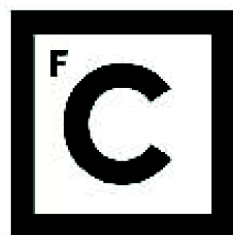


UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Ciências  
ULisboa**

# **Importância dos Dípteros em Entomologia Forense: Diversidade e Caracterização Morfológica de Larvas de Calliphoridae**

**Águeda Maria Vieira Semedo**

**Mestrado em Biologia Humana e Ambiente**

**Dissertação orientada por:**

Prof. Doutora Maria Teresa Rebelo e Prof. Doutora Deodália Dias

**2019**

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela vida e pela oportunidade de ingressar em uma Universidade. Por ter o privilégio de conhecer pessoas maravilhosas que acompanharam minha trajetória e que de uma maneira direta ou indireta fizeram parte da construção desse trabalho.

Em especial os meus orientadores a professora Deodália Dias e Maria Teresa Rebelo pela orientação, sou grata primeiramente por ter me aceitado como orientanda, mesmo sabendo que eu estava meio perdida. Obrigada pela vossa atenção, disponibilidade, paciência, dedicação, esclarecimento de dúvidas, pela correção e pelas sugestões contribuintes, pela paciência e oportunidade de aprendizado científico e profissional deste trabalho.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação. Cada um de vocês é um exemplo a ser seguido. Obrigada pela paciência e dedicação! Sou grata a todos!

Aos meus pais, criadores das condições necessárias à consolidação da minha formação de base e fornecedores dos fundamentos morais e éticos que guiam minha vida e me permitem valorizar o conhecimento,

Ao meu namorado Egídio Moreira e os meus irmãos, pela grande torcida, carinho, amor e incentivo nos estudos e pela compreensão da ausência e correria constantes, sem os quais este estudo não teria se tornado possível.

Ao Instituto Camões, pelo apoio financeiro sem os quais não conseguiria realizar este sonho.

Ao pessoal do Laboratório de Imagem e Microscopia pela ajuda na utilização dos microscópios.

Ao Sr. Genage André e Sra. Maria de Lourdes em especial que sempre estiveram disponíveis para me ajudar.

Aos meus colegas e os meus amigos pelo apoio, carinho, amizade.

A todos que não foram elencados em particular, e que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## ABSTRACT

Forensic entomology (FE) is the science that studies insects that can help to solve crimes. The Calliphoridae, Sarcophagidae and Muscidae Díptera are the most studied families in FE. This is not a recent science and today there are several studies conducted in different parts of the world.

Most of dipteran species collected in cadavers are immature, having little conspicuous morphological characteristics, making it difficult to identify.

The insects of the Calliphoridae family have necrophagous habits in their immature phase; therefore, they are the object of study of the EF, since they are the first settlers of the decomposing matter. EF uses biological and ecological data from necrophagous insects to aid in criminal investigations, namely the estimation of the postmortem interval (PMI).

Decaying substances, fermentation, blood and wounds can attract these insects. Due to these characteristics, Calliphoridae dipterans have great ecological, veterinary and medical-sanitary importance, as well as forensic indicators. Therefore, the objective of this work was to identify and morphologically describe the larvae of the third instar of the species collected in the autumn and spring of 2017-18 using optical microscopy and comparing the characteristics of the spiracles and the cephalopharyngeal skeleton. The specimens were collected using traps bait with beef, chicken and pig. Several species of Calliphoridae were collected and identified in the autumn and spring: *Chrysomya albiceps*, *Lucilia sericata*, *Lucilia eximia*, *Lucilia ampullacea*, *Lucilia illustris*, *Calliphora vicina* and *Calliphora vomitoria*. The most frequent species in autumn and spring was *Calliphora vicina*.

Key words: Forensic Entomology, Immature díptera, blowflies

## RESUMO

A entomologia forense (EF) é a ciência que estuda os insetos que podem ajudar a esclarecer crimes. Os dípteros Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae são das famílias mais estudadas em EF. A EF não é uma ciência recente e hoje em dia existem vários estudos realizados em diferentes partes do mundo.

Como a maioria dos exemplares de dípteros recolhidos nos cadáveres são imaturos e possuem características morfológicas pouco conspícuas, a sua identificação é difícil.

Os insetos da família Calliphoridae apresentam hábitos necrófagos nas fases larvares, portanto são objeto de estudo da EF, pelo facto de serem os primeiros colonizadores da matéria em decomposição. A EF utiliza dados biológicos e ecológicos de insetos necrófagos com o objetivo de auxiliar nas investigações criminais, nomeadamente na estimativa do intervalo pós-morte (IPM).

Estes insetos podem ser atraídos por substâncias em decomposição, fermentação, sangue e feridas. Devido a estas características, os dípteros Calliforídeos possuem grande importância ecológica, veterinária e médico-sanitária, além de serem indicadores forense. Portanto o objetivo deste trabalho foi a identificação e descrição morfológica das larvas do terceiro instar das espécies coletadas no Outono e na Primavera de 2017-18, utilizando microscopia ótica e comparando as características dos espiráculos e do esqueleto cefalofaríngeo. Os espécimes foram coletados utilizando-se armadilhas iscadas com vaca, galináceo e porco. No Outono e Primavera foram coletados e identificadas várias espécies de Calliphoridae: *Chrysomya albiceps*, *Lucilia sericata*, *Lucilia eximia*, *Lucilia ampullacea*, *Lucilia illustris*, *Calliphora vicina* e *Calliphora vomitoria*. A espécie que apresentou maior frequência no Outono e na Primavera foi *Calliphora vicina*.

Palavras chaves: Entomologia Forense, Dípteros imaturos, Varejeiras

## Índice

<b>1</b>	<b>Introdução</b> .....	11
1.1	Entomologia Forense .....	11
1.2	Intervalo Pós-Morte (IPM) .....	11
1.3	Importância dos dípteros em entomologia forense .....	12
1.4	Caracterização morfológica dos dípteros (Calliphoridae) importantes na EF.....	13
1.4.1	Os insetos da família Calliphoridae (moscas verejeiras) .....	13
1.5	Justificativa.....	17
1.6	Objetivos .....	17
<b>2</b>	<b>Materiais e métodos</b> .....	17
2.1	Locais de estudo, espécimes, estações do ano estudadas e montagem de armadilhas.....	17
2.2	Recolha de larvas e preparação das amostras.....	18
2.3	Microscopia ótica (MO).....	19
<b>3</b>	<b>Resultados</b> .....	20
3.1	Características visuais das larvas diagnosticadas .....	20
3.2	Características morfológica das larvas de Calliphoridae.....	21
3.3	Dados climáticos.....	22
3.4	Espécies de Calliphoridae diagnosticados nos iscos em Lisboa e Sintra .....	23
3.5	Descrição de Espécies Identificadas .....	30
3.5.1	<i>Chrysomya albiceps</i> (Ca).....	30
3.5.2	<i>Lucilia sericata</i> (Ls) .....	31
3.5.3	<i>Lucilia eximia</i> (Le) .....	32
3.5.4	<i>Lucilia ampulácea</i> (La).....	33
3.5.5	<i>Lucilia illustris</i> (Li).....	34
3.5.6	<i>Calliphora vomitoria</i> (Cvom) .....	34
3.5.7	<i>Calliphora vicina</i> (Cv).....	35
<b>4</b>	<b>Discussão</b> .....	36
<b>5</b>	<b>Conclusões</b> .....	40
<b>6</b>	<b>Referências bibliográficas</b> .....	41

## Índice das figuras

Figura 1: Mosca Verejeira, Calliphoridae.....	14
Figura 2: Ciclo de vida de mosca verejeira. (Foto Águeda Semedo) .....	14
Figura 3: Larvas do terceiro instar de Calliphoridae: PC- segmento cefálico; T1 a T3- segmento torácico; A1 a A8- segmento abdominal. (foto Águeda Semedo) .....	16
Figura 4: Morfologia das larvas Calliphoridae: a- áreas fusiformes da larva de terceiro instar ( <i>Cochliomyia macellaria</i> ); b- anéis de espinhos ( <i>C. macellaria</i> ); c- anéis de espinhos com fração de ½; d- esqueleto cefalofaríngeo ( <i>C. macellaria</i> ); d- denticulo, gmd- gancho da mandíbula, md- mandíbula, do- esclerito oral, hyp- esclerito hipofaríngeo, phrm pelp. Fragma para clipeal; cv- corno ventral, phrm tnt. Fragma tentorial, cd- corno dorsal, arch d. arco dorsal; e- branquias do espiráculo anterior ( <i>Sarconesiopsis magellanica</i> ); f- esclerito oral pigmentado ( <i>Calliphora vicina</i> ); g- botão do espiráculo posterior ( <i>Lucília peruviana</i> ); h- processos no segmento caudal ( <i>Chrysomya albiceps</i> ): TDI- tubérculo dorsal interno, TDM- tubérculo dorsal médio, TDL- tubérculo dorsal lateral, TVL- tubérculo ventral lateral, TVM- tubérculo ventral médio, TVI- tubérculo ventral interno (Fonte: Florez & Wolff, 2009). .....	16
Figura 5: Armadilhas iscadas usadas no estudo.....	18
Figura 6: Equipamentos usados na coleta das moscas .....	18
Figura 7: Corte no segundo segmento: Barra: 1.465mm .....	19
Figura 8: Microscópio estereoscópico usado para fotografar as amostras.....	19
Figura 9: Larvas do terceiro instar de Calliphoridae: PC- segmento cefálico; T1 a T3- segmento torácico; A1 a A8- segmento abdominal. (foto Águeda Semedo).....	20
Figura 10: Larva de generalizada díptera (Foto Agueda Semedo) .....	20
Figura 11: Espiráculo de díptera: A- Larva L2; B- Larva L3; (Foto Agueda Semedo).....	21
Figura 12: Espiráculo de Díptera: A- Peritrema incompleto; B- Peritrema completo .....	21
Figura 13: Morfologia de larva de Calliphoridae: a. corpo fusiformes da larva de terceiro instar ( <i>Calliphora vomitoria</i> ); b. anéis de espinho por todo lado; c- esqueleto cefalofaríngeo, d- denticulo, gmd- gancho de mandíbula, eden- esclerito dental, cv- corno ventral, cd- corno dorsal, arc d- arco dorsal; d- botão do espiráculo posterior ( <i>Calliphora vicina</i> ); e- processos no segmento caudal: TDI- tubérculo dorsal interno, TDM- tubérculo dorsal medio, TDL- tubérculo dorsal lateral, TVL- tubérculo ventral lateral, TVM- tubérculo ventral medio, TVI- tubérculo ventral interno. (Foto: Águeda Semedo). .....	22
Figura 14: Gráfico mostrando a variação da temperatura (°C) ambiente ao longo do estudo (outono e primavera) nos dois locais de estudo (Monte Abrão e Lisboa).....	23
Figura 15: Abundância de Calliphoridae coletados nas duas áreas estudadas.....	24
Figura 16: Abundância de Calliphoridae diagnosticados nos iscos nas duas áreas de coleta: Lisboa (Facul) e Sintra (MA).....	26
Figura 17: Percentagens das subfamílias coletadas nos iscos.....	28
Figura 18: Abundâncias das espécies Calliphoridae coletadas no Outono e Primavera .....	29
Figura 19: Abundâncias das espécies de Calliphoridae coletados nas duas áreas estudadas.....	30
Figura 20: Larva do 3º instar de <i>C. albiceps</i> : A- Região anterior com armadura bucal; B- Espiráculo posterior; C- Corpo inteiro (vista dorsal). (fotos: Agueda Semedo).....	30
Figura 21: Cm- Espiráculos posteriores de Cm: 1- Peritrema incompleto; 2- Placa peritremal (foto: Águeda Semedo).....	31

Figura 22: <i>Lucilia sericata</i> : A- espiráculos, A1- fendas respiratórias; B- vista dorsal; C- região posterior; 1- Tubérculo externo; 2- tubérculo médio; 3 -tubérculo interno; D- esqueleto cefalofaríngeo (Fotos: Águeda Semedo).....	32
Figura 23: <i>Lucilia eximia</i> : A- parte ventral; B- parte posterior com espiráculos; C: esqueleto cefalofaríngeo; D- Tubérculos (fotos Águeda Semedo) .....	33
Figura 24: <i>Lucilia ampullacea</i> : A- vista lateral esqueleto cefalofaríngeo, B- Segmento cefálico, D- espiráculo. (fotos Águeda Semedo) .....	33
Figura 25: <i>Lucilia illusrtis</i> : A: Armadura bucal; B- Vista lateral esqueleto cefalofaríngeo; C- corpo inteira; D- Espiráculo posterior (fotos Águeda Semedo).....	34
Figura 26: Larvas do 3º instar de <i>Calliphora vomitoria</i> : A- Parte posterior com espiráculos; B- esqueleto cefalofaríngeo C- Armadura bucal; RA- região anal (Foto Águeda Semedo).....	34
Figura 27: Larvas do 3º instar de <i>Calliphora vicina</i> observados ao microscópio estereoscópico: A- esqueleto Cefalofaríngeo; B- espiráculos peritrema fechado e botão bem formado; b-base; ec-esclerito (fotos Águeda Semedo).....	35
Figura 28: Larvas do 3º instar de <i>Calliphora vicina</i> C- segmentos torácicos; D- tubérculos (fotos Águeda Semedo) .....	35
Figura 29: Larvas do 3º instar de <i>Calliphora vicina</i> E- espinho segmentares; F- Corpo inteira (fotos Águeda Semedo).....	35

## Índice das tabelas

Tabela 1 Espécies de Calliphoridae diagnosticados no Outono e Primavera nas duas áreas estudadas. ....	24
Tabela 2 Frequência absolutas e frequências relativas das espécies de Calliphoridae coletadas em Monte Abrão nas duas estações .....	24
Tabela 3 Frequência absolutas e frequências relativas das espécies de Calliphoridae coletadas em Faculdade nas duas estações.....	25
Tabela 4 Frequências absolutas e relativas das espécies Calliphoridae coletadas nas duas localidades.....	25
Tabela 5 Frequência absolutas e relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em faculdade no Outono .....	26
Tabela 6 Frequência absolutas e frequência relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em Monte Abrão no Outono .....	26
Tabela 7 Frequência absolutas e frequência relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em Faculdade na Primavera.....	26
Tabela 8 Frequência absolutas e frequência relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em Monte Abrão na Primavera .....	26
Tabela 9 Frequência absoluta das espécies Calliphoridae atraídas pelo isco de Porco no Outono e Primavera nas duas localidades .....	27
Tabela 10 Frequência absoluta das espécies Calliphoridae atraídas pelo isco de Galinha no Outono e Primavera nas duas localidades .....	27
Tabela 11 Frequência absoluta das espécies Calliphoridae atraídas pelo isco de Vaca no Outono e Primavera nas duas localidades .....	27



## **Abreviaturas**

EF- Entomologia Forense

IPM- Intervalo Pós-Morte

di- denticulo,

gmd- gancho da mandibula,

md- mandibula,

Eo- esclerito oral,

hyp- esclerito hipofaríngeo, phrm pcp. Fragma para clipeal;

cv- corno ventral, phrm tnt. Fragma tentorial,

cd- corno dorsal,

arch d- arco dorsal;

TDI- tubérculo dorsal interno,

TDM- tubérculo dorsal médio,

TDL- tubérculo dorsal lateral,

TVL- tubérculo ventral lateral,

TVM- tubérculo ventral médio,

TVI- tubérculo ventral interno

PC- segmento cefálico;

T1 a T3- segmento torácico;

A1 a A8- segmento abdominal

P- Porco

V- Vaca

G- Galina

FC- Faculdade

MA- Monte Abrão

*Ca- Chrysomya albiceps*

*Ls- Lucilia sericata*

*Le- Lucilia eximia*

*La- Lucilia ampullacea*

*Lc- Lucilia illustris*

*Cv- Calliphora vicina*

*Cvom- Calliphora vomitoria*

P FC Out- Porco Faculdade Outono

P MA Out- Porco Monte Abrão Outono

P FC Prim- Porco Faculdade Primavera

P MA Prim- Porco Monte Abrão Primavera

G MA Out- Galinha Monte Abrão Outono

G FC Out- Galinha Faculdade Outono

G FC Prim- Galinha Faculdade Primavera

G MA Prim- Galinha Monte Abrão Primavera

V FC Out- Vaca Faculdade Outono

V MA Out- Vaca Monte Abrão Outono

V FC Prim- Vaca Faculdade Primavera

V MA Prim- Vaca Monte Abrão Primavera

FA- Frequência Absoluta

FR- Frequência Relativa

%- Percentagem

# 1 Introdução

## 1.1 Entomologia Forense

Entomologia Forense (EF) é a ciência que estuda a importância dos insetos associados à decomposição de cadáveres sendo um dos usos mais comuns a estimativa do Intervalo Pós-Morte (IPM) (Mendonça et al., 2008; Centeio, 2011). Segundo Byrd e Castner (2001), a Entomologia Forense consiste no estudo da interação de insetos e outros artrópodes com questões legais, podendo ser dividida em três áreas principais: a urbana, a referente a produtos alimentares e a médico-legal. (Santos, 2018).

Um corpo resultante de um crime é invadido por insetos imediatamente após a morte, tornando-se esta parte da evidência. A partir daí os entomologistas vão avaliar o ciclo de vida dos insetos atraídos pela carne em decomposição e através dessa avaliação conseguem determinar de forma bastante aproximada à realidade o intervalo *post-mortem* (IPM), ou seja, o tempo mínimo decorrido desde a morte do indivíduo até este ser encontrado (Joseph et al., 2011; Rebelo et al., 2014). Muitos autores afirmaram, que a EF é uma disciplina – no âmbito da medicina legal – vocacionada para a resolução de homicídios. Com o uso de várias técnicas, os especialistas nessa área podem coletar fortes evidências entomológicas e fornecer informações proveitosas não só em caso de investigação de morte, mas também caso o corpo seja deslocado de um lugar para o outro, identificação do local onde o crime ocorreu, e ainda em situações de negligência humana ou animal, abuso sexual e identificação de suspeitos (Campobasso & Introna 2001) ou ainda sobre a detecção da presença de toxinas, drogas, fármacos ou venenos (Introna et al., 2001; Rebelo et al. 2014). Os estudos dos insetos necrófagos são de grande importância não só na perspectiva dos conhecimentos desenvolvidos no âmbito da EF médico-legal, mas também no âmbito da entomotoxicologia, como no caso de investigação da aplicação não controlada de herbicidas e inseticidas ou da utilização intencional de venenos e, também, no controle de contaminação química não intencional, assumindo-se, deste modo, os insectos necrófagos como bioindicadores ambientais de grande importância (Gusmão, 2008).

A EF serve como ferramenta auxiliar, na investigação de crimes contra pessoas vítimas de morte violenta. (Luz, Arantes & Constantino, 2008). Segundo estes autores o estudo dos insetos das ordens Díptera e os Coleóptera são relevantes para a EF, por serem os mais representativos das espécies encontradas em corpos em decomposição. Existem lacunas importantes na informação sobre a biologia, ecologia e a distribuição geográfica das espécies necrófagas, devido à sua complexidade, custo elevado e demora na obtenção dos resultados. (Luz, Arantes & Constantino, 2008).

## 1.2 Intervalo Pós-Morte (IPM)

Logo que um animal morre, a grande quantidade de dípteros invade o corpo, através de odores específicos. A postura de ovos no cadáver marca o início de um relógio biológico que é usado por entomólogos forenses para estimar o IPM.

A determinação do IPM é considerada uma das principais aplicações da EF, corresponde ao período de tempo transcorrido entre a morte de indivíduo e a descoberta do corpo (Cruz et al, 2014; Pinheiro et al, 2012; Chaves 2016).

O modelo mais aceito para o cálculo do IPM é o linear, também chamado grau-dia acumulado (GDA), no qual são relacionados o tempo transcorrido para o desenvolvimento do inseto e a temperatura a que o inseto foi submetido. A multiplicação destes dois fatores fornece a quantidade de energia ou calor acumulado que é requerido para completar etapas do ciclo de vida do inseto (Pinheiro et al., 2012).

Segundo Shalaby et al. (2000) é importante destacar que os insetos de interesse forense não são somente aqueles que visitam o cadáver na forma adulta, mas todos aqueles que se reproduzem utilizando-o como substrato. Assim sendo, é possível determinar o desenvolvimento dos imaturos e com base nesses dados, pode-se realizar a estimativa do IPM.

O IPM é estimado com base em métodos entomológicos baseados na sucessão dos artrópodes e na coleta de insetos imaturos no corpo em decomposição para identificar os estágios de desenvolvimento desses (Voss et al., 2011). É importante saber se há oposição no cadáver pouco depois da morte ou não. Factores como a chuva, baixas temperaturas, latitude, altitude podem provocar retardo na colonização do cadáver pelos insetos (Chaves, 2016; Panici et al., 2015). Díptera de preferência as varejeiras, são os primeiros a invadir e colonizar o cadáver em decomposição, eles oferecem à Perícia Criminal um vestígio que se apresenta também como um “cronômetro natural” e a correta interpretação da presença desses artrópodes no local de um crime pode ser utilizada como um importante auxílio para estimar o IPM (Miranda et al, 2013).

A vantagem do IPM, em comparação com outros procedimentos usados em Medicina Legal, é a sua precisão, mesmos em estados avançados de decomposição, em que os métodos tradicionais não são precisos. Dois métodos podem ser utilizados: uma é a estimativa da idade dos insetos imaturos que se alimentam do cadáver, de acordo com seu grau de desenvolvimento e outra é a análise da comunidade de insetos presentes (Leal et., al 2013).

### **1.3 Importância dos dípteros em entomologia forense**

Na história humana, o uso de insetos na busca por respostas para problemas legais ocorre há centenas de anos. Na China do século XII, Sung T'zu foi o primeiro a praticar essa abordagem na solução de um caso de homicídio, no qual a presença de moscas em uma ferramenta em particular foi identificada como provável arma do crime. Após essa descoberta, o dono da ferramenta confessou o ato delituoso (Benecke, 2001).

Goff (2001) e Gennard (2007) afirmam que na ordem Díptera existem as famílias de insetos mais significativas para a EF por incluírem as espécies precursoras na colonização de cadáveres (pela sua maior apetência por estados caracterizados por um maior teor de humidade).

Os dípteros da importância forense são: Calliphoridae, mais conhecidos por “moscas varejeiras”; Sarcophagidae, vulgarmente conhecidas por “moscas da carne” e Muscidae, da qual fazem parte as moscas domésticas. Ainda na ordem Díptera, mas normalmente de ocorrência mais tardia na colonização de cadáveres, destaca-se a família Piophilidae, onde se inclui a “mosca do queijo” e mais posterior ainda a Sepsidae, ou “mosca necrófaga negra” (Gennard, 2007).

As aplicações das metodologias existentes no campo da biologia molecular aos estudos dos insetos são relativamente recentes, nomeadamente as técnicas moleculares na área da sistemática,

taxonomia, filogenia e também em estudos de genética populacional. Na entomologia forense os avanços de técnicas moleculares estão concentrados na utilização da PCR e com recurso a marcadores do DNA mitocondrial e nuclear, na identificação das espécies.

A identificação das espécies permite a estimativa do intervalo pós-morte, como por exemplo no isolamento, amplificação e caracterização do material genético humano encontrado no trato digestivo de artrópodes hematófagos e necrófagos. Estudos como estes podem fornecer importantes provas da associação entre as larvas e o possível corpo no qual elas habitavam e em casos de morte violenta onde há dúvidas se os imaturos encontrados realmente se alimentaram e se desenvolveram na vítima encontrada, podendo ainda determinar a identidade e o sexo da vítima além da presença de drogas e outras substâncias tóxicas, mesmo em corpos em estado avançado de decomposição (Benecke, 2004).

Os cadáveres apresentam-se como resíduos alimentares para uma grande diversidade de organismos, sendo os insetos necrófagos os principais responsáveis pela decomposição de carcaças ou cadáveres expostos ao ar livre. Insetos são atraídos para o corpo logo após a morte e os dípteros são, geralmente, os primeiros povoadores desse resíduo, principalmente os representantes das famílias Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae. As moscas são atraídas a longas distâncias pelo odor e os seus imaturos são responsáveis pelo consumo de grande parte da biomassa nas fases iniciais de decomposição das carcaças (Rosa et al., 2009).

Os dípteros representam uma das maiores e mais diversas ordens da Classe Insecta. São insetos holometabólicos, passando por várias fases do ciclo de vida- ovo, larva, pupa e adulto. Distinguem-se de outros insetos por apresentar somente um par de asas, que correspondem ao par anterior, e um par em pequenas estruturas clavadas que são chamadas de halteres, que correspondem ao par posterior, que podem funcionar como sistemas de equilíbrio (Frasson, Leite, Rossi & Krohling, 2006).

A ordem Díptera é uma das maiores ordens de insetos, com cerca de 160 famílias possuindo cerca de 153 mil espécies descritas, espalhadas mundialmente. Os dípteros encontram-se em diferentes habitats, como em habitações humanas ou em matéria orgânica vegetal e animal em decomposição, o que abarca carcaças de animais e cadáveres humanos em decomposição (Alves, Santos & Duarte, 2014; Carvalho, 2012; Martins et al., 2013).

Para além das famílias acima referidas, existem, outras como Stratiomyidae, Phoridae, Anthomyiidae, Fanniidae, Sphaeroceridae, Drosophilidae, Sepsidae, Ulidiidae, Piophilidae que também são consideradas famílias de Diptera de importância forense, por mostrarem hábitos necrófagos e que se encontram frequentemente em carcaças e cadáveres. (Alves, Santos & Duarte, 2014).

## **1.4 Caracterização morfológica dos dípteros (Calliphoridae) importantes na EF.**

### **1.4.1. Os insetos da família Calliphoridae (moscas verejeiras)**

Os Calliphoridae são uma família de dípteros muscoides caliptrados, que fazem parte da superfamília Oestroidea. Apresentam hábitos necrófagos em sua fase imatura (Caleffe, Oliveira, Nanya, Conte, 2015).

Os dípteros Calliphoridae são de extrema importância a nível ecológico, veterinário e médico-sanitário, além de indicadores forenses. Atualmente é composta por 12 subfamílias entre as quais se destacam: Auchmeromyiinae, Bengaliinae, Calliphorinae, Chrycomyiinae, Helicoboscinae, Luciliinae, Melanomyiinae, Mesembrinellinae, Phumosiinae, Poleniinae, Rhiniinae e Toxotarsinae (Kosmann et al, 2017; Wolff, 2015).

Calliphoridae são conhecidas como moscas-varejeiras (Mello, 2003; Kosmann et al., 2013; Cavalcante et al., 2015) (Fig. 1), com coloração verde, violácea ou azul metálico (Fig. 1) e apresentam distribuição mundial (Barbosa et al., 2014; Oliveira-Costa, 2011 & Carvalho & Ribeiro, 2000; Carvalho & Mello-Patiu, 2008). Existem mais de 1000 espécies e cerca de 150 gêneros reconhecidos (Kosmann et al 2017; Vargas e Wood, 2010; Wolff, 2015), sendo 115 estão presentes na Europa (Centeio, 2014).



**Figura 1:** Mosca Verejeira, Calliphoridae

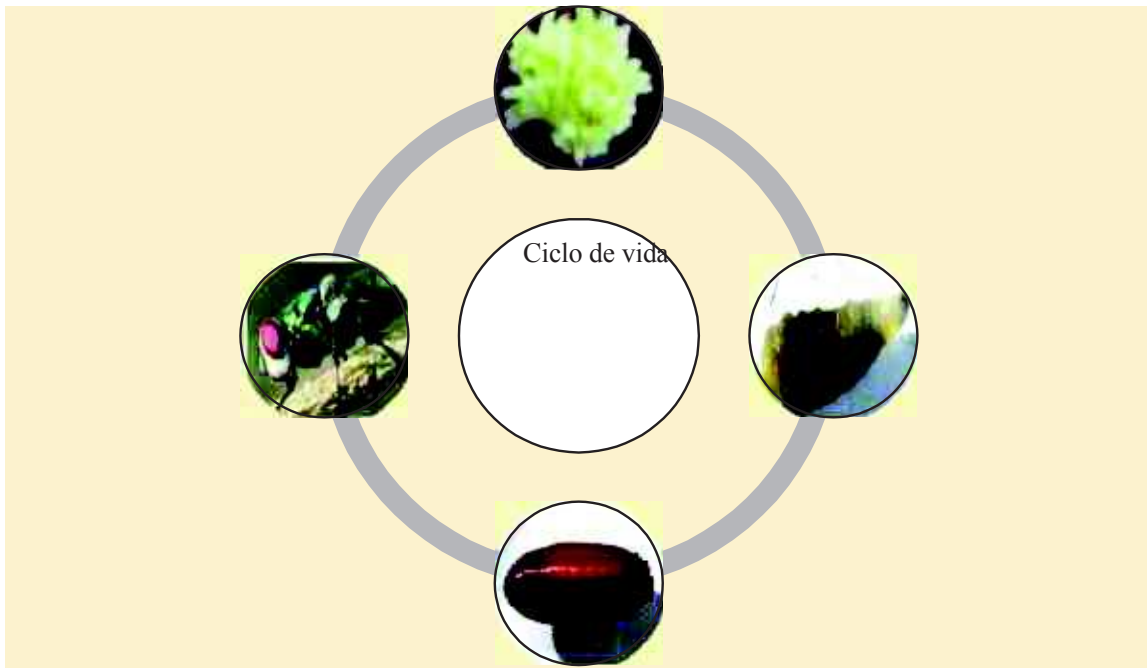
Estes insetos podem ser atraídos por substâncias em processo de fermentação, decomposição, sangue e feridas. Dessa forma são encontrados em matadouros, estábulos de gado leiteiro, frigoríficos, aviários, plantas em decomposição, lixo doméstico, feiras livres, curtumes, etc (Caleffe et al., 2015).

Os dípteros calliforídeos são insetos holometabólicos, ou seja, o ciclo de vida é completo ovo, larva, pupa e adulto (Carvalho, 2006) (Fig. 2) e os adultos podem ser ovíparos ou vivíparos (Mello, 2003).

Os Calliforídeos são encontrados em praticamente todos os nichos. A família é composta por gêneros conhecidos como “moscas verde-garrafa” (gênero *Lucilia*), “moscas azuis” (gênero *Calliphora*), e “moscas bicheiras” (gênero *Cochliomyia*), entre outros. A carne putrefacta, excrementos e também carne fresca compõem a maior parte dos recursos alimentares das suas larvas.

Os adultos são descritos por um par de asas (o segundo par reduzido, chamado haltere), grandes olhos compostos, e armaduras bucais variando de acordo com o substrato sobre o qual se alimentam (Cranston, 2008).

A oviposição é estimulada principalmente pela presença de compostos ricos em amônia, humidade, feromonas e estímulos tácteis (Centeio, 2014). Os ovos geralmente eclodem em 1-3 dias, dependendo da espécie e condições ambientais (Catts & Haskell 1997). As larvas das moscas crescem rapidamente, passando por três estádios de desenvolvimento antes de atingir o seu tamanho final. Estes estádios são previsíveis, sendo altamente influenciados pela temperatura e, em menor grau, pela humidade relativa do ar. As larvas crescem juntas, em grandes massas e movimentam-se em torno do corpo promovendo, assim, a disseminação de bactérias e a secreção de enzimas, o que torna possível o consumo dos tecidos moles do cadáver de que se alimentam. O desenvolvimento das larvas leva vários dias dependendo tanto das espécies, das temperaturas e das condições ambientais, como do número de indivíduos presentes (Anderson, 2000; Vanegas, 2007).



**Figura 2:** Ciclo de vida de mosca verejeira. (Foto Águeda Semedo)

Esta família tem um papel de grande importância na entomologia forense, pois por meio de suas larvas pode-se estimar o intervalo *post mortem* (IPM) de cadáveres humanos e animais.

Para além da importância forense também desempenham papel muito importante a nível económico e médico-veterinário (Kosmann, 2013; Vianna et al., 2004; Wolff, 2015). Também várias espécies foram utilizadas como método auxiliar de tratamento de lesões na pele, procedimento conhecido como terapia larval (Carvalho et al., 2012).

Algumas espécies são conhecidas por causarem miíases que são infestação de larvas no tecido vivo de um vertebrado que podem infestar animais e homens (Wolff, 2015).

### 1.4.2 Morfologia das larvas Calliphoridae

As larvas têm aspeto vermiforme, de tonalidade creme, sem estruturas de locomoção e apresentam as seguintes características: corpo cilíndrico, sem cabeça diferenciada, esqueleto cefalofaríngeo usualmente com pigmento escuro, mandíbula formada por dois ganchos bucais fortemente esclerotizados, que podem apresentar ou não pigmentação no esclerito oral (Cainé 2010; Carvalho et al 2010). As larvas de dípteros apresentam grande alteração morfológica. As características que as diferenciam das outras ordens da classe Insecta é a ausência das patas articuladas nos segmentos torácicos associadas ao fato de que a maioria das larvas de díptera de vida livre são alongadas e com movimento ativo direcionado. (Carvalho, 2006).

As larvas de dípteros podem ocupar zonas marinhas costeiras, estuários, lagos de toda a profundidade, rios e riachos de todo o tamanho e velocidade, águas estagnadas, águas termais, poços de petróleo e fitotelmas (Pinho, 2008)

As larvas de ordem díptera, dividem-se em três tipos, relativos à presença da cápsula cefálica que se encontra no primeiro segmento do corpo da larva. Elas podem ser eucéfalas, apresentam capsula cefálica bem desenvolvida, e esclerotizada; hemicéfalas apresentam a capsula cefálica

reduzida e incompleta e por últimas acéfalas apresentam capsula cefálica completamente reduzida e com estrutura interna bem desenvolvida chamada esqueleto cefalofaríngeo. (Carvalho, 2006; Pinho, 2008).

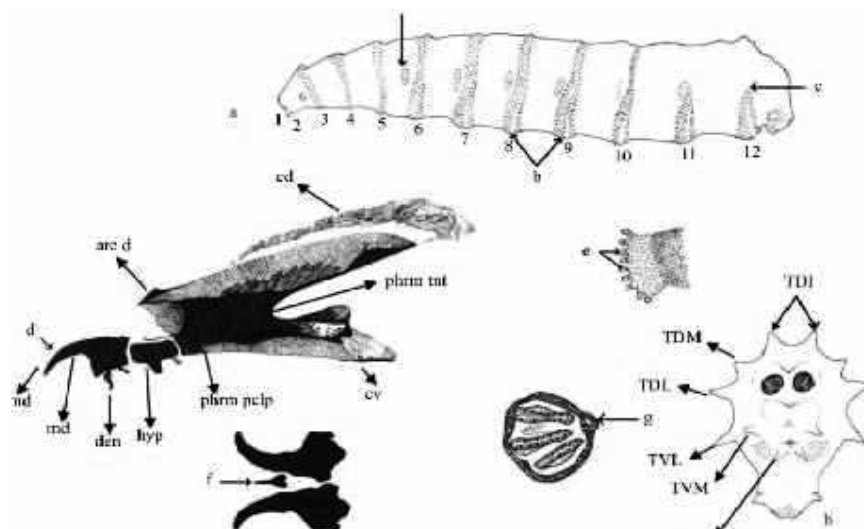
As larvas de Calliphoridae possuem corpo vermiforme que compreende 12 segmentos: um segmento cefálico, três segmentos torácicos e oito segmentos abdominais (Fig. 3) com anéis de espinhos pigmentados paralelos ou irregulares que podem cobrir todo o segmento ou somente uma parte. Também têm espiráculos anteriores com ranhuras em forma de brânquias, algumas espécies mostram placas laterais de espinhos localizadas entre os segmentos perto da região posterior chamadas de áreas fusiformes. Os espiráculos posteriores não são aproximados nem fusionados ou situados em uma cavidade, eles são formados por um anel externo chamado peritrema, que pode ser fechado ou não, o qual ocasionalmente pode terminar ou levar a um botão (Florez & Wolf, 2009) (Fig. 4).



**Figura 3:** Larvas do terceiro instar de Calliphoridae: PC- segmento cefálico; T1 a T3- segmento torácico; A1 a A8- segmento abdominal. (foto Águeda Smedo)

As larvas desta família podem ter hábitos biontófagos ou necrófagos, causando miíases obrigatórias ou facultativas, no qual assumem grande importância na saúde animal. (Carvalho & Ribeiro, 2000).





**Figura 4:** Morfologia das larvas Calliphoridae: a- áreas fusiformes da larva de terceiro instar (*Cochliomyia macellaria*); b- anéis de espinhos (*C. macellaria*); c- anéis de espinhos com fração de 1/2; d- esqueleto cefalofaríngeo (*C. macellaria*); d- denticulo, gmd- gancho da mandíbula, md- mandíbula, do- esclerito oral, hyp- esclerito hipofaríngeo, phrm pclip. Fragma para clipeal; cv- corno ventral, phrm tint. Fragma tentorial, cd- corno dorsal, arch d. arco dorsal; e- branquias do espiráculo anterior (*Sarconesiopsis magellanica*); f- esclerito oral pigmentado (*Calliphora vicina*); g- botão do espiráculo posterior (*Lucilia peruviana*); h- processos no segmento caudal (*Chrysomya albiceps*): TDI- tubérculo dorsal interno, TDM- tubérculo dorsal médio, TDL- tubérculo dorsal lateral, TVL- tubérculo ventral lateral, TVM- tubérculo ventral médio, TVI- tubérculo ventral interno (Fonte: Florez & Wolff, 2009).

## 1.5 Justificativa

No âmbito da problemática existente no meu país de origem (Cabo Verde), sobre o tema abordado, decidi trabalhar este assunto com o objetivo de aprender metodologias e ferramentas que permitirão dar a minha contribuição nesta temática, principalmente na área de investigação criminal.

## 1.6 Objetivos

O objetivo deste trabalho foi determinar a abundância e diversidade das espécies de Dípteros com interesse forense mais representativas, coletadas em armadilhas com iscos (porco, vaca e galináceo) e caracterizar as larvas do 3º instar das espécies coletadas, que permita uma fácil identificação e diferenciação morfológica através de microscopia ótica. O registo fotográfico obtido no estudo das larvas irá contribuir para elaboração de uma chave dicotómica de identificação de espécies de Calliphoridae em Portugal.

## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Locais de estudo, espécimes, estações do ano estudadas e montagem de armadilhas

O estudo realizou-se em Campo Grande na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa numa zona com arvoredo e perto da Sociedade Hípica apresentando a uma altitude 38,7512 e a uma longitude de -9,1539 e em Sintra, na zona de Monte Abrão a uma altitude 38,7574 e a uma longitude

de -9,2656. A escolha destes lugares visou comparar duas regiões com climas diferentes e uma zona regularmente monitorizada (Campus da FCUL) com outra desconhecida (Sintra). Os espécimes estudados foram coletados em armadilhas iscadas com fígado de vaca, de galináceo e de porco no outono, e primavera de 2017 e 2018, respetivamente.

Para montagem das armadilhas foram escolhidos locais abrigados, de modo a protegê-las da ação do sol direto e da intervenção humana.

Foram utilizadas garrafas de plástico de 1,5L (Fig. 5A e 5B) semelhantes às empregadas por Ferreira (1978), Hwang & Turner (2005) e Farinha et al (2014), cortadas ao meio tendo-se colocado no fundo 150g de cada isco (Fig. 5A). A metade superior da garrafa foi invertida no interior da parte contendo a base e a tampa foi retirada, de modo a permitir a entrada das moscas. Foram unidas as duas partes cortadas com fita adesiva impedindo a saída das moscas e depois foram colocadas nos locais de estudos (Fig. 5B). Foram colocadas duas réplicas para cada amostra.

As armadilhas foram colocadas no mês de novembro de 2017 e abril 2018.



**Figura 5:** Armadilhas iscadas usadas no estudo

## **2.2 Recolha de larvas e preparação das amostras**

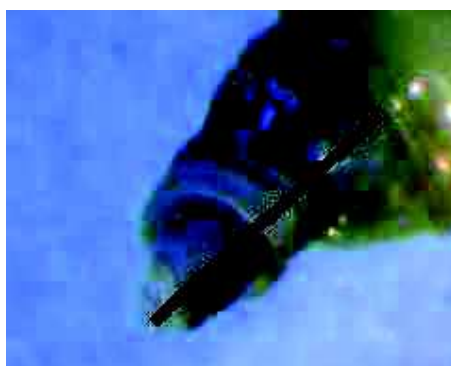
Uma semana após a montagem as armadilhas foram recolhidas e levadas para o laboratório.

Com o auxílio de pinças foram coletadas as larvas e separadas em diferentes frascos com álcool (90%) e corretamente etiquetados de acordo com o tipo de isco utilizado (Fig. 6).



**Figura 6:** Equipamentos usados na coleta das moscas

A preparação das larvas para identificação seguiu o seguinte protocolo: foi feito um corte no segundo segmento anterior, separando a região cefálica para retirar o esqueleto cefalofaríngeo. (Fig.7). A parte terminal de cada larva foi também guardada para observação dos espiráculos posteriores. Numa caixa de Petri foi colocada uma gota de glicerina para tornar as estruturas mais maleáveis e com a ajuda de alfinetes entomológicos foi feita a limpeza. As peças individualizadas (30 de cada isco, de cada estação do ano e de cada local) foram fotografadas num microscópio estereoscópico (Fig. 8).



**Figura 7:** Corte no segundo segmento: Barra: 1.465mm

### **2.3 Microscopia ótica (MO)**

As estruturas fotografadas foram larva inteira, (vista dorsal e ventral), espiráculos posteriores e esqueleto cefalofaríngeo, com as respectivas ampliações de 10.5, 35.0 e 120.0. As estruturas foram fotografadas no microscópio stereo (Fig 8) com câmara Lumar. V12 axiocam 503 Zeiss apolumar S1\*FWS 47mm.



**Figura 8:** Microscópio estereoscópico usado para fotografar as amostras

#### **2.4 Dados climáticos**

Os dados climáticos usados no estudo da sucessão foram fornecidos pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera e recolhidos na estação. Os dados adquiridos na estação meteorológica foram importantes para estabelecer uma comparação entre os dois locais de amostragem (Fig. 13).

A temperatura é um dos parâmetros que mais influenciam a presença e o desenvolvimento dos insetos nos iscos.

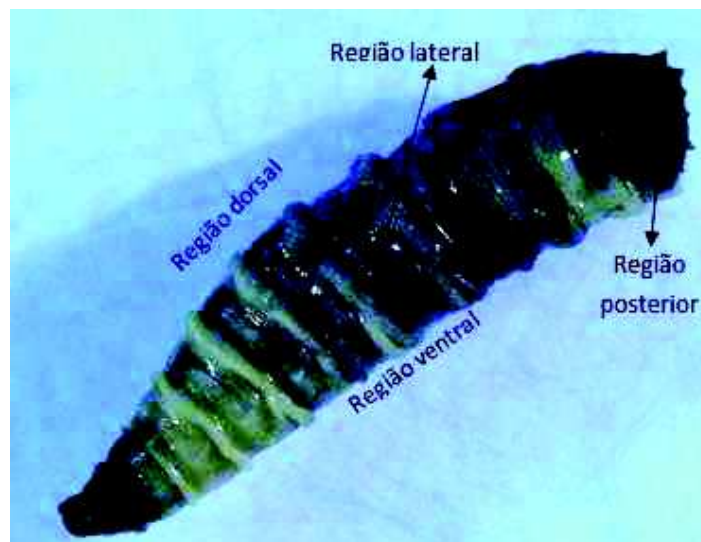
### 3 Resultados

#### 3.1 Características visuais das larvas diagnosticadas

Uma das formas de identificar o instar das larvas, ou seja, o estágio larval é através dos espiráculos. Os espiráculos são aberturas externas do sistema respiratório que podem estar presentes em um ou mais segmentos corporais (Fig. 9), geralmente encontra-se na região posterior (Fig. 10) e localiza-se no último segmento corporal.



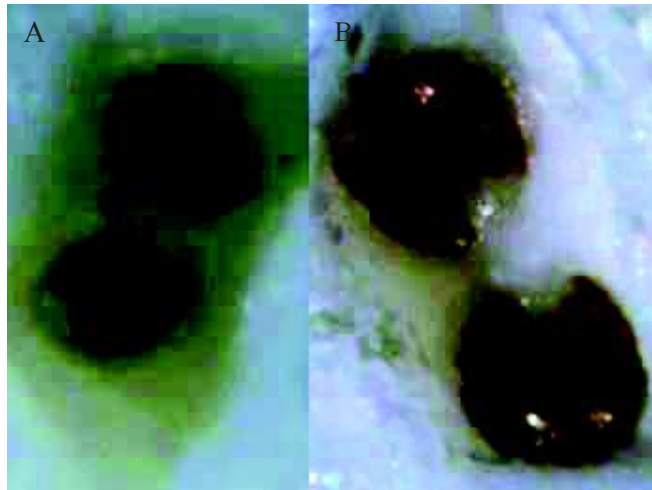
**Figura 9:** Larvas do terceiro instar de Calliphoridae: PC- segmento cefálico; T1 a T3- segmento torácico; A1 a A8- segmento abdominal. (foto Águeda Semedo)



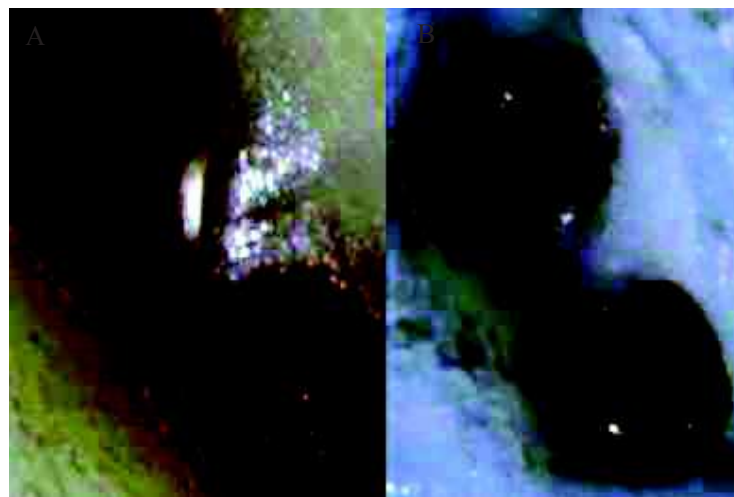
**Figura 10:** Larva de generalizada díptera (Foto Agueda Semedo)

No interior dos espiráculos encontra-se as fendas respiratórias, que são as aberturas respiratórias, que de acordo com o número, indica o instar. Uma fenda respiratória diz se que é uma larva do 1º instar

(L1) duas fendas é larvas do 2º instar (L2) (Fig. 11A) e com três fenda larvas do 3º instar (L3) (Fig.11B). A volta existe uma linha esclerotizada, o peritrema, que pode ser completo quando circunda toda extremidade (Fig. 12A) ou incompleto quando circunda uma grande parte, mas não há junção de suas pontas (Fig. 12B).

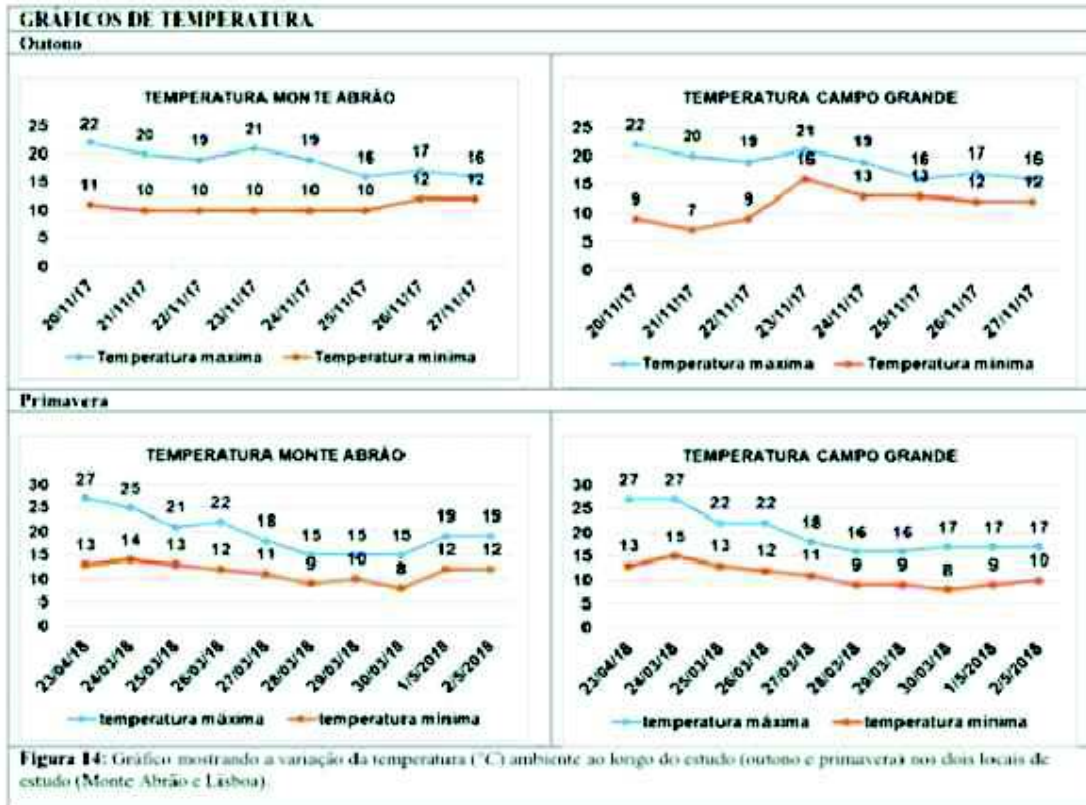


**Figura 11:** Espiráculo de diptera: A- Larva L2; B- Larva L3; (Foto Agueda Semedo)



**Figura 12:** Espiráculo de Diptera: A- Peritrema incompleto; B- Peritrema completo

### 3.2. Dados Climáticos



No outono em Monte Abrão a temperatura máxima mais elevada foi 22°C no dia 20 de novembro de 2017, enquanto que a temperatura mínima mais baixa foi 10°C de 21 a 25 de novembro de 2017. No outono em Campo Grande a temperatura máxima mais elevada foi 22°C também no dia 20 de novembro de 2017, enquanto que a temperatura mínima mais baixa foi 7°C no dia 21 de novembro de 2017.

Na Primavera em Monte Abrão a temperatura máxima mais alta foi 27°C no dia 23 de Abril de 2018, enquanto que a temperatura mínima mais baixa foi 8°C no dia 30 de Abril de 2018. Na Primavera em Campo Grande a temperatura máxima mais elevada foi 27°C no dia 23 e 24 de Abril de 2018, enquanto que a temperatura mínima mais baixa foi 8°C no dia 30 de Abril de 2018.

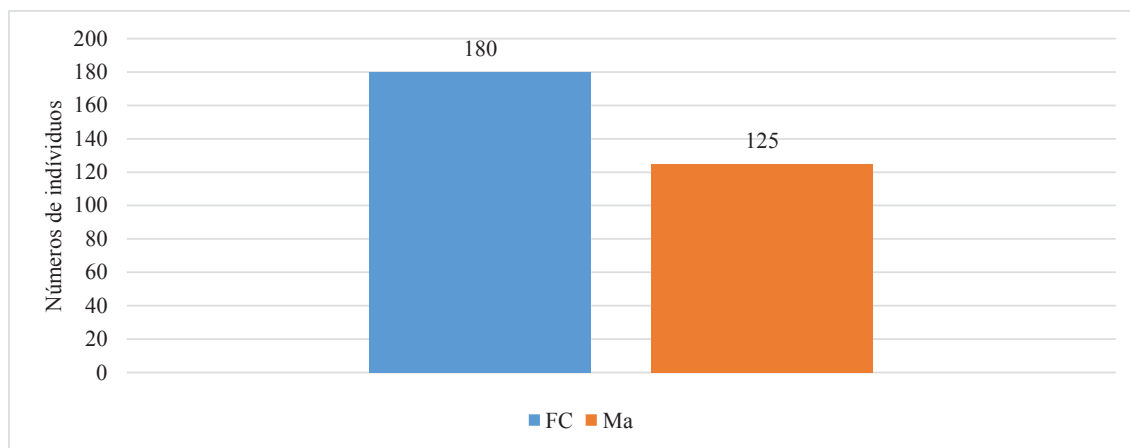
### 3.4 Espécies de Calliphoridae diagnosticados nos iscos em Lisboa e Sintra

Neste trabalho foram diagnosticados cerca de 305 Calliphoridae nos dois locais. Sete espécies foram identificadas (Tabela 1) entre os quais são: *Chrysomya albiceps* (Wiedermann, 1819); *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia ampullacea* (Villeneuve, 1922), *Calliphora vicina* (Robineau Desvoidy, 1830) e *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758).

**Tabela 1** Espécies de Calliphoridae diagnosticados no Outono e Primavera nas duas áreas estudadas.

Subfamília	Espécie	Números de indivíduos
<i>Chysomyinae</i>	<i>Chrysomya albiceps</i>	52
<i>Luciliinae</i>	<i>Lucilia sericata</i>	49
	<i>Lucilia eximia</i>	35
	<i>Lucilia ampullacea</i>	22
	<i>Lucilia illustris</i>	15
<i>Calliphorinae</i>	<i>Calliphora vicina</i>	72
	<i>Calliphora vomitoria</i>	60
<b>Total</b>		<b>305</b>

Comparando os dois locais de estudos em Lisboa (faculdade) apresentou maior abundância de Calliphoridae, enquanto que na Sintra (Monte Abrão) apresentou menor número de moscas durante a coleta (Fig. 15)



**Figura 15:** Abundância de Calliphoridae coletados nas duas áreas estudadas

Dos 125 Calliphoridae coletados na Monte Abrão, a espécie mais abundante foi *Chrysomya albiceps*, representando 22.4% (Tabela 2), enquanto que na Faculdade a espécie mais frequente foi *Calliphora vicina*, representando 27.2% dos indivíduos coletados (Tabela 2).

**Tabela 2** Frequência absolutas e frequências relativas das espécies de Calliphoridae coletadas em Monte Abrão e Faculdade nas duas Estacoes



Subfamília	Espécie	FA (MA Out Prim)	FR%	FA (FC Out Pim)	FR%
<b><i>Chysomyinae</i></b>	<i>Chrysomya albiceps</i>	28	22.4	24	13.3
<b><i>Luciliinae</i></b>	<i>Lucilia sericata</i>	24	19.2	25	13.9
	<i>Lucilia eximia</i>	16	12.8	19	10.6
	<i>Lucilia ampullacea</i>	7	5.6	15	8.3
	<i>Lucilia illustris</i>	9	7.2	6	3.3
<b><i>Calliphorinae</i></b>	<i>Calliphora vicina</i>	23	18.4	49	27.2
	<i>Calliphora vomitoria</i>	18	14.4	42	23.3
	<i>Total</i>	<b>125</b>	<b>100</b>	<b>180</b>	<b>100</b>

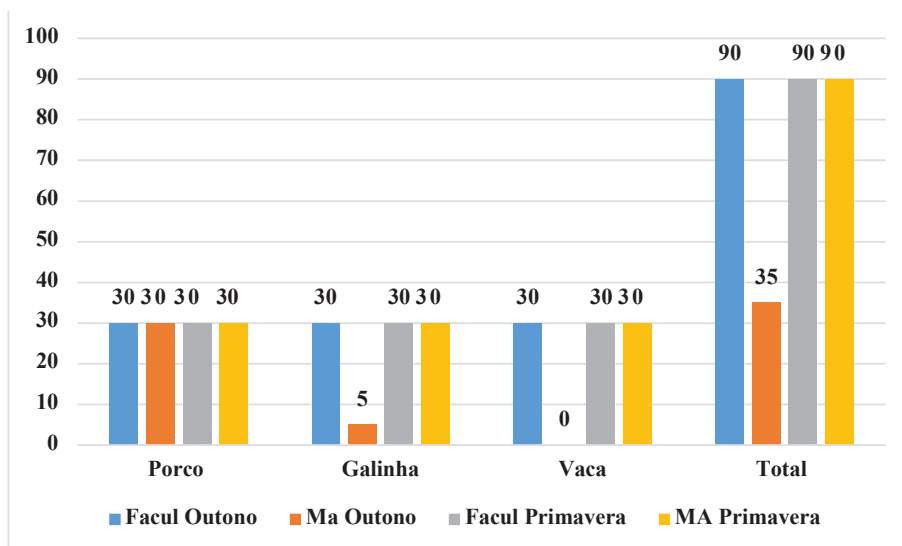
**Tabela 3** Frequência absolutas e frequências relativas das espécies de Calliphoridae coletadas em Faculdade nas duas estação

Subfamília	Espécie	FA ( FC Out e FC Pim)	FR%
<i>Chysomyinae</i>	<i>Chrysomya albiceps</i>	24	13.3
<i>Luciliinae</i>	<i>Lucilia sericata</i>	25	13.9
	<i>Lucilia eximia</i>	19	10.6
	<i>Lucilia ampullacea</i>	15	8.3
	<i>Lucilia illustris</i>	6	3.3
<i>Calliphorinae</i>	<i>Calliphora vicina</i>	49	27.2
	<i>Calliphora vomitoria</i>	42	23.3
<b>Total</b>		<b>180</b>	<b>100</b>

Durante as duas estações as espécies mais abundantes foi *Calliphora vicina* com 23.6%, após foi *Calliphora vomitoria* com 19.7% e com 17.3% e a espécies menos abundante foi *Lucilia illustris* com 4.9% (Tabela 4).

**Tabela 4** Frequências absolutas e relativas das espécies Calliphoridae coletadas nas duas localidades

Subfamília	Espécie	Outono ( MA e FC)	Primavera( MA e FC)	FA	FR%
<i>Chysomyinae</i>	<i>Chrysomya albiceps</i>	28	24	52	17.3
<i>Luciliinae</i>	<i>Lucilia sericata</i>	24	25	49	16.1
	<i>Lucilia eximia</i>	16	19	35	11.5
	<i>Lucilia ampullacea</i>	7	15	22	7.2
	<i>Lucilia illustris</i>	9	6	15	4.9
<i>Calliphorinae</i>	<i>Calliphora vicina</i>	23	49	72	23.6
	<i>Calliphora vomitoria</i>	18	42	60	19.7
<b>Total</b>		<b>125</b>	<b>180</b>	<b>305</b>	<b>100</b>



**Figura 16:** Abundância de Calliphoridae diagnosticados nos iscos nas duas áreas de coleta: Lisboa (Facul) e Sintra (MA)

No Outono a espécie mais abundante na Faculdade foi *Lucilia sericata*, representando 20% das 90 espécies diagnosticados e menos abundante foi *Lucilia ampullacea* com 5.6% (Tabela 5), enquanto que em Monte Abrão a espécie mais frequente foi *Chrysomya albiceps*, representando 34.9% das 35 espécies diagnosticados (Tabela 6).

Na primavera nas duas localidades foram diagnosticadas 90 espécies cada e as espécies mais abundantes nas duas localidades foi *Calliphora vicina*, um com 31% (Tabela 7) e outro com 23.3% (Tabela 8).

**Tabela 5** Frequência absolutas e relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em faculdade no Outono

FC Outono					
	P	G	V	FA	FR%
Ca	7	2	7	16	17.8
Ls	6	4	8	18	20
Le	4	5	4	13	14.4
La	3	1	1	5	5.6
Li	2	4	3	9	10
Cv	5	8	2	15	16.7
Cvom	3	6	5	14	15.6
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

**Tabela 6** Frequência absolutas e frequência relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em Monte Abrão no Outono

MA Outono					
	P	G	V	FA	FR%
Ca	7	5	0	12	34.3
Ls	6	0	0	6	17.1
Le	3	0	0	3	8.6
La	2	0	0	2	5.7
Li	0	0	0	0	0
Cv	8	0	0	8	22.8
Cvom	4	0	0	4	11.4
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

**Tabela 7** Frequência absolutas e frequência relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em Faculdade na Primavera

FC Primavera					
	P	G	V	FA	FR%
Ca	4	5	2	11	12.2
Ls	2	4	4	10	11.1
Le	3	2	7	12	13.3
La	1	3	1	5	5.6
Li	0	1	0	1	1.1
Cv	11	11	6	28	31.1
Cvom	9	4	10	23	25.6
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

**Tabela 8** Frequência absolutas e frequência relativas das espécies Calliphoridae diagnosticados em Monte Abrão na Primavera

MA Primavera					
	P	G	V	FA	FR%
Cm	6	3	4	13	14.4
Ls	3	6	6	15	16.7
Le	2	2	3	7	7.8

La	4	2	4	10	11,1
Li	2	3	0	5	5,6
Cv	9	6	6	21	23,3
Cvom	4	8	7	19	21,11
Total	30	30	30	90	100

No isco de porco as espécies mais abundantes foi *Calliphora vicina* representando 27.5 e *Chrysomya albiceps* com 20% (Tabela 9). No isco de Galinha a espécie mais frequente foi *Calliphora vicina* com 26.3%, *Calliphora vomitoria* com 18.9% e *Chrysomya albiceps* com 15.7% (Tabela 10). No isco de vaca a espécie mais abundante foi *Calliphora vomitoria* com 24.4% e *Lucilia sericata* com 20% Tabela 11.

**Tabela 9** Frequência absoluta e relativa das espécies Calliphoridae atraídas pelo isco de Porco no Outono e Primavera nas duas localidades

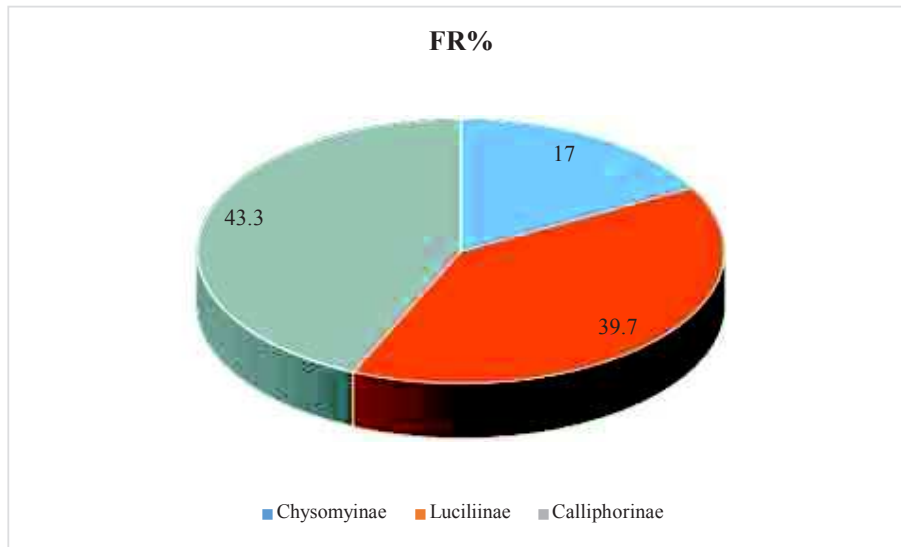
	P FC Out	P MA Out	P FC Prim	P MA Prim	FA	FR%
Ca	7	7	4	6	24	20
Ls	6	6	2	3	17	14,2
Le	4	3	3	2	12	10
La	3	2	1	4	10	8,3
Li	2	0	0	2	4	3,3
Cv	5	8	11	9	33	27,5
Cvom	3	4	9	4	20	16,7
Total	30	30	30	30	120	100

**Tabela 10** Frequência absoluta e relativa das espécies Calliphoridae atraídas pelo isco de Galinha no Outono e Primavera nas duas localidades

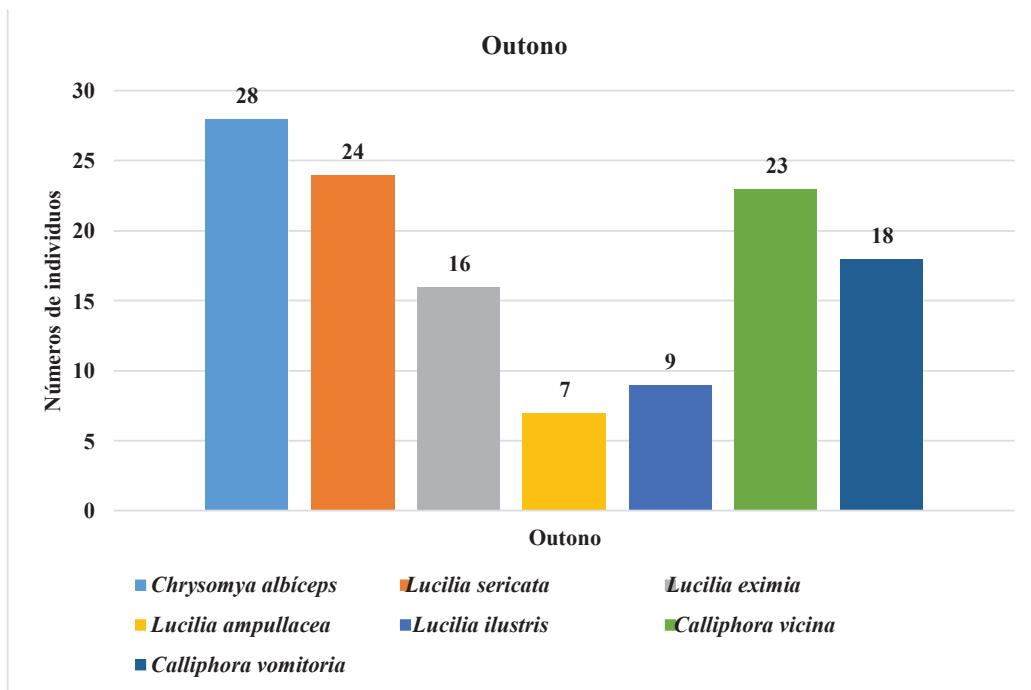
	G FC Out	G MA Out	G FC Prim	G MA Prim	FA	FR%
Ca	2	5	5	3	15	15,7
Ls	4	0	4	6	14	14,7
Le	5	0	2	2	9	9,5
La	1	0	3	2	6	6,3
Li	4	0	1	3	8	8,4
Cv	8	0	11	6	25	26,3
Cvom	6	0	4	8	18	18,9
Total	30	5	30	30	95	100

**Tabela 11** Frequência absoluta e relativa das espécies Calliphoridae atraídas pelo isco de Vaca no Outono e Primavera nas duas localidades

	V FC Out	V MA Out	V FC Prim	V MA Prim	FA	FR%
Ca	7	0	2	4	13	14,4
Ls	8	0	4	6	18	20
Le	4	0	7	3	14	15,6
La	1	0	1	4	6	6,7
Li	3	0	0	0	3	3,3
Cv	2	0	6	6	14	15,6
Cvom	5	0	10	7	22	24,4
Total	30	0	30	30	90	100



**Figura 17:** Percentagens das subfamílias coletadas nos iscos



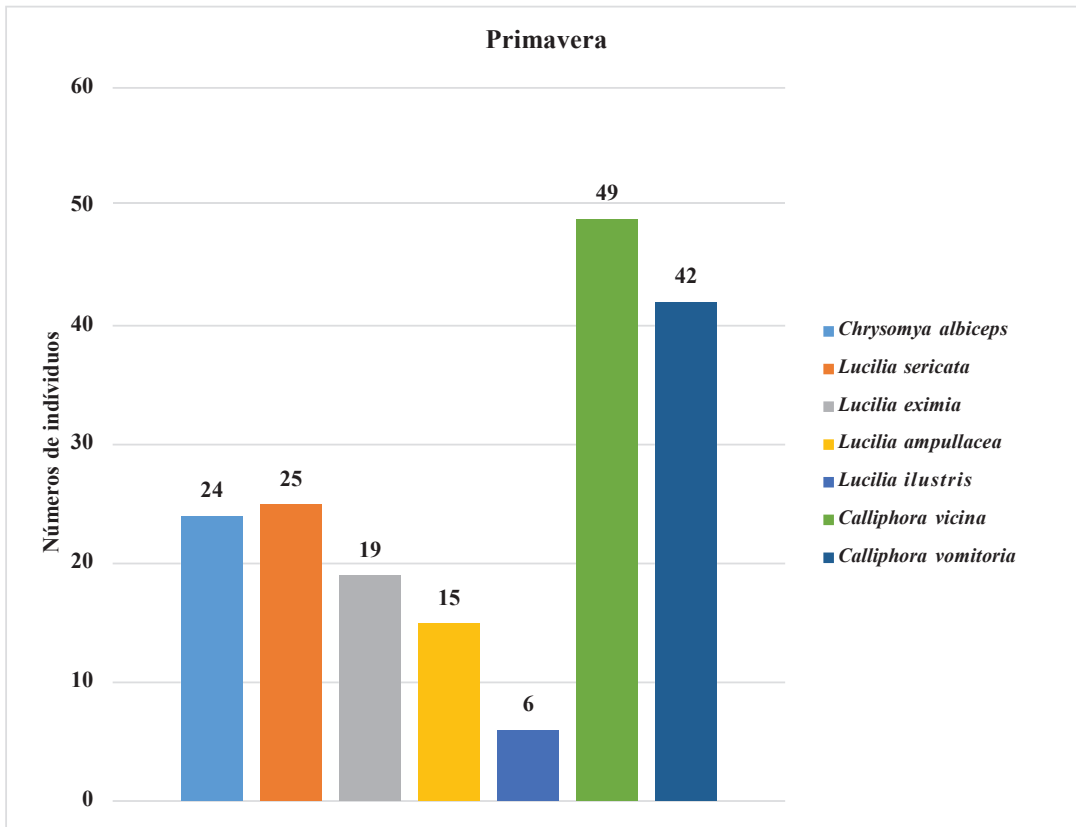
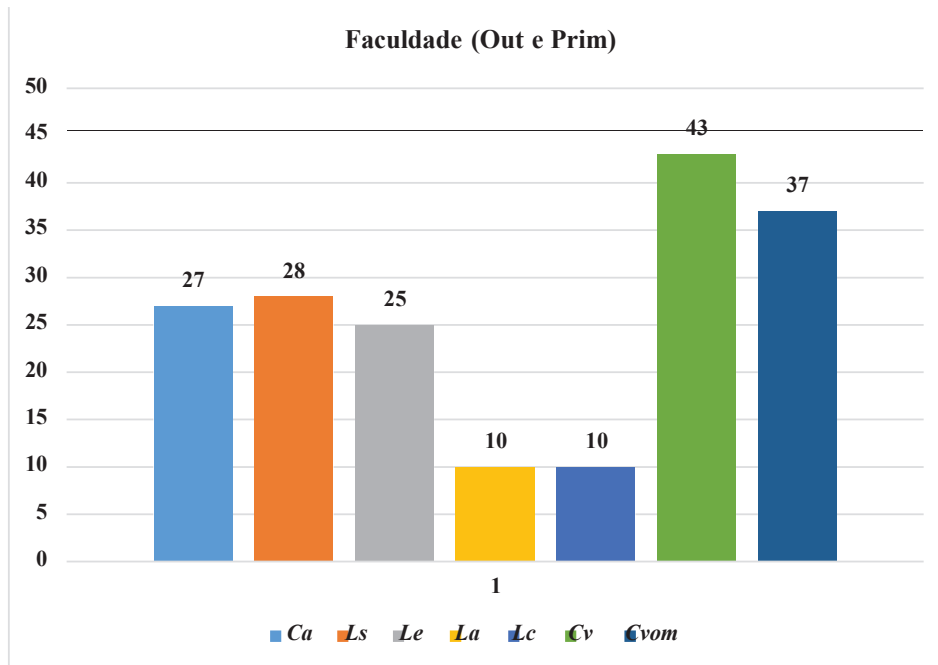


Figura 18: Abundâncias das espécies Calliphoridae coletadas no Outono e Primavera



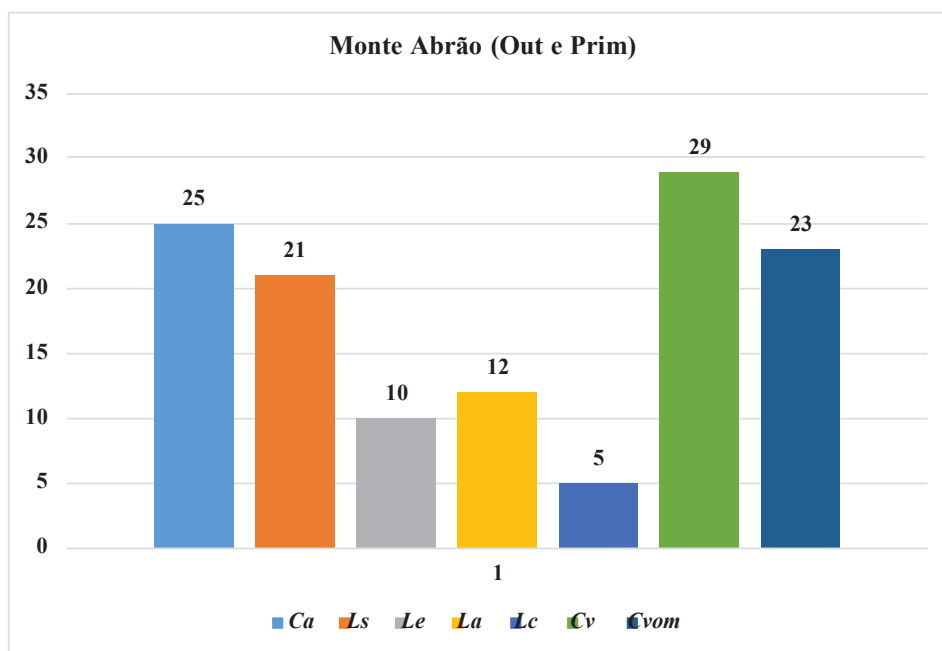


Figura 19: Abundâncias das espécies de Calliphoridae coletados nas duas áreas estudadas

### 3.5 Descrição de Espécies Identificadas

#### 3.5.1 *Chrysomya albiceps* (Ca)

As larvas do terceiro instar de *Chrysomya albiceps* (Ca) são acéfalas (Fig. 20 C), apresentam comprimento médio de 15.5 mm, com 12 segmentos contendo espinhos e nos segmentos 9 e 10 com volta completa de espinhos, esqueleto cefalofaríngeo completamente formado (Fig. 20 A), Espiráculos posteriores presentes no último segmento abdominal, cada um com três aberturas espiraculares, peritrema incompleto (Fig. 21), convexo, bem pigmentado, ausência do botão espiracular (Fig. 21)

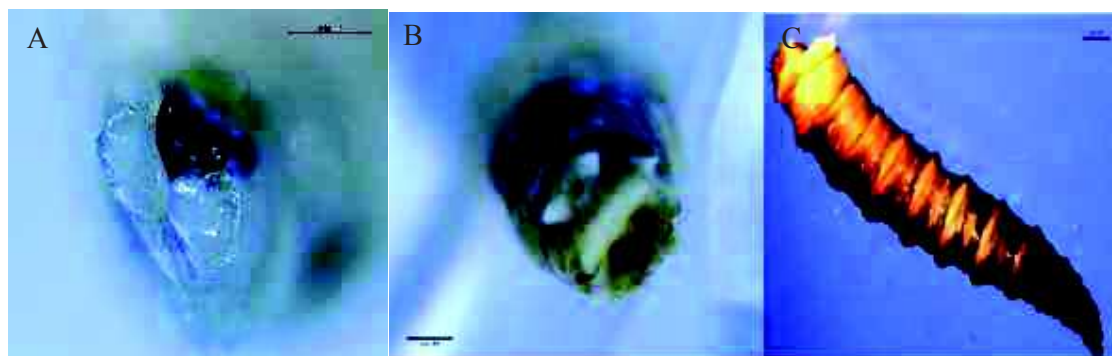
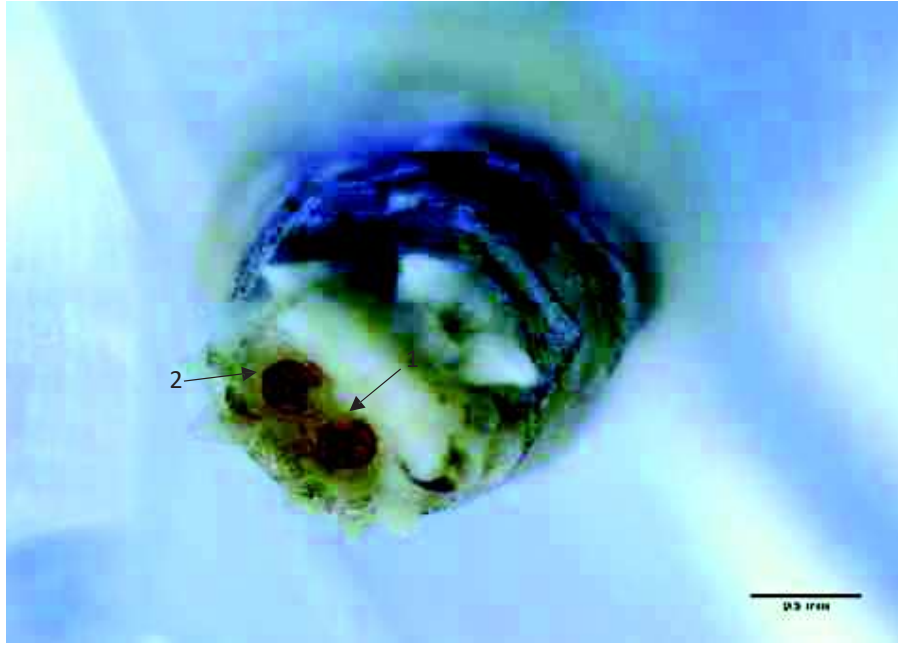


Figura 20: Larva do 3º instar de *C. albiceps*: A- Região anterior com armadura bucal; B- Espiráculo posterior; C- Corpo inteiro (vista dorsal). (fotos: Agueda Semedo)

Barra A- 0.25mm; B- 0.5mm; C- 1mm.



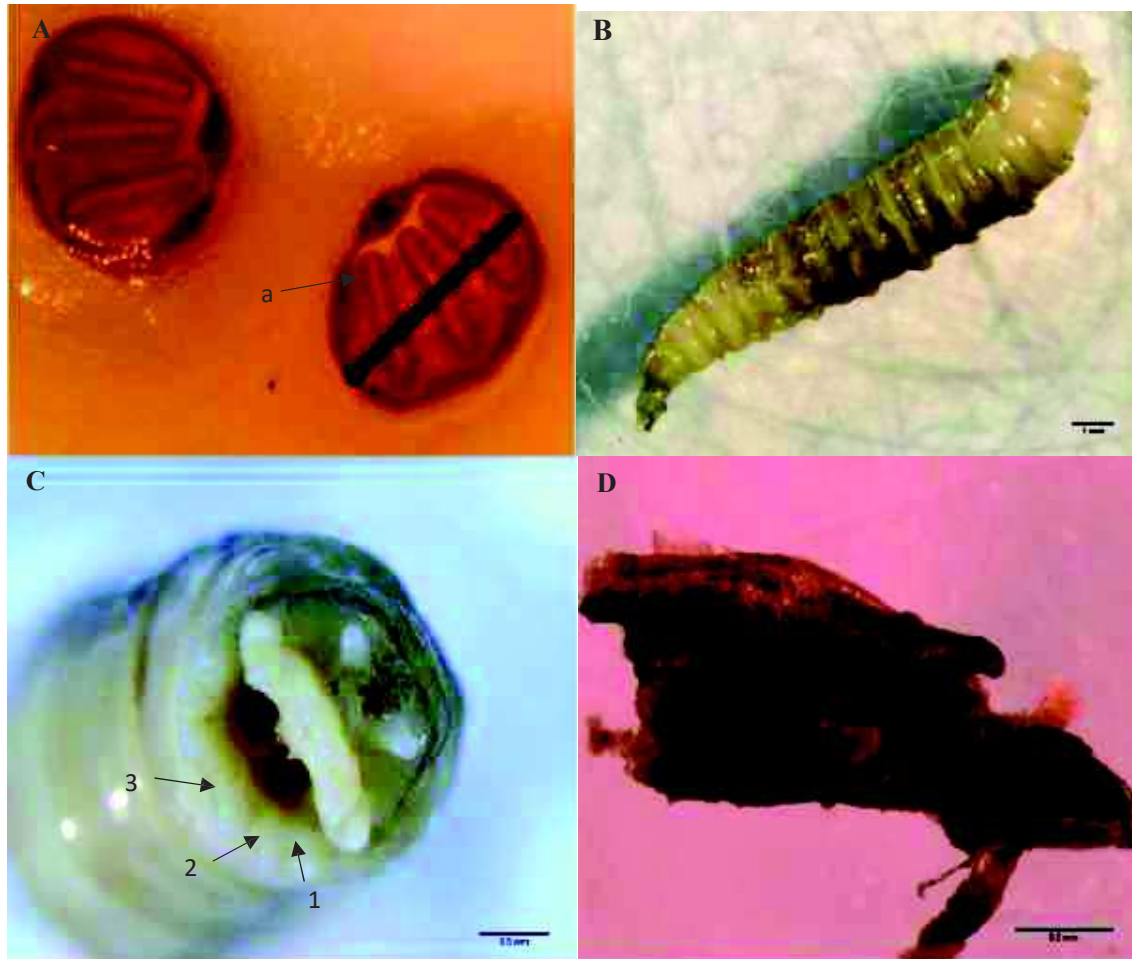
**Figura 21: Ca-** Espiráculo posteriores de Cm: 1- Peritrema incompleto; 2- Placa peritremal (foto: Águeda Semedo)

**Barra 0. 5**

### 3.5.2 *Lucilia sericata* (Ls)

As larvas do terceiro instar possuem tamanho médio de 15,1 mm, esqueleto cefalofaríngeo esclerotizado mas não aparece o esclerito oral (Fig. 22 D). Espiráculo anterior não foi visualizado, as bandas de espinhos segmentares aparecem muito claras (Fig. 22 B). Os espiráculos posteriores com peritrema completo (Fig. 22 A), circundado as três fendas respiratórias (Fig.22 a).



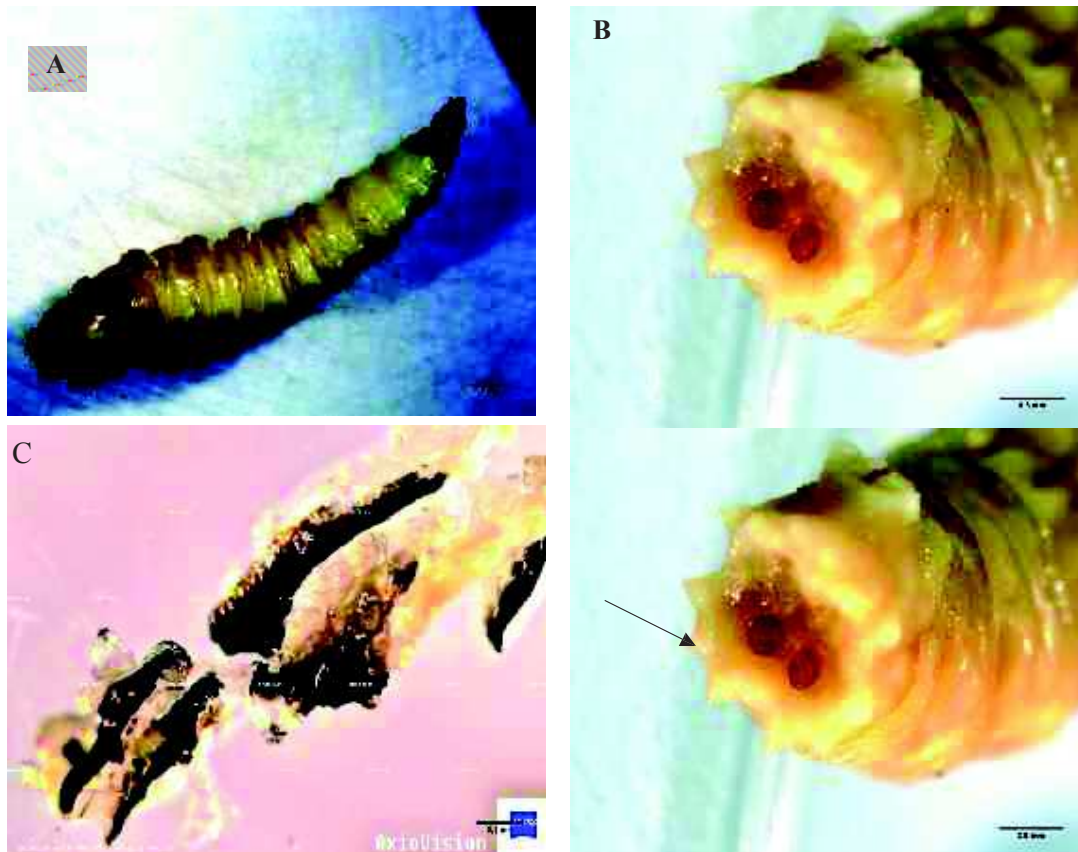


**Figura 22:** *Lucilia sericata*: A- espiráculos, A1- fendas respiratórias; B- vista dorsal; C- região posterior; 1- tubérculo externo; 2- Tubérculo médio; 3 -tubérculo interno; D- esqueleto cefalofaríngeo (Fotos: Agueda Smedo)

Barra B- 1mm C- 0.5mm; D- 0.2mm.

### 3.5.3 *Lucilia eximia* (Le)

As larvas do terceiro instar (L3) com segmentos do 2º ao 8º com anel de espinhos completo (Fig. 23 A). Espinhos levemente pigmentados. Espiráculos posteriores com peritrema completo, delgado e com botão bem definido (Fig. 23 B). Esqueleto cefalofaríngeo com esclerito oral não identificado e parte ventral levemente mais curto que a parte dorsal (Fig 23 C). A distância entre os tubérculos (Fig 23 D) dorsal médio e dorsal lateral é aproximadamente metade dos dorsais internos.

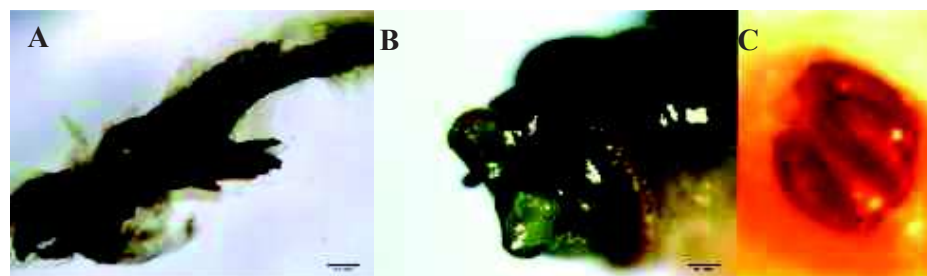


**Figura 23:** *Lucilia eximia*: A- parte ventral; B- parte posterior com espiráculos; C: esqueleto cefalofaríngeo; D- Tuberculos (fotos Águeda Semedo)

Barra A- 1 mm, B e D- 0.5 C- 0.1mm

#### 3.5.4 *Lucilia ampullacea* (La)

Esqueleto cefalofaríngeo pigmentado, com esclerito oral (Fig. 24 A), armadura bucal com espinha a volta (Fig. 24 B), espiráculo posterior fechado com botão visível (Fig. 24 C).

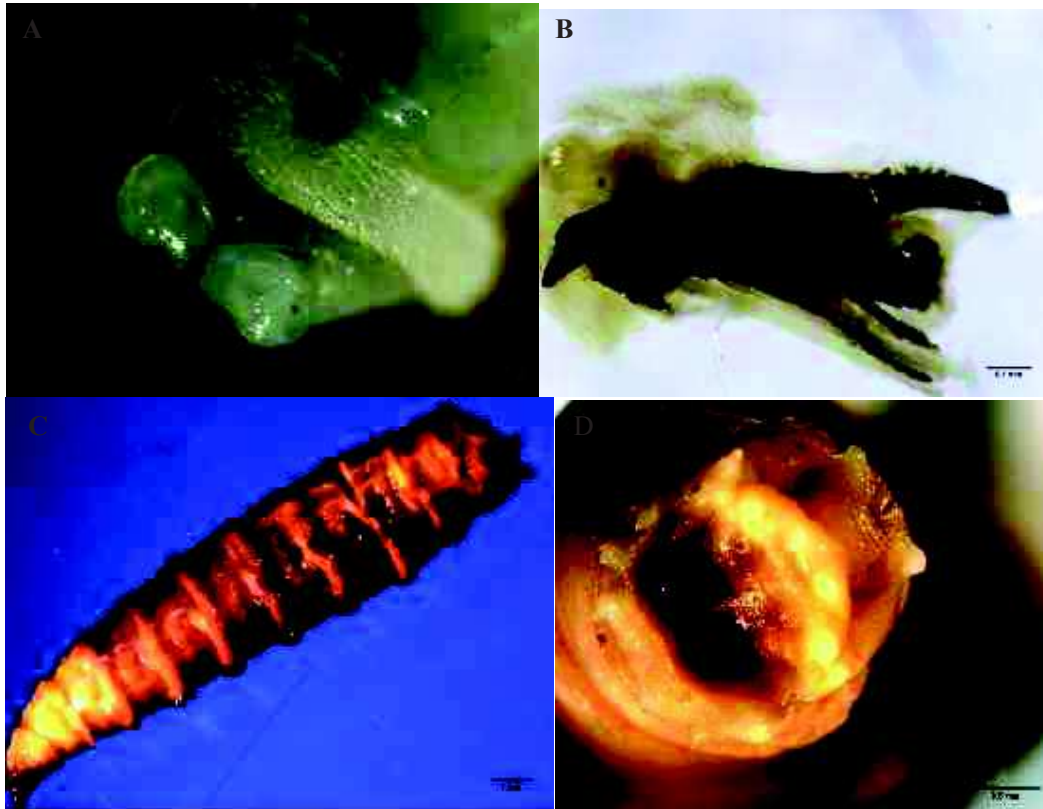


**Figura 24:** *Lucilia ampullacea*: A- vista lateral esqueleto cefalofaríngeo, B- Segmento cefálico, D- espiráculo. (fotos Águeda Semedo)

Barra A e B 0.1mm e C 0.227 mm

### 3.5.5 *Lucilia illustis* (Li)

Mede 14.9 mm, segmentos com anéis de espinhos completo (Fig. 25 C). Espinhos pigmentados. Espiráculos posteriores com peritrema fechado e botão bem observável (Fig.25 D). Esqueleto cefalofaríngeo com esclerito oral, parte dorsal mais longo que parte ventral (Fig. 25 B).

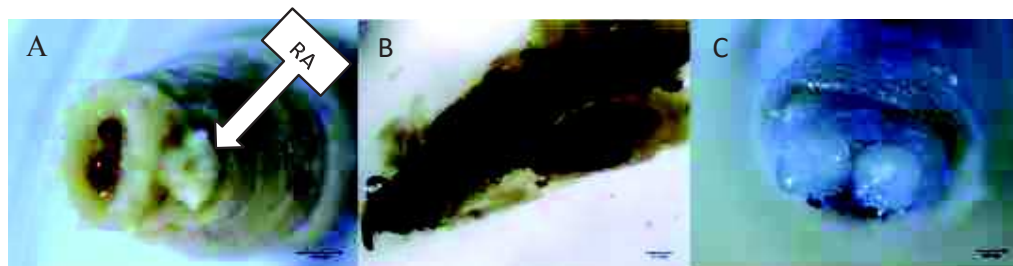


**Figura 25:** *Lucilia illustis*: A- Armadura bucal; B- Vista lateral esqueleto cefalofaríngeo; C- corpo inteira; D- Espiráculo posterior (fotos Águeda Semedo).

Barra- A e B- 0.1mm, C-1mm, D-0.5mm

### 3.5.6 *Calliphora vomitoria* (Cvom)

Mede 14.3 mm, espiráculos posteriores com peritrema completo, e com botão bem determinado (Fig. 26 A). Esqueleto cefalofaríngeo com esclerito oral pigmentado e parte ventral menor a parte dorsal (Fig 26 B). Armadura bucal com espinha a volta (Fig. 26 C).

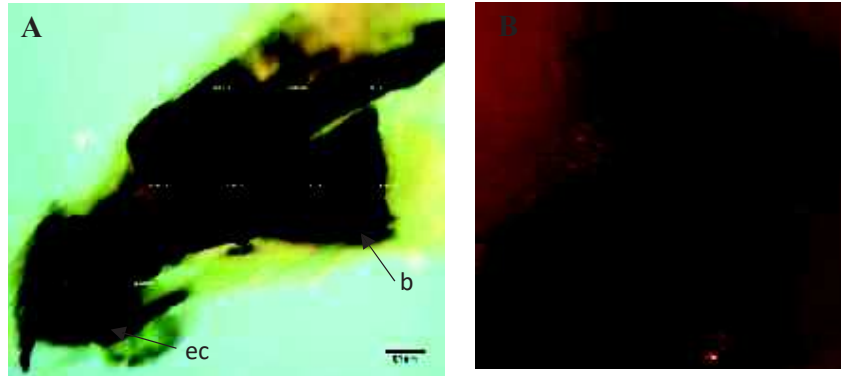


**Figura 26:** Larvas do 3º instar de *Calliphora vomitoria*: A- Parte posterior com espiráculos; B- esqueleto cefalofaríngeo C- Armadura bucal; RA- região anal (Foto Agueda Semedo).

Barra A- 0.5 e Be C 0.1mm

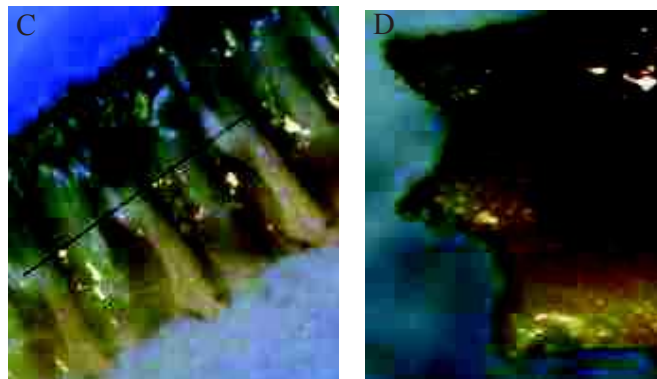
### 3.5.7 *Calliphora vicina* (Cv)

As larvas tinham um tamanho médio de 14,8mm, a região cefálica com esqueleto cefalofaríngeo (Fig. 27 A) bem marcado e fortemente esclerotizado com esclerito oral (Fig. 27 A-ec), com base larga (Fig. 27 A- b) os espiráculos posteriores, têm peritrema grosso, completo e botão bem definido (Fig. 27 B), região posterior com tubérculos dorsalmente internos pequenos e separados. (Fig 28 D).



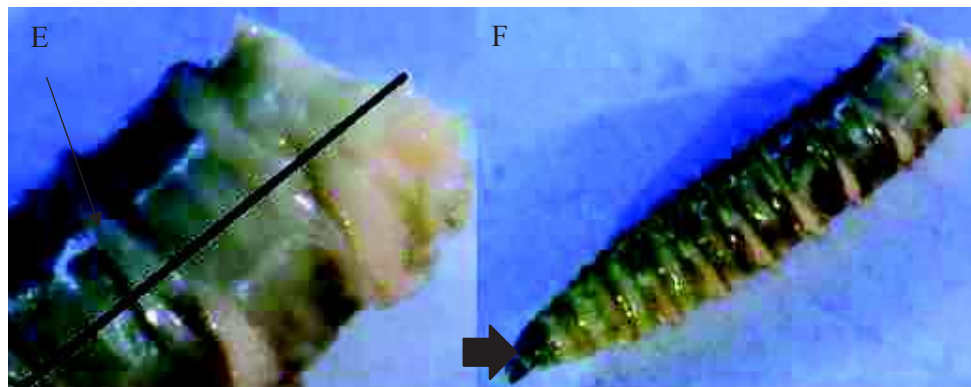
**Figura 27:** Larvas do 3º instar de *Calliphora vicina* observadas ao microscópio estereoscópico: A- esqueleto Cefalofaríngeo; B- espiráculos peritrema fechado e botao bem formado; b-base; ec-esclerito (fotos Águeda Semedo).

**Barra:** A-0.1mm; B- 1.448mm



**Figura 28:** Larvas do 3º instar de *Calliphora vicina* C- segmentos torácicos; D- tuberculos (fotos Águeda Semedo)

**Barra:** C- 0.926mm



**Figura 29:** Larvas do 3º instar de *Calliphora vicina* E- espinho segmentares; F- Corpo inteira (fotos Águeda Semedo)

**Barra:** E- 4.826mm; F-1mm.

#### 4 Discussão

A EF utiliza o estudo de insetos e outros artrópodes presentes na decomposição de matéria orgânica como instrumento auxiliar da investigação criminal e conflitos civis (Rebelo et al, 2014).

Muitos autores afirmam que as aplicações da entomologia forense às investigações criminais aumentam a credibilidade da apuração dos fatos, tornando mínimos os erros dentro das investigações criminais. Todas as fontes examinadas concordam que este método, apesar de ser uma técnica de grande importância forense, é pouco utilizada, devido às condições climáticas e à falta de recursos que existem em alguns países. Entretanto, o estudo nesta área vem aumentando de forma satisfatória no âmbito policial (Santana & Boas, 2012). Mesmo com a escassez de trabalhos publicados neste âmbito, ela torna-se uma importante ferramenta nas investigações médico-criminais.

Os dípteros representam um grupo de insetos de extrema importância para a investigações criminais graças a sua capacidade de encontrar de forma rápida corpos em decomposição, permitindo a estimativa do intervalo *post mortem*. Em geral despertam grande interesse nos estudos científicos devido ao grande número de espécies descritas, fácil manutenção sob condições experimentais, rápida produção de grande número de descendentes.

De acordo com Campobasso, Vella e Introna (2001), os dípteros principalmente as famílias Calliphoridae são os primeiros que colonizam corpos realizando oviposição e por isso, apresentam um grande potencial informativo para as análises forenses. Essa informação foi constatada nos resultados deste trabalho, por meio do encontro de maior número de Calliphoridae.

Durante a coleta das moscas foi observado no presente trabalho, que o uso de iscos diferentes atraia diferentes espécies de moscas da família Calliphoridae. Na faculdade o local é mais arborizado e verificou-se que quando as armadilhas são colocadas em lugares mais arborizados, obtém-se uma maior quantidade de moscas, quando comparada à quantidade obtida em ambientes menos arborizados que é o caso de Monte Abrão.

A armadilha foi montada com garrafa de plástico, e este método é fácil e eficiente. Esta técnica é de extrema importância porque tem baixo custo operacional e também é uma forma de reciclar esses materiais evitando a poluição do ambiente.

A família Calliphoridae é constituído por várias subfamílias. Neste trabalho foram identificadas sete espécies (*Calliphora vicina*, *Calliphora vomitoria*, *Lucilia eximia*, *Lucilia sericata*, *Lucilia ampullacea*, *Lucilia illustris* e *Chrysomya albiceps*) sendo a distinção entre *Lucilia illustris* e *Lucilia ampullacea* muito difícil. As espécies foram identificadas com base em artigos publicados, comparando com as fotografias obtidas, mas por vezes as imagens foram insuficientes e pouco precisas tornando difícil a identificação das espécies.

Na região anterior das larvas observadas encontra-se o segmento cefálico onde se localiza o esqueleto cefalofaríngeo, na parte dorsal, ventral, lateral encontram-se segmentos (torácicos e abdominais e espinhos) e na parte posterior encontram-se os espiráculos, tubérculos e outros. Essas características foram baseadas no estudo de Carvalho (2006) e Acosta (2016).

É possível diferenciar os instares através do número das fendas respiratórias nos espiráculos posteriores. Neste trabalho a maioria das espécies identificadas contém três fendas respiratórias, tendo sido classificadas de larvas do 3º instar.

As larvas podem ser identificadas por várias estruturas, principalmente os espiráculos. Existem diferentes tipos de espiráculos e essas diferenças podem ser notadas através do peritrema e botão que nele existe.

De acordo com análise feita no Outono foram identificadas espécies com espiráculos com peritrema aberto e fechado, mas a maior parte das larvas coletadas contém espiráculo com peritrema fechado. Na faculdade as larvas coletadas no isco de porco contém maior número de peritrema fechado, quando comparadas com as coletadas na vaca e galinha. No porco ocorreu menor número de larvas com peritrema aberto.

Em Monte Abrão o isco de porco teve maior número com peritrema fechado enquanto que no isco de galinha houve pouco desenvolvimento e foram coletadas apenas 5 espécies, todos com peritrema aberto e um contem duas fendas respiratórias que foi classificada do 2º instar.

De acordo com os dados climáticos acima referidos podemos inferir que o desenvolvimento das larvas depende das temperaturas. Quando as temperaturas são altas as moscas desenvolvem-se de uma forma mais rápida porque as condições ambientais são mais propícias e quando é assim vai haver maior desenvolvimento das larvas. Nesse caso podemos afirmar que quando maior a temperatura, o desenvolvimento é mais rápido e quanto menor temperatura, o desenvolvimento das larvas é mais lento.

Neste trabalho foram diagnosticadas 305 larvas e *Calliphora vicina* foi a espécie que apresentou maior número de indivíduos coletados durante as duas estações do ano, com 72 indivíduos (Tabela 1), representando 23.6% (Tabela 4) do total de espécimes coletados. Também *Calliphora vomitoria* e *Chrysomya albiceps* tiveram um numero significativo neste estudo com 60 indivíduos representando 19.7% e 52 indivíduos representando 17.0%, respectivamente.

Nas duas áreas estudadas a Faculdade teve maior abundância de moscas. Na faculdade foi possível a coleta de 180 espécies enquanto que em Monte Abraão foi um total de 125 espécies (Fig 15).

No outono foram capturadas 125 larvas, 90 da faculdade e 35 de Monte Abrão. Em Monte Abrão foi menor, por ser uma zona mais fria. A partir destes dados podemos dizer que as condições climáticas não eram favoráveis, por isso o desenvolvimento foi mais lento. Na primavera coletaram-se 180 larvas representando 90 larvas em cada localidade estudadas (Fig. 16).

Em FC Outono a espécies mais abundante foi *Lucilia sericata* com 20% e menos abundante foi *Lucilia ampullacea* com 5.6% (Tabela 5), enquanto que em MA Outono a espécie mais abundante foi *Chysomya albiceps* com 12 indivíduos representando 34.3%. Também os estudos de Wolff (2015) e de Guimarães et al. (2008) apontaram que *Chrysomya* foi a espécie mais abundante na área rural. Este contradiz o estudo feito por Otsuka (2008) que apontou a espécie mais abundante no inverno.

Comparando os resultados acima referidos verificamos que as espécies identificadas são diferentes nas duas localidades.

Em FC Primavera a espécie mais abundante foi *Calliphora vicina* com 31.1% e menos abundante foi *Lucilia ilustris* com 1.1% (Tabela 7), também em MA Primavera a espécie mais abundante foi *Calliphora vicina* com 23.3 e menos abundante foi *Lucilia illustris* com 5.6% (Tabela 8). Comparando

os dois resultados em termos de abundância verificamos que em FC primavera houve maior número de *Calliphora vicina* enquanto que MA primavera a *Lucilia illustris* teve maior representatividade.

Nos iscos de porco foi possível a coleta de 120 espécies nas duas localidades. Nos iscos de galinha foi coletado 95 e de vaca foi 90 espécies. O isco de porco foi o mais atrativo em relação a outros iscos. Este isco teve maior número de larvas. A seguir foi o isco de galinha, mas no outono só foi possível coletar 5 espécies. A atratividade dos iscos é importante para se definir qual é o melhor isco a ser utilizado noutros estudos. Assim, é importante reconhecer as espécies de moscas necrófagas em trabalhos de EF e neste trabalho mostrou-se que o isco de porco é o melhor para atração de Calliphoridae.

No isco de porco as espécies mais abundantes foram *Calliphora vicina* representando 27.5% e *Chrysomya albiceps* com 20% (Tabela 9) e a menos abundante foi *Lucilia caesar* com 3.3%. No isco de Galinha a espécie mais frequente também foi *Calliphora vicina* com 26.3% (Tabela 10), após *Calliphora vomitoria* com 18.9% e *Chrysomya albiceps* com 15.7% (Tabela 10) e menos abundante foi *Lucilia ampullacea* com 6.3% enquanto no isco de vaca a espécie mais abundante foi *Calliphora vomitoria* com 24.4 e *Lucilia sericata* com 20% (Tabela 11) e a menos abundante foi *Lucilia illustris* com 3.3%.

De acordo com a análise feita observaram que *Calliphora* foi o gênero mais abundante, representando 43.3% neste estudo (Fig. 17).

Neste trabalho foi utilizada microscopia ótica para identificação das espécies. Com base na morfologia, foram utilizadas duas estruturas que caracterizam as larvas estudadas, esqueleto cefalofaríngeo e espiráculo posterior. MO foi utilizada para as seguintes estruturas: corpo inteiro (ventral e dorsal), esqueleto cefalofaríngeo, armadura bucal e espiráculos posterior que inclui botão e placa peritremal, que as vezes são difíceis de visualizar.

As diferenças observadas dão-se principalmente quanto à distribuição dos tubérculos na região posterior do último segmento, quanto à estrutura do esqueleto céfalofaríngeo e quanto à estrutura do espiráculo posterior.

Dentro da família Calliphoridae, a distinção entre a maioria das formas de terceiro instar em nível de gênero, não é difícil. Algumas espécies possuem características bem marcantes que as tornam fáceis de identificar, por outro lado, algumas são tão semelhantes que por uma análise rápida é quase impossível distingui-las. A morfologia de *Calliphora vicina* e *C. vomitoria* é um bom exemplo disso, pois são muito semelhantes, sendo difícil diferenciá-las. O espiráculos e esqueleto cefalofaríngeo são características importantes porque através deste conseguem identificação das espécies.

A identificação das larvas de espécies Calliphoridae é feita com base nas características morfológicas dos espiráculos posterior e pelo esqueleto cefalofaríngeo (Cordeiro & Pujol/luz, 2010). Neste estudo as espécies foram identificadas também com base nessas estruturas.

A larva de *Chrysomya albiceps* (Fig 20 e 21) e *Lucilia sericata* são diferentes porque *Chrysomya albiceps* é maior que a de *Lucilia sericata* (Fig 22), o espiráculo posterior apresenta peritrema aberto enquanto que *Lucilia sericata* que tem peritrema fechado e pigmentado. As duas espécies apresentam esqueleto cefalofaríngeo bem formado, mas não foi possível identificação do esclerito oral.

A região anal de *Lucilia sericata* (Fig 22) é diferente de *Lucilia eximia* (Fig 23) mas todos apresentam espiráculos com peritrema fechado e botão visível.

As larvas de *Calliphora vicina* e *Calliphora vomitoria* são semelhantes e muitas vezes os especialistas sentem dificuldade na identificação. Todos apresentam esqueleto cefalofaríngeo bem formado, mas *Cv* contém esclerito oral (Fig. 26 A). A presença dessas estruturas da *Calliphora vicina* já foi mencionado por Florez & Wolff (2009) como forma de distinguir *C. vicina* de outras espécies. Centeio

(2014), Delhaes et al., (2001) descreveram que *Calliphora vicina* apresenta botão visível e neste trabalho o espiráculo também apresentam botão bem definido e bem visível. Também foi observado que a distancia dos espiráculos posteriores de *Calliphora vicina* são menores do que *Calliphora vomitoria*.

A armadura bucal de *Lucilia ampullacea* e *L. illustris* são semelhantes enquanto que esqueleto cefalofaríngeo são diferentes.



## 5 Conclusões

A Entomologia Forense é uma ferramenta importante para as investigações criminais com ótimas perspectivas para geração de novos conhecimentos. Assim, o desenvolvimento desse trabalho, sem dúvida, permitirá o avanço da pesquisa acadêmica, enriquecimento de informações acerca deste assunto. Contudo, é importante ressaltar que ainda é uma área pouco explorada e existe carência de recursos humanos, principalmente na formação de peritos bem treinados nessa área.

Em armadilhas iscadas com vaca, porco e galinha coletaram-se 7 espécies de Calliphoridae na Faculdade e em Monte Abraão. A maioria das larvas das espécies encontradas tinham peritremas fechados e estudou-se o terceiro instar.

Apesar da Microscopia ótica ser utilizada com frequência para descrições das larvas de dípteros necrófagos tivemos algumas dificuldades na sua caracterização.

Com este estudo esperamos ter contribuído para o melhor conhecimento dos estádios imaturos de Calliphoridae, grupo importante em entomologia forense. Desta forma, espera-se que, futuramente, esta área desempenhe um importante papel, subsidiando a medicina veterinária e medicina legal, e que parcerias entre instituições de ensino e polícia científica sejam firmadas no intuito de contribuir com o desenvolvimento científico da entomologia forense em Portugal e outros países, nomeadamente da CPLP.

## 6 Referências bibliográficas

1. Acosta, E. (2016). Combinação de atributos de Superpixels para classificação de larvas necrofágicas. 1-53.
2. Amendt, J., Krettek, R., Zehner, R. (2004). Forensic entomology. 91:51-65.
3. Almeida E. C., Junior F. N., Oliveira R. P., Anchieta J., Tronchini M. P., Conceição T. S., Silva J. S. F. P., Rosa R., Salles J. C. (2010) Noções de perícia criminal e o vestígio entomológico na estimativa do IPM In: Gomes L. (org.) Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais. 1ed. Rio de Janeiro, Technical Books. 133-168.
4. Barbosa, L., Cunha, A., Couri, M. & Maia, V. (2014). Muscidae, Sarcophagidae, Calliphoridae e Mesembrinellidae (Diptera) da Estação Biológica de Santa Lúcia (Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil). *Bol Mus. Biol. Mello Leitão*. 33:131-140.
5. Barros-Cordeiro, K., Pujol-Luz, J. (2010). Morfologia e duração do desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. 50(47):709-717.
6. Barros, R., Mello-Patiu, C. & Pujol-Luz, J. (2008). Sarcophagidae (Insecta, Diptera) associados à decomposição de carcaças de *Sus scrofa* Linnaeus (Suidae) em área de Cerrado do Distrito Federal, Brasil, in *Revista Brasileira de Entomologia*. 52(4):606-309.
7. Benecke, M. (2001). A brief history of forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* 120:2-14.
8. Benecke, M. (2004). Forensic Entomology: Arthropods and Corpses. In: Tsokos, M. (ed.) *Forensic Pathology Reviews*. 2:207-240.
9. Byrd J. e Castner L. (2001). Insects of Forensic Importance. In: Byrd JH, Castner JL. editors, *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, Boca Raton: CRC Press. 43-79.
10. Cainé, L.S.R.M. (2010). Entomologia Forense: Identificação genética de espécies em Portugal. Tese (Dissertação elaborada para obtenção do Grau de Doutor em Ciências da Saúde, ramo de Ciências Biomédicas) – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal: 2-109.
11. Caleffé, R., Oliveira, S., Nanya, S. & Conte, H. (2015). Calliphoridae (Diptera) de Interesse Forense com Ocorrência em Maringá-pr-Brasil. *Revista UNINGÁ*. 43:10-15.
12. Cavalcante, A., Bó, D., Duarte, A., Azevedo, R. (2015). Espécies de Calliphoridae (Diptera) associadas a carcaças de *Sus Scrofa* Linnaeus, 1758 em área de restinga na Paraíba, Brasil, e espécies de importância forense para a estimativa do Intervalo Pós-Morte (IPM). 30(15):150-159.
13. 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(3):390-406.
14. Carvalho, C.J.B., Rafael J.A., Couri M.S., Silva V.C. (2012). Diptera Linnaeus, 1758. In: Rafael J.A., Melo G.A.R., Carvalho C.J.B., Casari S.A & Constantino, R. (eds.). *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. Ribeirão Preto, Holos Editora. 701-744.
15. Carvalho, C. J. B.; Ribeiro, P. B. (2000). Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (díptera) do Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 173:169–173.
16. Carvalho, L. (2006). Redescricao das larvas do terceiro instar de cinco espécies de dípteros Califorídeos (Inseta, Díptera) de importância para a Entomologia Forense. 1-67.
17. Centeio, N. (2011). Entomologia forense da vida selvagem: morfologia comparada de estádios imaturos e adultos de Calliphoridae recolhida em cadáveres de fauna selvagem. Tese de mestrado. 1- 77.
18. Campobasso, C.P. & Introna, F. (2001). The forensic entomologist in the contexto of the forensic pathologist's role. *Forensic Science Internacional*. 120:132-139.

19. Campobasso CP, Vella GD, Introna F (2001) Factors affecting decomposition and Diptera colonization. Elsevier Science Ireland. 120:18-27.
20. Chaves, B., (2016). Factores que interferem na estimativa do intervalo pós-morte ao utilizar a Entomologia Forense. Trabalho de conclusao de curso. 1-23
21. Costa, C. S. & Simonka, C. E. (2006). Insetos imaturos: metamorfose e identificação. Hollos Editora, 249p. In: Florez, E.; Wolff, M (2009) Description and Key to the Main Species of Calliphoridae (Diptera) Larvae of Forensic Importance from Colombia. Neotropical Entomology. 38(3):418-429.
22. Cruz J. D., Silva C. C., Raposo-Filho J. R. (2014) Dipterofauna associada a cadáver de porco doméstico *Sus scrofa domesticus* (Linnaeus, 1758) na cidade de Itabaianinha, estado de Sergipe. Cadernos de Graduação - Ciências biológicas e da saúde Unit, Aracaju, 2(1): 155-173.
23. Delhaes, L.; Bourel, B; Scala, L; Muanza, B; Dutoit, E; Wattel, F; Gosset, D; Camus, D. & Dei-cas, E. (2001). Case report: recovery of *Calliphora vicina* first-instar larvae from a human traumatic wound associated with a progressive necrotizing bacterial infection. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 64(3, 4): 159–161
24. Farinha A., Dourado C.G., Centeio N., Oliveira A.R., Dias D., Rebelo M.T., (2014). “*Small bait traps as accurate predictors of dipteran early colonizers in forensic studies*”. Journal of Insect Science. Article 77, 14:1-16.
25. Ferreira, M.J.M. Sinantropia de dípteros muscoideos de Curitiba, Paraná. I: Calliphoridae. Revista Brasileira de Biologia, São Paulo, v.38, p.445-454, 1978.
26. Florez, E., Wolff, M., (2009). Descripción y clave de los estádios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (diptera) de importancia forense en Colombia. 38(3):418-429
27. Frasson, L., Jr, J.L.R., Leite, F. & Krohling, W. (2006). A história da Entomologia Forense e sua importância na elucidação de questões judiciais. In Natureza on line. 4(2):77-79 <http://www.naturezaonline.com.br>
28. Gennard, D.E. (2007). Forensic Entomology: An introduction. John Wiley & Sons. Lincoln. 254pp.
29. Goff, M.L. (2001). A fly for the prosecution. How insect evidence helps solve crimes. Harvard University Press. London. 225pp.
30. Gusmão, J. B. (2008). Estudo preliminar da sucessão entomológica (com ênfase na ordem Díptera) em diferentes cadáveres de animais selvagens na Serra da Estrela. Tese de mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. 55pp.
31. Hwang, C. & Turner, B.D. (2005). Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas. Medical and Veterinary Entomology, Londres. 19:379-391.
32. Iancu, L., Pârvu, C. (2013). Necrophagous Entomofauna (Diptera, Coleoptera) On Meles Meles (L.) (Mammalia: Mustelidae) Carcasses Within Different Conditions of Exposure in Bucharest (Romania). LVI (1):45-63.
33. Introna, F.; Campobasso, C.P. & Goff, M.L. (2001). “Entomotoxicology”. *Forensic Science International*. 120: 42–47.
34. Joseph I, Mathew D.G., Sathyan P., Vargheese G., (2011). “The use of insects in forensic investigations: An overview on the scope of forensic entomology”. Journal of Forensic Dental Sciences. 3:89-91. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3296382/>.
35. Kosmann, C, Mello, R.P., Harterreiten-Souza, E.S., Pujol-Luz, J.R. (2013). A list of current valid blowflies names (Diptera: Calliphoridae) in the americas south of Mexico with key to the Brazilian species. *EntomoBrasilis*. 6(1): 74-85.
36. Kosmann, C., Prestes, A., Tepedino, K., Franco, A., Pujol-Luz, C., Pujol-luz, J. (2017). Lista das espécies de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, 107(supl.): e2017140. 1-4.

37. Leal, J., Oliveira T., Carneiro, S., Santos, A., Vasconcelos, B., (2013). Estimativa do intervalo pós-morte em cadáveres congelados através da entomologia. In Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac., Camaragibe.13 (3):41-48.
38. Luz, J. R., Arantes, L. & Constantino, R. (2008). Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). *Revista Brasileira de Entomologia*. 52(4):485-492.
39. Martins G, Santos WE, Creão-Duarte AJ, Silva LBG, Oliveira AAF. 2013. Estimativa do intervalo pós-morte em um canino (*Canis lupus familiaris* Linnaeus 1758) pela entomologia forense em Cabedelo-PB, Brasil: relato de caso. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 65(4):1107-1110.
40. Mello, R. P. (2003). Chave para identificação das formas adultas da família Calliphoridae (Díptera, Brachycera, Cyclorhapha) encontradas no Brasil. *Entomologia e Vetores* 10(2):255-268.
41. Mendonça, P.M; Santos-mallet, J.R; Mello, R.P; Gomes L. & Queiroz M.M.C. (2008). Identification of fly eggs using scanning electron microscopy for forensic investigations *Micron* 39: 802–807
42. Miranda G. H. B., Costa K. A., Luz J. R. P. (2013) Vestígios Entomológicos. In: Velho, J. A., Costa, K. A., Damasceno C. T. M. (eds.) *Locais de crime*. Campinas: Millenium editora, 125-150p.
43. Norouz, R., Manochehri, A. (2016). Case Report of Human Intestinal Myiasis Caused by *Lucilia illustris*. 12(1):1-3.
44. Perez, S., Wolff, M. (2011). Muscidae (Insecta diptera): Importância e diversidade para Colômbia. 6(2):13-22.
45. Pinheiro, D., Reis, Â., Jesuíno, R., Silva, H. (2012). Variáveis na estimativas do interval pós-morte por métodos de Eentomologia Forense. 8(14):1442-1458.
46. Pinho, L.C. (2008). Ordem Diptera (Arthropoda: Isecta). In guia online: Identificação de larvas de insectos aquáticos do Estado de São Paulo. 1-20
47. Rebelo M.T., Meireles J., Moreira A., Fonseca I.P., (2014). Entomologia Forense Médico-Veterinária. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 109(591-592):62-69.
48. Rinehart, J. P.; Yocum, G. D.; Denlinger, D. L. (2000). Developmental upregulation of inducible hsp70 transcripts, but not the cognate form, during pupal diapause in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Insect Biochem. Molecular Biology*. 30:515-521.
49. Rosa, T., Babata, M., Souza, C., Sousa, D., Patiu, C. & Mendes, J. (2009). Dípteros de interesse Forense em Dois Perfis de Vegetação de Cerrado em Uberlândia, MG. *Public Health*. 859- 866.
50. Santana, C., Boas, D. (2012). Entomologia Forense: Insetos auxiliando a lei. *Revista Ceciliana Dez* 4(2):31-34, ISSN 2175-7224 - © 2011/2012 - Universidade Santa Cecília Disponível online em <http://www.unisanta.br/revistaceciliana>.
51. Santos W.E. (2018). Papel das moscas (Insecta, Diptera) na Entomologia Forense. Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza, 2(1): 28–35. <http://dx.doi.org/10.29215/pecen.v2i1.578>
52. Shalaby A. O., Carvalho L. M. L., Goff M. L. (2000) Comparison of patterns decomposition in a hanging carcass and a carcass in contact with soil in a xerophytic habitat on the Island of Oahu, Hawaii. *Journal Forensic Science*, 45(6):1267-1273.
53. Szpila, K. (2010). Key for identification of European and Mediterranean blowflies (Diptera Calliphoridae) of forensic importance Third instars. Nicolau Copernicus University. Institute of Ecology and environmental Protection. 2-12.
54. Szpila, K., Pape, T., & Rusinek, A. (2008). Morphology of the first instar of *Calliphora vicina*, *Phormia regina* and *Lucilia illustris* (Diptera, Calliphoridae). In: *Medical and Veterinary Entomology*. 22:16–25.

55. Thyssen, P.J. & Linhares A.X. (2007). First description of the immature stages of *Hemiluciliasegmentaria* (Diptera: Calliphoridae). *Biol. Res.* 40:271-280
56. Vargas, J. & Wood, D. M. (2010). Calliphoridae. In: Brown, B. V.; Borkent, A.; Cumming, J. M.; Wood, D. M.; Woodley, N. E. & Zumbado, M. A. eds. *Manual of Central American Diptera*. Boca Raton, NCR Research Press. 2:1297-1304.
57. Velho, J.A.; Geiser, G.C.; Espíndola, A. (2012). *Ciências Forenses*. Campinas, São Paulo; Brasil: Editora Millennium. cap.1: 1-18.
58. Vianna, E.E.S, Costa, P.R.P, Fernandes, A.L, Ribeiro, P.B. (2004). Abundância e flutuação populacional das espécies de *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia, Porto Alegre.* 94 (3):231-234.
59. Voss, S.C., Cook, D.F., Dadour, I.R. (2011). Decomposition and insect succession of clothed and unclothed carcasses in Western Australia. *Forensic Science International.* 211: 67–75.
60. Wolff, J. (2015). SINANTROPIA DE CALLIPHORIDAE (INSECTA: DIPTERA) NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ, SC. 1-58.
61. Xavier, A.S. (2012). Caracterização morfológica e bioma de dípteros muscoide (sarcophagidae) de importância sanitária e forense. 1-62.