

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO

**Desenvolvimento e Caracterização Intrapuparial de *Peckia*
(*Euboettcheria*)*collusor* (Curran e Walley, 1934) (Diptera: Sarcophagidae),
Sob Diferentes Temperaturas, com Aplicação na Entomologia Forense**

Rayane Ferreira Dias

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO INTRAPUPARIAL DE
PECKIA (EUBOETTCHERIA) COLLUSOR (CURRAN E WALLEY, 1934)
(DIPTERA: SARCOPHAGIDAE), SOB DIFERENTES TEMPERATURAS,
COM APLICAÇÃO NA ENTOMOLOGIA FORENSE**

RAYANE FERREIRA DIAS

Sob a Orientação do Professor
Jerônimo Augusto Fonseca Alencar

e Coorientação da Professora
Jacenir Reis dos Santos Mallet

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Biologia Animal**, no curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de concentração Biodiversidade Animal.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F153d Ferreira Dias, Rayane, 1992-
Desenvolvimento e Caracterização Intrapuparial de
Peckia (Euboettcheria)collusor (Curran e Walley,
1934) (Diptera: Sarcophagidae), Sob Diferentes
Temperaturas, com Aplicação na Entomologia Forense. /
Rayane Ferreira Dias. - Rio de Janeiro, 2021.
51 f.: il.

Orientador: Jerônimo Augusto Fonseca Alencar.
Coorientador: Jacenir Reis dos Santos Mallet.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Pós Graduação em Biologia
Animal, 2021.

1. Mosca. 2. Pupa. 3. Morfologia. 4. Entomologia
Forense. I. Fonseca Alencar, Jerônimo Augusto , 1967-,
orient. II. Reis dos Santos Mallet, Jacenir , 1958-,
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Pós Graduação em Biologia Animal. IV. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL



TERMO Nº 1274 / 2021 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083.086862/2021-87

Seropédica-RJ, 02 de dezembro de 2021.

RAYANE FERREIRA DIAS

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre(a)** no Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração em Biodiversidade Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/11/2021

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

JERONIMO AUGUSTO FONSECA ALENCAR (ORIENTADOR)

SIMONE PATRÍCIA CARNEIRO DE FREITAS - FIOCRUZ

PALOMA MARTINS MENDONÇA - UV

ILDEMAR FERREIRA

NATALY ARAÚJO SOUZA - FIOCRUZ

(Assinado digitalmente em 08/12/2021 09:44)

ILDEMAR FERREIRA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptBA (12.28.01.00.00.00.45)
Matrícula: 387289

(Assinado digitalmente em 06/12/2021 08:40)

PALOMA MARTINS MENDONÇA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 054.018.467-54

(Assinado digitalmente em 04/12/2021 10:01)

SIMONE PATRÍCIA CARNEIRO DE FREITAS
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 458.014.283-72

(Assinado digitalmente em 02/12/2021 17:39)

NATALY ARAUJO DE SOUZA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 607.160.377-34

(Assinado digitalmente em 02/12/2021 16:57)

JERONIMO AUGUSTO FONSECA ALENCAR
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 005.893.247-05

Para verificar a autenticidade deste documento entre em
<https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **1274**, ano:
2021, tipo: **TERMO**, data de emissão: **02/12/2021** e o código de verificação: **d10cc887cc**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus familiares, professores e amigos..., que muito colaboraram para sua realização.

AGRADECIMENTOS

Serei eternamente grata aos meus pais que com muito amor e apoio, me incentivaram sempre a buscar novas oportunidades e adquirir o máximo de conhecimento possível para assim trilhar uma história de grandes conquistas pessoais e profissionais, assim hoje podendo obter esse mérito acadêmico, que sem eles não seria possível ter alcançado.

Aos meus irmãos Everaldo e Bárbara, que me apoiaram com palavras e meios que me permitiram iniciar lá no técnico, sendo assim o ponta pé inicial para a carreira que tenho construído e ao Daniel por todo suporte, carinho e atenção dado nos últimos anos, meu companheiro de disciplina e de muita troca de conhecimento entre diferentes áreas durante as disciplinas de licenciatura e conversas e resoluções de dúvidas sobre os imprevistos e curiosidades que acompanham essa jornada de muito estudo.

Um trabalho, uma pesquisa ou seja qual for o projeto, demanda tempo, dedicação e junto com isso vem momentos difíceis, alegres e até mesmo aqueles que não conseguimos explicar, ter alguém para ouvir os desabafos, dúvidas, opiniões e alegrias é um alento, ter te encontrado nesse caminho foi algo muito especial, lhe agradeço por toda ajuda me ensinando aquilo que não era capaz de desenvolver para dar continuidade em minha jornada, pelos dias de muita conversa para que eu pudesse organizar a minha rotina, pelos momentos de distração, amor e de muitas risadas, você simplesmente chegou na hora certa, tenho que lhe chamar pelo nome para te agradecer por ter contribuído de forma tão positiva e presente, grata por tudo Rogério Vazquez.

Aos amigos da Graduação, especialmente a Thais Mattos Estruc por toda insistência para que eu tentasse o mestrado e por sempre acreditar no meu potencial, nunca vou me cansar de dizer que se não fosse por você, apesar de você discordar eu não teria conseguido em tão pouco tempo me preparar e pensar ou cogitar que era possível, me mostrou até na prática o caminho que eu tinha que fazer me levando até a Rural, lhe agradeço e que possamos sempre caminhar nesse caminho científico sabendo que além de adquirirmos e transmitirmos conhecimento é possível conhecermos pessoas que irão acrescentar experiências e saberes que não estão em artigos ou livros.

Aos meus amigos de Mestrado, principalmente a Thais de Souza Viana minha irmã de coração e uma grande parceira de trabalho e colaboração no laboratório, sinto uma enorme gratidão por você e sua família por fazerem parte da minha jornada. No dia em que passei para a graduação, uma Bióloga do estágio técnico me disse “na faculdade irá conhecer suas melhores amigas, serão suas madrinhas de casamento e filhos”, hoje sabemos que é a maior verdade, acrescentado além disso parceira de coleta, arrumação de material, troca de informações e lamentações, com certeza a nossa amizade trouxe uma enorme leveza para a realização desse trabalho.

Ao meu orientador, Jeronimo Augusto Fonseca Alencar, pela compreensão, paciência e principalmente por me conceder a oportunidade de crescer cada vez mais em busca de um dia me tornar uma pesquisadora tão boa quanto aqueles aqui mencionados.

A minha coorientadora, Jacenir Reis dos Santos Mallet, por todo o conhecimento oferecido, atenção e acolhimento, a senhora é aquela pessoa que só me surpreende positivamente, sei que fez muito por mim e eu só posso aqui lhe agradecer umas mil vezes e mesmo assim não será suficiente.

A professora Margareth Maria de Carvalho Queiroz, pela ajuda oferecida e pelas sugestões em relação à pesquisa, assim como pelo espaço para realização da mesma, Laboratório de Entomologia Médica e Forense (LEMEF) -IOC/FIOCRUZ e aos meus colegas de laboratório.

Aos meus professores da graduação por toda a contribuição dada para que eu pudesse começar a obter o conhecimento necessário para a realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Por fim, a Deus e meus guias, cujo eu posso sentir que antes de tudo relatado vocês já estavam comigo para isso aqui ser possível, grata pelas vezes que me sustentaram e me concederam força e sabedoria.

RESUMO

DIAS, R. F.. **Desenvolvimento e caracterização intrapuparial de *Peckia (Euboettcheria)collusor* (Curran e Walley, 1934) (Diptera: Sarcophagidae), sob diferentes temperaturas, com aplicação na entomologia forense.** Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro 2021. Dissertação de Mestrado.

A família Sarcophagidae possui aproximadamente mais de 3.000 espécies, registrando uma alta diversidade no Brasil, sendo moscas fortemente associadas a estudos médicos, veterinários, sanitários, ecológicos e entomológicos devido a seus hábitos de vida. Porém, na entomologia forense, a família Sarcophagidae ainda é pouco utilizada para estudos, apesar de ser fortemente registrada em carcaças e até mesmo em cadáveres humanos. Sendo assim, tal estudo tem como objetivo identificar e comparar os estágios de desenvolvimento e características morfológicas intrapupariais para servir como ferramenta auxiliar na entomologia forense. As pupas coletadas após o marco zero foram mortas em intervalos de cada 3 horas até completar as primeiras 24 horas e depois a cada 6 horas até a emergência dos primeiros adultos, utilizando-se para cada horário 30 pupas totalizando 1560 para 27°C e 1290 para 32°C. O tempo de desenvolvimento intra-pupal de *Peckia (Euboettcheria)collusor* nas condições controladas de laboratório foi de 288 horas em 27°C e 228 em 32°C. As 2850 pupas, foram identificadas de acordo com a temperatura trabalhada, sendo classificadas nas oito possíveis fases: pupariação; pré-pupa; pupa criptocefálica anterior e posterior; pupa fanerocefálica; apólise pupa-adulto; adulto farato e imago, assim como obtenção de 16 caracteres morfológicos chaves para a identificação da idade das pupas. As características morfológicas intrapupariais obtidas possuem um grande potencial para a estimativa do IPM através dos trabalhos de pesquisadores, peritos, assistente técnicos ou entomólogos forenses.

Palavras-chave: Imaturos, intervalo pós-morte, moscas.

ABSTRACT

DIAS, R. F.. **Development and intrapuparial characterization of *Peckia (Euboettcheria) collusor* (Curran and Walley, 1934) (Diptera: Sarcophagidae), under different temperatures, with application in forensic entomology.** Institute of Biological and Health Sciences, Federal Rural University of Rio de Janeiro 2021. Master's Dissertation.

The Sarcophagidae family has approximately more than 3,000 species, recording great diversity in Brazil, flies strongly associated with medical, veterinary, sanitary, ecological and entomological studies due to their life habits. However, in forensic entomology, the sarcophagus family is still little used for studies, despite being strongly registered in carcasses and even in human cadavers. Therefore, this study aims to identify and compare the stages of development and intrapupariiform morphological characteristics to serve as an auxiliary tool in forensic entomology. Pupae collected after the zero mark were killed at intervals of every 3 hours until completing the first 24 hours and then every 6 hours until the emergence of the first adults, for each time 30 pupae were used, totaling 1560 for 27°C and 1290 for 32 ° C. The time of intrapupal development of *Peckia (Euboettcheria)collusor* under controlled laboratory conditions was 288 hours at 27 ° C and 228 hours at 32 ° C. The 2,850 pupae were identified according to the worked temperature, being classified into eight stages of possible: puparia; prepupae; anterior and posterior cryptocephalic pupa; phanerocephalic pupa; pupa-adult apolysis; adult farate and imago, in addition to obtaining 16 key morphological characters to identify the age of the pupae. The intrapupariiform morphological characteristics obtained have great potential to estimate the Postmortem Interval (PMI) through the work of researchers, specialists, technical assistants or forensic entomologists.

Keywords: Immature, Postmortem interval, flies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Peckia (Euboettcheria)collusor</i> na fase adulta.....	17
Figura 2: (A) Armadilha; (B) Isca em estado de putrefação, protegida por uma grade; (C) Coleta ativa com tubo Falcon no interior da armadilha	20
Figura 3: (A) Gaiola de criação de <i>Peckia (Euboettcheria) collusor</i> ; (B) em estante ventilada	21
Figura 4: (A) Recipiente de criação das larvas, com carne moída bovina putrefata e vermiculita;(B) recipiente vedado com escaline.....	22
Figura 5: Contagem das larvas de <i>Peckia (Euboettcheria)collusor</i>	22
Figura 6: Tubos de ensaio com os pupários de <i>Peckia (Euboettcheria)collusor</i> em solução de Carnoy e no Ácido Fórmico 5 %.....	23
Figura 7: Microscópio estereoscópio Leica EZ4 HD conectado ao computador no Laboratório no Laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).....	24
Figura 8: Pupas que apresentaram anormalidades.....	25
Figura 9: Pupários de <i>Peckia (Euboettcheria)collusor</i> de 0 a 12 horas.....	25
Figura 10: <i>Peckia (Euboettcheria) collusor</i> nas etapas do desenvolvimento intrapuparial em 27 °C.....	31
Figura 11: <i>Peckia (Euboettcheria) collusor</i> em vista dorsal e ventral sob 27°C do desenvolvimento da cabeça em relação a coloração dos olhos compostos.....	33
Figura 12: <i>Peckia (Euboettcheria) collusor</i> nas etapas do desenvolvimento intrapuparial em 32 °C	36
Figura 13: <i>Peckia (Euboettcheria) collusor</i> em vista dorsal e ventral sob 32°C do desenvolvimento da cabeça em relação a coloração dos olhos compostos.....	38
Figura 14: Vista lateral do imago de <i>Peckia (Euboettcheria) collusor</i> sob 32 °C emergindo.....	38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Número amostral (N), valores mínimos e máximos (intervalo de desenvolvimento) e tempo (média e desvio padrão, em horas) de cada fase do desenvolvimento intrapuparial de *Peckia (Euboettcheria)collusor* sob 27 °C..... 26
- Tabela 2:** Número amostral (N), valores mínimos e máximos (intervalo de desenvolvimento) e tempo (média e desvio padrão, em horas) de cada fase do desenvolvimento intrapuparial de *Peckia (Euboettcheria)collusor* sob 32 °C..... 27
- Tabela 3:** Tempo de aparecimento (Min e Max) das principais características morfológicas para estimativa da idade da pupa de *Peckia (Euboettcheria)collusor* sob 27 e 32 °C, em condições de laboratório. 28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Diptera	15
1.2 Sarcophagidae	15
1.2.1 <i>Peckia (Euboettcheria) collusor</i>	16
1.3 Importância forense	17
1.3.1 Desenvolvimento intrapuparial	18
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Coleta de espécimes e estabelecimento de colônia	20
3.2 Obtenção das larvas	21
3.3 Obtenção das pupas	23
3.4 Dissecções dos pupários	23
3.5 Análise e registro dos dados	24
4 RESULTADOS	24
4.1 Desenvolvimento intrapuparial a 27 °C	29
4.2 Desenvolvimento intrapuparial a 32 °C	34
5 DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÃO	41
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1 INTRODUÇÃO

A Classe Insecta do filo Arthropoda é caracterizada por seus indivíduos possuírem três pares de pernas articuladas, divisão do corpo em cabeça, tórax e abdome e são conhecidos por apresentar exoesqueleto de quitina, peças bucais do tipo ectógnata, asas, grande número de cerdas, um par de olhos compostos e um par de antenas (RESH E CARDÉ 2003). As espécies com 28 ordens representam mais da metade dos seres vivos, sendo considerada a maior classe do filo por possuir a maior quantidade de animais descritos. Esta diversidade pode ser observada desde seu surgimento na Terra, pois são considerados dentre os animais os pioneiros a conquistarem a superfície terrestre, evidenciando seu sucesso evolutivo (GRIMALDI, ANGEL, 2005; BRUSCA, BRUSCA, 2007; GULLAN E CRANSTON, 2017).

Dentre os insetos, a ordem Diptera é caracterizada pelo segundo par de asas modificados em estruturas responsáveis pela manutenção do equilíbrio durante o voo, denominadas como balacins e o outro par funcional (BORROR E DE LONG 2011). É uma das maiores ordens da Classe Insecta, na qual encontramos os insetos popularmente conhecidos como moscas, os mosquitos e afins, formando um grupo bem diverso, levando-se em consideração critérios ecológicos e termos de riqueza de espécies, assim como sua distribuição ocorre em todos os continentes, fator associado ao fato dos imaturos demonstrarem um grande potencial de sobrevivência em solo (LIMA E SERRA 2008; AHID 2009).

Os insetos da ordem Diptera demonstram uma forte sinantropia com o homem, e dentre estes, as moscas por exemplo, podem apresentar vários níveis de sinantropia determinados com base nas condições ambientais do local e fatores bióticos e abióticos relacionados a temperatura e umidade, potencial reprodutivo e competição (ULLYET, 1950; ZUMPT, 1965; GREENBERG, 1971). Os hábitos alimentares detritívoros e hematófagos e sua reprodução torna essa sinantropia necessária (TRIPLEHORN, JOHNSON, 2004; YEATES, WIEGMANN, 2005; YEATES et al. 2007), evidenciando a sua importância médica, veterinária ou forense, pois essas espécies necessitam do sangue de vertebrados para maturação de seus folículos ovarianos.

Os artrópodes que utilizam as carcaças como alimento, local de reprodução e oviposição são utilizados como evidências científicas e vêm ganhando importância na Entomologia forense, dentre uma das três categorias dela a médico legal (OLIVEIRA-COSTA, 2011), através de estudos relacionados a estimativa do intervalo pós-morte mínimo (IPM). A aplicabilidade da Entomologia forense depende diretamente de estudos sobre a taxonomia, biologia, ciclo de vida, sucessão e ecologia dos insetos da fauna cadavérica (PANIGALLI; SOLIGO, 2013), os com hábitos necrófagos são os mais utilizados para fazer a estimativa do IPM através da idade estimada dos imaturos (SMITH, 1986).

As moscas são uns dos primeiros grupos a chegar a um cadáver (ARNALDOS et al. 2005), e as famílias Sarcophagidae e Calliphoridae são consideradas as maiores responsáveis por essa colonização da carcaça (BHARTY E SINGH 2003), devido a ovipor ou larvipor e reproduzir em carcaças de animais (SMITH, 1986). Esse pioneirismo ocorre devido ao fato de possuírem órgãos sensoriais altamente especializados para detecção de odores (CAMPOBASSO et al. 2001). Essas características demonstram a necessidade de estudos biológicos mais aprofundados sobre o desenvolvimento das espécies como ferramenta para a entomologia forense, visando auxiliar na investigação de um crime por meio do uso de informações do ciclo de desenvolvimento destes insetos (CATTS E GOFF, 1992).

1.1 Diptera

A quantidade de espécies da ordem Diptera descritas são em torno de 150 mil, classificadas em cerca de 10 mil gêneros, distribuídos em 188 famílias (THOMPSON, 2006), divididas em subordens. A subordem Brachycera compreende dípteros que possuem antenas com três a cinco segmentos, apresentando o último segmento de forma anelar ou possuindo uma arista, sendo constituída pelas infraordens Muscomorpha, Tabanomorpha, Stratiomyomorpha e Xylophagomorpha (YEATES et al. 2007). Na Muscomorpha encontram-se os dípteros muscoides, que são as espécies de maior interesse médico, veterinário, sanitário e forense (KEH 1985).

A infraordem Muscomorpha possui um ciclo de vida constituído por três estágios larvais e posteriormente uma pupa, formada pela queima fenólica da cutícula externa da larva de 3º estágio (FRAENKEL E BHASKARAN, 1973). A ausência ou presença da sutura pitilinal divide a infraordem respectivamente em Aschiza e Schizophora. Os Schizophora são os dípteros muscoides (MAC ALPINE, 1981), dividida em duas seções, Acaliptratae e Caliptratae, baseadas no tamanho da caliptra (MAC ALPINE, 1981).

As famílias Sarcophagidae, Calliphoridae, Oestridae, Mesembrinellidae, Mystacinobiidae, Rhiniidae, Rhinophoridae, Tachinidae e Ulurumyiidae, formam a superfamília Oestroidea da ordem Diptera (CERRETTI et al. 2017 E MICHELSEN), que possuem importância médica, veterinária e sanitária (BERMUDEZ et al. 2007). São causadoras de miíase secundária no homem e em outros animais (GUIMARÃES e PAPAVERO, 1999), atuam como disseminadoras de patógenos (FURLANETTO et al. 1984; OLIVEIRA et al, 2002; THYSSEN et al. 2004, GRACZYK et al. 2005; RIBEIRO et al. 2011) e possuem elevada importância econômica devido ao potencial de serem vetores foréticos dos ovos de *Dermatobia hominis* (LINNEAUS JUNIOR, 1781), o berne, que pode acarretar em perdas econômicas na pecuária (GRISI et al. 2002).

No entanto, as moscas podem ser benéficas aos seres humanos e ao ambiente, pois atuam como indicadores ecológicos do processo de decomposição (CARTER et al. 2007) o que lhes confere a importância forense (CARVALHO et al., 2000), além de suas larvas serem utilizadas na terapia larval, auxiliando na cura de lesões cutâneas. O seu emprego nesta bioterapia se justificava pelo fato de algumas espécies apresentarem alta capacidade de reprodução, facilidade de criação em laboratório o que favorece a esterilização de seus ovos (SHERMAN et al. 2000). Uma das ações das larvas necrobiontófagas no tratamento de feridas está relacionada a limpeza das feridas através da excreção de substâncias com ação antimicrobiana (PAVILLARD E WRIGHT, 1957) e do desbridamento associado à sua capacidade de se alimentar de tecidos em decomposição (MUNCUOGLU et al., 2001).

1.2 Sarcophagidae

É uma família composta por aproximadamente 3000 espécies, conhecidas popularmente como “moscas-da-carne”, distribuídas mundialmente, apresentando maior concentração em regiões de clima neotropical (SHEWELL, 1987; PAPE, BLAGODEROV, MOSTOVSKI, 2011). São mais de 800 espécies descritas na região neotropical (PAPE 1996), e sua abundância se reflete nos vários trabalhos que relatam a ocorrência de sarcófagídeos associados a carcaças de animais vertebrados no Brasil (LOPES 1973; MONTEIRO-FILHO E PENEREIRO 1987; SALVIANO 1996; CARVALHO et al. 2000; CARVALHO & LINHARES 2001), incluindo cadáveres humanos (FREIRE 1923; CARVALHO et al. 2000; OLIVEIRA-COSTA et al. 2001).

No Brasil, Sarcophagidae compreende uma das principais famílias de dípteros associados a carcaças e de importância médico-veterinária por serem vetores mecânicos e biológicos de organismos patogênicos, tais como enterovírus, enterobactérias, ovos de helmintos e outros patógenos (GREENBERG, 1971). Suas espécies dividem-se em três subfamílias: Miltogramminae, Paramacronychiinae e Sarcophaginae, onde nesta última encontra-se a maior quantidade de espécies saprófagas, necrófagas, coprófagas, assim como uma maior distribuição (PAPE, 1996; LOPES, 1973).

O uso de imaturos para estudos de importância forense relacionados ao tipo de ambiente, análise da influência de fatores bióticos e abióticos na bionomia do seu desenvolvimento, são realizados já há algumas décadas (DIAS et al., 1984; LOUREIRO et al., 2005; FARIA et al., 2013), devido a atração pela matéria orgânica em decomposição em diferentes condições climáticas e características do local, como aberto ou fechado (BYRD E CASTNER, 2009).

Os insetos adultos da família Sarcophagidae variam de tamanho pequeno a grande, possuem coloração acinzentada ou marrom, apresentam em seu mesonoto a presença de três faixas enegrecidas longitudinalmente e seu abdômen é caracteristicamente axadrezado com machas variando em tons de prata e cinza (CARVALHO, MELLO-PATIU, 2008). As fêmeas são ovovíparas ou vivíparas, colocam larvas de primeiro instar, que iniciam imediatamente sua alimentação no meio que estão (DENNO E COTHRAN 1976); possuem registros durante o processo de decomposição de carcaças, e por isso, suas espécies são viáveis para serem utilizadas como ferramenta na Entomologia forense para o auxílio do cálculo da estimativa do IPM (GOFF, 1993; CARVALHO 2006).

As espécies dessa família possuem corpo cilíndrico de coloração em tom amarelado, formado por um segmento pseudocefálico, três segmentos torácicos, sete segmentos abdominais e uma divisão anal, totalizando um corpo de 12 segmentos (FONTOURA et al. 2013). Possuem esqueleto cefalofaríngeo e mandíbulas fortes que se movem em plano vertical, além dos espiráculos posteriores que conferem a sua parte final uma cavidade que os diferenciam visualmente das demais famílias. Os imaturos irão passar os três estágios se alimentando de matéria orgânica até adquirirem o que precisam para o momento de pupariação, (ISHIJIMA 1967; BARROS et al., 2008; BUENAVENTURA et al., 2009).

A presença de fêmeas, larvas e pupas são observadas em maior quantidade em campo. A diferenciação de adultos dessa família quando comparado com os de outras se dá de maneira fácil, mas à nível de gênero e espécie ainda há dificuldades para uma classificação precisa, ocasionada pelo grande número de espécies, ausência de diferenças morfológicas observáveis entre as mesmas e chaves taxonômicas com pouca descrição dos caracteres morfológicos (LIU E GREENBERG, 1989). A identificação ocorre por meio da morfologia dos machos levando-se como principal estrutura para determinar a sua classificação a terminália. (CARVALHO, MELLO-PATIU, 2008; VAIRO, MELLO-PATIU, CARVALHO, 2011) característica as vezes única para distinguir as espécies dessa família (CARVALHO E MELLO-PATIU, 2008). Dentre os outros fatores de importância para a identificação destacam-se a nervura das asas, segmentos da antena, pigmentação corporal e presença de cerdas (OLIVEIRA-COSTA, 2007).

1.2.1 *Peckia (Euboettcheria)collusor*

O gênero *Peckia* possui 67 espécies (THOMPSON e PAPE 2013), distribuídas entre os subgêneros, *Euboettcheria* (TOWNSEND, 1927); *Pattonella* (ENDERLEIN, 1928); *Peckia Robineau-Desvoidy*, 1830; *Squamatoses* (CURRAN, 1927) e *Sarcodexia*

(TOWNSEND, 1892) (PAPE 1996). O gênero é caracterizado por não possuir cerdas brancas ao longo da lateral do escutelo, caliptra com grande quantidade de pelos, cerdas brancas na região posterior da cabeça que vão até o sulco genal e esternitos com segmentos abdominais sem cerdas negras (BUENAVENTURA et al. 2009).

No Brasil, *Peckia* sp. apresenta grande abundância nas carcaças, (AMORIM, 2002), seus imaturos apresentam bom desenvolvimento em matéria orgânica em decomposição, encontrados nos diferentes estados de decomposição (CARVALHO et al. 2004; GARCÉS et al. 2004; BARROS et al. 2008), e neste gênero o tempo de duração do estágio de pupa de algumas espécies já foi estudado, como por exemplo *P. intermutans* (LOUREIRO et al. 2005), *P. chrysostoma* e *P. ingens* (FERRAZ 1985), *P. gulo* (MENDEZ E PAPE 2002), *P. smarti* e *P. pallidipilosa* (OLIVEIRA-DA-SILVA et al. 2006).

Peckia (Euboettcheria) collusor (Figura 1) pertence ao subgênero *Euboettcheria*, possuindo registro na América do sul em países como a Argentina, Bolívia, Brasil e outros (LOPES 1982; BUENAVENTURA E PAPE 2013). No Brasil, os estudos são realizados principalmente em torno dos aspectos bionômicos e de desenvolvimento pós-embrionário das formas imaturas (LOPES 1973; SALVIANO et al. 1996; OLIVEIRA et al. 2002; LOUREIRO et al. 2005). É uma espécie necrófaga com aplicabilidade na entomologia forense (SALVIANO et al., 1996; CARVALHO E LINHARES, 2001; BARROS et al. 2008; BARBOSA et al. 2009).



Figura 1: *Peckia (Euboettcheria) collusor* na fase adulta.

1.3 Importância forense

Os insetos da família Sarcophagidae possuem uma forte atração por matéria orgânica em decomposição, sendo ali geralmente depositadas suas formas imaturas, que realizarão seu desenvolvimento e nutrição (NUORTEVA, 1977; SMITH, 1986). Esses dípteros, por meio da sua chegada aos tecidos putrefatos (ARNALDOS et al. 2005), e as interações

biológicas e ecológicas que ocorrem, fornecem informações relevantes a respeito do processo pós-morte.

A entomologia forense é a ciência que utiliza as moscas e outros insetos para auxiliar na condução de investigações de caráter médico-legal que é uma de suas áreas. O uso de insetos para estimar o IPM, tempo decorrido desde o óbito até a descoberta do corpo, tem sido estudado em vários países (PUJOL-LUZ et al. 2008; ESTRADA et al. 2009; KOSMANN et al. 2011; BEUTER e MENDES, 2013). A entomologia forense é considerada uma área multidisciplinar, pois atua na área biológica, médica e química quando se investiga as possíveis causas da morte através por exemplo da entomotoxologia forense, assim como torna-se possível através do conhecimento da distribuição geográfica das espécies de importância forense analisar se houve deslocamento do cadáver (NUORTEVA, 1977; SMITH, 1986; CATTS, GOFF, 1992; BYRD, CASTNER, 2001; INTRONA, CAMPOBASSO, GOFF, 2001).

Os estudos de entomologia forense devem sempre atentar para os fatores abióticos tais, como temperatura e a umidade, pois são capazes de influenciar na decomposição da matéria orgânica e também alterar o ciclo de vida dos insetos ali presentes (CAMPOBASSO et al.2001; CARVALHO E LINHARES 2001; PINHEIRO et al.2012). Os insetos são ectodérmicos, sofrem interferência direta da temperatura ambiente, devido ao fato de não possuírem um sistema de termorregulação. Assim, conhecer a bionomia do inseto de estudo é um fator que irá auxiliar para gerar dados mais precisos, pois tais estudos, mostram que a entomofauna encontrada em temperaturas mais baixas apresentam um ciclo de vida mais longo quando comparada aos pertencentes a temperaturas mais altas (CHEN et al.1990).

A escolha das espécies para estudos laboratoriais para auxílio na estimativa do tempo pós morte ocorre através de relatos de ocorrência das mesmas em carcaças ou cadáveres humanos (BYRD E BUTLER 1996; BARRETO et al.2004; OLIVEIRA-COSTA e MELLO-PATIU, 2004). Ainda são escassos estudos sobre o desenvolvimento intrapuparial, tendo registrados na literatura estudos com *Musca domestica* (LINNAEUS, 1758) (SIRIWATTANARUNGSEE et al., 2005) , *Chrysomya putoria* (PROENÇA et al., 2014) , *C. macellaria* (BARROS-CORDEIRO et al. 2016) , *Calliphora vicina* (Robineau- Desvoidy, 1830) (HALL et al. 2017), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826) (WANG et al., 2018) , no entanto, verifica-se a necessidade de ampliar estes estudos em diferentes regiões geográficas, bem como em diferentes temperaturas visando o aumento de dados para estimar o IPM.

1.3.1 Desenvolvimento intrapuparial

A descrição sobre as mudanças morfológicas durante o desenvolvimento intrapuparial sob condições de laboratório, se faz necessária pelo fato desse período variar conforme a temperatura, umidade e fotoperíodo (SALOÑA-BORDAS E GONZÁLEZ-MORA 2005), o que contribui para a realização de estudos do desenvolvimento intrapuparial em nosso hemisfério, uma vez que são animais pecilotérmicos e mudanças climáticas podem interferir no desenvolvimento e na atividade dos insetos (CAMPOBASSO et al. 2001). Além de uma grande parte dos estudos forenses terem sido realizados no hemisfério Norte (ÁVILA & GOFF, 1998).

No estágio de pupa é quando começam as principais modificações para se tornar um inseto adulto, portanto, determinar o momento do surgimento de cada modificação através do estudo do desenvolvimento pós-embrionário e intrapuparial de espécimes no laboratório é o que contribui com dados para o cálculo do IPM (SOUZA et al. 2008; OLIVEIRA E

VASCONCELOS, 2010; SANTOS, 2018; SALAZAR et al. 2018), pois viabiliza a comparação e análise de pupas encontradas em local de crime podendo através das características encontradas nas mesmas e com base na literatura estimar o intervalo pós morte. As larvas e pupas de Sarcophagidae é fator de escolha para a estimativa de intervalo pós-morte, pois são encontradas em grande quantidade nos locais de crime, (CARVALHO et al. 2000; PUJOL-LUZ et al. 2006; OLIVEIRA-COSTA et al. 2011).

A larva ao entrar no primeiro processo para a formação da pupa chamado de pupariação para a formação do pupário dá início a tais observações, sobre o seu tempo e etapas de desenvolvimento, levando-se em consideração todas as transformações que a larva sofrerá. Existem métodos capazes de analisar de diferentes modos essas transformações que ocorrem durante o estágio de pupa, desde a sua coloração externa, como pelo uso de microscópio estereoscópico, observação de cortes histológicos da pupa ou por tomografia micro-computadorizada 3D (RICHARDS CS et al. 2012; FRAENKEL G et al. 1973).

Os estudos em relação à fase dos imaturos de sarcófagídeos de acordo com as características morfológicas encontradas, são classificadas nas seguintes nomenclaturas: pupariação; pré-pupa; pupa criptocefálica anterior; pupa criptocefálica posterior; pupa Fanerocefálica; apólise pupa-adulto; adulto farato e imago. (FRAENKEL E BHASKARAN 1973; MARTÍN-VEGA et al. 2016; ZHANG et al.2018).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Identificar os estágios de desenvolvimento e características morfológicas intrapupariais de *Peckia (Euboettcheria) collusor*, sob diferentes temperaturas.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever e fotografar as fases de pupariação; pré-pupa; pupa criptocefálica anterior; pupa criptocefálica posterior; pupa fanerocefálica; apólise pupa-adulto; adulto farato e imago do desenvolvimento intrapuparial da espécie.
- Identificar as características morfológicas ocorridas na pupa para estimar a idade da espécie de acordo com o surgimento das estruturas ao longo do desenvolvimento intrapuparial.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de espécimes e estabelecimento da colônia de *Peckia collusor*

A coleta dos adultos de *Peckia (Euboettcheria)collusor* foi realizada no campus da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) em Manguinhos (22°52'29.64"S 43°14'43.39"W), na cidade do Rio de Janeiro, área de mata fechada, em março de 2020, por meio de uma coleta ativa com a utilização de uma armadilha do tipo Shannon modificada (Figura 2A). Como isca, foi utilizada carne suína (Figura 2B) com 24 horas de exposição à temperatura ambiente. A captura dos adultos na isca foi feita usando tubos tipo Falcon (Figura 2C).

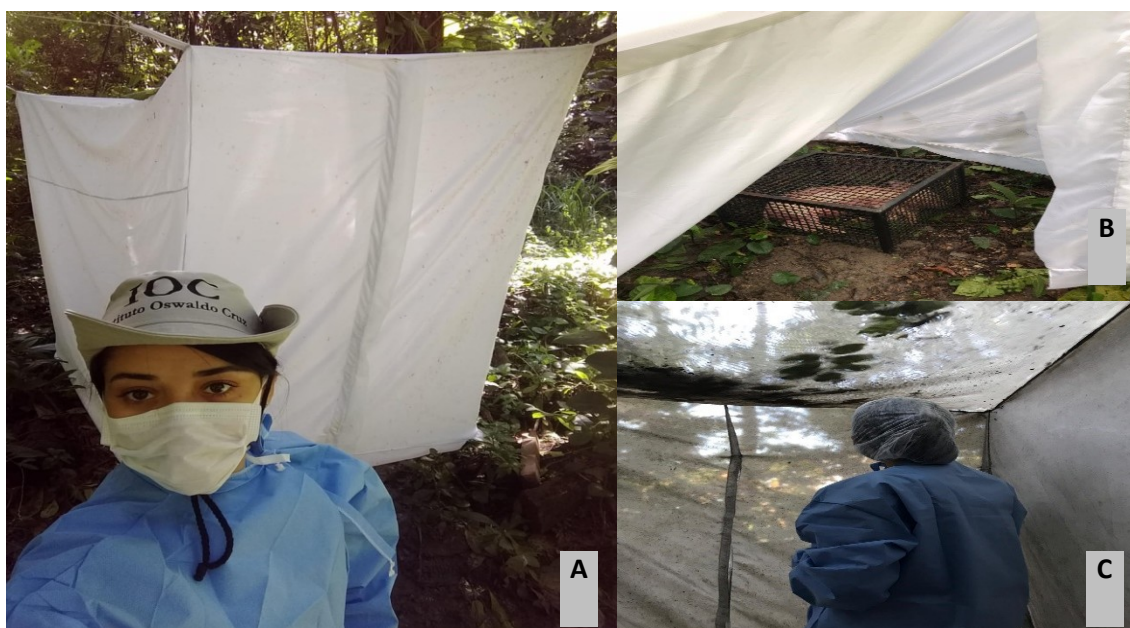


Figura 2: (A) Armadilha; (B) Isca em estado de putrefação, protegida por uma grade; (C) Coleta ativa com tubo Falcon no interior da armadilha.

Os espécimes coletados foram levados para o Laboratório de Entomologia Médica e Forense (LEMEF/IOC), os adultos foram identificados de acordo com a chave dicotômica (VAIRO et al., 2011).

Os espécimes após a identificação, foram colocados em gaiolas de madeira (30x30x30cm) (Figura 3A), acondicionadas em estante ventilada sob a temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa (UR) de $60\pm 10\%$ (Figura 3B). Uma dieta açucarada foi disponibilizada em frascos tampados com gaze e carne bovina moída putrefata para estimular a postura.

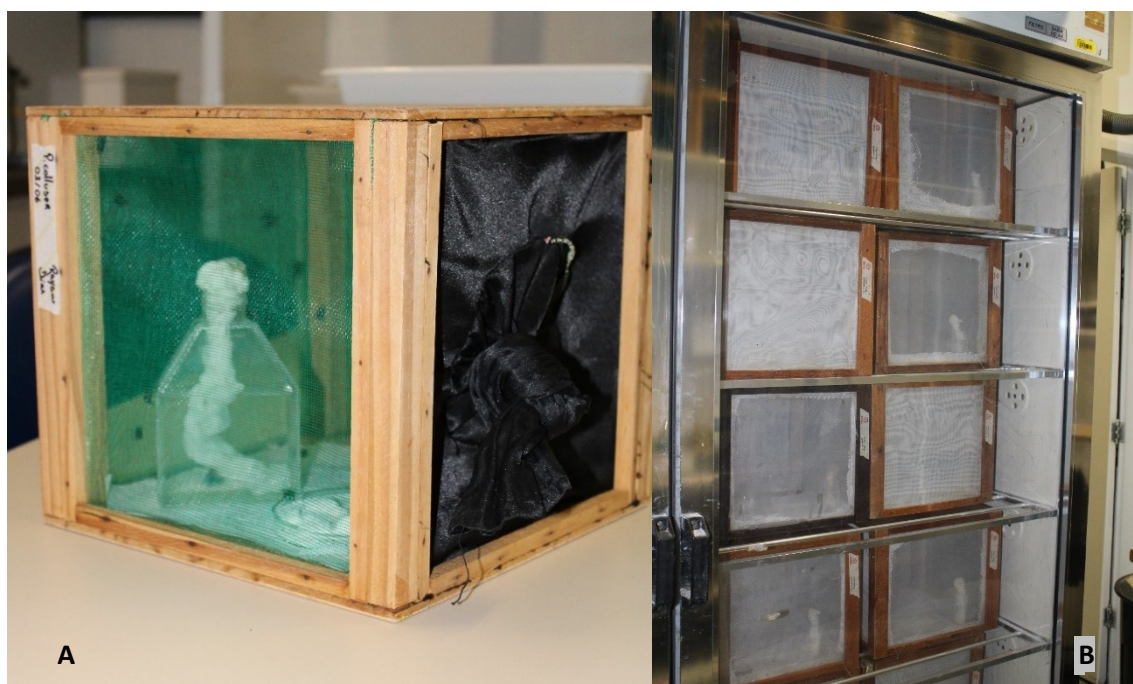


Figura 3: (A) Gaiola de criação de *Peckia (Euboettcheria) collusor*; (B) em estante ventilada.

3.2 Obtenção das larvas

As larvas foram obtidas pela larviposição das fêmeas por meio da oferta de carne moída putrefata em um período de 48 horas sobre uma placa de petri. Quando as mesmas foram transferidas para recipientes de plástico (5x7cm), contendo 2g/larva de carne moída em decomposição (Figura 4 A). Tal recipiente foi inserido em outro maior (10x10cm) contendo a quantidade suficiente de vermiculita componente mineral como substrato para cobrir toda a sua base para a pupariação das larvas e vedado com escaline (Figura 4 B). Os recipientes foram armazenados de acordo com a temperatura que se pretendia trabalhar, mas todas sob as condições de fotoperíodo de 12horas (L:E) e UR de $60\pm 10\%$, as temperaturas de 22 e $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ ocorreram na câmara de germinação do tipo B.O.D. (Mod. 347 CDG, FANEM). Os de 27°C permaneceram sob a temperatura constante na estante ventilada.



Figura 4: (A) Recipiente de criação das larvas de *Peckia (Euboettcheria) collusor*, com carne moída bovina putrefata e vermiculita; (B) recipiente vedado com escaline.

Calculou-se um número amostral mínimo para cada temperatura, com base na duração do tempo pupal e biologia da *Peckia (Euboettcheria) collusor* para as temperaturas utilizadas no atual estudo (Figura 5).



Figura 5: Contagem das larvas de *Peckia (Euboettcheria) collusor*

3.3 Obtenção das pupas

Nas primeiras 24 horas os espécimes coletados no momento de pupariação caracterizado pela retração da cabeça, foram mortos expostos a água em alta temperatura ($\sim 75 \pm 5^\circ\text{C}$) a cada três horas. Encerradas as 24 horas estas foram mortas a cada seis horas, até a emergência do primeiro adulto. Para cada intervalo foram coletadas 30 pupas.

Os pupários mortos foram fixados em solução de Carnoy por 48 horas (Figura 6), após esse período foram transferidos para tubos contendo ácido fórmico a 5% (Figura 6), por mais 48 horas, ao término foram armazenados em tubos do tipo Eppendorfs e congelados até a dissecação.

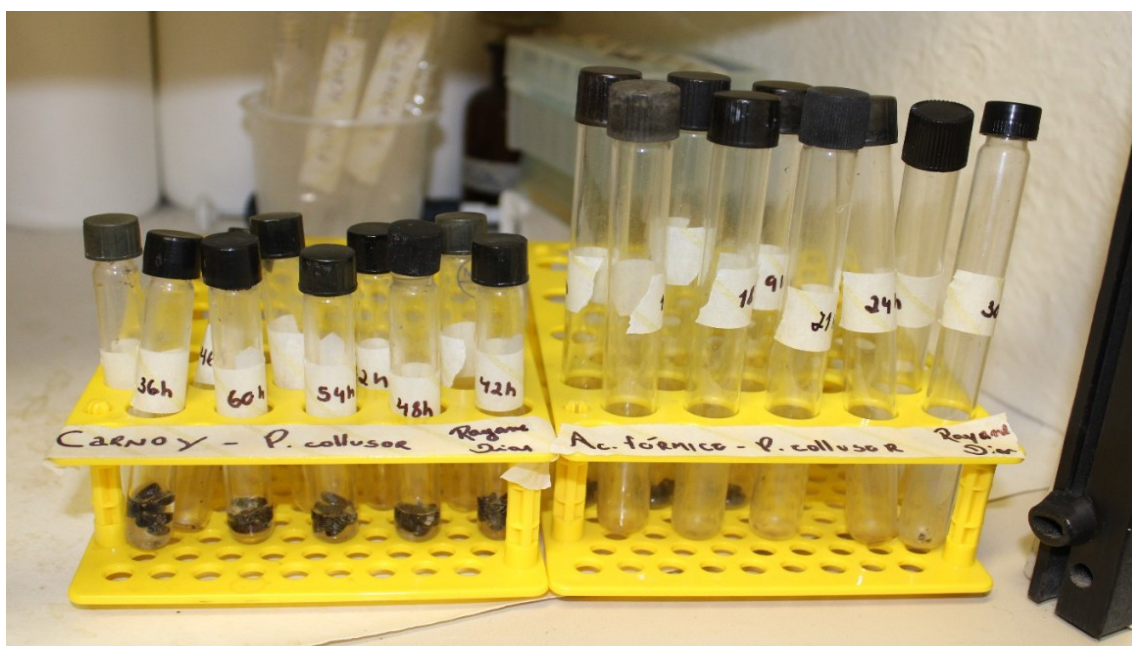


Figura 6: Tubos de ensaio com os pupários de *Peckia (Euboettcheria) collusor* em solução de Carnoy e no Ácido Fórmico 5 %.

3.4 Dissecações dos pupários

A dissecação ocorreu sob o uso de microscópio estereoscópio (Lupa Zeiss) no Laboratório de Entomologia Médica e Forense (LEMEF/IOC), com a utilização de pinças e agulha hipodérmica. As pupas dissecadas foram armazenadas em tubos do tipo Eppendorfs com etanol 70 % devidamente registrado com os horários de coleta das mesmas e temperatura, para posterior registro fotográfico das mudanças morfológicas características de seus diferentes estágios de desenvolvimento.

3.5 Análise e registro dos dados

Foram escolhidas 10 a 15 amostras dissecadas entre as 30 coletadas referentes a cada intervalo, para fazer o registro fotográfico das características morfológicas que determinam a qual período esse horário pertence de acordo com a terminologia. O registro foi feito com o auxílio da câmera acoplada ao o microscópio estereoscópico LEICA EZ4 HD no Laboratório de Díptera do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) (Figura 7)

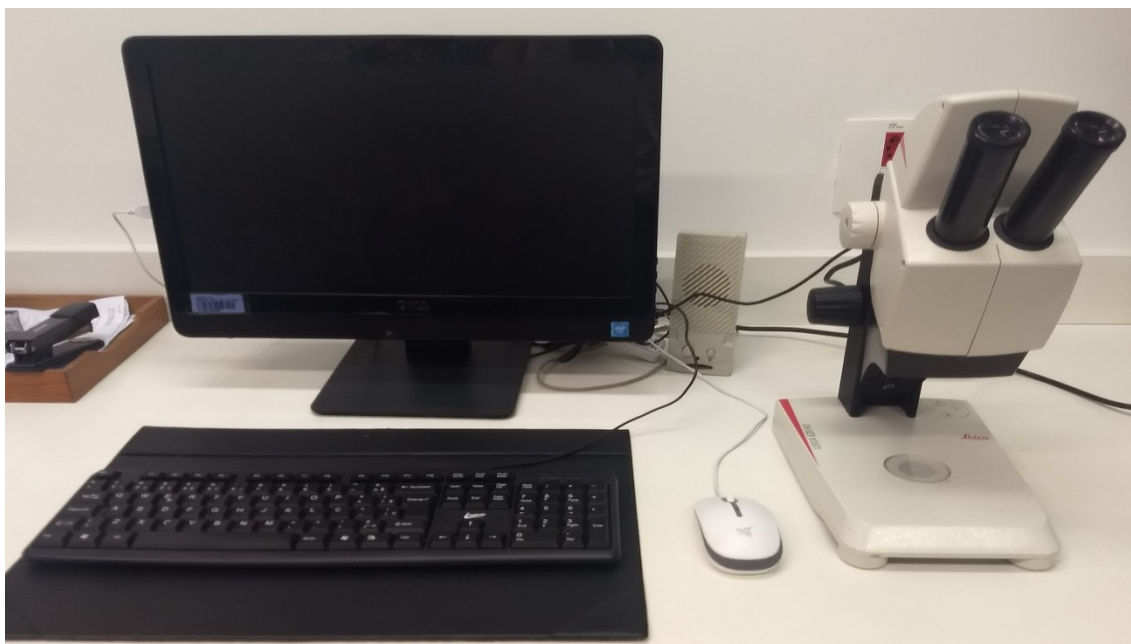


Figura 7: Microscópio estereoscópio Leica EZ4 HD conectado ao computador no Laboratório no Laboratório de Díptera do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz)

As principais estruturas pertinentes para determinar a idade de *P. (E.) collusor* e seus estágios de desenvolvimento foram baseadas a partir de Fraenkel e Bhaskaran 1973, MARTÍN-VEGA et al. 2016 e ZHANG et al. 2018.

4 RESULTADOS

O presente estudo analisou o total de 2850 pupas, tendo sido respectivamente 1560 e 1290 pupas para a temperatura de 27 °C e 32 °C.

Entre as pupas observadas, algumas não se desenvolveram até a emergência dos adultos, apresentando anormalidades identificadas no momento de dissecação. As anormalidades foram encontradas em ambas temperaturas, tendo sido principalmente manchas e deformações no corpo (Figura 8), totalizando 29 pupas mortas em 27 °C e 37 em 32 °C gerando um percentual de mortalidade de 1,9% em 27°C e de 2,9% em 32°C.



Figura 8: Pupas que apresentaram anormalidades. Escala: 2mm..

Os pupários de *Peckia (Euboettcheria) collusor* apresentaram aproximadamente 7,65mm de comprimento e 3,15mm de largura. Os pupários de 0 a 12 horas apresentam superfície ainda com a segmentação larval de forma evidente e vão adquirindo coloração marrom que se mantem ao longo do desenvolvimento (Figura 9).



Figura 9: Pupários de *Peckia (Euboettcheria) collusor* de 0 a 12 horas

As pupas que não apresentaram anormalidades foram utilizadas para a análise detalhada das características (Tabela 1 e 2) correspondentes às fases de desenvolvimento de acordo com cada temperatura estipulada.

Tabela 1: Número amostral (N), valores mínimos e máximos (intervalo de desenvolvimento) e tempo (média e desvio padrão, em horas) de cada fase do desenvolvimento intrapuparial de *Peckia (Euboettcheria) collusor* sob 27 °C.

Fases	N	ID (Range)	X ± DP		
Pupariação	30	0			
Pré-pupa	186	3-30	11,65 ± 5,46		
Pupa Criptocefálica Anterior	108	15-48	27,11 ± 6,73		
Pupa Criptocefálica Posterior	26	30-54	39,46 ± 5,57		
Pupa Fanerocefálica	282	42-162	77,66 ± 21,29		
Apólise pupa-adulto	304	72-168	128,17 ± 20,45		
Adulto Farato					
		Olhos Amarelos	49	168-198	175,84 ± 6,81
		Olhos Rosados	122	168-222	189,05 ± 10,97
		Olhos Vermelho	423	192-288	241,81 ± 22,15
Adulto (Emergência)	2	288	0,00		
morto/pupário	29				

N = número de pupas por fase

IV = Intervalo de Desenvolvimento (horas)

X ± DP = Média ± Desvio Padrão (horas)

Tabela 2: Número amostral (N), valores mínimos e máximos (intervalo de desenvolvimento) e tempo (média e desvio padrão, em horas) de cada fase do desenvolvimento intrapuparial de *Peckia (Euboettcheria)collusor* sob 32 °C.

Fase	N	ID (Range)	X ± DP		
Pupariação	30	0			
Pré-pupa	178	3-36	11,26 ± 5,32		
Pupa Criptocefálica Anterior	72	15-42	23,00 ± 5,14		
Pupa Criptocefálica Posterior	115	24-66	44,97 ± 11,09		
Pupa Fanerocefálica	278	30-138	79,06 ± 17,52		
Apólise pupa-adulto	214	108-168	133,29 ± 14,16		
Adulto Farato					
		Olhos Amarelos	29	132-168	148,34 ± 9,57
		Olhos Rosados	88	138-180	167,93 ± 6,91
		Olhos Vermelhos	218	180-228	201,83 ± 11,72
Adulto (Emergência)	3	228	228,00 ± 0,00		
morto/pupário	37				

N = número de pupas por fase

IV = Intervalo de Desenvolvimento (horas)

X ± DP = Média ± Desvio Padrão (horas)

Após a caracterização do intervalo de cada etapa de desenvolvimento, é possível identificar em qual momento surgem as estruturas morfológicas que podem auxiliar na estimativa da idade do imaturo (Tabela 3), conferindo assim um melhor IPM através dos dados detalhados.

Tabela 3: Tempo de aparecimento (Min e Max) das principais características morfológicas para estimativa da idade da pupa de *Peckia (Euboettcheria) collusor* sob 27 e 32 °C, em condições de laboratório.

Marcadores Morfológicos das Pupas	27 °C		32°C	
	Mín	Máx	Mín	Máx
Emergência das pernas.	15	48	15	36
Apêndices torácicos (pernas e asas) atingindo (1/4 do corpo).	30	54	24	48
Cabeça envaginada.	42	*	30	*
Olhos amarelos	168	198	132	168
Antenas, peças bucais e pernas iniciando definição.	126	156	102	144
Olhos rosados.	168	222	138	180
Início da inervação das asas.	192	264	162	198
Surgimento das cerdas (pernas, cabeça e peças bucais).	186	*	138	*
Pernas escurecendo.	192	270	168	258
Olhos vermelhos.	192	*	180	*
Ocelos transparentes.	186	*	162	*
Presença da arista na antena.	198	*	168	*
Antenas pigmentadas.	210	*	198	*
Palpos maxilares avermelhado.	210	*	174	*
Três faixas no tórax	234	*	180	*
Aparelho genital formado (machos ≠ fêmeas)	228	*	198	*

* Intervalo de tempo da emergência em horas.

4.1 Desenvolvimento intrapuparial a 27°C

A emergência de *Peckia (Euboettcheria) collusor* ocorreu em 288 horas, equivalente a 12 dias. As estruturas morfológicas foram descritas de acordo com a fase e tempo de desenvolvimento e fotografadas (Figura 10).

Pupariação (0h): As larvas coletadas nesse período foram consideradas em razão da cessão de sua alimentação, interrupção da locomoção e posterior inversão da cabeça, onde a larva adquire um formato oval e uma coloração e brilho característicos do início do processo de pupariação.

Pré-pupa (3h – 30h): As pré-pupas que se encontram nesse período apresentam uma maior dificuldade na separação do pupário e da pré-pupa, pois ainda não ocorreu a apólise larva-pupa, onde as células do tecido da pupa se diferenciam das células do tecido do pupário. A pupa dissecada apresenta marcas decorrentes da forte e recente associação ao pupário. Apresenta uma coloração esbranquiçada delimitada por um emaranhado de células, ainda sem características definidas.

Pupa criptocefálica anterior (15h - 48h): Após o desprendimento (tecido da pré-pupa e pupário), a pré-pupa passa a se chamar pupa. No período, os discos imaginais começam a dar origem a apêndices torácicos rudimentares no ápice da pupa, onde anteriormente, existia o esqueleto cefalofaríngeo. Os apêndices nesse período não ultrapassam $\frac{1}{4}$ do tamanho total do corpo da pupa e a cabeça permanece invaginada.

Pupa criptocefálica posterior (30h – 54h): Período marcado pelos apêndices torácicos (ainda sem definição e/ou segmentação) ocupando mais do que um $\frac{1}{4}$ do tamanho total do corpo da pupa. Um momento curto, onde a cabeça permanece invaginada e o restante do corpo permanece esbranquiçado e sem características definidas.

Pupa Fanerocefálica (42h – 162h): As pupas respectivas a esse período apresentaram a cabeça totalmente evertida. Porém o tórax e abdômen, apesar de claramente diferenciados, ainda não apresentam características claras e nem segmentações, sendo compostos por aglomerado de células. Assim como, os apêndices torácicos que apesar de já se apresentarem em sua total extensão, ainda não começaram seus processos de diferenciação. Apresentam olhos e aparelho bucal rudimentares. A partir de 66h os espiráculos anteriores se encontram posicionados latero-anteriormente, exibindo uma coloração amarelada.

Apólise pupa-adulto (72h – 168h): Nesse período a diferenciação de apêndices torácicos se torna evidente, já é possível diferenciar claramente pernas e asas que passam aos poucos a adquirir características específicas, culminando na segmentação das pernas que se inicia em 108h, dando origem posteriormente a coxa, trocanter, fêmur, tíbia, tarso e pós-tarso. O aparelho bucal se apresenta mais evidente e os palpos começam a aparecer, como pequenas protuberâncias, ainda bem imaturos. Esse período também é marcado pelo início de desenvolvimento de cerdas na gena, nas pernas, asas e região dorsal do tórax. Abdômen ainda sem características definidas, assim como olhos, ainda rudimentares. Em 168h, palpos e aparelho bucal se encontram já bem desenvolvidos, necessitando apenas diferenciação, assim como demais estruturas.

Adulto farato (168h-282h): Início da diferenciação de olhos, apresentando pigmentação amarelada no início entre 168h e 198h, seguido da pigmentação rosada entre 168h e 222h e finalizando na pigmentação vermelha que se inicia em 192h até a emergência (Figura 11). Em 186h é possível observar antena e triângulo ocelar proeminentes, assim como cerdas no triângulo ocelar, entre olhos, antena, pernas e palpos. O intervalo de 192h é marcado pelo escurecimento de cerdas nas pernas e tórax. Em 198h, as cerdas se tornam evidentes na base de asas, pronoto, abdômen e rostro. A antena se apresenta amarelada e faixas são observadas

na vista dorsal do tórax igualmente em tom amarelado. Em 204h, ocorre amarelamento singelo no último tergito abdominal, fronte, parafaciália, parafrontália e gena e as cerdas originadas no tórax atingem o terceiro tergito do abdômen. Ocorre também o escurecimento de cerdas do rosto e aparelho bucal. Em 210h, o aparelho bucal apresenta-se diferenciado pela coloração avermelhada do conjunto labro-labela e antena apresenta pigmentação marrom. O período de 216h é definido pelo início da diferenciação de genitália. No período 228h ocorre o escurecimento de veias de asas e amadurecimento de aparelho sexual evidenciando diferenças entre machos e fêmeas em relação a terminalia. Em 234h, o tórax apresenta faixas escuras entre as amareladas, identificadas anteriormente. Ocorre também uma pigmentação alaranjada forte no último tergito da porção abdominal. Em 270h ocorre escurecimento total de antena, pernas, aparelho bucal, palpos e asas e em 282h os adultos já se encontram completamente formados, esperando somente o momento de emergência.

Imago (288h): Nesse período, se inicia a emergência de adultos como consequência do fim do desenvolvimento intrapuparial. Em 288h, todos os indivíduos já se encontravam emergidos.

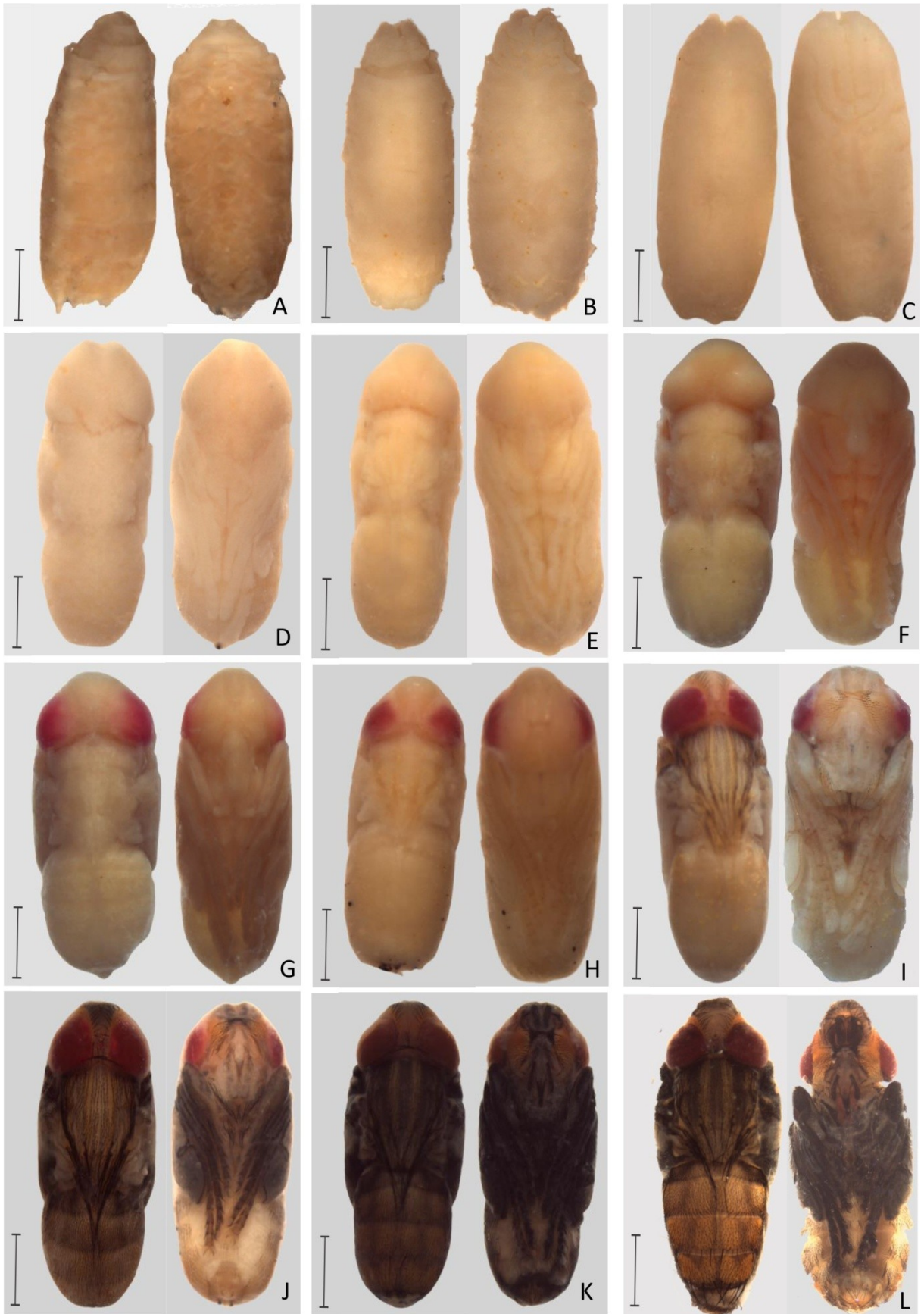


Figura 10: *Peckia (Euboettcheria) collusor* nas etapas do desenvolvimento intrapuparial em 27 °C: (A) Pré-pupa de 9h; (B) criptocefálica anterior de 36h em vista dorsal e ventral (Emergência das pernas); (C) criptocefálica posterior de 54h em vista dorsal e ventral (Apêndices torácicos atingindo (1/4 do corpo)); (D) pupa fanerocefálica de 102h em vista dorsal e ventral (asas e pernas maiores); (E) Apólise pupa-adulto de 120h em vista dorsal e ventral (estruturas da cabeça sendo formadas); (F) Adulto Farato em 168h com olhos amarelos e asas esbranquiçadas; (G) Adulto Farato de 174h, com os olhos mais definidos e uniformes com coloração rosa; (H) Adulto Farato de 188h com formação de estruturas da cabeça como antenas e peças bucais (palpos maxilares); (I) Adulto Farato de 204h com o surgimento das cerdas na região cefálica e torácica, além do escurecimento da veia costal da asa e definição das três faixas no tórax; (J) Adulto Farato de olhos vermelhos, com arista na antena e veias e pernas mais escuras; (K) Adulto Farato de 276h indicando estruturas totalmente pigmentadas; (L) Imago de 288 h, com a sutura ptilineal expandida. **Escala:** 2mm.

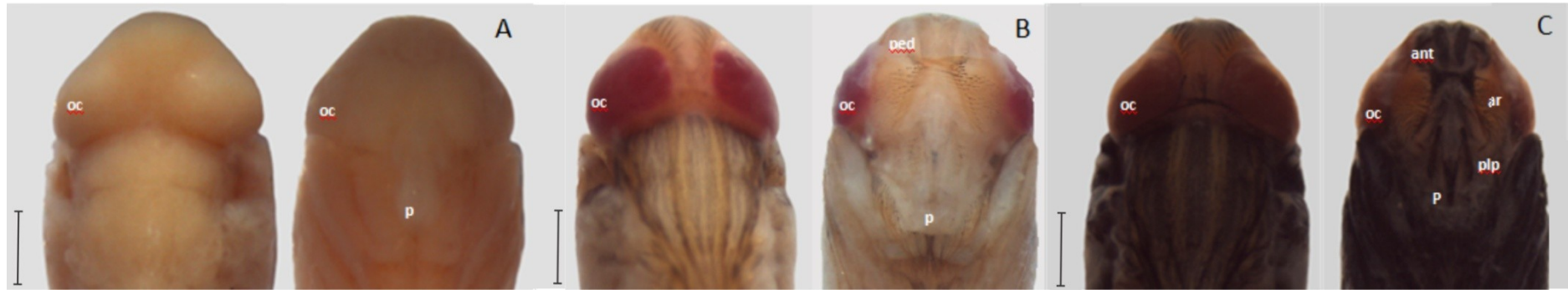


Figura 11: *Peckia (Euboettcheria) collusor* em vista dorsal e ventral sob 27 °C do desenvolvimento da cabeça em relação a coloração dos olhos compostos do farado: (A) olhos amarelos em 168h; (B) olhos rosas em 204h; (C) olhos vermelhos em 276h. Abreviaturas: oc, olhos compostos; p, probóscide; ant- antena; ped- pedicelo; plp- palpo maxilar; ar- arista. **Escala:** 2mm.

4.2 Desenvolvimento intrapuparial a 32°C

A emergência de *Peckia (Euboettcheria) collusor* ocorreu em 228 horas, correspondente a 9,5 dias. O surgimento das estruturas morfológicas foi detalhado de acordo com a fase e tempo de desenvolvimento, assim como registrou-se imagens das estruturas (Figura 12).

Pupariação (0h): A larva a partir desse momento é chamada de pré-pupa, onde ocorre invaginação da cabeça e o corpo se apresenta de forma oval, popularmente conhecido como formato de “barril”. A pré-pupa possui uma coloração esbranquiçada e se apresenta ainda uma estrutura muito semelhante a larval.

Pré-pupa (3h – 36h): Durante esse período a dissecação é dificultada pois as células da pupa ainda não se diferenciaram da cutícula endurecida e escurecida que forma o pupário. O corpo da pré-pupa, totalmente esbranquiçado, apresenta segmentações que seguem o mesmo padrão encontrado no pupário, evidenciando a delimitação do pupário onde ainda não ocorreu diferenciação das células dos tecidos de pupário e pupa. Quando a dissecação for facilitada pelo desprendimento total da epiderme da pupa e o pupário, a pré-pupa se tornará uma pupa.

Pupa criptocefálica anterior (15h - 42h): Dissecação facilitada pela diferenciação das células da pupa propriamente dita e pupário, sendo assim, tecidos distintos. A pupa apresenta a cabeça totalmente invaginada e projeções dos apêndices torácicos, como pernas, emergindo do ápice e cobrindo até $\frac{1}{4}$ do corpo. Porém estes são ainda muito primitivos e sem nenhuma diferenciação e/ou segmentação. A observação do esqueleto céfalo-faríngeo é possível, porém somente como resquício do período larval.

Pupa criptocefálica posterior (24h – 60h): Corpo da pupa ainda apresentando uma coloração esbranquiçada específica da fase. A cabeça permanece internalizada no corpo e as projeções dos apêndices torácicos, que anteriormente compreendiam somente a porção mais apical, se estende até a mais de $\frac{1}{4}$ do corpo. Estruturas ainda indiferenciadas, formando uma grande massa de células.

Pupa Fanerocefálica (30h – 138h): Durante este momento, a cabeça se encontra completamente evertida e apêndices torácicos maiores distinguíveis, porém ainda sem maiores diferenciações, como segmentações e cerdas ou veias em asas. Pode ser observado olhos e aparelho bucal ainda muito imaturos, com coloração branco leitosos e em corrente diferenciação. Porção abdominal diminuta ainda formada por uma aglomerado de células, esbranquiçado e sem cerdas. Tórax ainda não segmentado. A partir de 60h os espiráculos anteriores se encontram posicionados latero-anteriormente, exibindo uma coloração amarelada.

Apólise pupa-adulto (108h – 168h): Início da diferenciação dos apêndices torácicos como pernas e asas. Pernas bem formadas, começam sua segmentação, dando origem posteriormente a coxa, trocanter, fêmur, tíbia, tarso e pós-tarso. A região do aparelho bucal apresenta protuberâncias que posteriormente vão originar os palpos maxilares. Em 138h, se inicia a segmentação de abdômen e tórax. No mesmo horário, ocorre a presença de cerdas nas pernas e gena, assim como início de diferenciação de palpos maxilares e pulvilos. Nessa fase a morfologia do inseto adulto já pode ser observada na pupa, sendo necessária apenas a diferenciação das estruturas. Em 144h, pode ser observada a presença de antena localizada no ápice da região da cabeça.

Adulto farato (132h-222h): Início da pigmentação de olhos, se apresentando primeiramente amarelados entre 132h e 168h. Após esse tempo, a coloração de olhos passa a ser rosada, entre 138h e 180h. A partir de 180h todos os adultos faratos apresentam olhos de cor vermelha, até sua emergência em 228h (Figura 13). Em 162h, ocorre o escurecimento de asas, presença de triângulo ocelar, amarelamento de quatro faixas no dorso, assim como no último

tergito abdominal, fronte, parafaciália, parafrontália e gena. O aparelho bucal apresenta-se diferenciado pela coloração avermelhada do conjunto labro-labela. No momento 168h, é possível observar arista ainda sem plumas na antena. Em relação a quetotaxia, ocorre presença de quatro pares de cerdas apicais no escutelo, assim como na região central do tórax na visão dorsal. Cerdas também são observadas acompanhando o contorno de asas, no abdômen, nas coxas, na fronte e parafrontália. Pares de cerdas verticais interna e externa na região do ápice da cabeça. Após seis horas, a arista anteriormente nua, se apresenta plumosa. Em 174h as cerdas das pernas já se encontram bem alongadas, conferindo coloração escura intensa para a estrutura. Em 180h, o palpo maxilar já está completamente desenvolvido. É possível observar o escurecimento de três faixas no tórax e antena que se desloca em direção ao meio da cabeça. Começa diferenciação de estruturas genitais ainda rudimentares. Em 198h, antena se apresenta completamente pigmentada e balancim de coloração leitosa e bem diferenciado. Ainda em 198h, o aparelho genital se encontra bem formado, evidenciando diferenças entre machos e fêmeas em relação a terminalia. Em 228h, o adulto já se encontra totalmente formado.

Imago (228h): Esse momento marca o fim do desenvolvimento intra-puparial e culmina na emergência de adultos completamente formados (Figura 14).



Figura 12: *Peckia (Euboettcheria) collusor* nas etapas do desenvolvimento intrapuparial em 32 °C: (A) Pré-pupa de 12h; (B) criptocefálica anterior de 30h em vista dorsal e ventral (pernas pequenas); (C) criptocefálica posterior de 60h em vista dorsal e ventral (pernas atingindo 1/4 do corpo); (D) pupa fanerocefálica de 126h em vista dorsal e ventral (asas e pernas ganhando definição); (E) Apólise pupa-adulto de 144h em vista dorsal e ventral (a estruturas da cabeça começam a ganhar forma); (F) Adulto Farato em 156h com olhos amarelos e asas esbranquiçadas; (G) Adulto Farato de 168h, com os olhos de coloração rosa; (H) Adulto Farato de 180h surgimento de antenas e peças bucais; (I) Adulto Farato de 186h, surgimento das cerdas e definição das três faixas no tórax; (J) Adulto Farato de 192h com olhos vermelhos, com arista na antena e veias; (K) Adulto Farato de 210h indicando estruturas totalmente pigmentadas; (L) Imago de 228 h, com a sutura ptilineal expandida e aparelho genital bem formado. **Escala:** 2mm.



Figura 13: *Peckia (Euboettcheria) collusor* em vista dorsal e ventral sob 32 °C do desenvolvimento da cabeça em relação a coloração dos olhos compostos do farado: (A) olhos amarelos bem definidos em 156h; (C) olhos rosas em 168h; (D) olhos vermelhos em 210h. Abreviaturas: oc, olhos compostos; p, probóscide; ant- antena; plp- palpo maxilar; ar- arista. **Escala:** 2mm.

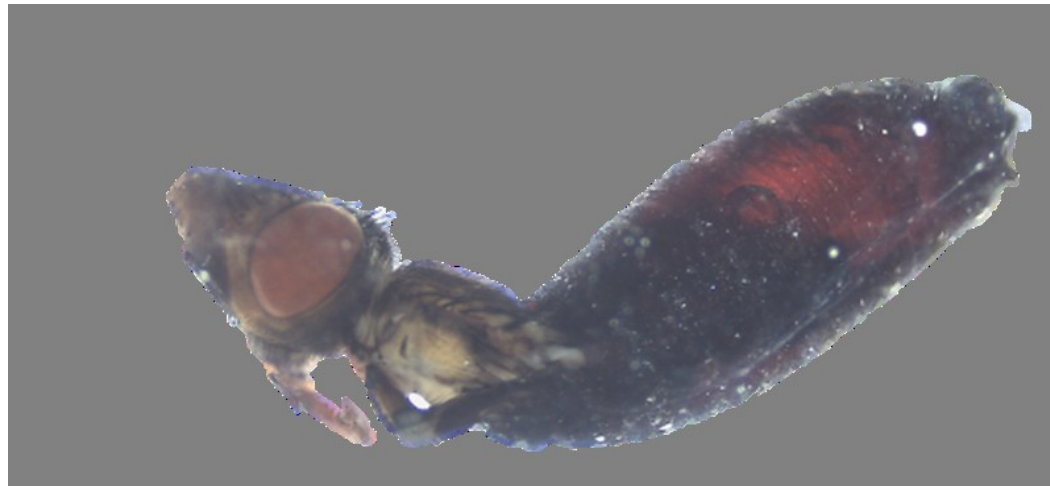


Figura 14: Vista lateral do imago emergindo de *Peckia (Euboettcheria) collusor* sob 32 °C.

5 DISCUSSÃO

O tempo de desenvolvimento dos dípteros principalmente os muscoides se dá de forma diferente entre as espécies, e essa diferença acaba sendo comumente encontrada, uma vez que as espécies divergem entre si, além dos fatores externos associados a criação, podendo ser o substrato ou até mesmo questões geográficas (RICHARDS et al. 2008, LI et al. 2016). Porém a temperatura é um fator importante para o desenvolvimento de sarcófagídeos, assim como para outras espécies de importância forense (MILWARD-DE-AZEVEDO et al. 1996; VILLET et al. 2006; NASSU et al. 2014). Sabendo-se disso o estudo sob diferentes temperaturas gera um resultado que pode ser utilizado em diversas regiões, assim como no caso do corpo vir a ser encontrado em lugares que causem um aumento ou diminuição da temperatura, como mala de carros, enterrados ou em ambiente fechado, através de uma análise mais próxima do ambiente da cena do crime e com uma maior especificidade do desenvolvimento dos imaturos ali presentes.

O período de pupa representa a maior parte do desenvolvimento dos imaturos (BROWN et al. 2015), as principais mudanças morfológicas e fisiológicas na ordem Diptera ocorrem entre a metamorfose da larva até a emergência do adulto (MA et al. 2015), por ser o mais longo período o estágio pupal apresentará um maior número de características o que o torna uma melhor escolha para se obter uma estimativa mais precisa do IPM (BROWN et al. 2015).

Os trabalhos do período larval (INTRONA et al. 1998; STARKEBY, 2001; OLIVEIRA-COSTA e MELLO-PATIU, 2004; ARNALDOS et al. 2005; SUKONTASON et al. 2005 ; KOSMANN et al. 2011; YING et al. 2013; VAIRO et al. 2015; RAMOS PASTRANA e WOLFF, 2017) quando comparados com os de pupal das principais famílias de importância forense possuem uma descrição mais antiga na literatura (KARABEY E SERT, 2014; PROENÇA et al. 2014; MA et al. 2015; BROWN et al. 2015; BARROS-CORDEIRO et al. 2016; HALL et al. 2017; RAMOS-PASTRANA et al. 2017; FLISSAK E MOURA, 2018; ZHANG et al. 2018), sendo o único trabalho com sarcophagidae o de *Peckia Pattonella intermutans* (WALKER, 1861) e *Peckia Sarcodexia lambens* (Wiedemann, 1830) (CUNHA, 2014).

Peckia (Euboettcheria) collusor através da análise de seu desenvolvimento apresentou resultados semelhantes em aspectos importantes como temperatura, umidade e fotoperíodo quando comparado com aos das espécies já estudadas, fator esse que corrobora e confere uma maior veracidade para a utilização dos dados obtidos, pois a comparação entre estudos da bionomia ou desenvolvimento permitem fazer uso dos dados do presente estudo como ferramenta para estimar o intervalo pós-morte. Porém, ainda é necessário um melhor detalhamento das metodologias usadas, devido aos fatores que podem exercer influência nos resultados, uma vez que os trabalhos de desenvolvimento intrapuparial da família Sarcophagidae até o momento realizados apresentam metodologias distintas. O desenvolvimento intrapuparial de *Sarcophaga bullata* Parker, 1916 (FRAENKEL E BHASKARAN 1973; SIVASUBRAMANIAN E BIAGI 1983), não se aproxima tanto da metodologia do presente estudo quanto a da utilizada por Cunha, 2014.

Cunha, 2014 trabalhou com duas espécies de *Peckia*, *Peckia intermutans* e *Peckia lambens* analisadas sob condições controladas em relação à temperatura, fotoperíodo e umidade. *Peckia (Euboettcheria) collusor* quando comparada com as duas citadas apresentou um comportamento semelhante devido ao desenvolvimento mais rápido na temperatura mais

elevada, assim como a fase de adulto farado correspondendo a maior parte do período intrapupal.

A fase de adulto farado é a mais longa em ambas temperaturas, sendo assim um grande número de mudanças ocorre nessa etapa. Muitos autores buscam e evidenciam a necessidade de ter um padrão ao classificar uma determinada fase (MARTÍN-VEGA D et al., 2016), porém o estudo realizado por Cunha, 2014 com Sarcophagidae e até mesmo com outras famílias, faz a caracterização pela pigmentação gradual dos olhos (PUJOL-LUZ E BARROS-CORDEIRO, 2012; BARROS-CORDEIRO et al. 2014), cita, porém, que por ser uma fase longa não são as únicas características morfológicas ali se desenvolvendo, sendo assim possível que alguns estudos não detalhem da forma como foi realizada no atual.

Os imagos de *P. intermutans* emergiram com 318 horas em 23°C de desenvolvimento, os de *P. lambens* com 234 horas em 21°C; 126 horas em 26°C e 114 horas em 31°C, tais resultados mostram uma variação de tempo de desenvolvimento entre as espécies do mesmo gênero, atentando assim para a importância de se analisar isoladamente cada espécie, assim como em condições diferentes devido ao fato de um aceleração do surgimento de estruturas culminando em um nascimento mais rápido quando estiverem se desenvolvendo em uma temperatura mais alta. *Peckia (Euboettcheria) collusor* apresentou um tempo de desenvolvimento menor em relação a essas espécies, pois seus imagos emergiram com 288 horas em 27°C e com 228 horas em 32°C, assim como *P. chrysostoma* Wiedemann, 1830 e *P. ingens* Walker, 1849, que tiveram o tempo de desenvolvimento diferente das espécies do seu mesmo gênero quando estudadas (FERRAZ, 1995).

Peckia lambens em 26°C obteve uma viabilidade de 97, 5% e a 31°C 93% de viabilidade larval, enquanto que a viabilidade pupal respectivamente foi de 98% e 87% (CUNHA, 2014). Assim, nesse atual estudo também é possível através da taxa de mortalidade de 1,9% em 27°C e de 2,9% em 32°C para *Peckia (Euboettcheria)collusor* determinar que a temperatura próxima de 25 °C é a melhor para o seu desenvolvimento. Para a escolha da temperatura e umidade é necessário entender que para os artrópodes a melhor temperatura é aquela que possibilitará seu desenvolvimento de forma rápida e eficaz, ou seja, gerar novos indivíduos, estima-se que essa temperatura ideal fique entre 15 a 38 °C (RODRIGUES, 2004).

A temperatura de 27 °C, além de ser uma temperatura dentro do considerável ideal é a temperatura média do local de estudo, enquanto que 32 °C é uma temperatura considerável limite para que se evite danos relacionados a temperatura, porém a temperatura está atrelada a umidade, cujo a faixa ideal para sobrevivência dos insetos seja entre 40 e 80 % (RODRIGUES, 2004), com base nisso determinou-se a umidade de 60% para esse estudo. *Peckia trivittata* Curran, 1927, quando analisada na temperatura de 16 °C que chega muito próximo do que não é considerável ideal para os artrópodes teve o seu desenvolvimento interrompido, enquanto que foi completo em 27°C (SALVIANO et al., 1996), corroborando para a temperatura escolhida.

Peckia (Euboettcheria)collusor no trabalho de SILVA CHAGAS., 2018 foi estudada afim de analisar a sua bionomia considerando suas etapas de desenvolvimento em diferentes temperaturas. Ao analisar o estágio pupal o autor trabalhou com as temperaturas de 22°C e 27°C com umidade relativa de 60 ± 10%, e os resultados encontrados corroboram com os descritos no presente estudo em relação ao tempo de duração, devido em 27°C apresentar a princípio uma duração média de 12,5 ±1,3 dias conferindo assim uma maior veracidade de que seu ciclo nessa condição apresentará respostas próximas a essa faixa de tempo. Da mesma forma, ao analisar 22°C apresentou um ciclo mais longo de 20,2 ±2,2, evidenciando-se uma diminuição na aceleração das etapas sob baixas temperaturas.

Diferentes fatores externos podem causar alterações nos resultados desse tipo de trabalho realizado (KAMAL 1958), para a utilização dos dados obtidos é importante entender

a metodologia que foi executada no estudo para que seja aquela que mais se aproxime do cenário em que o pesquisador, perito ou pessoal pretenda associar o estudo a resolução de um caso ou estudo, para obtenção de um resultado mais verídico.

A complexidade de estimar a duração das fases dos imaturos, ocorre devido as famílias e até mesmo as espécies de uma mesma apresentarem período pupal com diferentes durações, *P. (E) collusor* na temperatura de 27°C quando comparada com outras espécies da família apresenta uma variação entre 10 a 20 dias com base nos estudos realizados sobre a duração do tempo pupal (FERRAZ 1995; DA-SILVA-XAVIER et al. 2015).

Uma família também citada quando se busca dados sobre trabalhos de cunho forense é a família Muscidae, porém assim como Sarcophagidae existem poucos trabalhos em relação ao desenvolvimento intrapuparial, tendo descrições de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (SIRIWATTANARUNGSEE et al. 2005), e *Ophyra aenenscens* (wiedemann 1830) (Diptera:Muscidae) realizado por LOPES, 2019. O trabalho de LOPES, 2019 traz a mesma metodologia aqui realizada, e como esperado os resultados corroboram os nossos, onde em relação a emergência dos adultos demonstraram que a temperatura de 27°C e 32°C apresentaram os seus mesmos padrões de influência tendo sido respectivamente a emergência do adulto às 174 horas e 126 horas.

Os estudos de período intrapuparial em grande maioria são da família Calliphoridae referente as espécies *Crysomya putoria* (Wiedemann, 1830) (PROENÇA et al. 2014), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826) (WANG et al. 2018), *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) (HALL et al. 2017), *Crysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (SIRIWATTANARUNGSEE et al. 2005). Os resultados desses estudos evidenciam um estágio pupal mais curto em espécies pertencentes a família Calliphoridae quando comparada com as da Sarcophagidae, além de sua reprodução, identificação e criação serem facilitadores para elaboração de estudos sobre seus aspectos, entretanto conhecer as espécies que possuem um estágio pupal maior é essencial para aplicação em casos em que o cadáver seja encontrado após muitos dias de sua morte, pois as de desenvolvimento mais curto poderão já terem emergidos.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo obteve através das análises 16 características chaves que ocorrem durante o estágio de pupa, apontando o momento do surgimento, forma e coloração detalhadamente, assim como as 8 fases descritas na literatura que ocorrem durante o desenvolvimento intrapuparial, as caracterizando através das principais mudanças que ocorrem em cada uma, através de fotos que possibilitam uma forma prática de observação.

O estudo através de seus resultados gera uma ferramenta que é capaz de auxiliar na estimativa do intervalo pós-morte de um corpo, utilizando as características morfológicas intrapupariais descritas, sendo de grande importância para pesquisadores, peritos, assistente técnicos ou entomólogos forenses, para que possam de forma confiável aplicar essas informações em estudos e casos, uma vez que que o corpo ou a cena não são capazes de gerar informações suficientes para solucionar o caso, contribuindo para a interdisciplinaridade entre as áreas que é algo que vem cada vez sendo mais comum e necessário para a qualidade de estudos e resultados.

As características aqui presentes sobre a *Peckia (Euboettcheria) collusor* tornam-se um fator de incentivo e colaboração para os estudos entorno da sua família, por apresentar alta frequência em casos forenses, sendo o estudo do desenvolvimento intrapuparial, um método para fins práticos de baixo custo para a sua aplicabilidade de sua metodologia em laboratórios de perícia.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHID SMM. **Apostila Didática em Entomologia Veterinária**/ Sílvia Maria Mendes Ahid. - Mossoró: UFERSA 2009. 80p.

AMORIM DS, SILVA VC, BALBI MPIA. Estado do conhecimento dos Diptera neotropicais. Principais Coleções Brasileiras de Diptera: Histórico Taxonômico e Situação Atual. In: Costa, C.; Vanin, S. A.; Lobo J. M. & Melic, A. eds. **Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática**. Zaragoza, Pribes, Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA) e Cytel 2002. p. 29-36.

ÁVILA, F.W. & GOFF, M.I. Arthropod succession patterns into burnt carrion in two contrasting habitats in hawaii islands. **Journal of forensic sciences**, vol xliii, n.3, p.581-586, 1998.

ARNALDOS, M.I.; GARCÍA, M.D.; ROMERA, E.; PRESA, J.J.; LUNA, A. 2005. Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. **Forensic Science International**, 149: 57–65.

BARBOSA RR, MELLO-PATIU CA, MELLO RP, QUEIROZ MMC (2009) Novos registros de dípteros calíptros (Fanniidae , Muscidae e Sarcophagidae) associados à decomposição de suínos domésticos no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 104: 923–926.

BARRETO M, BURBANO M E, BARRETO B. Flies (calliphoridae, muscidae) and beetles (silphidae) from human cadavers in cali, colombia. **MEM INST OSWALDO CRUZ** 97: 137-138. 2004.

BARROS-CORDEIRO KB, BÃO SN, PUJOL-LUZ JR. Intra-Puparial Development of the Black Soldier-fly, *Hermetia illucens*. **Journal of Insect Science**. julho de 2014;14(83):1–10.

BARROS-CORDEIRO KB, PUJOL-LUZ JR, NAME KPO, BÃO SN. Intra-puparial development of the *Cochliomyia macellaria* and *Lucilia cuprina* (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia**. outubro de 2016;60(4):334–40.

BARROS, R.M., MELLO-PATIU, C.A., PUJOL-LUZ, J.R. 2008. Sarcophagidae (Insecta, Diptera) associados à decomposição de carcaças de sus scrofa Linnaeus (Suidae) em área de Cerrado do Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia** 52(4):606-609.

BERMÚDEZ S, ESPINOSA J, CIELO A, CLAVEL F, SUBÍA J, BARRIOS S, MEDIANERO E. **Incidence of myiasis in panama during the eradication of *cochliomyia hominivorax* (coquerel 1858, diptera: calliphoridae) (2002-2005)**. Mem inst Oswaldo Cruz 102(6):675–679. 2007.

BEUTER, L., AND J. MENDES. Development of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) in different pig tissues. **Neotrop. Entomol.** 43: 426–430. 2013.

BHARTI, M. & D. SINGH, 2003. Insect faunal succession on decaying rabbit carcasses in Punjab, India. **Journal of Forensic Sciences**, 48:1133-43.

BORROR DJ, DELONG DM. **Introduction to the Study of Insects**. In: estudo dos insetos (7ª Ed) Cengage Learning 2011.

BROWN, K.; THORNE A.; HARVEY M. 2015. *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) pupae: a timeline of external morphological development and a new age and PMI estimation tool. **Int. J. Leg. Med.** 129: 835–850.

BUENAVENTURA, E., CAMACHO, G.C., GARCÍA, A.G., WOLFF, M.E. 2009. Sarcophagidae (Diptera) de importancia forense em Colombia: claves taxonômicas, notas sobre su biología y distribución. **Revista Colombiana de Entomología** 35(2):189-196.

BUENAVENTURA, E., PAPE, T. 2013. Revision of the world genus *Peckia* Robineau-Desvoidy (Diptera: Sarcophagidae). **Zootaxa** 3622(1):001-087.

BRUSCA, R. C.; BRUSCA G. J. (ed). **Invertebrados**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2 ed, 2007. 968p.

BYRD JH, CASTNER JL (2010) **Forensic entomology**: the utility of arthropods in legal investigations. New York: CRC Press 2nd ed.

BYRD, J.H. & BUTLER, J.F. Effects of temperature on *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) development. **Journal of medical entomology**, 33, 901–905. 1996.

BYRD, J.H.; CASTNER, J. L. **Insects of Forensic Importance**. In: _____. (ed). **Forensic Entomology– The utility of arthropods in legal investigations**. USA: CRC Press, 2001. p. 43-80.

CAMPOBASSO CP, VELLA GD, INTRONA F. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science Intern.** 2001. 120: 18-27.

CARVALHO CJB, MELLO-PATIU CA. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. **Rev. Bras. Entomol.** 2008. 52(3): 390-406.

CARVALHO, M. L. et al. Observations on the succession patterns of necrophagous insects onto a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil. Anil Aggrawal's Internet **Journal of Forensic Medicine and Toxicology**, New Delhi, v. 5, n. 1, p. 33-39, Jan./June 2004.

CARVALHO L.M.L. E A.X. LINHARES. 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. **J. Forensic Sci.** 46: 604-608.

CARVALHO, L.M.L., THYSSEN, P.J., LINHARES, A.X. & PALHARES, F.B. (2000) **A Checklist of arthropods associated with carrion and human corpses in Southeastern Brazil**. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95, 135-138.

CARVALHO, S.L. **redescrição das larvas de terceiro ínstar de cinco espécies de dípteros califorídeos (insecta, diptera) de importância para entomologia forense.** Dissertação mestrado. Programa de pós-graduação em Biologia animal da universidade de Brasília, 2006.

CATTS EP, GOFF ML. Forensic Entomology in Criminal Investigations. *Annu Rev Entomol.* 1992; 37:22.

CARTER, D.O.; D. YELLOWLEES & M. TIBBETT. Cadaver decomposition in terrestrial gapecosystems. *Naturwissenschaften* 94: 12-24. 2007.

CERRETTI P, STIREMAN JO, PAPE T, O'HARA JE, MARINHO MAT, ROGNES K, ET AL. First fossil of an oestroid fly (Diptera: Calyptratae: Oestroidea) and the dating of oestroid divergences. *PLoS ONE.* 2017. 12(8).

CHEN CP, LEE-JR RE, DENLINGER DL. A comparison of the responses of tropical and temperate flies (Diptera: Sarcophagidae) to cold and heat stress. *J Comp Physiol B.* 1990. 160: 543-547.

CUNHA AMJS. **Desenvolvimento intra-pupal de *Peckia intermutans* e *Peckia lambens* (Diptera, Sarcophagidae)** [Dissertação de Mestrado]. [Brasília-DF]: Universidade de Brasília; 2014.

DA-SILVA-XAVIER A, BARBOSA RR, BARBOSA CG, QUEIROZ MMC. Bionomy of two flies of sanitary and forensic importance: *Peckia* (Sarcodexia) *lambens* (Wiedemann) and *Oxysarcodexia amorosa* (Schiner) (Diptera, Sarcophagidae). *Rev Bras Entomol* 2015. 59: 229–233.

DENNO RF, COTHRAN WR. Competitive interactions and ecological strategies of Sarcophagid and Calliphorid flies inhabiting rabbit carrion. *Ann. Entomol. Soc. Ame.* 1976. 69: 109113.

DIAS, E.S.; NEVES, D.P.; LOPES, H.S. Estudo sobre a fauna de Sarcophagidae (Diptera) de Belo Horizonte – Minas Gerais. I – Levantamento Taxonômico e Sinantrópico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79(1):83-90, 1984.

ESTRADA, D. A.; GRELLA, M. D.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X. Taxa de Desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em dieta artificial acrescida de tecido animal para uso forense. *Neotropical Entomology*, v. 38, p. 203-207, 2009.

FARIA, L.S.; PASETO, M.L.; FRANCO, F.T.; PERDIGÃO, V.C.; CAPEL, G.; MENDES, J. Insects breeding in pig carrion in two environments of a rural area of the State of Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Entomology*, 42:216-222, 2013.

FERRAZ MV. **Larval and pupal periods of *Peckia chrysostoma* and *Adiscochaeta ingens* (Diptera: Sarcophagidae) reared under laboratory conditions.** *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1995. 90: 611-614.

FLISSAK JC, MOURA MO. Intrapuparial Development of *Sarcopenia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae) for Postmortem Interval Estimation (PMI). **Journal of Medical Entomology**. 28 de fevereiro de 2018;55(2):277–84.

FONTOURA, P., OLIVEIRA-COSTA, J., RIBEIRO-ROCHA, A. 2013. **Identificação II – Imaturos de Diptera**. In: “Insetos peritos” A Entomologia Forense no Brasil. 1 ed. Campinas, SP: Millennium Editora, 462p.

FRAENKEL G, BHASKARAN G. Pupariation and Pupation in Cyclorrhaphous Flies (Diptera): Terminology and Interpretation. **Annals of the Entomological Society of America**. 15 de março de 1973;66(2):418–22.

FREIRE, O. 1923. Fauna cadavérica brasileira. **Revista de Medicina** 3:15–40.

FURLANETTO, S.M.P., M.L.C. CAMPOS & C.M. HÁRSI 1984. Microrganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) in Brasil. **Rev. Microbiol.**, 15 (3): 170-174.

GARCÉS P, BERMUDEZ S, QUINTERO G. Determinación de la entomofauna asociada a carcasas de cerdos domésticos vestidos (*Sus scrofa*) en el puerto de Vacamonte, Providencia de Panamá. **Tecnociencia** 2004. 6 (2): 59-74.

GOFF, M.L. estimation of postmortem interval using arthropod development and succession patterns. **Forensic science review**. Vol v, p. 81-94, 1993.

GRACZYK, T.; KNIGHT, R.; TAMANG, L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. **Clinical microbiology reviews**, Washington, v. 1, n. 18, p. 128-132, 2005.

GREENBERG, B. (ed). **Flies and diseases. Ecology, classification and biotic association, Princeton**: Princeton University, v. 1, 1 ed, 1971. p. 856.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no brasil. **A hora veterinária**, Porto alegre, ano 21, n. 125, p. 8-10, 2002.

GULLAN P.J., CRANSTON P.S. **Insetos - Fundamentos da Entomologia**. 5ª edição. Guanabara Koogan; 2017.

GUIMARÃES JH, PAPAVERO N. Myiasis in man and animal in the Neotropical Region. Ed **Plêiade**, Curitiba 1999.

GRIMALDI, D.; ANGEL, S. E. (ed). **Evolution of the insects**. Cambridge: Cambridge University Press, 1 ed, 2005. p. 755.

HALL, M. J. R.; SIMONSEN, T. J.; MARTÍN-VEGA, D. The ‘dance’ of life: visualizing metamorphosis during pupation in the blow fly *calliphora vicina* by x-ray video imaging and micro-computed tomography. **Royal society open science**, v. 4, n. 1, p. 160699, jan. 2017.

INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C.P.; DI-FAZIO, A. 1998. Three case studies in forensic entomology from southern Italy. **J. Forensic. Sci.** 43: 210–214 .

INTRONA F, CAMPOBASSO CP, GOFF ML (2001) Entomotoxicology. **ForensicSci Int**120:42-47.

ISHIJIMA, H. 1967. Revision of the third stage larvae of synanthropic flies of Japan (Diptera: Anthomyiidae, Muscidae, Calliphoridae and Sarcophagidae). **Japanese Journal of Sanitary Zoology** 18(2/3):46-100.

KAMAL AS. Comparative study of thirteen species of sarcosaprophagus Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) 1. Bionomics. **Ann Entomol Soc Am** 1958. 51: 261-271.

KARABEY T, SERT O. The analysis of pupal development period in *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) forensically important insect. *International Journal of Legal Medicine*. 2014;132(4):1185–96.

K.B. BARROS-CORDEIRO. Intra-puparial development of the *Cochliomyia macellaria* and *Lucilia cuprina* (Diptera, Calliphoridae). **Rev. Bras. Entomol.** Vol.60 no.4 são paulo oct./dec. 2016.

KEH, B. 1985. Scope and applications of forensic entomology. **Annual Review of Entomology** 30: 137–154.

KOSMANN, C., M. P. MACEDO, T. A. F. BARBOSA, AND J. R. PUJOL-LUZ. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) and *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) used to estimate the postmortem interval in a forensic case in Minas Gerais, Brazil. **Rev. Bras. Entomol.** 55: 621–623. 2011.

LI, L; WANG, Y; WANG, J. 2016. Intra-puparial development and age estimation of forensically important *Hermetia illucens*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**. 19: 233-237.

LIMA VP, SERRA AL. Análise morfológica comparada da venação das asas da ordem Diptera (Linnaeus, 1758 –Arthropoda, Insecta). **Com Scientiae Saúde** 2008. 7 (4): 525-533.

LIU D, GREENBERG B. Immature stages of some flies of forensic importance. **Ann Entomol Soc Am**. 1989. 82: 80-93.

LOPES. **Desenvolvimento e caracterização intrapuparial de *Ophyra aenescens* (Wiedemann, 1830) (DIPTERA: Muscidae), sob diferentes temperaturas, em condições de laboratório;** (Dissertação de Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ, 2019.

LOPES, H.S. 1982a. The importance of the mandible and clypeal arch of the first larvae in the classification of the Sarcophagidae (Diptera). **Revista Brasileira de Entomologia**, 26(3/4):293-326.

LOPES HS. Two new genera of neotropical Sarcophagidae (Diptera). **Rev Bras Biol** 1973. 33(2): 193-199.

LOUREIRO MS, OLIVEIRA VC, D'ALMEIDA JM. Desenvolvimento pós-embrionário de *Pattonella intermutans* (Thomson) (Diptera: Sarcophagidae) em diferentes dietas. **Rev Bras Entomol.**2005. 49: 127-129.

MA, T., HUANG, J., WANG, J.F., 2015. Study on the pupal morphogenesis of *Chrysomya rufifacies* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae) for post-mortem interval estimation. **Forensic Sci. Int.** 253, 88–93.

MAC ALPINE, J. F. et al. (Coord.) Manual of Nearctic Diptera v. 1. **Res. Branch. Agric.** Canada Monogr.27: 74p. 1981.

MARTÍN-VEGA D, HALL MJR, SIMONSEN TJ. Resolving Confusion in the Use of Concepts and Terminology in Intrapuparial Development Studies of Cyclorrhaphous Diptera. **Journal of Medical Entomology.** novembro de 2016;53(6):1249–51.

MÉNDEZ, J. & PAPE, T. 2002. Biology and immature stages of *Peckia gulo* (Fabricius, 1805) (Diptera: Sarcophagidae). **Studia Dipterologica**, 9: 371–374.

MICHELSSEN V, PAPE T. Ulurumyiidae –a new family of calyptrate flies (Diptera). **Syst. Entomol.** 2017. 42: 826–836.

MILWARD-DE-AZEVEDO, E.V.; CARRARO, V.M.; MARTINS, C.; MOREIRA, O.I.; CRUZ, M. & SERAFIN, I. 1996. Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) em diferentes temperaturas, sob condições experimentais. Parte 1. 1996. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** 39 (4): 793-798.

MONTEIRO-FILHO ELA, PENEIREIRO JL. Estudo da decomposição e sucessão sobre uma carcaça animal numa área do estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia.** 1987. 47: 289–295.

MUNCUOGLU, KY, J MILLER, M MUMCUOGLU, M FRIGER AND M TARSHIS. 2001. Destruction of bacteria in the digestive tract of the maggot of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology** 38:161-166.

NASSU, M.P.; THYSSEN, P.J. & LINHARES, A.X. 2014. Developmental rate of immatures of two fly species of forensic importance: *Sarcophaga* (*Liopygia*) *ruficornis* and *Microcerella halli* (Diptera: Sarcophagidae). **Parasitology Research** 113: 217-222.

NUORTEVA P (1977) Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. In: Tedeschi CG, Eckert WG, Tedeschi LG (ed). Forensic medicine: a study in trauma and environmental hazards. Philadelphia, London, Toronto: W.B. **Saunders Company** 2:1072-1095.

OLIVEIRA-COSTA, J. 2007. **Entomologia Forense.** Quando os insetos são vestígios. Editora Millenium. Campinas, São Paulo.

OLIVEIRA-COSTA, J. et al. **Entomologia forense: quando os insetos são vestígios**. 3. ed. Campinas: Millennium, 2011.

OLIVEIRA-COSTA J, MELLO-PATIU CA. Application of forensic entomology to estimate of the postmortem interval (pmi) in homicide investigations by the Rio de Janeiro departament in Brazil. **Aggrawal's internet journal of forensic medicine and toxicology**, 5: 40-44. 2004.

OLIVEIRA-COSTA J, MELLO-PATIU CA, LOPES SM. Dípteros muscóides associados com cadáveres humanos no local da morteno estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Bol. Mus. Nac.** 2001. 464: 16.

OLIVEIRA-DA-SILVA, A.; R. ALE-ROCHA & J. A. RAFAEL. 2006. Bionomia dos estágios imaturos de duas espécies de *Peckia* (Diptera, Sarcophagidae) em suíno em decomposição em área de floresta no norte do Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia** 50: 524-527.

OLIVEIRA, T. C.; VASCONCELOS, S. D. Insects (Diptera) associated with cadavers at the Institute of Legal Medicine in Pernambuco, Brazil: Implications for forensic entomology. **Forensic Science International**, v. 198, p. 97-102, 2010.

OLIVEIRA VC, D'ALMEIDA JM, PAES JM, SANAVRIA A. Population dynamics of calyprate Diptera (Muscidae and Sarcophagidae) at the Rio-Zoo Foundation, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. **Braz J Biol** 2002. 62: 191-196.

PANIGALLI, G.; SOLIGO, T. K. Diversidade de Insecta (Arthropoda) associada à carcaça de *Sus scrofa* L. em um fragmento de mata Atlântica de Xanxerê, Santa Catarina. **Unoesc & Ciência**, Joaçaba, v. 4, n. 1, p. 15-26, 2013.

PAPE, T., BLAGODEROV, V. & MOSTOVSKI, M.B. 2011. Order Diptera Linnaeus, 1758, p. 222229. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.) Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. **Zootaxa**, 3148, 237 p.

PAPE T, THOMPSON FC. **Systema Dipteriorum, Nomenclator Status Statistics, version 1.10. Copenhagen, Natural History Museum of Denmark, BioSystematics Database of World Diptera, version 1.5**. 2013. Disponível em: <http://www.diptera.org/FamilyTables.php> Acessado em: 27/10/2020.

PAVILLARD, E.R.; Wright, E.A. An antibiotic from maggots. **Nature**. v.180, p.916-917.74. 1957.

PINHEIRO DS, REIS AAS, JESUÍNO RSA, SILVA H MV. Variáveis na estimativa do intervalo pós-morte por métodos de entomologia forense. **Enc Biosf** 2012. 8(14).

PROENÇA, B. ET AL. Intrapuparial development of *chrysomya putoria* (diptera: calliphoridae). **journal of medical entomology**, v. 51, n. 5, p. 908–914, 1 set. 2014.

PUJOL-LUZ, J.R., ARANTES, L.C. & CONSTANTINO, R. 2008. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**52: 485–492.

PUJOL-LUZ JR, BARROS-CORDEIRO KB. Intra-puparial development of the females of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia**. 2012;4.

PUJOL-LUZ, J.R.; MARQUES, H.; RODRIGUES. A.U.; RAFAEL, J.A.; SANTANA, F.H.A.; CHAVES, L. & CONSTANTINO, R. 2006. A forensic entomology case from the Amazon rain forest. **Journal of Forensic Science** 51: 1-3.

RAMOS-PASTRANA Y, LONDOÑO CA, WOLFF M. Intra-puparial development of *Lucilia eximia* (Diptera, Calliphoridae). **Acta Amazonica**. março de 2017;47(1):63–70.
RESH, VH, CARDÉ RT. Encyclopedia of Insects, 1 ed. **Academic Press, San Diego**. 2003. 1266p.

RAMOS-PASTRANA; Y.; WOLFF, M. 2017. Postmortem interval estimation based on *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) in a forensic case in the Andean Amazon, Caquetá, Colombia. **Acta Amaz**. 47: 369-374.

RIBEIRO, M. J. R; DIAS, M. F. D.; TESHIMA, E.; BARBONI, A. R. Insalubridade Ambiental e aspectos sociais associados a patógenos intestinais isolados de dípteros. **Revista engenharia sanitária e ambiental**, rio de janeiro, v. 6, n. 1, p. 83-90, 2011.

RICHARDS, C.S.; PATERSON, I.D & VILLET, M.H. 2008. Estimating the age of immature *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae), correcting for temperature and geographical latitude. **International Journal of Legal Medicine**, 122:271-279.

RICHARDS CS, SIMONSEN TJ, ABEL RL, Hall MJR, Schwyn DA, Wicklein M. Virtual forensic entomology: Improving estimates of minimum post-mortem interval with 3Dmicro-computed tomography. **Forensic Science International**. julho de 2012;220(1–3):251–64.

RODRIGUES, W. C. Fatores que influenciam no desenvolvimento dos insetos. **Info Insetos**, v. 1, n. 4, p. 1-4, 2004. Disponível em: <www.entomologistasbrasil.cjb.net>. Acesso em: 20/04/2021.

SALAZAR-SOUZA M, COURI MS, AGUIAR VM. Chronology of the Intrapuparial Development of the Blowfly *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae):Application in Forensic Entomology. **Journal of Medical Entomology**. 28 de junho de 2018;55(4):825–32.

SALOÑA BORDAS MI, GONZÁLEZ-MORA D. Primera cita de *Liosarcophaga aegyptica* (Salem, 1935) (Diptera; Sarcophagidae) de la Península Ibérica, com descripción de sus fases larvárias II y III, pupario y adultos. **Bol. Soc. Entomol. Arag**. 2005. 36: 251-255.

SALVIANO RJB, MELLO RP, BECK LCNH, ALMEIDA JM. Aspectos Bionômicos de *Squamatoides trivittatus*(Diptera, Sarcophagidae) sob Condições de Laboratório. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1996. 2: 249-254.

SANTOS, JR & CA MELLO-PATIU, 2018. Review of the Brazilian species of *Udamopyga* Hall, 1938 (Diptera: Sarcophagidae), with the description of a new species and a key to males and females. **Zootaxa**, 4508: 1-27.

SHEWELL, G.E. 1987. Sarcophagidae, p. 1159-1186. In: McAlpine, J.F., Peterson, B.V., Shewell, G.E., Teskey, H.J., Vockeroth, J.R. & Wood, D.M. (eds.) **Manual of Nearctic Diptera** vol. 2, Ottawa, Agriculture Canada, vi+657 p.

SHERMAN, R.A., Hall, M.J.R. & Thomas, R. (2000) Medicinal maggots: An ancient remedy for some contemporary afflictions. **Annual Review of Entomology**, 45, 55-81.

SILVA CHAGAS. **Bionomia e desenvolvimento intrapupal de *Peckia (Euboettcheria) collusor* (Curran e Walley, 1934) e *Ravinia belforti* (Prado e Fonseca, 1932) (Diptera: Sarcophagidae), sob condições de laboratório;** (Dissertação de Mestrado em) - Instituto Oswaldo Cruz IOC/FIOCRUZ, 2018.

SMITH KG. **A manual of forensic entomology**. London: Trustees of the Brit. Museum; 1986. 205 p.

SIRIWATTANARUNGSEE, S. ET AL. Morphology of the puparia of the housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) and blowfly, *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). **Parasitology Research**, V. 96, N. 3, P. 166–170, JUN. 2005.

SIVASUBRAMANIAN, P., BIAGI, M. 1983. Scientific note morphology of the pupal stages of the fleshfly, *Sarcophaga bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae). **International Journal Insect Morphology & Embryology** 12 (5/6): 355-359.

SOUZA, A. S. B.; KIRST, F. D.; Kruger, R. F. Insects of forensic importance from Rio Grande do Sul state in southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, p. 641-646, 2008.

STARKEBY, M. 2001. Dead larvae of *Cynomya mortuorum* (L.) (Diptera, Calliphoridae) as indicators of the post-mortem interval—a case history from Norway. **Forensic. Sci. Int.** 120: 77–78.

SUKONTASON, K.L.; NARONGCHAI, P.; SUKONTASON, K.; METHANITIKORN, R.; PIANGJAI, S. 2005. Forensically important fly maggots in a floating corpse: the first case report in Thailand. **J. Med. Assoc. Thai.** 88: 1458–146.

THOMPSON, F. C. Nomenclator Status Statistics. Retrieved January, 2006, from The Diptera site. **The BioSystematic Database of World Diptera**. Disponível em: <http://www.sel.barc.usda.gov/Diptera/names/Status/bdwdstat.htm>. Acessado em: 30/01/2021.

THYSSEN, P. J.; MORETTI, T. C.; UETA M. T.; RIBEIRO, O. B. O papel de insetos (blattodea, diptera e hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos em ambiente domiciliar e peridomiciliar. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 4, p. 1096-1102, 2004.

TRIPLEHORN, C. A.; JONHSON, N. F. (ed). Borror and DeLong's introduction to the study of insects. **Thomson Brooks/Cole**, 7ed, 2004. 888p.

ULLYET, G. C. **Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 234, p. 77-174, 1950.

VAIRO, K.P.; CORREA, R. C.; LECHETA, M. C.; CANEPARO, M. F.; MISE, K. M.; PRETI, D.; CARVALHO, C. J. B.; ALMEIDA, L. M.; MOURA, M. O. 2015. Forensic use of a subtropical blowfly: the first case indicating minimum postmortem interval (mPMI) in Southern Brazil and first record of *Sarconesia chlorogaster* from a human corpse. **J. Forensic Sci.** 60: 257–260.

VAIRO KP, MELLO-PATIU CA, CARVALHO CJB. Pictorial identification key for species of Sarcophagidae (Diptera) of potential forensic importance in southern Brazil. **Rev. Bras. Entomol** 2011. 55(3): 333-347.

VILLET, M.H.; MACKENZIE, B. & MULLER, W.J. 2006. Larval development of carrion-breeding flesh fly, *Sarcophaga (Liosarcophaga) tibialis* Macquart (Diptera: Sarcophagidae), at constant temperatures. **African Entomology** 14 (2): 357-366.

WANG, Y. ET AL. Estimating the age of *Lucilia illustris* during the intrapuparial period using two approaches: morphological changes and differential gene expression. **Forensic science international**, V. 287, P. 1–11, JUN. 2018.

YEATES DK, WIEGMANN BM, COUTNEY GW, MEIER R, LAMBKIN C, PAPE T. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. **Zootaxa** 2007. 1668: 565–590.

YEATES DK, WIEGMANN BM. **Phylogeny and Evolution of Diptera: Recent insights and new perspectives. In:** Yeates DK, Wiegmann BM (eds) *The evolutionary biology of flies*. Columbia University Press, New York 2005, 14-44p.

YING, L.; YAOQING, C.; YADONG, G.; LAGABAIYILA, Z.; LONGJIANG, L. 2013. Estimation of post-mortem interval for a drowning case by using flies (Diptera) in Central-South China: Implications for forensic entomology. **Rom. J. Leg. Med.** 21: 293-298.

ZHANG Y, WANG Y, YANG L, TAO L, WANG J. Development of *Chrysomya megacephala* at constant temperatures within its colony range in Yangtze River Delta region of China. **Forensic Sciences Research**. 2 de janeiro de 2018;3(1):74–82.

ZUMPT, F. (ed). **Myiasis in man and animals in the Old World**. London: Butterworths, 1965. p.