



Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

**REDESCRIBÇÃO DAS LARVAS DE TERCEIRO ÍNSTAR DE CINCO ESPÉCIES DE  
DÍPTEROS CALIFORÍDEOS (INSECTA, DIPTERA) DE IMPORTÂNCIA PARA A  
ENTOMOLOGIA FORENSE**

Luciana de Souza Carvalho

Dissertação de Mestrado

2006

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

**REDESCRIBÇÃO DAS LARVAS DE TERCEIRO ÍNSTAR DE CINCO ESPÉCIES DE  
DÍPTEROS CALIFORÍDEOS (INSECTA, DIPTERA) DE IMPORTÂNCIA PARA A  
ENTOMOLOGIA FORENSE**

Luciana de Souza Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, sob a orientação do Professor Dr. José Roberto Pujol Luz.

Brasília-DF, 2006

Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

**DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**LUCIANA DE SOUZA CARVALHO**

**REDESCRIBÇÃO DAS LARVAS DE TERCEIRO ÍNSTAR DE CINCO ESPÉCIES DE  
DÍPTEROS CALIFORÍDEOS (INSECTA, DIPTERA) DE IMPORTÂNCIA PARA A  
ENTOMOLOGIA FORENSE**

Brasília-DF, de de 2006

**Comissão Examinadora:**

Prof. Dr. José Roberto Pujol-Luz  
Presidente/Orientador  
Departamento de Zoologia - UnB

Profª. Dra. Ivone Rezende Diniz  
Membro Titular  
Departamento de Zoologia - UnB

Prof. Dr. Roberto de Xerez  
Membro Titular Externo  
UFRRJ-RJ

## Ficha Catalográfica

Carvalho, Luciana de Souza

Redescrição das larvas de terceiro ínstar de cinco espécies de dípteros califorídeos (Insecta, Diptera) de importância para a Entomologia Forense.

Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Universidade de Brasília. 2006.

xvii + 67p: il.

Dissertação: Mestrado em Biologia Animal

1. Calliphoridae; 2. Larva; 3. Morfologia externa; 4. Entomologia Forense.

I – Universidade de Brasília

II – Título

“Escrevi a redação abaixo quando estava na 7ª série no Colégio Marista. Procurei várias frases que expressassem esta fase da minha vida e percebi que muita coisa que escrevi não mudou. Porém, o mestrado representa muitos avanços, tanto na minha vida pessoal como profissional. A última frase apresenta de uma forma ingênua mas, muito precisa, mesmo com o tempo que passou, aquilo que me satisfaz pessoalmente: a busca incessante pelo conhecimento. Através deste simples trabalho como muitos podem considerar, nos mostra como a natureza é perfeita na sua plenitude”.

Meu nome é Luciana de Souza Carvalho, tenho 13 anos, e faço aniversário no dia 14 de janeiro de 1979, e sou do signo de capricórnio o mais sério do zodiaco, e meu signo chinês é cabra. Minha aparência física; tenho os olhos castanhos, sou alta, magra e atualmente estou pesando 41,5 kilos, meus cabelos são castanhos escuros, curtos e lisos. Minhas preferências são: Chocolate, sorvete de todos os sabores, dormir, comer, passear, estudar, ler revistas em quadrinhos, comprar roupas e ganhar flores vermelhas cor de sangue. As antipatias são: quando minha irmã usa meus sapatos e tênis, comer jiló e guaraná, gente antipática, torta de nozes, o cobertor sapeca negrinho, ... Meu sonho é me formar em Engenharia eletrônica, na Universidade Federal de Uberlândia, onde mora a família dos meus pais, ter meu carro, meu apartamento e ser alguém na vida. Não tenho nenhuma frustração, porque contento com que tenho. Minha opinião sobre o amor, acho um sentimento muito bonito. O Brasil está vivendo uma crise precária, Estudo sem o Estudo a pessoa não é nada na vida.

Dedico este trabalho aos meus pais e familiares pelo apoio, compreensão e carinho em todos os momentos da minha vida. Aos meus lindos sobrinhos, Luísa, Arthur e Gabriel pela ausência, em parte, nestes dois anos. Ao Renato pelo carinho nos momentos difíceis e respeito pelo meu trabalho.

Agradeço primeiramente a Deus que sempre me deu saúde para alcançar meus objetivos e tornar possível a realização deste trabalho.



## **Agradecimentos**

Em especial, ao professor Dr. José Roberto Pujol Luz pela oportunidade, orientação, amizade e muita paciência (risos) ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dra. Ivone Rezende Diniz pela amizade e valiosas conversas.

À professora Dra. Sônia Nair Bão pela utilização do laboratório e equipamentos.

Ao professor Dr. Kiniti Kitayama pela amizade, incentivo e disposição para ajudar sempre que fosse preciso.

Ao professor Dr. Antônio Sebben pelo empréstimo do microscópio estereoscópico e equipamentos.

Ao professor Dr. Reginaldo Constantino pelo empréstimo de equipamentos, ajuda na elaboração das escalas e revisão do meu projeto.

À amiga Taissa Ferreira Pianta pela inestimável amizade, apoio neste dois anos e ajuda na revisão da dissertação.

À amiga Karen Schimdt pela amizade e ajuda na editoração das pranchas.

À amiga Bárbara Fernandes Higgins pela amizade e coleta das larvas em Sobradinho-DF.

À amiga Danielle Cavagnolle Mota pela amizade, almoços divertidos e revisão do inglês.

Aos amigos do laboratório, Rodrigo Menezes de Barros, Marina Nunes Teixeira Soares, Juliana Souza da Silva, Khesller Patrícia Olazia Name, Fernando Henrique “Bilu” de Assis Santana, Alexandre “Negão” Ururahy Rodrigues e Leandro Mencarini Guimarães pela amizade, momentos de descontração e disponibilidade para ajudar sempre que fosse necessário.

Aos alunos e estagiários do Laboratório de Microscopia pela ajuda no microscópio eletrônico de varredura.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Nara Irléia Siqueira, pela parte burocrática e presteza desde os tempos em que cursava como aluna especial.

Ao Departamento de Zoologia pela compra do material de microscopia eletrônica de varredura.

Aos funcionários do Departamento de Zoologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Proc. 502176/03-0 CT INFRA) pelo apoio aos projetos de pós-graduação vinculados ao Projeto Centro Nacional de Entomologia Forense.

Ao colega Perito Criminal Federal MSc. Helder Marques do Setor Técnico-científico do Departamento de Polícia Federal de Rondônia pela doação das larvas de *Paralucilia fulvinota* (Bigot, 1877).

Aos meus diretores, Prof. Aparecido César Nascimento e Profa. Sônia Maria Araújo Santos do Centro de Ensino Fundamental 17 de Ceilândia pelo carinho, amizade e apoio constante nesta caminhada.

A todos os meu grandes amigos que já riram muito das inúmeras coletas de insetos realizadas na presença dos mesmos e que se sentem orgulhosos pelo meu crescimento profissional.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## Resumo

A família Calliphoridae é o principal grupo de Diptera relacionado à decomposição de cadáveres, sendo as subfamílias Chrysomyinae e Calliphorinae as mais importantes, representadas por oito gêneros e 22 espécies no Brasil. As larvas destas subfamílias são utilizadas para estimar o intervalo *post-mortem* (IPM) através do seu tempo de desenvolvimento na Entomologia Forense. A identificação de larvas constitui o primeiro passo para a prática forense e a estimativa do IPM. As descrições de larvas possuem uma grande variação de características utilizadas dificultando a identificação. Neste trabalho, objetiva-se redescrever larvas de terceiro ínstar de cinco espécies pertencentes às subfamílias Chrysomyinae e Calliphorinae utilizando microscopia ótica e eletrônica de varredura: *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), *Paralucilia fulvinota* (Bigot, 1877), *Phaenicia cuprina* (Wiedemann, 1830) e *Phaenicia eximia* (Wiedemann, 1819) por serem as mais comumente encontradas em cadáveres em decomposição e por facilitar a identificação em perícia criminal. As principais estruturas e características morfológicas que podem contribuir para uma identificação precisa são: espiráculo posterior, tipo e bandas de espinhos dorsais do primeiro segmento torácico (T1) e segundo segmento abdominal (A2), disposição dos tubérculos do oitavo segmento abdominal (A8) e região anal.

## Abstract

The family Calliphoridae is the main group of the Diptera associated with carrion decomposition, and the Chrysomyinae and Calliphorinae are the most important subfamilies, represented for eight genus and 22 species in Brazil. The larvae of these subfamilies are used, in Forensic Entomology, to estimate the *post-mortem* interval (IPM) through their development time. The identification of larvae constitutes the first initial step for forensic practice and estimate of the IPM. The descriptions of larvae present a great variation of used features which hinders the identification. This paper aims to redescribe larvae of third instar, of five species belonging to the subfamilies Chrysomyinae and Calliphorinae using light and scanning electron microscopy: *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), *Paralucilia fulvinota* (Bigot, 1877), *Phaenicia cuprina* (Wiedemann, 1830) e *Phaenicia eximia* (Wiedemann, 1819) most often found associated with corpses in decomposition and that contribute to an easy identification in criminal investigation. The essential morphological structures and features that may contribute for accurate identification are: posterior spiracles, tip and bands of dorsal spines of first thoracic segment (T1) and second abdominal segment (A2), arrangement of tubercles of eighth abdominal segment (A8) and anal region.

## Sumário

Resumo .....	x
Abstract .....	xi
1. Introdução.....	01
2. Objetivos .....	06
3. Revisão de Literatura .....	07
4. Morfologia geral das larvas de Calliphoridae.....	12
5. Material e Métodos .....	15
5.1. Criação das larvas.....	15
5.2. Microscopia ótica .....	16
5.3. Microscopia eletrônica de varredura .....	17
5.4. Ilustrações .....	18
5.5. Terminologia e descrições.....	19
5.6. Referências bibliográficas.....	19
6. Resultados .....	20
6.1. Redescrições das larvas .....	20
<i>Chrysomya albiceps</i> (Wiedemann, 1819) .....	20
<i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius, 1794) .....	22
<i>Paralucilia fulvinota</i> (Bigot, 1877) .....	24
<i>Phaenicia cuprina</i> (Wiedemann, 1830) .....	26
<i>Phaenicia eximia</i> (Wiedemann, 1819) .....	28
6.2. Chave para identificação de larvas de terceiro ínstar das cinco espécies estudadas.....	30
7. Discussão .....	31
8. Conclusão .....	36
9. Referências bibliográficas.....	37

## Lista de figuras

- Figura 1. Fases do desenvolvimento pós-embriônico da mosca-varejeira (Diptera: Calliphoridae): a, ovo; b, larva de primeiro ínstar (L1); c, larva segundo ínstar (L2); d, larva de terceiro ínstar (L3); e, pupa e f, adulto ou imago. Foto de: Bryan Turner ..... 46
- Figura 2. Massa de larvas de *Chrysomya albiceps* sobre porco (*Sus scrofa*) em estágio de decomposição avançado. Foto de: Fernando Henrique de Assis Santana ..... 46
- Figura 3. Dípteros califorídeos: A, *Chrysomya albiceps*; B, *Chrysomya megacephala*; C, *Paralucilia fulvinota*; D, *Phaenicia cuprina*; E, *Phaenicia eximia*. Fotos de: Fernando Henrique de Assis Santana..... 47
- Figura 4. Tipos de larvas de Diptera: A, larva de Culicidae (modificado de Rueda, 2004) (eucf) eucéfala; B, larva de Stratiomyidae (modificado de Xerez & Pujol-Luz, 2001) (hemf) hemicéfala; C, larva de Calliphoridae (modificado de Fraga, 2004) (acef) acéfala..... 48
- Figura 5. Morfologia geral da larva de terceiro ínstar de Calliphoridae: A, habitus da larva (vista lateral) mostrando segmento cefálico (C), segmentos torácicos (T1-T3), segmentos abdominais (A1-A8); B, habitus da larva (vista ventral) mostrando falha mediana (fm); C, segmento cefálico (C) mostrando lobo cefálico (lc), maxila (max), órgão dorsal (od) e órgão ventral (ov); D, esqueleto cefalofaríngeo mostrando arco dorsal (ad), barra parastomal (bar), corno dorsal (cd), corno ventral (cv), esclerito acessório oral (eao), esclerito dental (ed), esclerito hipofaríngeo (eh) e fenestra (f); E, espiráculo anterior com papilas (pap). A e B (modificados de Fraga, 2004); C (modificado de Wallman, 2001); D e E (modificados de Erzinçioğlu, 1985)..... 49
- Figura 6. Morfologia geral da larva de terceiro ínstar de Calliphoridae: A, disposição de tubérculos do segmento A8 mostrando espiráculo posterior (ep), fenda anal (fa), lobo anal (la), superfície dorsal (sd), superfície ventral (sv), tubérculo externo (te), tubérculo interno (ti) e tubérculo mediano (tm); B, região anal (vista ventral) mostrando espinhos anais (ea) e tubérculo anal (ta); C, espiráculos posteriores mostrando abertura espiracular (ae), estrutura intermediária (ei), glândula periespiracular (gpe), marca ecdisial (me), peritrema (p), pêlos espiraculares (pe), projeções internas do peritrema (pip) e trabéculas (tra); D, espiráculo posterior com peritrema incompleto; E, espiráculo posterior com peritrema completo. A e C (modificados de Erzinçioğlu, 1985); B (modificado de Wells *et al.*, 1999); D e E (modificados de Wallman, 2001)..... 50
- Figura 7. Tipos de arranjos de espiráculos: A, Muscidae; B, Calliphoridae; C, Sarcophagidae (modificados de Turner, 1987) ..... 50
- Figura 8. Larvas de terceiro ínstar e disposição dos tubérculos do segmento A8: A e B, Muscidae; C e D, Sarcophagidae; E e F, Calliphoridae..... 51
- Figura 9. Materiais e equipamentos: A, gaiola de acrílico; B, material de dissecação; C, microscópio ótico com câmera acoplada e D, microscópio estereoscópico com câmera acoplada..... 52
- Figura 10. *Chrysomya albiceps*, habitus da larva: A, vista dorsal; B, vista ventral; C, vista lateral ..... 53

- Figura 11. *Chrysomya albiceps*, microscopia ótica: A, esqueleto cefalofaríngeo; B, espiráculo anterior mostrando papila (pap); C, processo dorsal do segmento A2 mostrando espinhos simples (es) e processo (proc); D, espiráculo posterior; E, disposição dos tubérculos mostrando espiráculos posteriores (ep), região anal (ra), tubérculo externo (te), tubérculo interno (ti) e tubérculo mediano (tm); F, região anal mostrando espinhos anais (ea), fenda anal (fa), lobo anal (la) e tubérculo anal (ta) ..... 54
- Figura 12. *Chrysomya albiceps*, microscopia eletrônica de varredura: A, órgão dorsal (od) e órgão ventral (ov); B, espiráculo anterior mostrando papilas (pap); C, banda de espinhos do protórax (T1) mostrando espinho simples (es), espinho bifido (eb) e espinho trifido (et); D, espiráculos posteriores (b); E, espiráculo posterior direito mostrando pêlos espiraculares (pe) e marca ecdisial (me); F, marca ecdisial ..... 55
- Figura 13. *Chrysomya megacephala*, habitus da larva: A, vista dorsal; B, vista ventral; C, vista lateral ..... 56
- Figura 14. *Chrysomya megacephala*, microscopia ótica: A, esqueleto cefalofaríngeo; B, espiráculo anterior mostrando papilas (pap); C, segmento A2 mostrando espinho simples (es), espinho bifido (eb), espinho trifido (et); D, espiráculo posterior; E, disposição dos tubérculos mostrando espiráculos posteriores (ep), região anal (ra), tubérculo externo (te), tubérculo interno (ti) e tubérculo mediano (tm); F, região anal mostrando espinhos anais (ea), fenda anal (fa), lobo anal (la) e tubérculo anal (ta)..... 57
- Figura 15. *Chrysomya megacephala*, microscopia eletrônica de varredura: A, órgão dorsal (od) e órgão ventral (ov); B, espiráculo anterior mostrando papilas (pap); C, banda de espinhos do protórax (T1) mostrando espinho simples (es), espinho bifido (eb) e espinho trifido (et); D, espiráculos posteriores (b); E, espiráculo posterior direito mostrando pêlos espiraculares (pe) e marca ecdisial (me); F, marca ecdisial ..... 58
- Figura 16. *Paralucilia fulvinota*, habitus da larva: A, vista dorsal; B, vista ventral; C, vista lateral ..... 59
- Figura 17. *Paralucilia fulvinota*, microscopia ótica: A, esqueleto cefalofaríngeo; B, espiráculo anterior mostrando papila (pap); C, segmento A2 mostrando espinho simples (es), espinho bifido (eb), espinho trifido (et); D, espiráculo posterior; E, disposição dos tubérculos mostrando espiráculos posteriores (ep), região anal (ra), tubérculo externo (te), tubérculo interno (ti) e tubérculo mediano (tm); F, região anal mostrando espinhos anais (ea), fenda anal (fa), lobo anal (la) e tubérculo anal (ta) ..... 60
- Figura 18. *Paralucilia fulvinota*, microscopia eletrônica de varredura: A, órgão dorsal (od) e órgão ventral (ov); B, espiráculo anterior mostrando papilas (pap); C, banda de espinhos do protórax (T1) mostrando espinho simples (es), espinho bifido (eb) e espinho trifido (et); D, espiráculos posteriores (b); E, espiráculo posterior direito mostrando pêlos espiraculares (pe) e marca ecdisial (me); F, marca ecdisial ..... 61
- Figura 19. *Phaenicia cuprina*, habitus da larva: A, vista dorsal; B, vista ventral; C, vista lateral ..... 62
- Figura 20. *Phaenicia cuprina*, microscopia ótica: A, esqueleto cefalofaríngeo; B, espiráculo anterior mostrando papila (pap); C, segmento A2 mostrando espinhos simples (es); D, espiráculo posterior; E, disposição dos tubérculos mostrando espiráculos posteriores (ep), região anal (ra), tubérculo externo (te), tubérculo interno (ti) e tubérculo

mediano (tm); F, região anal mostrando espinhos anais (ea), fenda anal (fa), lobo anal (la) e tubérculo anal (ta) ..... 63

Figura 21. *Phaenicia cuprina*, microscopia eletrônica de varredura: A, órgão dorsal (od) e órgão ventral (ov); B, espiráculo anterior mostrando papilas (pap); C, banda de espinhos do protórax (T1) mostrando espinho bifido (eb) e espinho trifido (et); D, espiráculos posteriores (b); E, espiráculo posterior direito mostrando pêlos espiraculares (pe) e marca ecdisial (me); F, marca ecdisial ..... 64

Figura 22. *Phaenicia eximia*, habitus da larva: A, vista dorsal; B, vista ventral; C, vista lateral ..... 65

Figura 23. *Phaenicia eximia*, microscopia ótica: A, esqueleto cefalofaríngeo; B, espiráculo anterior mostrando papila (pap); C, segmento A2 mostrando espinho simples (es), espinho bifido (eb); D, espiráculo posterior; E, disposição dos tubérculos mostrando espiráculos posteriores (ep), região anal (ra), tubérculo externo (te), tubérculo interno (ti) e tubérculo mediano (tm); F, região anal mostrando espinhos anais (ea), fenda anal (fa), lobo anal (la) e tubérculo anal (ta) ..... 66

Figura 24. *Phaenicia eximia*, microscopia eletrônica de varredura: A, órgão dorsal (od) e órgão ventral (ov); B, espiráculo anterior mostrando papilas (pap); C, banda de espinhos do protórax (T1) mostrando espinho bifido (eb) e espinho trifido (et); D, espiráculos posteriores (b); E, espiráculo posterior direito mostrando pêlos espiraculares (pe) e marca ecdisial (me); F, marca ecdisial ..... 67



## Lista de Abreviaturas

A1-A8 = segmentos abdominais

a = antena

acef = acéfala

ad = arco dorsal

ae = aberturas espiraculares

bar = barra parastomal

C = segmento cefálico

cd = corno dorsal

cv = corno ventral

ea = espinhos anais

eao = esclerito acessório oral

es = espinho simples

eb = espinho bifido

ed = esclerito dental

eh = esclerito hipofaríngeo

ei = estrutura intermediária

ep = espiráculo posterior

et = espinho trifido

eucf = eucéfala

f = fenestra

fa = fenda anal

fm = falha mediana

gpe = glândula periespiracular

hemf = hemicéfala

la = lobo anal

lc = lobo cefálico

max = maxila

me = marca ecdisial

od = órgão dorsal

ov = órgão ventral

p = peritrema

pap = papilas

pe = pêlos espiraculares

pip = projeções internas do peritrema

ra = região anal

sd = superfície dorsal

sv = superfície ventral

(T1-T3) = segmentos torácicos

ta = tubérculo anal

te = tubérculo externo

ti = tubérculo interno

tm = tubérculo mediano

tra = trabécula.

## 1) Introdução

Os Calliphoridae constituem uma família de dípteros muscóides caliptrados, que fazem parte da superfamília Oestroidea. Dentro da família Calliphoridae existem cinco subfamílias: Calliphorinae, que inclui gêneros e espécies sinantrópicas; Chrysomyinae é considerada a mais importante subfamília pelo fato de a maioria das espécies incluídas serem causadoras de miíases e pseudomiíases; Mesembrinellinae, reúne as espécies em que a fêmea larvipõe e seu habitat está relacionado ao ambiente silvestre; Toxotarsinae, inclui espécies restritas à América do Sul em regiões montanhosas e Rhiniinae que não ocorre no Brasil (James, 1970; Mello, 2003). Alguns autores consideram a subfamília Mesembrinellinae como uma família distinta (Carvalho & Ribeiro, 2000).

As moscas da família Calliphoridae apresentam distribuição mundial. Existem mais de 1000 espécies e cerca de 150 gêneros reconhecidos. Mais de 40 espécies em 30 gêneros são restritos ao Velho Mundo. Na região Afrotropical existe uma fauna rica com aproximadamente 300 espécies distribuídas em 40 gêneros (Shewell, 1987). James (1970) listou cerca de 100 espécies válidas de Calliphoridae para a Região Neotropical. De acordo com Dear (1985), existem 24 espécies de Chrysomyini no Novo Mundo, sendo que quatro dessas são do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy introduzidas do Velho Mundo, cinco são do gênero *Paralucilia* Brauer & Bergenstamm restritas à América do Sul e o restante são endêmicas pertencentes aos gêneros *Chloroprocta* Wulp, *Hemilucilia* Brauer, *Cochliomya* Townsend e *Compsomyiops* Townsend. Em um estudo mais recente, Mello (2003) listou 35 espécies de Calliphoridae que ocorrem no Brasil.

Os dípteros califorídeos são insetos holometábolos apresentando os seguintes estágios de desenvolvimento: ovo, larvas (primeiro (L1), segundo (L2) e terceiro (L3) ínstaes), pupa e adulto (Fig. 1) (Shewell, 1987). Os adultos podem ser ovíparos ou vivíparos (Mello, 2003).

Os adultos são de tamanho médio, coloração metálica azulada, esverdeada, violácea ou cúprea, com exceção da subfamília Mesembrinellinae. No Brasil, são conhecidas popularmente

como moscas-varejeiras. Compreendem em sua maioria espécies saprófagas e necrófagas (James, 1947; Bonatto & Carvalho, 1996; Mello, 2003).

Em geral as larvas têm aspecto vermiforme e apresentam as seguintes características: corpo cilíndrico, região anterior mais afilada que a posterior, esta com três tubérculos na superfície dorsal e ventral que são restritos à porção terminal do último segmento abdominal e um par de espiráculos anteriores e posteriores (James, 1947; Stehr, 1987; Bonatto & Carvalho, 1996).

Os califorídeos têm relevante importância médica-veterinária, sanitária e sócio-econômica. Do ponto de vista médico-veterinário, algumas espécies são responsáveis pelo ataque ao tecido vivo de hospedeiros vertebrados de sangue quente; suas larvas histiófagas produzem lesões denominadas de miíases, conhecidas popularmente por “bicheiras” (Lenko & Papavero, 1996) podendo ocorrer também pseudomiíases caracterizadas pelo ataque ao tecido vivo, com ou sem manifestações patológicas. No aspecto sanitário, os adultos, por terem elevado grau de sinantropia, freqüentam diversos substratos alimentares podendo transmitir mecanicamente agentes patogênicos e as larvas desenvolvem-se em fezes, lixos e alimentos frescos (James, 1970; d’Almeida & Almeida, 1998; Guimarães & Papavero, 1999; Mello, 2003).

Como aspectos positivos, os adultos desta família participam da polinização de determinados tipos de plantas (Prins, 1982; Silva *et al.*, 2001). Na fase imatura, as larvas de algumas espécies podem ser utilizadas na medicina, por exemplo, no tratamento de feridas necrosadas (Sherman *et al.*, 2000); são importantes agentes de decomposição de matéria orgânica vegetal e animal, eliminando do ambiente carcaças em estágio de decomposição e na medicina-legal contribuem para estimar o intervalo *post mortem* (IPM) pela Entomologia Forense (Catts & Goff, 1992).

As fases de decomposição de um cadáver (estágio fresco, inchamento, decomposição ativa e esqueletização) atraem diferentes tipos de insetos (Turner, 1991). Para os insetos a carcaça é um recurso efêmero. Smith (1986) identificou quatro categorias associadas à

decomposição: (a) espécies necrófagas, são aquelas que colonizam a carcaça e as larvas desenvolvem-se nela, consumindo-a. É o grupo mais importante para a Entomologia Forense; (b) onívoros, se alimentam tanto da carcaça como da fauna associada; (c) predadores e parasitóides e (d) acidentais, utilizam a carcaça como extensão do seu hábitat. As duas ordens de maior relevância que participam efetivamente da decomposição são Diptera e Coleoptera (Turner, 1991). As principais famílias de Diptera são Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae. Os ovos e larvas de Diptera, principalmente da família Calliphoridae, são as principais evidências entomológicas quando o corpo é encontrado. As principais subfamílias associadas à decomposição de cadáveres são Chrysomyinae e Calliphorinae (Liu & Greenberg, 1989; Wells *et al.*, 1999; Wallman, 2001).

Os califorídeos, através de órgãos sensoriais, são um dos primeiros insetos a localizarem a carcaça pelo odor que esta exala resultante do processo de decomposição (Keh, 1985). As moscas-varejeiras ovipositam nas cavidades naturais (nariz, boca, ouvido, ânus), os ovos eclodem em 24h, as larvas desenvolvem-se consumindo a carcaça e formando uma massa de larvas (Fig. 2). O seu tempo de desenvolvimento é utilizado como um “relógio” até atingir a fase de pupa para estimar o tempo transcorrido entre a morte e a descoberta do cadáver (IPM) (Greenberg, 1991; Catts & Goff, 1992).

Para tornar possível a aplicação deste conhecimento na Entomologia Forense são necessários estudos prévios sobre a biologia das espécies, ciclo de vida, morfologia e identificação das larvas, taxas de desenvolvimento e padrões de sucessão em uma carcaça. Todos estes fatores em conjunto somam um banco de dados respectivos para cada região que serão utilizados para estimar o IPM, detectar a presença de drogas em cadáveres, transporte de cadáveres (por exemplo, de uma área rural para a urbana ou vice-versa), origem de rotas do tráfico de drogas (insetos endêmicos, restritos a uma determinada área, presentes em drogas prensadas) (Greenberg, 1991; Carvalho *et al.*, 2001; Compobasso *et al.*, 2001; Introna *et al.*, 2001; Marchenko, 2001, Gomes *et al.*, 2002). A maioria das espécies de califorídeos e

sarcofagídeos é necrófaga e as larvas comumente coexistem em uma parte da carcaça, seja nos mesmos ou em diferentes tecidos ou fases de decomposição (Denno & Cothran, 1975; Hanski, 1987). A identificação precisa das larvas pode ser problemática até para um especialista (Turner, 1991), principalmente, quando as espécies são coletadas e preservadas de uma forma incorreta (Catts & Goff, 1992).

A identificação e a descrição de larvas de terceiro ínstar têm sido realizadas com diferentes objetivos, metodologias e enfoques. Poucos trabalhos são voltados para a Entomologia Forense (Liu & Greenberg, 1989; Wells *et al.*, 1999; Sukontason *et al.*, 2004).

O primeiro passo para identificar as espécies relacionadas à decomposição de cadáveres ainda na sua fase imatura é conhecer a sua morfologia externa e as principais características que contribuam para a identificação dessas larvas (Sukontason *et al.*, 2004; Tantawi & Greenberg, 1993a).

Geralmente as larvas são descritas na sua fase “*madura*”, correspondente ao terceiro ínstar (L3) que é o último estágio e o mais comumente utilizado para identificação da espécie. A larva deve ser criada para a obtenção da mosca adulta e a confirmação da espécie (Sukontason *et al.*, 2004).

As primeiras descrições dos imaturos de Calliphoridae restringiam-se as chaves para identificar larvas de espécies causadoras de miíases com base na morfologia externa (Knipling, 1939). Trabalhos realizados por Erzinçlioglu (1985), Greenberg & Szyska (1984) e Liu & Greenberg (1989) resultaram em chaves de identificação para ovos e larvas de algumas espécies de importância forense. Recentemente, foram desenvolvidos trabalhos para a identificação de larvas utilizando como recurso o DNA (Malgorn & Coquoz, 1999; Wallman & Donnellan, 2001; Wells & Sperling, 2001; Schroeder *et al.*, 2003).

O conhecimento das espécies de califorídeos que ocorrem na região Neotropiocal é incipiente (Gomes & Von Zuben, 2006). No Brasil, 12 espécies de califorídeos são apontadas como de interesse para a Entomologia Forense: *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819),

*Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775), *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805), *Hemilucilia semidiaphana* (Rondani, 1850), *Phaenicia cuprina* (Wiedemann, 1830), *Phaenicia eximia* (Wiedemann, 1819), *Phaenicia sericata* (Meigen, 1826), *Mesembrinella bellardiana* Aldrich, 1922, *Paralucilia fulvinota* (Bigot, 1877) e *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann, 1830) (Oliveira-Costa, 2003). De todas as espécies citadas, somente *H. semidiaphana* possui, recentemente, a sua fase imatura descrita pela primeira vez (Fraga, 2004).

No Brasil, a partir da década de 90, os trabalhos de entomologia forense se intensificaram, a maior parte deles utilizaram carcaça de porco ou coelho como modelo de decomposição ou cadáveres humanos (Salviano, 1996; Carvalho *et al.*, 2000; Marchiori *et al.*, 2000; Oliveira-Costa, 2001, 2002). No Cerrado, as informações sobre os califorídeos são escassas. Em experimentos recentes sobre a fauna relacionada à decomposição de carcaças de porcos *Sus scrofa* (L., 1758), foram identificadas oito espécies de quatro gêneros: *Chrysomya*, *Cochliomyia*, *Hemilucilia* e *Phaenicia* Robineau-Desvoidy (Fernando Henrique de Assis Santana & José Roberto Pujol-Luz, Lab. de Diptera e Entomologia Forense – Depto de Zoologia – UnB, dados não publicados). *Paralucilia fulvinota* foi proveniente de Rondônia. Neste trabalho redescrevemos as larvas de cinco destas espécies, a saber: (1) *Ch. albiceps* (Fig. 3A), cosmopolita e sinantrópica. Foi introduzida no Brasil na década de 70 (Guimarães *et al.*, 1978; Prado & Guimarães, 1982; Nespoli *et al.*, 1998; Guimarães & Papavero, 1999); (2) *Ch. megacephala* (Fig. 3B) é nativa da região Oriental e Australiana e conhecida popularmente como mosca-da-latrina. Causa miíase facultativa (Guimarães *et al.*, 1978; Guimarães & Papavero, 1999); (3) *Pa. fulvinota* (Fig. 3C) é assinantrópica, restrita ao interior de florestas e ocorre na região Neotropical (Greenberg & Szyska, 1984); (4) *Ph. cuprina* (Fig. 3D) e (5) *Ph. eximia* (Fig. 3E) são espécies cosmopolitas e a primeira é causadora de miíases primárias em ovelhas na Austrália onde foi introduzida. Não há registro de atividade parasitária de *Ph. cuprina* na região Neotropical (Greenberg & Szyska, 1984; Erzinçlioglu, 1989; Guimarães & Papavero, 1999).

## 2) Objetivos

- 2.1. Redescrever as larvas de terceiro instar (L3) de *Ch. albiceps*, *Ch. megacephala*, *Pa. fulvinota*, *Ph. cuprina* e *Ph. eximia*, com base em estruturas e características morfológicas, utilizando microscopia ótica e eletrônica de varredura;
- 2.2. Evidenciar as estruturas e características morfológicas de L3 estudadas que facilitem sua identificação para aplicação em investigações médico-criminais.



### 3) Revisão de Literatura

Smith (1892), no Brasil, reportou um caso de miíase nasal em um menino por larvas de varejeira *Lucilia macellaria* e fez o registro de um método eficaz descoberto pelos brasileiros: a utilização de toucinho em cima da ferida até que a larva, precisando respirar, passasse para o toucinho, livrando-se da bicheira. A prática é utilizada até hoje nas áreas rurais.

McGregor (1914), nos Estados Unidos, estudou o espiráculo posterior de larvas de dípteros das famílias Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae, com o objetivo de providenciar um caráter diagnóstico que permitisse identificar as larvas causadoras de miíases sem a necessidade de criá-las até a fase adulta.

Tao (1927), nos Estados Unidos, descreveu os estágios imaturos de quatro famílias, Calliphoridae, Muscidae, Anthomyidae e Sarcophagidae totalizando 15 espécies, com o objetivo de reportar um estudo mais detalhado dos primeiros estágios (primeiro e segundo ínstaes) de moscas sinantrópicas e causadoras de miíases.

As larvas de dípteros despertaram a atenção de vários cronistas e missionários na América Latina desde o período da colonização pelos ataques tanto ao homem quanto aos animais. No século XVI, Gabriel Soares de Souza, no Tratado Descritivo do Brasil, foi um dos primeiros a citar a miíase e o seu respectivo tratamento, causada por *Cochliomyia* (Souza, 1938 *apud* Guimarães *et al.*, 1983).

Knipling (1939) propôs uma chave para identificar larvas relacionadas à infestação de feridas e casos de miíases cutâneas nos Estados Unidos. A chave foi aplicada para larvas de segundo e terceiro ínstaes e incluiu espécies que causam miíases secundárias.

Hennig (1948, 1950, 1952) *apud* Teskey (1976) publicou na Alemanha uma valiosa obra, intitulada “Die Larvenformen der Dipteren” dividida em três volumes, que trata sobre a biologia e descrição das larvas de dípteros.

Kano & Sato (1952), no Japão, descreveram os três ínstaes larvais de cinco espécies de Luciliini: *Lucilia ampullacea* (Villeneuve, 1922), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Hemipyrellia*

*ligurriens* (Wiedemann, 1830), *Phaenicia sericata* (Meigen, 1826) e *Ph. cuprina* dando continuidade aos trabalhos anteriores com o gênero *Sarcophaga* e tribo Calliphorini. Uma chave do terceiro ínstar foi apresentada.

Ishijima (1967), também no Japão, realizou uma revisão das larvas de terceiro ínstar de moscas sinantrópicas do Japão e descreveu as larvas de 70 espécies em 33 gêneros de quatro famílias: Anthomyiidae, Muscidae, Calliphoridae e Sarcophagidae. Uma chave para cada família foi apresentada. Diferentemente de trabalhos anteriores sobre morfologia de larvas, este discute e apresenta a terminologia e morfologia geral das larvas estudadas.

O'Flynn & Moorhouse (1980) descreveram larvas de primeiro e segundo ínstares de *Chrysomya rufifacies* (Macquart), *Chrysomya varipes* (Macquart), *Chrysomya saffrana* (Bigot) e *Chrysomya nigripes* Aubertin e o primeiro ínstar larval de duas espécies de Sarcophagidae e forneceram uma chave para identificação das espécies que ocorrem na Austrália.

Prins (1982), na África do Sul, forneceu dados da biologia de seis espécies de dípteros califorídeos, *Lucilia sericata* (Meigen), *Chrysomya albiceps*, *Ch. chloropyga*, *Calliphora croceipalpis* Jaennicke, *Chrysomya regalis* Robineau-Desvoidy e *Ch. megacephala* associadas com a decomposição de matéria orgânica e descreveu os estágios imaturos e pupários, incluindo *Ch. megacephala*. Foi fornecida uma de chave de identificação.

Greenberg & Szyska (1984) descreveram os estágios imaturos de quinze espécies de Calliphoridae que ocorrem no Peru, utilizando tanto microscopia ótica como eletrônica de varredura e apresentaram também dados acerca das taxas de desenvolvimento, locais de coleta e sinantropia. É o principal trabalho sobre morfologia de ovos, larvas e pupas das espécies que ocorrem na região Neotropical. Algumas das espécies estudadas ocorrem no Brasil como: *Co. macellaria*, *S. chlorogaster*, *Pa. fulvinota*, *Ph. cuprina* e *Ph. eximia*.

Erzinçlioglu (1985) publicou uma chave que reuniu as características morfológicas dos estágios imaturos de seis espécies do gênero *Calliphora* Robineau-Desvoidy e uma do gênero *Cynomya* Robineau-Desvoidy. Posteriormente, outros trabalhos publicados (Erzinçlioglu, 1987,

1988, 1989) contribuíram para o conhecimento da morfologia de larvas de califorídeos em que o autor analisou minuciosamente os tipos de espinhos, o esqueleto cefalofaríngeano e o grau de variação no processo de esclerotização ao longo dos ínstars.

Sandeman *et al.* (1987) utilizaram microscopia eletrônica de varredura para descrever a morfologia dos três ínstars larvais de *L. cuprina* e as mudanças ultraestruturais no local das lesões provocadas por miíases em ovelhas na Austrália no curso da infecção, correlacionando com o desenvolvimento larval.

No Brasil destacam-se os trabalhos de Queiroz & Carvalho (1987), Cunha-e-Silva *et al.* (1991), Leite & Guevara (1993), Bonatto & Carvalho (1996), Queiroz *et al.* (1997) e Fraga (2004).

Queiroz & Carvalho (1987) descreveram as larvas de terceiro ínstar de 11 espécies de dípteros muscóides coletadas em vazadouros de resíduos sólidos domésticos em Curitiba-Paraná. Três famílias foram identificadas: Calliphoridae, Muscidae e Fanniidae e uma chave pictórica foi elaborada a partir das ilustrações de cada espécie.

Liu & Greenberg (1989), na América do Norte, realizaram um trabalho utilizando microscopia eletrônica de varredura que incluiu a descrição dos ovos, dos três ínstars larvais e do pupário das moscas mais comumente relacionadas à decomposição.

Cunha-e-Silva *et al.* (1991), no Brasil, compararam as células dos túbulos de Malpighi de larvas de terceiro ínstar de *Co. macellaria* e *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) que apresentam na primeira espécie, coloração castanho-escura observada macroscopicamente.

Leite & Guevara (1993) descreveram a fase imatura de *Co. hominivorax* criada em laboratório e utilizaram microscopia eletrônica de varredura para fornecer uma descrição mais detalhada de todos os ínstars.

Tantawi & Greenberg (1993a), nos Estados Unidos, distinguiram as larvas de terceiro ínstar de *Ch. albiceps* e *Ch. rufifacies* utilizando microscopia eletrônica de varredura devido essas espécies serem similares morfologicamente, tanto na fase imatura como na adulta.

Bonatto & Carvalho (1996) descreveram as formas imaturas de *S. chlorogaster*, espécie pertencente à subfamília Toxotarsinae, que ocorre no sul do Brasil. A descrição incluiu observações em microscopia óptica e eletrônica de varredura.

Queiroz *et al.* (1997), também no Brasil, descreveram a fase imatura de *Ch. albiceps* criada em laboratório relatando especialmente o primeiro e segundo ínstaes e incluíram ainda as descrições dos estágios de transição entre o primeiro e segundo ínstaes e entre o segundo e terceiro. É o trabalho mais completo sobre esta espécie porque incluiu todos os ínstaes larvais e forneceu informações sobre novos aspectos morfológicos.

Wells *et al.* (1999) organizaram informações e utilizaram microscopia eletrônica de varredura para confeccionarem uma chave para o terceiro ínstar de espécies necrófagas da subfamília Chrysomyinae que ocorrem nos Estados Unidos com o objetivo de ser utilizada na prática forense.

Wallman (2001) realizou um estudo detalhado da morfologia de larvas de terceiro ínstar do gênero *Calliphora*, associadas à cadáveres, que ocorrem no sul da Austrália. Assim como em Ishijima (1967) e Erzinçlioglu (1985), o estudo apresenta a morfologia geral das larvas de terceiro ínstar de dípteros califorídeos.

Sukontason *et al.* (2003), na Tailândia, descreveram a fase imatura de *Ch. megalcephala* utilizando microscopia eletrônica de varredura com o objetivo de adicionar estruturas importantes para identificar a espécie.

Fraga (2004) desenvolveu experimentos relacionados a fauna decompositora de carcaça na Amazônia para estudar o comportamento, oviposição de adultos e tempo de desenvolvimento. Três espécies foram identificadas e as fases imaturas de *Lucilia eximia* e *Hemilucilia semidiaphana* foram redescritas. A fase imatura de *H. segmentaria* foi descrita pela primeira vez. É o trabalho mais recente de morfologia de larvas de califorídeos realizado no Brasil.

Sukontason *et al.* (2004) publicaram uma chave para diferenciar as larvas de terceiro ínstar de seis espécies de dípteros pertencentes às famílias Calliphoridae e Muscidae de importância forense na Tailândia.

Sukontason *et al.* (2005a) descreveram o segundo e terceiro ínstars de *Chrysomya villeneuvei* Patton. Estes trabalhos sobre morfologia de larvas de califorídeos utilizando tanto microscopia ótica como eletrônica de varredura resultaram em uma identificação mais acurada das espécies de califorídeos relacionadas à decomposição.

Sukontason *et al.* (2005b) descreveram todos os ínstars de *Ch. nigripes* e utilizaram microscopia ótica e eletrônica de varredura para destacar importantes estruturas na identificação da fase imatura dessa espécie que freqüentemente são encontradas e coletadas em corpos em estágio de putrefação e podem ser utilizadas nas investigações forenses na Tailândia.

#### 4) Morfologia geral das larvas de califorídeos

As larvas de dípteros apresentam grande variação morfológica. A principal característica que as distingue das outras ordens da classe Insecta é a ausência de patas articuladas nos segmentos torácicos associados ao fato de que a maioria das larvas de Diptera de vida livre são alongadas e com movimento ativo direcionado (Teskey, 1991).

Dentro da ordem Diptera, as larvas se dividem em três tipos, relativos à presença da cápsula cefálica correspondente ao primeiro segmento do corpo da larva. As larvas eucéfalas possuem cápsula cefálica bem desenvolvida, característica de larvas da subordem Nematocera (Fig. 4A); as hemicéfalas possuem cápsula cefálica reduzida ou incompleta, típica da subordem Brachycera (Infraordem Stratiomyomorpha e Tabanomorpha) (Fig. 4B); as acéfalas possuem a cápsula cefálica completamente reduzida e com uma estrutura interna desenvolvida chamada esqueleto cefálico ou cefalofaringeano, que incluem as larvas de dípteros Cyclorrapha (Fig. 4C) onde se encontra a família Calliphoridae (Teskey, 1976).

As larvas de califorídeos possuem corpo vermiforme que compreende 12 segmentos: segmento cefálico (C), três segmentos torácicos (T1 a T3), seguidos de oito segmentos abdominais (A1 a A8) (Fig. 5A) (James, 1947).

Nas superfícies dorsal e ventral existem bandas de espinhos segmentares que contribuem para distinguir as larvas de diferentes espécies (James, 1947; Stehr, 1987; Sukontason *et al.*, 2005). A disposição, estrutura, modelo e o grau de pigmentação dos espinhos de larvas de califorídeos são de grande importância sistemática. Cada espinho pode ser simples, dividido em dois (bífido) ou em três (trífido) pertencendo à mesma base, podendo ser arredondados (em forma de U) ou pontiagudos (em forma de V) (Erzinçlioglu, 1985; Wallman, 2001). Os espinhos estão dispostos em fileiras agrupadas em bandas que podem ocorrer tanto anterior ou posteriormente em cada segmento, circundando-os ou restritos à superfície dorsal, ventral ou lateral (James, 1947). Na superfície ventral podem ocorrer falhas medianas (Fig. 5B) que são caracterizadas pela ausência de espinhos no meio da banda.

O segmento cefálico é altamente especializado. Divide-se em dois lobos que contêm dois órgãos: dorsal e ventral que correspondem respectivamente à “antena” e ao “palpo maxilar” (Fig. 5C) e internamente contém o esqueleto cefalofaríngeo (Fig. 5D) (Teskey, 1981; Erzinçlioglu, 1985; Wallman, 2001).

O sistema respiratório compreende o sistema interno das traquéias e os espiráculos externos anteriores (Fig. 5E) e posteriores. Os espiráculos podem ser classificados quanto ao seu arranjo e localização nos segmentos torácicos e abdominais. Os espiráculos de califorídeos são do tipo anfipnêustico, um par no protórax (T1) e um par no último segmento abdominal (A8). A localização e a função dos espiráculos externos têm importância na taxonomia das larvas (Teskey, 1981, 1991; Erzinçlioglu, 1985). Os espiráculos anteriores localizam-se lateralmente no segundo segmento e são constituídos por fileiras com papilas, que variam de uma a 30 dentro da família Calliphoridae (Shewell, 1987). Os espiráculos anteriores estão presentes no segundo e terceiro ínstar.

A estrutura do espiráculo posterior constitui-se de um disco espiracular cuja borda é sustentada por uma placa esclerotizada denominada de peritrema, que porta de uma a três aberturas espiraculares que são subparalelas umas às outras (Fig. 6C) (McGregor, 1914; James, 1947, Teskey, 1991). O número de aberturas espiraculares indica o ínstar em que a larva se encontra: uma abertura no primeiro ínstar, duas no segundo e três no terceiro (Erzinçlioglu, 1985; Teskey, 1991). As aberturas espiraculares possuem ramificações denominadas de pêlos espiraculares que têm sido associados com as glândulas periespiraculares (Teskey, 1981). As trabéculas são estruturas presentes transversalmente dentro das aberturas espiraculares (Fig. 6C) (Bonatto & Carvalho, 1996). Os espiráculos podem possuir ou não um botão ou marca ecdisial (Fig. 6C). A marca ecdisial é o local onde a traquéia foi removida durante a muda, que conseqüentemente foi fechada e selada resultando em uma marca conspícua (Teskey, 1991). O peritrema pode ser incompleto (Fig. 6D) ou completo (Fig. 6E).

Outro aspecto morfológico é a disposição dos tubérculos que são projeções presentes no segmento A8. Eles formam três pares na superfície dorsal e três na ventral, sendo um par interno, um mediano e outro externo (Fig. 6A). A região anal possui um par de tubérculos (Fig. 6B), espinhos e lobos anais.

As larvas de Calliphoridae diferenciam-se das de Muscidae (Fig. 8A) e Sarcophagidae (Fig. 8C), famílias relacionadas à decomposição de cadáveres, por possuírem: aberturas subparalelas nos espiráculos posteriores (Fig. 7B e 8F) e nunca sinuosas como em Muscidae (Fig. 7A e 8B), espiráculos posteriores nunca situados em uma cavidade como em Sarcophagidae (Fig. 7C e 8C), ausência de processos nos segmentos do corpo com exceção de *Ch. albiceps* (Fig. 8E) e presença de barra parastomal no esqueleto cefalofaríngeo (Erzinçlioglu, 1985).



## 5) Material e Métodos

### 5.1) Criação das larvas

A criação e manutenção dos imaturos das cinco espécies estudadas foram realizadas no Laboratório de Díptera e Entomologia Forense do Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília. As amostras de massas de ovos ou larvas de primeiro ínstar foram coletadas em diferentes locais e situações (carcaça em decomposição, lixo e sardinha utilizada como isca) e criadas em estufa do tipo B.O.D. (Marconi LTDA) com temperatura e umidade controladas.

Para o estudo de morfologia externa foram fixadas um total de 30 larvas de cada espécie, outras foram criadas até a obtenção dos adultos para a confirmação da espécie e várias larvas foram utilizadas para dissecação. As larvas foram mortas por submersão em água destilada aquecida à aproximadamente 70-80° C durante cinco minutos exceto *Pa. fulvinota*. Em seguida foram transferidas para frascos devidamente etiquetados contendo solução de álcool etílico à 70% para preservação, seguindo metodologia de Adams & Hall (2003) com modificações. Todos os espécimes utilizados pertencem à Coleção Entomológica do Departamento de Zoologia.

A metodologia para cada espécie é descrita a seguir:

a) *Ch. albiceps*: massas de ovos e larvas de primeiro ínstar foram coletadas em carcaças de suínos em experimento paralelo realizado na Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília em junho de 2004. Foram mantidas dentro de potes plásticos de 80 ml tampados com tecido organza contendo 50g de dieta natural composta de carne moída putrefata trocada diariamente.

b) *Ch. megacephala*: os adultos foram coletados com rede entomológica no campus do Instituto Central de Ciências da Universidade de Brasília, utilizando como isca sardinha fresca. Foram mantidos em uma gaiola de acrílico (Fig. 9A) alimentados com solução de mel e água (50%) e carne em início de putrefação para estimular a oviposição. A massa de ovos foi coletada na gaiola de criação e colocada sobre 50g de dieta natural composta de carne moída putrefata

trocada diariamente para desenvolvimento das larvas. A metodologia de criação foi modificada de Queiroz & Milward-de-Azevedo (1991).

c) *Pa. fulvinota*: amostras significativas de L3 foram coletadas sobre cadáveres humanos no Parque Indígena Aripuanã no Estado de Rondônia e foram mantidas dentro de potes de plástico de 80 ml tampados com tecido organza contendo 50g de dieta artificial composta de farelo de trigo, ração de gato à base de carne e água destilada trocada diariamente. O tratamento destes exemplares diferiram dos outros em dois aspectos: a temperatura e umidade utilizadas na criação foi de 28°C e 80% de U.R. e as larvas foram fixadas diretamente em álcool (70%).

d) *Ph. cuprina* e *Ph. eximia*: as larvas foram obtidas de massas de ovos coletadas em lixo de residência em Sobradinho-DF. O substrato utilizado para criação foi salsicha moída.

## 5.2) Microscopia Ótica (MO)

A preparação, montagem e observação do material foi realizada no Laboratório de Diptera do Departamento de Zoologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília. Para o estudo morfológico em microscopia ótica, foram utilizados 30 exemplares de cada espécie. A metodologia foi modificada de Ishijima (1967).

a) Preparação de amostras: as larvas foram cortadas com a ajuda de um bisturi no segundo segmento torácico (porção anterior) e no oitavo segmento abdominal (porção posterior), totalizando três partes. Estas foram colocadas em um cadinho de porcelana contendo solução de hidróxido de potássio (KOH) à 10% e fervidas por 15-20 minutos. As amostras foram colocadas em recipientes plásticos transparentes contendo água destilada e levadas ao microscópio estereoscópico (Tecnival) (Fig. 9D) para proceder a dissecação (Fig. 9B). Com exceção das estruturas (esqueleto cefalofaríngeo e espiráculo posterior) de *Ch. albiceps* que permaneceram por 24hs no hidróxido de potássio (10%). As seguintes estruturas foram obtidas na dissecação: espiráculo anterior e posterior, esqueleto cefalofaríngeo e banda de espinhos da superfície dorsal do segmento A2. Depois as estruturas foram preservadas em solução de etanol à 70%.

b) Montagem de lâminas: devido ao tamanho do espiráculo anterior e espinhos serem quase microscópicos foi necessário montá-los em lâminas e lâminulas com glicerina (lâmina provisória). Antes de colocar as estruturas diretamente na glicerina, utilizou-se papel toalha ou higiênico para retirar o excesso de álcool.

c) Estruturas observadas: espiráculos anterior e posterior; esqueleto cefalofaríngeo (vista lateral); tipo e banda de espinhos do segundo segmento abdominal (A2) (vista dorsal) e do *habitus* da larva (vista dorsal, ventral e lateral); arranjo dos tubérculos do oitavo segmento abdominal (A8) e região anal (vista ventral). As estruturas foram registradas com câmera Nikon COOLPIX 5400 acoplada ao microscópio ótico modelo Nikon Eclipse E200 (Fig. 9C) e câmera fotográfica modelo E50 Sony acoplada ao microscópio estereoscópico modelo Tecnival (Fig. 9D).

### **5.3) Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A preparação, montagem e observação do material foi realizada no Laboratório de Microscopia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Para o estudo morfológico em MEV, foram utilizados cinco exemplares de cada espécie. A metodologia foi modificada de Sukontason *et al.* (2003). Os seguintes procedimentos foram realizados para exame do material:

a) Preparação das amostras: as larvas preservadas em álcool (70%) foram lavadas em solução salina e com a ajuda de um pincel fino removeu-se possíveis artefatos e restos de dietas presentes nos tecidos. Para melhores resultados, os exemplares foram colocados em um sonicador, modelo Tenp Ultrasonic T7 por aproximadamente 25 minutos. Depois, a amostra era cortada em três partes (região anterior, mediana e posterior) para facilitar a fixação, desidratação e montagem no porta-espécimen.

b) Fixação: tem como objetivo manter a estrutura tridimensional da amostra. Utilizou-se fixador composto de 2.5% de glutaraldeído e PBS com pH 7.3 por 24hs a 4°C. Posteriormente,

foram lavadas duas vezes com solução PBS em intervalos de 10 minutos. As larvas foram tratadas com tetróxido de ósmio ( $\text{OsO}_4$ ) à 1% por três dias em temperatura ambiente. Após este procedimento, o material foi lavado duas vezes com PBS e iniciou-se a desidratação em série crescente dos espécimes com álcool (30%, 50%, 70%, 80%, 92,8%, 100%, 100%) durante 12 horas em cada concentração. A última etapa consistiu em colocar as amostras em acetona (100%) em dois períodos de 12 horas. Finalizado o processo de desidratação, as amostras foram submetidas ao ponto crítico.

c) Secagem ao ponto crítico: As amostras foram processadas em aparelho modelo Balzers CPD 30.

d) Montagem e metalização: O material foi processado em aparelho metalizador Balzers SCD 050, para a deposição de uma camada de ouro, com aproximadamente 10 a 15 Å de espessura sobre toda a superfície exposta das larvas.

e) Estruturas observadas: órgão dorsal e ventral; espiráculos anterior e posterior (marca ecdisial e pêlos espiraculares); tipo e banda de espinhos do primeiro segmento torácico (T1). As estruturas foram observadas em microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL JEM 840A e as imagens foram registradas em forma de fotografia.

#### **5.4) Ilustrações**

As ilustrações referentes aos tipos de larvas (Fig. 4) foram: A, modificado de Rueda (2004), B, modificado de Xerez & Pujol (2001) e C, modificado de Fraga (2004); a morfologia geral da larva de terceiro ínstar de Calliphoridae (Fig. 5): A e B foram modificados de Fraga (2004), C foi modificado de Wallman (2001), D e E foram modificados de Erzinçlioglu (1985); a morfologia geral da larva de terceiro ínstar de Calliphoridae (Fig. 6): A foi modificado de Erzinçlioglu (1985), B foi modificado Wells *et al.* (1999), C foi modificado de Erzinçlioglu (1985), D e E foram modificados de Wallman (2001) e o tipo de arranjos de espiráculos (Fig. 7) foi modificado de Turner (1987).

### **5.5) Terminologia e descrições**

Nas descrições das larvas e do esqueleto cefalofaríngeano foi adotada a terminologia usada por Teskey (1981) com modificações. As redescritões seguem Bonatto & Carvalho (1996) com modificações. A seqüência das redescritões das espécies está em ordem alfabética por um critério de organização.

### **5.6) Referências Bibliográficas**

As citações no texto e as referências bibliográficas seguem as recomendações da Sociedade Brasileira de Entomologia para a Revista Brasileira de Entomologia.

## 6) Resultados

### 6.1) Redescrições das larvas

#### *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819)

**Material examinado:** 30 larvas (Fazenda Água.Limpa-UnB,Col: Carvalho, L.S, 10-VI-04)

**Comprimento:** 5 a 15mm (média: 13mm) (Fig. 10C)

**Coloração:** amarela a castanho clara.

**Descrição:** Aspecto geral como na figura 10.

**Segmento cefálico:** primeiro segmento, curto, dividido em dois lobos cefálicos; órgão dorsal, curto, dividido em três segmentos e órgão ventral formado por inúmeras papilas (Fig. 12A).

**Esqueleto cefalofaríngeo:** maxila, esclerito dental e hipofaríngeo bem esclerotizados (Fig. 11A). Esclerito faríngeo bem desenvolvido; corno dorsal distinto mais longo que o ventral e presença de uma pequena fenestra na região posterior; a parte superior do corno dorsal é menos pigmentada. Arco clipeal levemente pontiagudo. Corno ventral possuindo uma fenestra maior do que a do corno dorsal. Barra parastomal não visualizada.

**Tórax:** composto de três segmentos (T1-T3). **Espiráculo anterior:** 10 papilas (Fig. 11B) e 11 papilas (Fig. 12B). **Banda de espinhos torácicos:** presentes nos segmentos T1 a T2; primeira banda (T1) (Fig. 12C) é diferente dos outros segmentos torácicos e possui espinhos simples, bifidos e trifidos. O segmento T3 não possui bandas de espinhos, apresenta pequenas protuberâncias mas que não chegam a formar processos verdadeiros como ocorre nos segmentos abdominais.

**Abdome:** composto de oito segmentos (A1-A8), o último segmento abdominal possui tubérculos internos, medianos e externos, tanto na superfície dorsal como ventral. É onde localizam-se os espiráculos posteriores e a região anal. **Banda de espinhos abdominais:** presença de oito processos com espinhos no ápice (Fig. 11C) do segmento A1 ao A7 na superfície dorsal e lateral

e seis processos mais curtos na superfície ventral. Presença de tubérculos compridos semelhantes aos processos, sendo que os tubérculos externos dorsais e ventrais são maiores que os tubérculos internos e medianos (Fig. 11E). A distância é maior tanto entre os tubérculos dorsais internos quanto nos ventrais internos. Os tubérculos possuem espinhos no ápice. Presença de espinhos compridos entre os tubérculos e os espiráculos. **Espiráculo posterior:** grande. Aberturas espiraculares compridas. Peritrema grosso e incompleto (Fig. 11D e 12D). Presença de marca ecdisial (Fig. 12F). Presença de glândulas periespiraculares de onde partem os pêlos espiraculares bastante ramificados (Fig. 12E). **Região anal:** possui um par de tubérculos anais curtos e sem espinhos no ápice, presença de espinhos anais que são fortemente pigmentados, do tipo simples, bifidos e trifidos na superfície dorsal e ventral. (Fig. 11F).

*Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794)

**Material examinado:** 30 larvas (Laboratório de Díptera e Entomologia Forense, Depto de Zoologia, Col: Carvalho, L. S., 17-VIII-05)

**Comprimento:** 12 a 18 mm (média: 14mm:) (Fig. 13C).

**Coloração:** branca a creme.

**Descrição:** Aspecto geral como na figura 13.

**Segmento cefálico:** primeiro segmento, curto, dividido em dois lobos cefálicos; órgão dorsal, curto, dividido em três segmentos e órgão ventral formado por inúmeras papilas (Fig. 15A).

**Esqueleto cefalofaríngeo:** como na figura (Fig. 14A), grande e fortemente pigmentado.

Presença de esclerito acessório oral. Maxila curvada e pontiaguda na região anterior. Esclerito dental bem individualizado. Esclerito hipostomal entre o esclerito labial e faríngeo. Esclerito faríngeo bastante esclerotizado e pigmentado. Arco dorsal muito curto e pontiagudo. Cornos dorsais duas vezes maiores que os ventrais e presença de fenestra nos cornos dorsais e ventrais. Extensão da margem dorsal do esclerito faríngeo menos pigmentado que o corno dorsal. Região posterior do corno dorsal afilada formando uma ponta. Presença de barra parastomal bem desenvolvida.

**Tórax:** composto de três segmentos (T1-T3). **Espiráculo anterior:** 11 papilas (Fig. 14B) e 10 papilas (Fig. 15B). **Banda de espinhos torácicos:** presentes nos segmentos T1 (Fig. 15C) a T3, compostas de espinhos do tipo simples, bifido e trifido.

**Abdome:** composto de oito segmentos (A1-A8), o último segmento abdominal possui tubérculos internos, medianos e externos, tanto na superfície dorsal como ventral. É onde localizam-se os espiráculos posteriores e a região anal. **Banda de espinhos abdominais:** presentes nos segmentos A1 ao A7; completas nos segmentos A1-A5 e ausentes dorsalmente nos segmentos A6 e A7. Presença de falha mediana nos segmentos A2 ao A8 na superfície ventral (Fig. 13B). Banda de espinhos arredondados e fortemente pigmentados, do tipo simples, bifidos ou trifidos



(Fig. 14C). Segmento A8 com três pares dorsais e três ventrais de tubérculos curtos (Fig. 14E). Tubérculo dorsal e ventral interno ligeiramente menores que os medianos e externos tanto dorsal como ventral. A distância é igual entre os tubérculos internos, medianos e externos dorsais e ventrais. A distância é maior entre os tubérculos dorsais e ventrais externos. Presença de espinhos simples entre os tubérculos e os espiráculos posteriores. **Espiráculo posterior**: grande. Aberturas espiraculares curtas. Peritrema grosso e incompleto (Fig. 14D e 15D). Presença de glândulas periespiraculares com pêlos espiraculares em grande quantidade (Fig. 15E). Presença de marca ecdisial (Fig. 15F). **Região anal**: possui um par de tubérculos anais curtos. Presença de espinhos anais na superfície dorsal e ventral e entre os tubérculos e lobos anais. Maior concentração de espinhos na região ventral formando fileiras (Fig. 14F).

*Paralucilia fulvinota* (Bigot, 1877)

**Material examinado:** 30 larvas (IML-Porto Velho, Col: Marques, H., 20-IV-04)

**Comprimento:** 8 a 15 mm (média: 11,3) (Fig. 16C).

**Coloração:** branca a creme.

**Descrição:** aspecto geral como na figura 16.

**Segmento cefálico:** primeiro segmento, curto, dividido em dois lobos cefálicos; órgão dorsal, curto, dividido em três segmentos e órgão ventral formado por inúmeras papilas (Fig. 18A).

**Esqueleto cefalofaríngeo:** grande e bastante pigmentado (Fig. 17A). Maxila pontiaguda e curvada. Parte posterior mais larga que a anterior. Esclerito dental individualizado. Esclerito hipofaríngeo formado por duas hastes fortemente quitinizadas. Esclerito faríngeo bastante esclerotizado e pigmentado, arco dorsal curto e pontiagudo. Cornos dorsais afilados e duas vezes maior que os ventrais. Presença de fenestras menores nos cornos dorsais do que nos cornos ventrais. Presença de barra parastomal bem desenvolvida.

**Tórax:** composto de três segmentos (T1-T3). **Espiráculo anterior:** 12 papilas (Fig. 17B e 18B).

**Banda de espinhos torácicos:** presentes nos segmentos T1 ao T3, os espinhos dos segmentos T1 em vista lateral são finos e pontiagudos podendo ser simples ou bifidos (Fig. 18C).

**Abdome:** composto de oito segmentos (A1-A8), o último segmento abdominal possui tubérculos internos, medianos e externos, tanto na superfície dorsal como ventral. É onde localizam-se os espiráculos posteriores e a região anal. **Banda de espinhos abdominais:** presentes nos segmentos A1 ao A7; ausente dorsalmente no segmento A7. Presença de falha mediana nos segmentos A2 ao A7 na superfície ventral. Banda de espinhos médios, fortemente pigmentados, do tipo simples, bifidos e trifidos (Fig. 17C). Presença de tubérculos médios e o tamanho aumenta gradualmente do interno para o externo (Fig. 17E). A distância entre os tubérculos dorsais internos, medianos e externos parece igual e a distância é maior entre os tubérculos externos dorsal e ventral. Os tubérculos ventrais externos são maiores que os dorsais externos.

**Espiráculo posterior:** pequeno. Aberturas espiraculares compridas e ligeiramente largas. Peritrema fino e incompleto (Fig. 17D e 18D). presença de glândulas periespiraculares com grande quantidade de pêlos espiraculares em cada abertura do espiráculo (Fig. 18E). Presença de marca ecdisial levemente pigmentada (Fig. 17D e 18F). **Região anal:** possui um par de tubérculos anais longos. Presença de espinhos anais entre os tubérculos e lobos anais e formando fileiras na superfície dorsal e ventral. Lobos anais conspícuos (Fig. 17F).

*Phaenicia cuprina* (Wiedemann, 1830)

**Material examinado:** 30 larvas (Sobradinho-DF, Col: Higgins, B. F., 11-V-05)

**Comprimento:** 9 a 12 mm (média: 11mm) (Fig. 19C).

**Coloração:** branco leitosa.

**Descrição:** aspecto geral como na figura 19.

**Segmento cefálico:** primeiro segmento, curto, dividido em dois lobos cefálicos; órgão dorsal, curto, dividido em três segmentos e órgão ventral formado por inúmeras papilas (Fig. 21A).

**Esqueleto cefalofaríngeo:** pequeno (Fig. 20A). Maxila pigmentada, longa e ligeiramente curvada. A parte basal é retangular. Presença de esclerito dental individualizado e preso a mandíbula. Esclerito hipofaríngeo entre a mandíbula e o esclerito faríngeo. Esclerito faríngeo bastante esclerotizado e pigmentado. Arco dorsal curto e pontiagudo. Cornos dorsais inclinados e maiores duas vezes que os ventrais. Cornos ventrais apresentando fenestra. Margem dorsal e ventral menos pigmentada do que o restante do esclerito faríngeo. Presença de barra parastomal bem desenvolvida.

**Tórax:** composto de três segmentos (T1-T3). **Espiráculo anterior:** 7 papilas (Fig. 20B e 21B).

**Banda de espinhos torácicos:** presentes nos segmentos T1 ao T3. Banda de espinhos do segmento T1 apresentando espinhos curtos do tipo bifido e trifido (Fig. 21C). Segmento T3 apresenta falha mediana na superfície ventral.

**Abdome:** composto de oito segmentos (A1-A8), o último segmento abdominal possui tubérculos internos, medianos e externos, tanto na superfície dorsal como ventral. É onde localizam-se os espiráculos posteriores e a região anal. **Banda de espinhos abdominais:** presentes nos segmentos A1 ao A7. Espinhos pequenos, pontiagudos em forma de V (Fig. 20C). A partir do segmento A1 ocorre falha mediana na superfície ventral. Segmento A8 com tubérculos curtos. Os tubérculos dorsais internos, medianos e externos têm o mesmo tamanho sendo que a distância é maior entre os tubérculos internos e igual entre os tubérculos medianos e externos. Os

tubérculos ventrais internos são ligeiramente menores do que os medianos e externos. A distância entre eles é igual e a distância é maior entre os tubérculos dorsais e ventrais externos.

**Espiráculo posterior:** pequeno, aberturas espiraculares compridas e finas. Peritrema fino e completo (Fig. 20D e 21D). Presença de glândulas espiraculares com pêlos espiraculares em grande quantidade (Fig. 21E). Presença de marca ecdisial (Fig. 21F). **Região anal:** possui um par de tubérculos anais curtos. Os espinhos anais concentram-se mais na região dorsal do que na ventral, onde formam várias fileiras. Lobos anais conspícuos (Fig. 20F).

*Phaenicia eximia* (Wiedemann, 1819)

**Material examinado:** 30 larvas (Sobradinho-DF, Col: Higgins, B. F., 11-V-05).

**Tamanho:** 11 a 14 mm (média: 11,5mm) (Fig. 22C).

**Coloração:** creme a castanho clara.

**Descrição:** aspecto geral como na figura 22.

**Segmento cefálico:** primeiro segmento, curto, dividido em dois lobos cefálicos; órgão dorsal não visualizado e órgão ventral formado por inúmeras papilas (Fig. 24A).

**Esqueleto cefalofaríngeo:** pequeno (Fig. 23A). Maxila, escleritos dental, labial e hipofaríngeo bem esclerotizados. Corno dorsal distinto, mais longo do que o corno ventral; corno dorsal menos esclerotizado na margem posterior. Presença de fenestra no corno ventral. Barra parastomal desenvolvida.

**Tórax:** composto de três segmentos (T1-T3). **Espiráculo anterior:** 7 papilas (Fig. 23B e 24B).

**Banda de espinhos torácicos:** presentes nos segmentos T1 ao T3. Banda de espinhos do segmento T1 com espinhos pontiagudos, bifidos e trifidos (Fig. 24C).

**Abdome:** composto de oito segmentos (A1-A8), o último segmento abdominal possui tubérculos internos, medianos e externos, tanto na superfície dorsal como ventral. É onde localizam-se os espiráculos posteriores e a região anal. **Banda de espinhos abdominais:** presentes na margem anterior; completas nos segmentos A1 ao A3; ausentes dorsalmente nos segmentos A4 ao A7. Os segmentos A1 ao A8 apresentam falha mediana na superfície ventral (Fig. 22B); espinhos médios, pontiagudos, em forma de V, do tipo simples, em sua maioria podendo ocorrer espinhos bifidos (Fig. 23C). Segmento A8 com três pares de tubérculos dorsais e três ventrais (Fig. 23E). Os tubérculos dorsais medianos parecem mais próximo dos tubérculos externos do que dos tubérculos internos. Os tubérculos ventrais externos são maiores que os medianos e internos. **Espiráculo posterior:** pequeno (Fig. 23D e 24D). Aberturas espiraculares finas e alongadas. Peritrema fino e completo. Presença de glândulas periespiraculares contendo pêlos espiraculares

(Fig. 24E). Presença de marca ecdisial (Fig. 24F). **Região anal:** possui um par de tubérculos anais curtos. Espinhos anais pequenos. Lobos anais conspícuos (Fig. 23F).

## 6.2) Chave para identificação de larvas de terceiro ínstar das cinco espécies estudadas

(modificada de Guimarães & Papavero, 1999)

1. Ausência de processos na superfície dorsal e ventral dos segmentos torácicos e abdominais .. 2
  - 1'. Presença de processos conspícuos com espinhos fortemente pigmentados no ápice na superfície dorsal e ventral dos segmentos abdominais (Fig. 14) ..... *Chrysomya albiceps*
  
2. Espiráculos posteriores com peritrema completo (gênero *Phaenicia*) (Fig. 24D)..... 3
  - 2'. Espiráculos posteriores com peritrema incompleto (gêneros *Chrysomya* e *Paralucilia*)..... 4
  
3. Ausência de banda de espinhos na margem posterior dorsal do segmento 11 (A7) .....
  - ..... *Phaenicia eximia*
  - 3'. Presença de banda de espinhos na margem posterior dorsal do segmento 11 (A7)
    - ..... *Phaenicia cuprina*
  
4. Presença de esclerito acessório oral no esqueleto cefalofaríngeano, ausência de botão ou marca ecdisial (evidenciado apenas em MEV), peritrema grosso, ausência de banda de espinhos dorsais nos segmentos 10 (A6) e 11 (A7)..... *Chrysomya megacephala*
  - 4'. Ausência de esclerito acessório oral no esqueleto cefalofaríngeano, presença de botão ou marca ecdisial (levemente pigmentado), peritrema fino e ausência de banda de espinhos dorsais no segmento 11 (A7)..... *Paralucilia fulvinota*



## 7) Discussão

Apesar de as larvas das espécies utilizadas estarem descritas na literatura ficou evidenciado que há uma grande variação nas descrições realizadas pelos autores (Ishijima, 1967; Greenberg & Szyska, 1984; Queiroz *et al.*, 1997; Sukontason *et al.*, 2003). As redescrições permitiram uma padronização da terminologia utilizada nas descrições e evidenciar as principais estruturas e características comumente utilizadas e a inclusão de outras, que facilitam a distinção dessas espécies utilizando microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Com base na morfologia, foram utilizadas quatro estruturas e duas características, respectivamente, que caracterizam as larvas estudadas; (1) esqueleto cefalofaríngeo, (2) espiráculo anterior, (3) tipo e banda de espinhos do segundo segmento abdominal (A2), (4) espiráculo posterior, (5) disposição de tubérculos e (6) região anal. MEV foi utilizada para as seguintes estruturas: órgãos dorsal e ventral, espiráculo anterior, tipo e disposição de espinhos do primeiro segmento torácico (T1) e o espiráculo posterior que inclui os pêlos espiraculares e a marca ecdisial, que são de difícil visualização em MO.

Das cinco espécies, a larva de *Ch. albiceps* é a mais distinta por apresentar na superfície do corpo, processos com espinhos simples no ápice. A primeira descrição que se tem registro é de Smit (1931) *apud* Mariconi *et al.* (1999). Queiroz *et al.* (1997) descreveram todos os instares, o trabalho contém ilustrações do esqueleto cefalofaríngeo, disposição de tubérculos e espiráculo anterior e posterior. O único trabalho de MEV realizado com *Ch. albiceps* foi de Tantawi & Greenberg (1993a) que separaram *Ch. albiceps* de *Ch. rufifacies*, morfologicamente parecidas tanto na fase adulta como larval e mostraram somente a diferença na coroa de espinhos e nos processos ventrais do segmento A8. Não há registro de *Ch. rufifacies* no Brasil. Observações realizadas em MEV confirmaram que na primeira espécie a coroa de espinhos são mais fechadas. A redescrição contradiz Queiroz & Carvalho (1987) em dois aspectos; os espinhos presentes no ápice dos tubérculos não são ramificados como foi apresentado na chave pictórica de espécies das famílias Calliphoridae e Muscidae mas parecidos com os espinhos do

ápice dos processos e não ocorrem microespinhos na superfície do corpo, estes observados em MEV fazem parte da própria estrutura da cutícula das larvas.

A larva de *Ch. megacephala* também foi descrita por Queiroz & Carvalho (1987) e a figura 15F contradiz a ausência de marca ecdisial. Prins (1982) descreveu a fase imatura desta espécie, é o trabalho mais completo e as características se assemelham às observadas em MO como o esqueleto cefalofaríngeano, espiráculo posterior e tipos de espinhos do segmento T1. Ishijima (1967) descreveu a larva de terceiro ínstar de *Ch. megacephala* mas não incluiu a região anal. A fase imatura foi redescrita por Sukontason *et al.* (2003) utilizando MEV mas contém somente duas figuras do terceiro ínstar: vista posterior do segmento A8 e o detalhe do espiráculo posterior mostrando os pêlos espiraculares como os representados na figura 15E. A primeira foto apresenta tubérculos maiores e mais largos diferentemente do que foi observado (Fig.14E).

A redescrição da larva de *Pa. fulvinota* confere com Greenberg & Szyska (1984). No entanto, os autores não incluíram a região anal, que mostrou ser distinta na diferenciação das espécies. É a primeira redescrição da larva de terceiro ínstar de *Pa. fulvinota* que incluiu MEV. Greenberg & Szyska (1984) utilizaram este recurso para descreverem os ovos e o pupário.

A fase imatura de *Ph. cuprina* foi descrita por Kano & Sato (1952) que ilustraram os esqueletos cefalofaríngeanos de todos os ínstaes larvais e o espiráculo posterior do terceiro ínstar. Ishijima (1967) descreveu o terceiro ínstar e utilizou fotomicrografias do esqueleto cefalofaríngeano, espiráculo anterior e posterior e disposição dos tubérculos. A descrição mais completa foi de Greenberg & Szyska (1984). Sandeman *et al.* (1987) utilizaram MEV mas descreveram somente o segmento cefálico (órgãos dorsal e ventral) e o segmento posterior (A8) mostrando os espiráculos posteriores. Os resultados são semelhantes aos observados e que também destacaram os pêlos espiraculares (Fig. 21E). Somente Erzinçlioglu (1987) utilizou a região anal para separar esta espécie de *L. sericata*.

A larva de *Ph. eximia* foi descrita por Greenberg & Szyska (1984) e redescrita por Fraga (2004) que incluiu região anal.

A cápsula cefálica reduzida foi considerada um segmento cefálico seguindo Erzinçlioglu (1985). Em todas as espécies, com exceção de *Ph. eximia*, observou-se os órgãos dorsais e ventrais, o primeiro correspondente à “antena” e o segundo, ao “palpo maxilar” que contém várias papilas características em todas as espécies. Ainda no segmento cefálico, as estruturas internas, os esqueletos cefalofaríngeanos são fortemente esclerotizados e distintos. Estes são mais robustos em espécies dos gêneros *Chrysomya* e *Paralucilia* em comparação com o gênero *Phaenicia*. O gênero *Phaenicia* pertencente à tribo Calliphorini não possui fenestra nos cornos dorsais diferentemente dos gêneros *Chrysomya* e *Paralucilia*.

Os espiráculos anteriores presentes no primeiro segmento do tórax (T1) apresentaram uma grande variação. Em *Ch. albiceps* variou de dez a 12 papilas, *Ch. megacephala* variou de nove a 12, *Pa. fulvinota* de nove a 13, *Ph. cuprina* de cinco a sete e *Ph. eximia* de sete a nove. Esta variação do número de papilas pode ocorrer na mesma larva (por exemplo, espiráculo anterior direito com sete papilas e esquerdo com seis). Sukontason *et al.* (2004) reportaram que a utilização do espiráculo anterior é uma característica incerta devido a sua variabilidade em uma mesma larva ou em larvas provenientes de uma mesma postura.

As bandas de espinhos do primeiro segmento torácico (T1) (MEV) e o segundo segmento abdominal (A2) (MO), principalmente do segmento T1 por ser bastante adjacente em relação aos outros segmentos mostraram ser uma característica distinta em todas as espécies analisadas. As larvas do gênero *Chrysomya* podem ser diferenciadas facilmente pela presença de processos dorsais e laterais nos segmentos abdominais em *Ch. albiceps* e ausentes em *Ch. megacephala* que possui espinhos arredondados, em forma de U, simples, bifidos ou trifidos como em *Pa. fulvinota*. As larvas de *Ph. cuprina* e *Ph. eximia* possuem espinhos pontiagudos em forma de V, os da primeira espécie são menores e simples em sua maioria. Knipling (1939) encontrou diferenças nas características larvais entre as espécies de *Ph. cuprina* que ocorrem na Austrália e na América do Norte. Nas amostras analisadas, constataram-se diferenças entre as espécies de *Ph. cuprina* e *Pa. fulvinota* em relação ao esqueleto cefalofaríngeano que apresenta o corno

dorsal mais arqueado em espécies provenientes do Peru (Greenberg & Szyska, 1984). Vários autores citaram as diferenças nas variações da morfologia larval provavelmente em função das extensões geográficas (Wallman, 2001). Sukontason *et al.* (2004), em estudo recente na Tailândia, utilizaram as mesmas características observadas em *Ph. cuprina* como espiráculo anterior e banda de espinhos, e os resultados aqui apresentados não condizem com os observados pelos autores.

A disposição dos tubérculos é uma característica distinta nas cinco espécies analisadas; em *Ch. albiceps* os tubérculos apresentam espinho no ápice e se assemelham aos processos da superfície do corpo da larva, *Ch. megacephala* são menos proeminentes do que *Ch. albiceps* e os espiráculos posteriores se encontram em uma cavidade mais profunda comparada com as outras espécies, *Pa. fulvinota* possui tubérculos conspícuos, *Ph. cuprina* possui tubérculos curtos e os de *Ph. eximia* são um pouco maiores do que *Ph. cuprina* e formam uma cavidade mais profunda onde localizam-se os espiráculos.

A região anal mostrou ser uma característica distinta nas cinco espécies analisadas e pode ser utilizada para diferenciar espécies muito semelhantes na sua forma imatura. Erzinçlioglu (1987) e Wells *et al.* (1999) utilizaram esta característica para diferenciar *Ch. albiceps* de *Ch. rufifacies* e *Co. macellaria* de *P. regina*, respectivamente.

Apesar de serem incluídas nas descrições das larvas, o uso do tamanho e coloração na identificação são limitados. O tamanho da larva pode ter uma variação considerável devido à idade, à disponibilidade de recursos – diferentes substratos de desenvolvimento, à temperatura, ao método de coleta e preservação das amostras. Tantawi & Greenberg (1993b) testaram líquidos preservativos que influenciam no encolhimento da larva e que podem levar à uma estimativa errada do IPM. A coloração da larva pode mudar em função da alimentação e do ambiente. Tobin *et al.* (1971) *apud* Greenberg & Szyska (1984) e Shinonaga & Kano (1973) *apud* Greenberg & Szyska (1984) reportaram que esta mudança na coloração pode ser considerado um tipo de camuflagem contra predadores. Outro exemplo, é a coloração castanho escura

visualizadas macroscopicamente em larvas de *Ch. albiceps* e observadas em *Co. macellaria* por Liu & Greenberg (1989). Nesta espécie, outros autores concluíram que isto pode ocorrer pela presença de pigmentos castanhos nos túbulos de Malpighi (Cunha-e-Silva *et al.*, 1991; Cunha-e-Silva & Milward-de-Azevedo, 1992).

As espécies pertencentes à subfamília Chrysomyinae (gêneros *Chrysomya* e *Paralucilia*) se caracterizam por possuírem espiráculo posterior com peritrema incompleto e marca ecdisial que é visível apenas em MEV nas espécies do gênero *Chrysomya*. Bonatto & Carvalho (1996) analisando larvas de *S. chlorogaster* também observaram uma marca ecdisial visível nos espiráculos posteriores através de MEV. O espiráculo de *Pa. fulvinota* possui uma marca ecdisial levemente pigmentada e visível em MO como na figura 17D. *Ph. cuprina* e *Ph. eximia* possuem características peculiares à subfamília Calliphorinae, por apresentarem peritrema completo e marca ecdisial distinta como observado por Greenberg & Szyska (1984). Os pêlos espiraculares que partem de glândulas periespiraculares presentes nas três aberturas do espiráculo posterior foram visualizados somente através de MEV demonstrando que mesmo em espécies correlacionadas existem diferenças no tamanho e quantidade desses pêlos.

## 8) Conclusões

- (a) Foram redescritas as larvas de terceiro ínstar de *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala*, *Paralucilia fulvinota*, *Phaenicia cuprina* e *Phaenicia eximia*. As descrições foram simplificadas para permitir sua utilização na identificação de larvas na prática forense;
- (b) Nas espécies do gênero *Chrysomya*, a marca ecdisial do espiráculo posterior é visível somente em microscopia eletrônica de varredura contradizendo descrições anteriores;
- (c) Os espiráculos anteriores não devem ser utilizados na identificação para a prática forense por apresentar uma grande variação no número de papilas na mesma larva (espiráculo anterior direito ou esquerdo);
- (d) Apesar da microscopia ótica ser utilizada com maior frequência em descrições anteriores, a microscopia eletrônica de varredura contribuiu para evidenciar aspectos morfológicos não visualizados em microscopia ótica;
- (e) O tamanho e a coloração da larva não devem ser utilizados para identificação. O primeiro, por depender da metodologia utilizada no momento da coleta e preservação deste material. O segundo, por depender do tipo de substrato em que a larva desenvolveu-se;
- (f) Para uma precisa identificação, as principais estruturas e características morfológicas a serem utilizadas são: (i) tipo e banda de espinhos (segmentos T1 e A2), (ii) arranjo do espiráculo posterior, (iii) disposição dos tubérculos do segmento A8 e (iv) estruturas associadas à região anal como tubérculos, lobos anais e disposição dos espinhos podem facilitar na identificação das larvas de espécies de califorídeos.

## 9) Referências Bibliográficas

- Adams, Z. J. O & M. J. R. Hall. 2003. Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. **Forensic Science International** **138**: 50-61.
- Bonato, S. R. & C. J. B. Carvalho. 1996. Análise morfológica das formas imaturas de *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae, Toxotarsinae). **Revista Brasileira de Zoologia** **13**: 707-726.
- Carvalho, C. J. B. & P. B. Ribeiro. 2000. Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia e Veterinária** **9**: 169-173.
- Carvalho, L. M. L.; P. J. Thyssen; A. X. Linhares & F. A. B. Palhares. 2000. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **95**: 135-138.
- Carvalho, L. M. L.; A. X. Linhares & J. K. Trigo. 2001. Determination of drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil. **Forensic Science International** **120**: 140-144.
- Catts, E. P & M. L. Goff. 1992. Forensic Entomology in criminal investigations. **Annual Review of Entomology** **37**: 253-272.
- Compobasso, C. P.; G. Vella & F. Introna. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science International** **120**: 18-27.
- Cunha-e-Silva, S. L.; A. C. V. Santos & T. Inada. 1991. Observações de pigmentos nos túbulos de Malpighi de larvas de terceiro ínstar de *Cochliomyia macellaria* (Fabr., 1775) e *C. hominivorax* (Coq., 1885) (Diptera: Calliphoridae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** **20**: 291-298.
- Cunha-e-Silva, S. L. & E. M. V. Milward-de-Azevedo. 1992. Estudo comparado do desenvolvimento de dois morfotipos larvais de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Zoologia** **9**: 181-186.

- d'Almeida, J. M & J. R. Almeida. 1998. Nichos tróficos em dípteros caliptrados no Rio de Janeiro, RJ. **Revista Brasileira de Biologia** **58**: 563-570.
- Dear, J. P. 1985. A revision of the new world Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae). **Revista Brasileira de Zoologia** **3**: 109-169.
- Denno, R. F & W. R. Cothran. 1975. Competitive interactions and ecological strategies of Sarcophagid and Calliphorid flies inhabiting rabbit carrion. **Annals of the Entomological Society of America** **69**; 109-113.
- Erzinçlioglu, Y. Z. 1985. Immature stages of british *Calliphora* and *Cynomya*, with a re-evaluation of the taxonomic characters of larval Calliphoridae (Diptera). **Journal of Natural History** **19**: 69-96.
- Erzinçlioglu, Y. Z. 1987. The larvae of some blowflies of medical and veterinary importance. **Medical and Veterinary Entomology** **1**: 121-125.
- Erzinçlioglu, Y. Z. 1988. The larvae of the species of *Phormia* and *Boreellus*: northern cold-adapted blowflies (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Natural History** **22**: 11-16.
- Erzinçlioglu, Y. Z. 1989. The early larval instars of *Lucilia sericata* and *Lucilia cuprina* (Diptera, Calliphoridae): myiasis blowflies of Africa and Australia. **Journal of Natural History** **23**: 1133-1136.
- Fraga, N. J. 2004. **Comportamento de oviposição de adultos, tempo de desenvolvimento e morfologia dos imaturos de *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius), *H. semidiaphana* (Rondani) e *Lucilia eximia* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, Brasil.** Dissertação de Mestrado em Entomologia. INPA-UFAM. 73p.
- Gomes, L. & C. J. Von Zuben. 2006. Forensic entomology and main challenges in Brazil. **Neotropical Entomology** **35**: 1-11.



- Gomes, L.; C. J. Von Zuben & E. Govone. 2002. Comportamento da dispersão larval radial pós-alimentar em moscas-varejeiras do gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae): busca por novas fontes de alimentos. **Entomologia y Vectores** **9**: 115-132.
- Greenberg, B. 1991. Flies as forensic indicators. **Journal of Medical Entomology** **28**: 565-577.
- Greenberg, B. & M. L. Szyska,. 1984. Immature stages and biology of fifteen species of peruvian Calliphoridae (Diptera). **Annals of the Entomology Society of America** **77**: 488-517.
- Guimarães, J. H. & N. Papavero. 1999. **Myiasis in man and animals in the Neotropical region - Bibliographic database**. Plêiade/ FAPESP. 308 p.
- Guimarães, J. H.; N. Papavero & A. P. Prado. 1983. As miíases na região Neotropical (identificação, biologia e bibliografia). **Revista Brasileira de Zoologia** **1**: 239-416.
- Guimarães, J. H.; A. P. Prado & A. X. Linhares. 1978. Three newly introduced blowfly species in southern Brazil (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia** **22**: 53-60.
- Hanski, I. 1987. Nutritional ecology of dung and carrion feeding insects, p. 838-884. *In*: **Nutritional Ecology of insects, mits, stidery and related invertebrates**. F. Slansky Jr. & J. G. Rodriguez (eds.) J. Willey & Sons. 1016p.
- Hennig, W. 1948. Die Larvenformen der Dipteren. Vol. I. Akademie-Verlag. Berlin. 184p
- Hennig, W. 1950. Die Larvenformen der Dipteren. Vol. II. Akademie-Verlag. Berlin. 458p
- Hennig, W. 1952. Die Larvenformen der Dipteren. Vol. III. Akademie-Verlag. Berlin. 628p
- Introna, F.; C. P. Compobasso & M. L. Goff. 2001. Entomotoxicology. **Forensic Science International** **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**: 46-100.
- James, M. T. 1947. **The flies that cause myiasis in man**. U. S. Department of Agriculture. Mischlianfots Publication. 631p.

- James, M. T. 1970. Family Calliphoridae. *In: A catalogue of the Diptera of the Americas South of United States*. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo 102: 1-28.
- Kano, R. & K. Sato. 1952. Notes on the flies of medical importance in Japan (Part VI) Larvae of Lucilini in Japan. **Japanese Journal of Experimental Medicine 22**: 33-42.
- Keh, B. 1985. Scope and applications of forensic entomology. **Annual Review of Entomology 30**: 137-154.
- Knipling, E. F. 1939. A key for blowfly larvae concerned in wound and cutaneous myiasis. **Annals of the Entomological Society of America 32**: 376-383.
- Leite, A. C. R. & J. D. E. Guevara. 1993. Scanning electron microscopy of the larval instars of *Cochliomyia hominivorax*. **Medical and Veterinary Entomology 7**: 263-270.
- Lenko, K. & N. Papavero. 1996. **Insetos no Folclore**. 2ª edição. Plêiade/FAPESP. 468p.
- Liu, D. & B. Greenberg. 1989. Immature stages of some flies of forensic importance. **Annals of the Entomological Society of America 82**: 80-93.
- Malgorn, Y. & R. Coquoz. 1999. DNA-typing for identification of some species of Calliphoridae an interest in forensic entomology. **Forensic Science International 102**: 111-119.
- Marchenko, M. I. 2001. Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. **Forensic Science International 120**: 89-109.
- Marchiori, C. H.; C. G. Silva; E. R. Caldas; C. I. S. Vieira; K. G. S. Almeida; F. F. Teixeira & A. X. Linhares. 2000. Artrópodos associados com carcaça de suíno em Itumbiara, sul de Goiás. **Arquivos do Instituto Biológico 67**: 167-170.
- Mariconi, F.; J. H. Guimarães & E. B. Filho. 1999. **A mosca doméstica e algumas outras moscas nocivas**. FEALQ. 135p.
- McGregor, M. E. 1914. The posterior stigmata of dipterous larvae as a diagnostic character: with especial reference to the larvae incriminated in cases of myiasis. **Parasitology 7**: 176-183.

- Mello, R. P. 2003. Chave para a identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorhapha) encontradas no Brasil. **Entomologia y Vectores** **10**: 255-268.
- Nespoli, P. E. B.; M. M. C. Queiroz; R. C. Ribeiro & E. M. V. Milward-de-Azevedo. 1998. Desenvolvimento pós-embrionário de duas populações de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) criadas em carne em diferentes estágios de decomposição. **Revista Brasileira de Entomologia** **41**: 133-136.
- O'Flynn, M. A. & D. E. Moorhouse. 1980. Identification of early immature stages of some common Queensland carrion flies. **Journal of Australian Entomological Society** **19**: 53-61.
- Oliveira-Costa, J. 2001. Dípteros muscóides associados com cadáveres humanos no local da morte, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Boletim do Museu Nacional** **464**: 1-6.
- Oliveira-Costa, J. 2002. Entomologia forense – insetos a serviço da justiça. **Cadernos de Direito da Universidade Castelo Branco** **1**: 41-51.
- Oliveira-Costa, J. 2003. **Entomologia Forense – Quando os insetos são vestígios**. Millennium. 257p.
- Prado, A. P. & J. H. Guimarães. 1982. Estado atual de dispersão e distribuição do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy na região Neotropical (Diptera, Calliphoridae). **Revista Brasileira de Entomologia** **26**: 225-231.
- Prins, A. J. 1982. Morphological and biological notes on six South African blow-flies (Diptera, Calliphoridae) and their immature stages. **Annals of the South African Museum** **90**: 201-217.
- Queiroz, S. M. P. & C. J. B. Carvalho. 1987. Chave pictórica e descrições de larvas de 3º ínstar de Diptera (Calliphoridae, Muscidae e Fanniidae) em vazadouros de resíduos sólidos domésticos em Curitiba, Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** **16**:265-288.

- Queiroz, M. M. C. & E. M. V. Milward-de-Azevedo. 1991. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **8**: 75-84.
- Queiroz, M. M. C.; R. P. Mello & M. M. Lima. 1997. Morphological aspects of the larval instars of *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) reared in the laboratory. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **92**: 187-196.
- Rueda, L. M. 2004. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with dengue virus transmission. **Zootaxa** **589**: 1-60.
- Salviano, R. J. B. 1996. **Sucessão de Diptera caliptrata em carcaça de *Sus scrofa* Linnaeus, Rio de Janeiro, RJ**. Tese de Doutorado em Parasitologia Veterinária. UFRRJ. 158p.
- Sandeman, R. M.; B. J. Collins & P. R. Carnegie. 1987 A scanning electron microscope study of *L. cuprina* larvae and the development of blowfly strike in sheep. **International Journal for Parasitology** **17**: 759-765.
- Schroeder, H.: H. Klotzbach; S. Elias; C. Augustin & K. Pueschel. 2003. Use of PCR-RFLP for differentiation of calliphorid larvae (Diptera: Calliphoridae) on human corpses. **Forensic Science International** **132**: 76-81.
- Sherman, R. A.; M. J. R. Hall & S. Thomas. 2000. Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions. **Annual Review of Entomology** **45**: 55-81.
- Shewell, G. E. 1987. Calliphoridae, pp 1133-1145. *In*: J. F. McAlpine; B. V. Peterson; G. E. Shewell; H. J. Teskey; J. R. Vocherth & D. M. Wood (eds). **Manual of Nearctic Diptera**. Vol. II. Agriculture Canada, Ottawa, i-vi: 675-1332.
- Shinonaga, S. & R. Kano. 1973. Studies on the flies occurring from the excrement of pasturing cattle and other herbivorous animals. 1. On the 3rd stage larvae of the genus *Orthellia* R. D. of Japan (Diptera, Muscidae, Muscinae). **Japanese Journal of Sanitary Zoology** **24**:57-63.

- Silva, S. M.; J. C. R. Fontenelle & R. P. Martins. 2001. Por que as moscas visitam flores?. **Ciência Hoje** **30**: 68-71.
- Smit, B. 1931. The study of sheep blowflies of South Africa. **Journal of Veterinary and Animal Industrial** **17**: 299-421.
- Smith, H. H. 1892. Screw worms and the man-infesting bot in Brazil. **Insect Life** **5**: 265-266.
- Smith, K. G. V. 1986. **A manual of forensic entomology**. Oxford: University Printing House. 205p.
- Stehr, F. W. 1987. **Immature insects**. Kendall/Hunt. Volume I. 731p.
- Souza, G. S. 1938. **Tratado descritivo do Brasil em 1587**. Companhia Editora Nacional. 493p.
- Sukontason, K.; K. L. Sukontason; R. Ngern-Klun & S. Piangjai. 2004. Differentiation of the third instar of forensically important fly species in Thailand. **Annals of the Entomological Society of America** **97**: 1069-1075.
- Sukontason, K.; K. L. Sukontason; S. Piangjai; P. Narongchai; W. Samai; N. Boonchu; D. Sripakdee; R. Ngern-Klun & S. Siritwattanarungsee. 2005a. Morphology of second and third instars of *Chrysomya villeneuvei* Patton (Diptera: Calliphoridae), a fly species of forensic importance. **Forensic Science International** **154**: 195-199.
- Sukontason, K. L.; K. Sukontason; S. Piangjai; N. Boonchu; T. Chaiwong; R. C. Vogtsberger; B. Kuntalue; N. Thijuk & J. K. Olson. 2003. Larval morphology of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy. **Journal of Vector Ecology** **28**: 47-52.
- Sukontason, K. L.; R. C. Vogtsberger; N. Boonchu; T. Chaiwong; D. Sripakdee; R. Ngern-Klun; S. Piangjai & K. Sukontason. 2005b. Larval morphology of *Chrysomya nigripes* (Diptera: Calliphoridae), a fly species of forensic importance. **Journal of Medical Entomology** **42**: 233-240.

- Tantawi, T. I. & B. Greenberg. 1993a. *Chrysomya albiceps* and *C. rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): contribution to an ongoing taxonomic problem. **Journal of Medical Entomology** **30**: 646-648.
- Tantawi, T. I. & B. Greenberg. 1993b. The effect of killing and preservative solutions on estimates of maggot age in forensic cases. **Journal of Forensic Sciences** **38**: 702-707.
- Tao, S. M. 1927. A comparative study of the early larval stages of some common flies. **American Journal of Hygiene** **7**: 735-761.
- Teskey, H. J. 1976. Diptera larvae associated with trees in North America. **Memoirs of the Entomological Society of Canada** **100**: 1-53.
- Teskey, H. J. 1981. Morphology and terminology – larvae, pp. 65-88. *In: Manual of Nearctic Diptera*. McAlpine, J. F.; B. V. Peterson; G. E. Shewell; H. J. Teskey; J. R. Vocherth & D. M. Wood (eds). Vol. I. Agriculture Canada, Ottawa, i-vi: 1-674.
- Teskey, H. J. 1991. Introduction, p.690-706. *In: Order Diptera*. B. A. Foote (coord.), chap. 37, p.690-915. *In: Immature insects*. F. W. Stehr (ed.). Dubuque: Kendall/ Hunt Publishing Company, v. 2, xvi + 975 p.
- Tobin, E.; M. Koreeda; K. Nakanishi & J. G. Stoffolano Júnior. 1971. Extraction and isolation of a blue pigment from third-stage larvae and pupae of the fly *Orthellia caesarion* (Diptera: Muscidae). **Annals of the Entomology Society of America** **64**:1459-1460.
- Turner, B. 1987. Forensic entomology: insects against crime. **Science Progress** **71**: 133-144.
- Turner, B. 1991. Forensic entomology. **Forensic Science Progress** **5**: 129-151.
- Wallman, J. F. 2001. Third-instar larvae of common carrion-breeding blowflies of the genus *Calliphora* (Diptera: Calliphoridae) in South Australia. **Invertebrate Taxonomy** **15**: 37-51.
- Wallman, J. F. & S. C. Donnellan. 2001. The utility of mitochondrial DNA sequences for the identification of forensically important blowflies (Diptera: Calliphoridae) in southeastern Australia. **Forensic Science International** **120**: 60-67.

- Wells, J. D. & F. A. H. Sperling. 2001. DNA-based identification of forensically important Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae). **Forensic Science International 120**: 110-115.
- Wells, J. D., J. H. Byrd & T. I. Tantawi. 1999. Key to third-instar Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United States. **Journal of Medical Entomology 36**: 638-641.
- Xerez, R. & J. R. Pujol-Luz. 2001. Description of the larva of *Vittiger schnusei* Kertész, 1909 (Diptera: Stratiomyidae) from Ilha da Marambaia, Rio de Janeiro, Brazil. **Studia Dipterologica 8**: 337-341.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)