estimated using development of carrion-feeding insects, in: AMENDT, J.; GOFF, M. L.; CAMPOBASSO, C. P.; GRASSBERGER, M. (Eds), **Current Concepts in Forensic Entomology**, Springer, Dordrecht, 2010, pp. 109 – 137.

VON ZUBEN, C. J.; BASSANEZI, R. C.; VON ZUBEN, F. J. (1998) Theoretical approaches to forensic entomology : II. Mathematical model of larval development. **Journal Applied Entomology**, 122: 275-278.

WANG, J.; LI, Z.; CHEN, Y.; CHEN, Q.; YIN, X. (2008) The succession and development of insects on pig carcasses and their significances in estimating in estimating PMI in south China. **Forensic Science International**, 179: 11 – 18.

WELLS, J. D.; KURAHASHI, H. (1994) *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development: rate, variation and the implications for forensic entomology. **The Japan Society of Medical Entomology and Zoology**, 45 (4): 303 – 309.

ZUMPT, F. **Myiases in man and animals in the Old World**. London: Butterworths, 1965. 267p.

APÊNDICE - Preparo de 1000 g de dieta semi-sintética contendo tecido animal para moscas varejeiras

		Carne	Sardinha	Rúmen	Ovo de galinha
	Exclusivo para cada dieta	1000 g	222.17 g	222.17 g	187.50 g
Ingredientes	Comum a todas as dietas	-----	890 mL de água destilada 100 g de leite em pó 100 g de levedura em pó 5.10 g de caseína 2.22 g de nipagin 7.10 g de ágar		

Modo de Preparo:

O primeiro procedimento para a confecção das dietas semi-sintéticas consistiu em colocar no liquidificador 556 mL de água destilada e adicionar o tecido animal. Contudo, deve-se observar alguns cuidados antes de colocar o tecido animal, por exemplo, na sardinha foi retirado as escamas e espinhas, restando somente o filé, o rúmen foi cortado em pequenos pedaços antes da trituração e o ovo de galinha foi misturado antes de ser colocado no liquidificador com a água destilada. A fase seguinte consistiu em bater a mistura até a obtenção de um líquido semelhante à consistência de suco. Posteriormente, foram colocados os ingredientes secos e batido novamente. Reserve.

Em outro recipiente foi colocado 334 mL de água destilada com 7,1 g de ágar bacteriológico e misturado. Posteriormente, esta mistura foi encaminhada para o forno microondas com potência alta, até ferver e obter uma mistura translúcida. Isto aconteceu por cerca de até 2 minutos no forno, dependendo do modelo do aparelho. É necessário, por este motivo, observar a mistura ferver para não ocorrer o transbordamento do material. Depois de fervido, foi observada uma consistência geléica, acrescentado à mistura deixada no liquidificador e misturado. O meio na geladeira fica conservado por até três dias em vasilhame com tampa.