

**FACULDADE DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

**SUCCESSÃO DA ENTOMOFAUNA ASSOCIADA A CARCAÇAS
DE *Sus scrofa* L. NO SUL DO BRASIL**

Ana Carolina Reimann Ries

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
Av. Ipiranga 6681 – Caixa Postal 1429
Fone (51) 3320-3500 - Fax (51) 3339-1564
90619-900 Porto Alegre – RS
Brasil**

2013

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

**SUCESSÃO DA ENTOMOFAUNA ASSOCIADA A CARCAÇAS
DE *Sus scrofa* L. NO SUL DO BRASIL**

**Ana Carolina Reimann Ries
Orientador: Dra. Betina Blochtein**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
PORTO ALEGRE - RS - BRASIL
2013**

BANCA EXAMINADORA

José Roberto Pujol Luz

(Professor Titular na UnB/Brasília)

Luciano de Azevedo Moura

(Professor Colaborador na PUCRS)

Simão Dias de Vasconcelos Filho

(Professor adjunto da Universidade Federal de Pernambuco)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
EPÍGRAFE	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix

Apresentação	10
Capítulo I: Padrão sucessional de insetos em carcaças de suínos expostas no sul do Brasil	14
Capítulo II: Prevalência de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) associados a carcaças em decomposição no sul do Brasil: relações de predação e canibalismo	48
Conclusões gerais	68

ANEXOS

Normas de publicação	69
Capítulo I: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz	69
Capítulo II: Journal of Forensic Science	73

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, aos meus pais, Rosemary e João Francisco, e minha avó paterna, Lucy, que nunca me questionaram sobre minhas escolhas profissionais, muito pelo contrário, sempre me apoiaram e procuraram me ensinar que o sucesso depende exclusivamente do mérito de cada um e seus talentos individuais. Que me proporcionaram todo amor e carinho necessário e quando, por muitas vezes, me mostrei cansada e desmotivada me ajudaram a seguir em frente. Obrigada pelo apoio, inclusive financeiro, pelo carinho e pelo amor, pelo exemplo de força e superação, e pelas muitas palavras de conforto e cuidado.

Ao meu namorado, Lucas, que da melhor maneira soube me colocar os pés no chão, me fazendo ver todos os lados da situação e nunca deixando de acreditar em mim. Obrigada pelo amor, pelo apoio, pela amizade e companheirismo, pelos momentos que tu soubeste me entender e pelas poucas palavras ditas nos momentos ideais, que me fizeram seguir em frente. Apesar de tu não acreditar, tu tiveste importância fundamental na construção da pessoa que sou hoje, pessoal e profissionalmente.

À minha orientadora, Dra. Betina Blochtein, por aceitar a orientação desse trabalho. Obrigada pela paciência, pelo carinho e incentivo, e pela amizade e respeito desenvolvidos nesses dois anos. E pelo aprendizado, não só profissional, como pessoal.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Entomologia, por compartilhar os ensinamentos e pelo envolvimento constante na construção deste trabalho. Obrigada, além disso, pelo acolhimento, carinho e apoio, pelos momentos de descontração que por muitas vezes se fizeram necessários. Em especial, a amiga e colega de Mestrado Rosana Halinski, por me apoiar e me ensinar tantas lições durante este período. Obrigada pelo interesse demonstrado e pelas longas horas de discussão que com certeza nos acrescentaram a maturidade necessária para concluir esta etapa.

A todos meus amigos que estiveram presentes direta ou indiretamente nesses dois anos. Muito obrigada pela paciência, pela compreensão em muitas ausências em eventos importantes, pelos conselhos e pelo apoio. Agradeço de forma especial as amigas Bianca Cognato, Fernanda Garcia e Verônica Petry que desde a graduação me acompanharam em todos os momentos, sempre me apoiando para seguir em frente.

Aos colegas mestrandos e doutorandos do Programa de Pós Graduação em Zoologia pelas aulas e conhecimentos compartilhados, assim como tantas aflições.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zoologia da PUCRS e funcionários, pela atenção dispensada, não somente em aulas, mas nos corredores e durante os cafés. Pelos muitos conselhos que foram sempre importantes nessa caminhada. Em especial aos professores Dr. Gervásio Carvalho pelo incentivo inicial e ao Dr. Roberto Reis pela confiança e suporte fornecidos durante todo o mestrado.

Aos professores do Departamento de Estatística, Lori Viali e João Feliz Duarte de Moraes, pelos esclarecimentos estatísticos e matemáticos, e pela disponibilidade solucionar dúvidas de última hora.

À FEPAGRO, representada pelos senhores Flávio Albite e Bruno Brito Lisboa, que apoiou a realização do experimento, e disponibilizou a área para tal.

Aos veterinários Bruno Bangel e Luisa Maria Gomes de Macedo Braga e ao Perito Criminalístico Décio Mallmith que acompanharam a execução dos animais.

Aos pesquisadores pela identificação dos espécimes: Cátia Mello-Patiu (Sarcophagidae) e Kátia Matiotti (Orthoptera).

Ao Dr. José Roberto Pujol-Luz e equipe do Núcleo de Entomologia Forense da Universidade de Brasília, obrigada por uma semana de total imersão, pelos conhecimentos compartilhados e por sempre deixar as portas abertas para esclarecer as dúvidas que foram surgindo.

Ao Dr. Cláudio Barros de Carvalho e sua equipe do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal do Paraná, pela identificação dos muscídeos e pelo conhecimento compartilhado. E aos doutorandos do Programa de Zoologia da UFPR Fernando Leivas e Kléber Mise por auxiliar na identificação de Histeridae.

Ao Dr. Luciano de Azevedo Moura, que acompanhou meu interesse crescente na Entomologia Forense desde o Trabalho de Conclusão da Graduação em Ciências Biológicas na PUCRS, sempre contribuindo com críticas construtivas e se colocando a disposição para me auxiliar. Obrigada pela identificação dos espécimes de Coleoptera e pelo apoio na construção deste trabalho.

A CAPES pela bolsa concedida para realização deste trabalho.

EPÍGRAFE

“... Certa vez, em França, ha justamente 71 annos, um modesto medico provinciano, Bergeret, apertado na difficil conjunctura de determinar o tempo de morte de uma creança, cujo corpo mumificado continha larvas e chrysalidas de insectos, lembrou-se, ante a fallencia dos recursos que a chronologia putrefactiva lhe facultava para o caso, de recorrer ao estudo da fauna dos cadaveres, conseguindo, dest'arte, firmar diagnose peremptoria e precisa. Esse relatorio abria uma esperança para os medicos legistas. Lançava a semente que mais tarde fructificaria num dos mais bellos e curiosos capitulos da medicina legal de nossos dias. Não ousarei contar-vos, por meudo, as vicissitudes porque passou o problema, nem vos enumerar os copiosos trabalhos, que ora alçavam o estudo da fauna cadaverica ao nivel do resurso mais seguro e valioso para a chronothanatognose, como se diz na arresada terminologia medica, ora restringiam seus prestimos a quasi nada, quando lhe não negavam qualquer importancia ou serventia.

Deverei, porém, citar-vos o verdadeiro creador desse capitulo da sciencia dos nossos dias, o sábio entomologista Mégnin, que o estudou com carinho, systematisou e deu-lhe emfim foros de cidadania scientifica. Com elle chegou a questão ao apogeu: seus trabalhos resumem o máximo que o estudo da fauna cadaverica prometteu a medicina legal. O problema medico legal mais importante que a fauna cadaverica pretendia resolver era o da determinação do tempo da morte.

Baseava-se em dois principios. Creado na época em que alvoreciam as pesquisas sobre os germens da putrefacção, acreditando-se que os microbios não entravam atabalhoadamente na fauna da decomposição cadaverica, senão em ordem methodica, regular, constante, uns em pós outros, o systema se firmava em que a putrefacção evolve por phases succesivas, regulares, (...) de sorte que a composição chimica do corpo em putrefacção se ia alterando progressivamente, sempre na mesma ordem e em limites de tempo mais ou menos iguaes até a redução final.

Acceito esse postulado, admittia Mégnin que o insecto como o acariano, quer fosse ao cadáver para nutrir-se, quer para garantir à sua próle meio nutritivo farto e conveniente ao crescimento, só o procurava quando a putrefacção havia attingido a phase cuja constituição chimica lhe era mais favoravel. Dest'arte, a cada periodo putrefactivo correspondia uma turma, uma legião, de trabalhadores da morte, segundo a pinturesca expressão de Mégnin. E assim se construiu o eschema das turmas dos trabalhadores da morte...”

(Parte da Conferência realizada por Oscar Freire em 1921, no Centro Acadêmico Oswaldo Cruz. In: Freire O. 1923. Fauna Cadaverica Brasileira. *Revista de Medicina*, 4:15-40).

RESUMO

A entomologia forense é a ciência aplicada no uso de insetos aliados a procedimentos legais, sendo utilizada como ferramenta complementar pelas polícias científicas e perícias criminais do país na determinação do intervalo *post-mortem* (IPM). Para tal, citam-se duas maneiras para determinação do IPM: idade dos espécimes imaturos coletados associados a carcaças e sequência na sucessão de insetos presentes. No Brasil, poucos trabalhos focam na Entomologia Forense, e os dados levantados em uma área geográfica não podem ser aplicados em outras devido a alta diversidade de espécies de insetos no país. Portanto, o presente estudo objetivou determinar o padrão sucessional para a entomofauna de carcaças em decomposição no sul do Brasil, correlacionando-o com as fases de decomposição e os fatores abióticos e avaliar a interferência de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) na detecção de outras espécies de larvas de insetos necrófagos. O experimento foi realizado na Estação de Pesquisa e Produção Água Belas da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, em Viamão, no sul do Brasil. Foram utilizados três porcos domésticos com aproximadamente 16 kg, abatidos por disparo de arma de fogo e imediatamente dispostos em caixas de proteção com malha metálica. Para amostragem da entomofauna, utilizou-se rede entomológica, coleta manual e armadilhas *pitfall*, sendo as coletas realizadas diariamente, ao meio dia. As carcaças foram observadas e fotografadas, e os dados de temperatura e umidade foram registrados. Foram capturados 569 espécimes adultos, pertencentes a 29 famílias, 55 gêneros e 68 morfoespécies. Scarabaeidae foi a família mais abundante entre os insetos adultos, representando aproximadamente 25% dos indivíduos coletados, seguida por Calliphoridae (23%). Os 269 espécimes imaturos amostrados, compreendem um gênero e duas espécies. A prevalência de *Chrysomya albiceps* foi evidente, com 97,4% dos indivíduos coletados. Foram observadas cinco fases de decomposição durante os quatorze dias que compreenderam o experimento. A fase de decomposição com o maior número de indivíduos, adultos e imaturos, e riqueza de espécies foi a de putrefação negra, ao passo que na fase de esqueletização houve um elevado decréscimo deste número. A prevalência de imaturos de *C. albiceps* durante o processo de decomposição afetou a detecção de indivíduos de outras espécies necrófagas. Além disso, somente espécimes de terceiro instar larval foram coletados, fato que pode ser relacionado ao comportamento predador e canibal da espécie sobre as demais.

Succession of entomofauna associated with carcasses of *Sus scrofa* L. in Southern Brazil.

ABSTRACT

Forensic entomology is the science applied in the use of insects allied to legal procedures, being used as a complementary tool for scientific police and crime scene investigators of the country in the determination of the *post mortem* interval (PMI). To this end, we mention two ways to determine the PMI: the age of immature specimens collected in association with carcasses and the following succession of insects present. In Brazil, few studies focus on forensic entomology, and data collected in a geographic area cannot be applied in other one due to the high diversity of insect species in the Country. Therefore, this study aimed to determine the pattern of entomofauna succession of decomposing carcasses in southern Brazil, correlating to the stages of decomposition and abiotic factors and evaluate the interference of larvae of *Chrysomya albiceps* in the detection of other species of scavengers insect larvae. The experiment was conducted at the Águas Belas Research Station and Production of the State Foundation for Agricultural Research in Viamão, in southern Brazil. It was used three domestic pigs with approximately 16 kg, slaughtered by firearm shooting and immediately placed in protection boxes with metal mesh. For the entomofauna sampling, it was used insect nets, manual collection and *pitfall* traps, collections being made daily at noon. The carcasses were observed and photographed, and the data of temperature and humidity were recorded. We captured 569 adult specimens, belonging to 29 families, 55 genera and 68 morphospecies. Scarabaeidae was the most abundant family among the adult insects, representing approximately 25% of the individuals collected, followed by Calliphoridae (23%). The 269 immature specimens sampled, comprising a genus and two species. The prevalence of *Chrysomya albiceps* was evident, with 97.4% of the individuals collected. It was observed five stages of decomposition during the fourteen days that comprised the experiment. The stage of decomposition with the largest number of individuals, adults and immatures, and species richness was black putrefaction, while in the skeletonization stage there was a large decrease of this number. The prevalence of immature *C. albiceps* during the decomposition process affected the detection of individuals of other scavenger species. Furthermore, only third instar specimens were collected, which may be related to predatory and cannibalistic behavior of the species over others.

1. Apresentação

Entomologia forense é a ciência que aplica o estudo de insetos em processos criminais. Durante investigações determinar o tempo de morte é umas principais questões a serem abordadas. Após 72 horas, a entomologia forense é o método mais acurado para a determinação do intervalo *post-mortem* (IPM), pois mudanças ocorridas na carcaça após algumas horas no verão podem não ser evidentes, assim como após alguns dias no inverno (Kashyap & Pillay 1989).

A aplicação dos dados relacionados à sucessão de insetos e sua associação com investigações criminais compete à entomologia forense (Goff 2000). Quando os parâmetros da medicina legal não são tão facilmente aplicáveis, a presença ou ausência de insetos em uma carcaça em decomposição e seu desenvolvimento é uma das principais fontes de dados para determinação de tempo de morte e outras informações relacionadas a crimes (Anton et al. 2011).

As pesquisas na área tiveram sua primeira aplicação ainda no século XIII, contudo a partir de 1850 que a literatura especializada atribuiu a primeira utilização da ciência a Bergeret, na França. Em 1894, a obra de Mégnin, '*La faune des cadavres*', popularizou a entomologia forense, fazendo com que seu conceito fosse mundialmente conhecido. Ao longo de pouco mais de cem anos as bases da entomologia forense evoluíram com as observações de autores de diversos países, contribuindo para a abordagem atualmente utilizada (Caneparo et al. 2012; Pujol-Luz et al. 2008)

No Brasil, o marco inicial da ciência foi dado por Oscar Freire na Bahia, em 1908, e junto a ele, Roquette-Pinto publicou, no Rio de Janeiro, estudo de caso intitulado "Nota sobre a fauna cadavérica do Rio de Janeiro". Nos anos subsequentes seguiu-se a publicação de diversos estudos na área como Lunderwaldt (1911), Samuel Pessoa e Frederico Lane (1941). Oscar Freire, no conjunto de sua obra, serviu de modelo para os

trabalhos atuais em Entomologia Forense, chamando atenção para algumas diretrizes: (1) não há exclusivismo de espécies de insetos para cada fase de decomposição; (2) é fator de importância a competição entre os necrófagos; (3) influi na sua presença ou ausência a riqueza em espécies e gêneros da região e sua distribuição; (4) não há isocronismo dos períodos de decomposição cadavérica, dependendo de fatores intrínsecos e extrínsecos; e (5) uma cronologia precisa é impossível (Pujol-Luz et al. 2008).

Contudo, a falta de interesse na área, e os problemas relacionados as coletas de espécimes em corpos humanos ou a locais adequados para a experimentação com outros modelos, fizeram com que a ciência ficasse esquecida por algum tempo. A partir da década de 80 os estudos foram retomados por pesquisadores como: Monteiro-Filho & Penereiro 1987; Moura e colaboradores 1997; Salviano 1996; Carvalho e colaboradores 2000, 2001, 2004; e, Oliveira-Costa 2001, 2002, a maior parte deles utilizando porcos domésticos como modelos experimentais, e com estudos sistematizados abordando também a taxonomia, biologia, desenvolvimento pós-embriônico, ecologia e sucessão ecológica da fauna cadavérica, em estudos desenvolvidos pelas equipes de Carvalho & Linhares (2000,2001), Oliveira-Costa (2003) e Pujol e colaboradores (2008) (Pujol-Luz et al. 2008). Recentemente, entomologistas forenses ao redor do mundo implementaram o uso de análise por DNA, tanto para identificação de espécies crípticas quanto para identificar o material genético que pode estar presente no sistema digestório de insetos necrófagos e hematófagos (Thyssen 2008).

Segundo Amendt e colaboradores (2004), compete aos entomólogos forenses a tarefa de reconstruir as condições de cenas de morte da maneira mais fidedigna possível, assim como a criação de modelos que permitam a análise de dados. Tal fato proporciona a possibilidade da transferência de conhecimentos da academia para o poder público, de forma a possibilitar a aplicação das pesquisas. Essa cooperação é de fundamental

importância para a incorporação da entomologia forense entre as ciências utilizadas rotineiramente como ferramenta de produção de evidências.

As pesquisas em entomologia forense demandam muito tempo e dedicação, além da grande dificuldade ainda encontrada. Mesmo muitos estudos ainda estando em fase inicial, muitas dissertações e teses com o tema já foram defendidas e homologadas. A atuação desses pesquisadores em diferentes regiões do Brasil contribui cada vez mais para a formação de profissionais habilitados na área. O que proporciona, por sua vez, a disseminação do conhecimento, de forma que os futuros entomólogos forenses possam aplicar o conhecimento acadêmico na prática pericial, participando ativamente das investigações criminais.

Dois artigos foram produzidos a partir dos resultados encontrados nessa pesquisa e compõem o corpo desta dissertação como capítulos. São eles:

Capítulo I: Padrão sucessional de insetos em carcaças de suínos expostas no sul do Brasil. Neste capítulo é apresentado o padrão de sucessão de insetos estabelecido para a região, relacionado com as fases de decomposição encontradas, levando em consideração os dados abióticos.

Capítulo II: Prevalência de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) associados a carcaças em decomposição no sul do Brasil: relações de predação e canibalismo. O capítulo apresenta o levantamento dos imaturos de dípteros muscóides no processo de decomposição, ressaltando a prevalência do gênero *Chrysomya*, e suas relações de predação e canibalismo no estágio larval.

Os dois capítulos serão submetidos como artigos, às revistas Memórias do Instituto Oswaldo Cruz e Journal of Forensic Science respectivamente, e, portanto foram redigidos em acordo com as normas das referidas revistas.

REFERÊNCIAS

Amendt J, Krettek R, Zehner R 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften* 91: 51-65.

Anton E, Niederegger S, Beutel RG 2011. Beetles and flies collected on pig carrion in an experimental setting in Thuringia and their forensic implications. *Med Vet Entomol* 25: 353-364.

Caneparo MFC, Corrêa RC, Mise KM, Almeida LM 2012. Entomologia médico-criminal. *Estud Biol Ambiente Divers* 34: 215-223.

Goff ML 2000. A fly for the Prosecution: how insect evidence helps solve crimes. Harvard University Press, Cambridge, MA, 225pp.

Kashyap VK, Pillay VV 1989. Efficacy of entomological method in estimation of postmortem interval: a comparative analysis. *Forensic Sci Int* 40: 245-250.

Pujol-Luz JR, Arantes LC, Constantino R 2008. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). *Rev Bras Entomol* 52: 485-492.

Thyssen PJ 2008. As aplicações do DNA na entomologia forense e no contexto legal. *Biológico, São Paulo* 70: 49-50.

PADRÃO SUCESSIONAL DE INSETOS EM CARCAÇAS DE SUÍNOS EXPOSTAS NO SUL DO BRASIL¹

Título resumido: Sucessão de insetos em carcaças de suínos

Ana Carolina Reimann Ries^{1,2}, Betina Blochtein²

¹ Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora, PPG-Zoologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; projeto financiado pela CAPES

² Departamento de Biodiversidade e Ecologia, Faculdade de Biociências, Laboratório de Entomologia. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Avenida Ipiranga, 6681, 90619-900, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

^{1,2}anacarolinaries@hotmail.com; ²betinabl@pucrs.br

RESUMO

O conhecimento dos padrões de insetos que visitam carcaças em decomposição e a análise dos parâmetros relacionados auxilia na determinação do intervalo *post-mortem* (IPM). Obtém-se essa informação através de estudos regionais, pois a diversidade dos insetos e as condições ambientais interferem neste contexto. Realizou-se o estudo em área da FEPAGRO em Viamão, no sul do Brasil. Utilizaram-se três porcos domésticos (*Sus scrofa*), abatidos no local. Os insetos foram coletados diariamente com rede entomológica, coleta manual e armadilhas *pitfall*. As carcaças completaram o processo de decomposição em 14 dias. Coletaram-se 569 espécimes adultos, sendo Scarabaeidae a família mais abundante, representando 25% dos indivíduos coletados, seguida por Calliphoridae (23%). A fase de putrefação negra, de acordo com os índices de diversidade, apresentou maior abundância e riqueza de insetos. O padrão de sucessão foi

estabelecido a partir do índice de dominância das espécies: fase fresca - *Lucilia eximia* (Diptera, Calliphoridae), fase cromática e de inchamento – *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae), fase de putrefação negra e de esqueletização – Aphodiinae sp. 1 (Coleoptera, Scarabaeidae). Não foi encontrada correlação entre os fatores abióticos e o número de insetos presentes nas carcaças. A projeção de riqueza de espécies não atingiu a assíntota, demonstrando que o número de coletas não foi suficiente.

Palavras-chave: entomologia forense, insetos necrófagos, colonização, *Sus scrofa*, região sul, intervalo *post-mortem*

ABSTRACT

The knowledge of the patterns of insects visiting decaying carcasses and the analysis of related parameters help in the determination of the *post mortem* interval (PMI). This information is obtained through regional studies, because the diversity of insects and environmental conditions interfere in this context. We carried out the study in a FEPAGRO area in Viamão, in southern Brazil. It was used three domestic pigs (*Sus scrofa* L.) slaughtered on site. The insects were collected daily with insect net, manual collection and *pitfall* traps. Carcasses completed the decomposition process in 14 days. We collected 569 adult specimens, being Scarabaeidae the most abundant family, representing 25% of the total sample, followed by Calliphoridae (23%). The black putrefaction stage, according to the diversity index, showed greater abundance and diversity of insects. The pattern of succession was established from the index of dominance of species: fresh phase - *Lucilia eximia* (Diptera, Calliphoridae), chromatic and bloat - *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae), black putrefaction and skeletonization - Aphodiinae sp. 1 (Coleoptera, Scarabaeidae). No correlation was found between the abiotic factors recorded and the number of insects present in the

carcasses. The projection of species richness has not reached an asymptote, indicating that the number of samplings was not sufficient.

Key-words: forensic entomology, colonization, entomofauna, *Sus scrofa*, Southern, *post-mortem* interval

Introdução

A entomologia forense é o estudo de insetos associados a carcaças com o propósito de determinar tempo de morte, e outras circunstâncias relacionadas, como movimentação do corpo, presença de ferimentos *ante-mortem* e uso de drogas (Anderson & VanLaerhoven 1996). Após a morte, o tecido de animais representa uma fonte de recurso energético para insetos e outros invertebrados (Smith 1986; Anderson & VanLaerhoven 1996), que são atraídos à carcaça em função dos gases emanados durante o processo de decomposição, gerando gás amoníaco, ácido sulfúrico, nitrogênio e gás carbônico (Magaña 2001). A utilização de insetos em investigações criminais reside no fato de estarem presentes em todas as fases de decomposição e em uma sequência previsível (Dillon 1997; Dillon & Anderson 1995; Payne 1965). Além disso, certas espécies de insetos são características de certas regiões geográficas (Catts & Goff 1992; Anderson & Van Larerhoven 1996; Payne 1965).

O emprego de insetos para determinação do intervalo *post-mortem* (IPM) baseia-se no fato de que estes colonizam a carcaça em diferentes ondas podendo utilizá-la como fonte proteica, para proteção e reprodução. Dessa forma, a colonização de insetos se dá por tantas espécies quanto o recurso permitir, desencadeando um processo de sucessão, que sendo constante e conhecido pode ser altamente informativo (Mise et al. 2007). Assim, o estudo dos insetos associados a cadáveres pode produzir informações adicionais, auxiliando na resolução de crimes e suas circunstâncias (Catts & Goff 1992;

Catts & Haskell 1991; Benecke & Lessig 2001; Anderson & Hobischak 2004; Smith 1986).

O Brasil não dispõe de legislação para uso de cadáveres humanos em estudos forenses, onde porcos domésticos têm sido utilizados como modelo experimental, por serem onívoros e apresentarem fauna intestinal e tegumento semelhantes aos humanos (Campobasso et al. 2001; Schoenly et al. 2006). O tempo de decomposição está associado à massa corpórea, e por isso carcaças pequenas são evitadas como modelos devido à rápida perda de massa (Goff 1993; Payne 1965). Anderson & VanLaerhoven (1996) recomendam carcaças com cerca de 20 kg que é o equivalente ao peso aproximado do torso de um humano adulto, onde está centrada a decomposição.

A decomposição de cadáveres se caracteriza por um processo contínuo, iniciando na hora da morte e finalizando quando a carcaça está reduzida ao esqueleto. Apesar de ser contínuo, esse processo, para fins de estudo é dividido em estágios. A classificação dos estágios quanto ao número e duração difere de acordo com a área geográfica e os autores (Goff 1993; Bornemissza 1956). A classificação mais utilizada em países neotropicais é a proposta por Gomes (1997), e compreende cinco fases de decomposição: fresca, cromática, de inchamento, da putrefação negra e esqueletização. Cada fase de decomposição propicia um microambiente ideal para determinadas espécies de insetos, fazendo com que certos grupos colonizem uma carcaça em decomposição, estabelecendo uma sequência cronológica previsível (Bornemissza 1956; Payne 1965; Vasconcelos & Araujo 2012).

O reconhecimento das espécies que colonizam carcaças, e do seu desenvolvimento a diferentes temperaturas, provém informações para a indicação do tempo de morte (Smith 1986; Greenberg 1991). Catts & Haskell (1991) enfatizaram a influência de diversos fatores que devem ser considerados na estimativa do intervalo pós-morte, pois podem alterar a chegada dos insetos e a colonização. O clima, especialmente quando

relacionado à temperatura e umidade exerce grande influência na decomposição e sucessão de insetos (Shean et al. 1993; Archer 2004). A velocidade de desenvolvimento dos insetos também é um processo dependente de temperatura, desta forma, quando a temperatura aumenta, o metabolismo se eleva, acelerando o desenvolvimento (Gomes 2010). A temperatura e a umidade relativa também atuam na velocidade de decomposição dos cadáveres. Monteiro-Filho & Penereiro (1987) demonstraram que altos índices de umidade e temperatura permitem a decomposição rápida da carcaça, enquanto baixas temperaturas e umidades tornam o processo de decomposição mais lento.

Insetos necrófagos apresentam diferentes índices de sinantropia verificados pela sua abundância associada à determinada área ecológica, segundo classificação de Gregor & Polvony (1985) citada por Montoya e colaboradores (2009). Por exemplo, representantes de Calliphoridae, de modo geral, são característicos de ambientes urbanos (Ferreira 1978). Diversas espécies de insetos são amplamente encontradas em áreas de habitação humana, onde também ocorre maior incidência de homicídios (Anderson 2011).

Segundo dados oficiais, a taxa de homicídios no Brasil, nas duas últimas décadas, cresceu 41%, com uma média de 27,1 mortes para cada 100 mil habitantes (IBGE 2012; Ministério da Justiça). Muitos casos permanecem sem esclarecimento devido a dificuldades nos procedimentos de investigação criminal. Em complementação aos avanços nas pesquisas biológicas, e a necessidade da aplicação de novas técnicas, ferramentas que utilizam dados ecológicos e entomológicos vem sendo implementadas como rotina para cientistas forenses no país (Vasconcelos & Araújo 2012).

Considerando a necessidade de informações regionais para apoiar perícias criminais, uma vez que diversos fatores influenciam no processo de decomposição de tecidos

animais, estudou-se o padrão sucessional de insetos adultos associados a carcaças relacionando-o com as fases de decomposição no sul do Brasil.

Material e métodos

Caracterização da área do estudo. O trabalho foi conduzido na Estação de Pesquisa e Produção Águas Belas, da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro), pertencente a Secretaria de Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Estado do Rio Grande do Sul, com área total de 150 ha. A estação localiza-se no Município de Viamão, região metropolitana de Porto Alegre, numa altitude de 52 metros, sob as coordenadas 30°02'10,47''S, 51°01'19,05''O (Atlas Socioeconômico do Rio Grande do Sul). A área de estudo se encontra na região ecoclimática da Depressão Central (Maluf & Caiaffo 2001), e o clima na área, segundo a classificação de Koppen, é do tipo Cfa (subtropical, úmido com verões quentes), com temperaturas médias máxima de 28 °C e mínima de 20 °C no verão (Kuinchtner & Buriol 2001). A precipitação anual média é de 1.322 mm com chuvas bem distribuídas durante o ano (Moreno 1961) e o solo é classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico (Embrapa 1999).

A vegetação característica na Estação Experimental é constituída por campos com presença de figueira nativa *Ficus organencis* (Miq.) Miq, e capoeirais em recomposição são compostos por gramíneas e gravatás *Eryngium horridum* Malme. Na área de mata subtropical destacam-se jerivás *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, e nas partes úmidas, corticeiras do banhado, *Erythrina crista-galli* L. O uso do solo na Estação inclui atividades pecuárias e agrícolas e suas adjacências são dominadas por núcleos urbanos.

Delineamento experimental. Como modelo animal foram utilizados três porcos domésticos (*Sus scrofa* L.) de aproximadamente 16 kg, que foram abatidos com disparo de arma de fogo de calibre .38 na região occipital, morrendo imediatamente. Não foram utilizados anestésicos e sedativos pelo fato de tais drogas influenciarem na taxa de decomposição da carcaça (Introna et al. 2001) e no desenvolvimento dos insetos que colonizam a carcaça, alterando a estimativa do intervalo *post-mortem* (IPM) (Goff & Lord 1994).

Imediatamente após a morte, as carcaças foram dispostas em decúbito lateral direito, em caixas de malha metálica (1,5cm²) com dimensões de 100 x 70 x 60 cm³ para evitar a intervenção de vertebrados carnívoros e permitir o acesso da entomofauna. Essas foram dispostas em uma área com vegetação herbácea, a aproximadamente 1 m de distância da borda de um remanescente de mata nativa, sob condições similares de exposição solar e 10 m de distância entre as caixas. Ao redor de cada caixa foram dispostas seis armadilhas *pitfall* (copos plásticos de 300 ml) para coleta de insetos, contendo água e uma gota de detergente a fim de quebrar a tensão superficial da água (Kearns & Inouye 1993), sendo que seu conteúdo foi substituído diariamente após as coletas. Estes distavam 10 cm das caixas e se encontravam equidistantes entre si.



Fig. 1: Detalhe da caixa com malha metálica de $1,5\text{cm}^2$ e disposição das armadilhas *pitfall* ao redor da caixa.

Caracterização das carcaças e coletas de insetos. O experimento foi realizado entre os dias sete e 20 de dezembro de 2011, com atividades diárias, conforme roteiro estabelecido: a) observação das carcaças e caracterização dos estágios de decomposição, a partir dos fenômenos putrefativos (Gomes 1997); b) registro fotográfico das carcaças e da entomofauna presente com câmera fotográfica FujiFilm Finepix S4500; e, c) coleta dos insetos. Para permitir o acesso às carcaças as caixas metálicas foram removidas e durante 15 minutos foi realizada a coleta com rede entomológica dos indivíduos em atividade de voo. Esses foram transferidos para câmaras mortíferas com acetato de etila. Em seguida, foi realizada a coleta manual, durante 15 minutos, dos indivíduos dispostos sobre as carcaças, com auxílio de pincéis e pinças, por último, a coleta dos insetos apreendidos nas armadilhas *pitfall*. Os indivíduos coletados manualmente e com armadilhas *pitfall* foram preservados em álcool 70%. Os insetos foram incorporados na Coleção de Insetos do Museu de Ciências e Tecnologia (MCT) da Pontifícia

Universidade Católica do Rio Grande do Sul. A identificação dos espécimes foi procedida com o uso de chaves taxonômicas, da coleção de referência de insetos para comparar espécimes, e quando necessário com o apoio de especialistas.

Dados abióticos. Registros diários correspondentes ao período do experimento (07/12/2011 à 20/12/2011) de temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade foram obtidos do 8º Distrito de Meteorologia de Porto Alegre/Instituto Nacional de Meteorologia (8ºDISME/INMET).

Análise de dados. Considerando a proximidade das caixas metálicas e de modo a comparar se houve diferenças significativas na composição da diversidade de insetos nas três carcaças suínas durante o processo de decomposição, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis com o auxílio do programa estatístico Palaeontological Statistics, versão 2.17b (Hammer et al. 2001).

A análise da diversidade de insetos presentes em cada fase da decomposição foi mensurada com o Índice de Margalef, que expressa a riqueza ponderada pelo tamanho amostral (Margalef 1958). O Índice de Shannon mede o grau de incerteza em prever a que espécie pertencerá um indivíduo escolhido randomicamente, sendo que quanto menor o índice, menor o grau de incerteza e conseqüentemente menor a diversidade, e vice-versa. Já o índice de Simpson reflete a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso pertencerem à mesma espécie. Quanto maior o índice (0 a 1), maior a probabilidade de ser a mesma espécie, e conseqüentemente maior é a dominância e menor é a diversidade. A fim de medir a proporção da diversidade observada em relação à esperada utilizou-se o índice de Equitabilidade de Pielou que varia de 0 a 1, onde 1 denota que as espécies estão igualmente abundantes (Magurran 1988). Todos os cálculos dos índices de diversidade foram executados a partir do número de registros de

insetos de cada família, para cada fase de decomposição das carcaças, e aplicados pelo programa Palaeontological Statistics versão 2.17b (Hammer et al. 2001)

O padrão de distribuição das famílias de insetos de maior representatividade ($n \geq 10$) foi descrito a partir de análise de agrupamento pelo método *Two-way Joining*, no qual se objetivou agrupar as famílias de insetos com as fases de decomposição nas carcaças, representado através de gráfico de escala de cores. Quanto maior essa relação, maior o grau de agrupamento e maior a variação de cor no gráfico. Os dados foram analisados utilizando-se o programa STATISTICA, versão 10 (Statsoft 2012).

Além disso, foi observada a constância de insetos, que demonstra a relação entre a proporção dos dias em que a espécie em questão foi coletada e o número total de dias amostrados, e foi categorizada conforme Silveira Neto e colaboradores (1976): constante $> 50\%$, acessória $>25 - 50\%$ e acidental $< 25\%$. A dominância de espécies foi definida a partir das categorias estabelecidas por Friebe (1983), sendo Eudominante $>10\%$, dominante $>5-10\%$, subdominante $>2 - 5\%$, recessiva $> 1-2\%$ e rara $< 1\%$. Sendo, $D\% = (i/t).100$, onde i é o total de indivíduos de uma espécie e t o total de indivíduos coletados.

Uma análise de correlação de Pearson, para dados paramétricos, foi realizada a partir do programa Statistical Package for the Social Sciences versão 12.0 (SPSS), entre os dados brutos de abundância de insetos de cada dia de coleta e dados diários de temperatura média e umidade relativa do ar.

De modo a avaliar a suficiência amostral, utilizou-se uma curva de rarefação (Krebs 1999), comparando a riqueza de espécies de insetos com o número de insetos amostrados. Foram utilizados os índices de riqueza Sobs, Chao 1 e 2, Jackknife de primeira e segunda ordem e Bootstrap. Os estimadores de riqueza e a curva de rarefação foram obtidos pelo programa estatístico PRIMER, versão 6.0 (Clarke & Gorley 2006).

Em todos os testes estatísticos foi utilizado um nível de significância de 5%.

Aspectos éticos. O tratamento dos animais obedeceu às recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e legislação vigente (Lei Arouca nº 11.794, de 08/10/2008), assim como a Resolução 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária. O Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul aprovou o experimento sob o registro 152 do dia 28/11/2011.

Resultados

Processo de decomposição das carcaças e condições ambientais. A decomposição das carcaças durou quatorze dias, quando cinco fases de decomposição foram observadas: fase Fresca (I), fase Cromática (II), fase de Inchamento (III), fase da Putrefação Negra (IV) e fase de Esqueletização (V) (Figura 2). A fase I iniciou no momento da morte e continuou até o surgimento da mancha verde abdominal, no 2º dia, caracterizando a fase cromática. As carcaças permaneceram nas fases fresca e cromática por 24 horas. A fase de inchamento durou do 3º ao 5º dia de decomposição, caracterizada pelo inchamento da carcaça proveniente dos gases internos da decomposição e evidência da circulação póstuma de Brouardel. A putrefação negra teve início no 6º dia com a completa deflação das carcaças e forte odor associado à liquefação dos tecidos, sendo que foi a fase que apresentou maior duração, seis dias. A fase final, de esqueletização, iniciou no 11º dia, caracterizada pela diminuição do odor, perdurando até o 14º dia.



Fig. 2: Carcaças de suínos em processo de decomposição, no período de 07 a 20 de dezembro de 2011, em Viamão, no sul do Brasil. (1) Fase Fresca, (2) Fase Cromática, (3) Fase de Inchamento, (4) Fase de Putrefação negra, (5) Fase de Esqueletização.

Ao longo do processo de decomposição observou-se uma curva de distribuição assimétrica no número de insetos associados às carcaças, com um pico no 5º dia, coincidente com a fase de inchamento (Figura 3). Neste período a precipitação total foi de 31,7 mm, caracterizando período seco e quente, próprio do verão. Os valores médios diários de temperatura ($24,2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,59\text{ }^{\circ}\text{C}$) e de umidade relativa do ar ($67,1\% \pm 6,49\%$) não evidenciaram correlação com o número de insetos amostrados (respectivamente $r = 0,221$; $p = 0,448$ e $r = -0,345$; $p = 0,227$) ao longo do período de decomposição das carcaças estudadas.

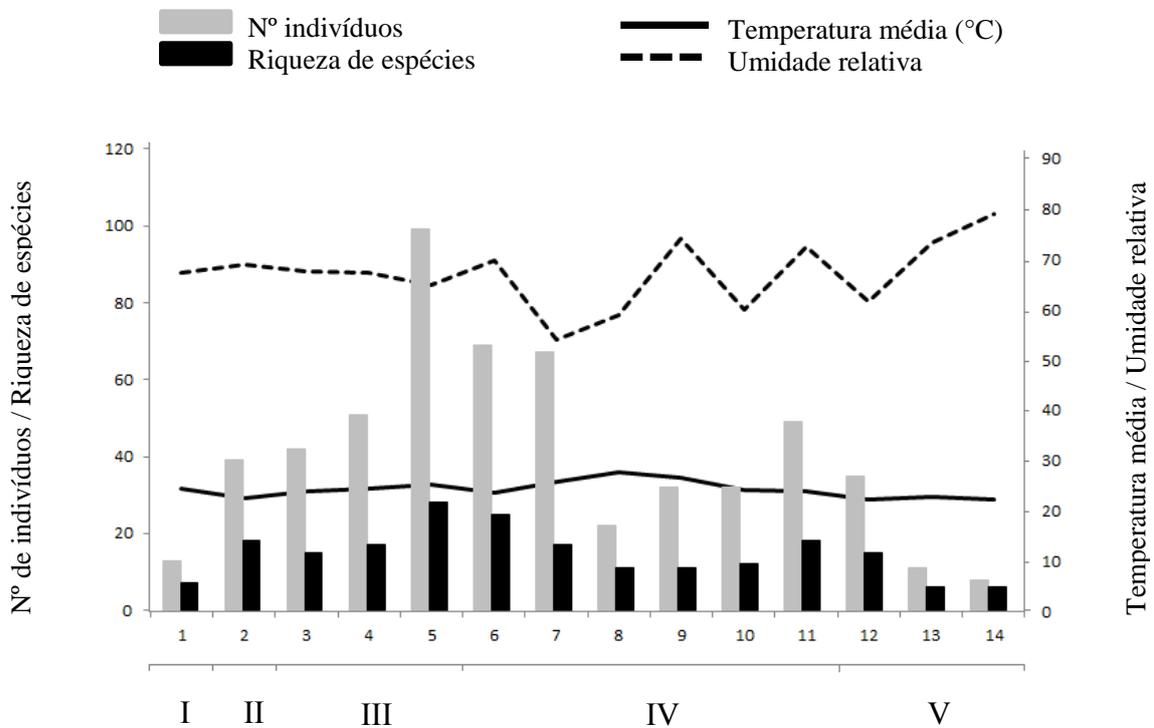


Fig. 3: Número de indivíduos e riqueza de espécies de insetos ocorrentes em carcaças suínas nas fases de decomposição (I – Fresca, II – Cromática, III – de Inchamento, IV – Putrefação Negra, V - Esqueletização), relacionados com os valores diários médios de temperatura e umidade relativa do ar, no período de 07 a 20 de dezembro de 2011, em Viamão, no sul do Brasil.

Composição faunística e sucessão ecológica. O teste de comparação de Kruskal-Wallis não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as três carcaças de *Sus scrofa* L. utilizadas no experimento no que diz respeito à diversidade de espécies em cada fase do processo de decomposição. Dessa forma, os dados foram agrupados de forma a estabelecer o padrão de sucessão da entomofauna.

Durante as amostragens junto às carcaças suínas em decomposição foram coletados 569 insetos adultos, pertencentes a 29 famílias, 55 gêneros e 68 morfoespécies. Representantes de Scarabaeidae (25,1%), Calliphoridae (23%), Muscidae (14,2%), Formicidae (9,6%) e Sarcophagidae (8%) foram os mais abundantes (Tabela I). A atividade de insetos junto às carcaças iniciou-se uma hora após a morte e foi percebida até o final do processo de decomposição. A presença de representantes de determinados táxons de insetos pode ser relacionada com as fases de decomposição das carcaças: fase Fresca (1º dia, presença de *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) e outras espécies de Calliphoridae); Cromática (2º dia, *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), seguido de Muscidae e Formicidae); de Inchamento (3-5º dia, prevalência de Calliphoridae, Muscidae e Formicidae, além do surgimento de espécies de Coleoptera); Putrefação Negra (6-11º dia, Scarabaeidae, Histeridae e Sarcophagidae); e Esqueletização (12-14º dia, Scarabaeidae e Rhopalidae).

Dentre as espécies coletadas, as espécies que obtiveram ocorrência superior a 10%, sendo Eudominantes, foram: *C. albiceps*, *Ophyra aenescens* (Wiedemann, 1830) e Aphodiinae sp. 1, com ocorrência superior a 5% (dominante) foi coletada somente Sarcophagidae sp. 1e com ocorrência superior a 2% (subdominantes) foram coletadas seis espécies: *Musca domestica* Linnaeus, 1758, Piophilidae sp. 1, *Euspilotus nigrita* Blanchard, 1842), *Camponotus rufipes* Fabricius, 1775, *Iridomyrmex* sp. 1 e Rhopalidae sp. 1. As demais espécies foram classificadas como recessivas ou raras (Tabela I).

TABELA I. Insetos coletados junto a carcaças suínas expostas, em Viamão, no sul do Brasil, com o número de indivíduos (NI), fases de decomposição das carcaças (FD: I, fase Fresca; II, fase Cromática; III, fase de Inchamento; IV, fase de Putrefação Negra; V, fase de Esqueletização), Frequência (F), Dominância (D), Constância (C) e o status (A, acessória; Ac, acidental; C, constante; ED, eudominante; SD, subdominante; D, dominante, Rc, recessiva; R, rara)

Táxon	NI	FD	F (%)	D	C
DIPTERA					
CALLIPHORIDAE					
<i>Calliphora vicina</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	1	I	0.18	R	Ac
<i>Chrysomya albiceps</i> (Wiedemann, 1819)	109	I, II, III, IV, V	19.16	ED	C
<i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius, 1794)	1	IV	0.18	R	Ac
<i>Chrysomya putoria</i> (Wiedemann, 1818)	3	III	0.53	R	Ac
<i>Cochliomyia macellaria</i> (Fabricius, 1775)	6	I, II, III	1.05	Rc	A
<i>Hemilucilia semidiaphana</i> (Rondani, 1850)	3	I, III, IV	0.53	R	Ac
<i>Lucilia eximia</i> (Wiedemann, 1819)	8	I, III, IV	1.41	Rc	Ac
FANNIDAE					
<i>Fannia</i> sp. 1	9	III, IV	1.58	Rc	Ac
<i>Fannia pusio</i> (Wiedemann, 1830)	1	IV	0.18	R	Ac
<i>Fannia trimaculata</i> (Stein, 1898)	1	IV	0.18	R	Ac
LAUXAMIIDAE					
Lauxamiidae sp. 1	1	IV	0.18	R	Ac
MUSCIDAE					
<i>Biopyrellia bipuncta</i> (Wiedemann, 1830)	2	III, IV	0.35	R	Ac
<i>Musca domestica</i> Linnaeus, 1758	12	II, III, IV	2.11	SD	A
<i>Ophyra aenescens</i> (Wiedemann, 1830)	57	II, III, IV, V	10.02	ED	C
<i>Ophyra albuquerquei</i> (Lopes, 1985)	9	II, III, IV	1.58	Rc	C
<i>Ophyra solitaria</i> (Albuquerque, 1958)	1	II	0.18	R	Ac
PIOPHILIDAE					
Piophilidae sp. 1	13	III, IV	2.28	SD	A
Piophilidae sp. 2	4	III, IV	0.70	R	Ac
Piophilidae sp. 3	1	III	0.18	R	Ac
SARCOPHAGIDAE					
<i>Blaesoxipha denieri</i> (Blanchard, 1939)	3	IV	0.53	R	Ac
<i>Blaesoxipha lanei</i> (Lopes, 1938)	1	V	0.18	R	Ac
<i>Microcerella halli</i> (Engel, 1931)	2	IV, V	0.35	R	Ac
<i>Oxysarcodesia thornax</i> (Walker, 1849)	6	III, IV	1.05	Rc	Ac
<i>Oxysarcodesia avuncula</i> (Lopes, 1933)	1	V	0.18	R	Ac
<i>Ravinia belforti</i> (Prado & Fonseca, 1932)	4	III, IV, V	0.70	R	A
Sarcophagidae sp. 1	29	II, III, IV, V	5.10	D	C
SIRPHIDAE					
<i>Toxomerus</i> sp. 1	1	V	0.18	R	Ac

TABELA I (Continuação)

Táxon	NI	FD	F (%)	D	C
STRATIOMYIDAE					
<i>Hermetia illucens</i> (Linnaeus, 1758)	3	III, IV, V	0,53	R	Ac
TABANIDAE					
<i>Tabanus</i> sp. 1	3	I, IV, V	0,53	R	Ac
COLEOPTERA					
CARABIDAE					
Cicindelinae sp. 1	1	IV	0,18	R	Ac
CLERIDAE					
<i>Necrobia ruficollis</i> (Fabricius, 1775)	1	V	0,18	R	Ac
<i>Necrobia rufipes</i> (De Geer, 1775)	2	IV	0,35	R	Ac
CURCULIONIDAE					
<i>Naupactus auricinctus</i> (Boheman, 1833)	1	V	0,18	R	Ac
DERMESTIDAE					
<i>Dermestes maculatus</i> (De Geer, 1774)	4	IV, V	0,70	R	Ac
ELATERIDAE					
Elateridae sp. 1	3	II, III	0,53	R	Ac
HISTERIDAE					
<i>Euspilotus nigrita</i> (Blanchard, 1842)	17	III, IV	2,99	SD	C
HYDROPHILIDAE					
Hydrophilidae sp. 1	1	IV	0,18	R	Ac
SCARABAEIDAE					
Aphodiinae sp. 1	126	II, III, IV, V	22,14	ED	C
<i>Canthon</i> sp. 1	1	III	0,18	R	Ac
<i>Canthon mutabilis</i> (Lucas, 1857)	1	IV	0,18	R	Ac
<i>Conoderus abbreviatus</i> (Germar, 1839)	4	II, III, IV	0,70	R	Ac
<i>Eurysternus parallelus</i> (Castelnau, 1840)	1	II	0,18	R	Ac
<i>Onthophagus</i> sp. 1	1	IV	0,18	R	Ac
Scarabaeinae sp. 1	7	III, IV, V	1,23	Rc	C
<i>Uroxys</i> sp. 1	2	III	0,35	R	Ac
SCIRTIDAE					
Scirtidae sp. 1	1	IV	0,18	R	Ac
SILPHIDAE					
<i>Oxelytrum discicolle</i> (Brullé, 1840)	10	III, IV	1,76	Rc	A
STAPHYLINIDAE					
Aleocharinae sp. 1	1	IV	0,18	R	Ac
HYMENOPTERA					
APIDAE					
<i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Lepeletier, 1836)	4	III, IV	0,70	R	Ac
FORMICIDAE					
<i>Acromyrmex</i> sp. 1	4	II, IV, V	0,70	R	A
<i>Atta</i> sp. 1	2	II, IV, V	0,35	R	Ac
<i>Camponotus</i> sp. 1	8	III, IV	1,41	Rc	A

TABELA I (Continuação)

Táxon	NI	FD	F (%)	D	C
FORMICIDAE					
<i>Camponotus rufipes</i> Fabricius, 1775	14	II, III, IV	2,46	SD	A
<i>Ectatomma</i> sp. 1	3	II, III	0,53	R	Ac
Formicidae sp. 1	8	III, IV, V	1,41	Rc	Ac
Formicinae sp. 1	1	III	0,18	R	Ac
<i>Iridomyrmex</i> sp. 1	13	III, IV, V	2,28	SD	C
<i>Odontomachus</i> sp. 1	1	V	0,18	R	Ac
Ponerinae sp. 1	1	III	0,18	R	Ac
VESPIDAE					
<i>Polybia sericea</i> (Olivier, 1791)	1	IV	0,18	R	Ac
HEMIPTERA					
LYGAEIDAE					
Lygaeidae sp. 1	1	IV	0,18	R	Ac
RHOPALIDAE					
Rhopalidae sp. 1	17	I, II, III, IV, V	2,99	SD	Ac
ORTHOPTERA					
ACRIDIDAE					
Acrididae sp. 1	1	III	0,18	R	Ac
<i>Dichroplus</i> sp. 1	1	III	0,18	R	Ac
<i>Ronderosia</i> sp. 1	1	IV	0,18	R	Ac
GRYLLIDAE					
Gryllidae sp. 1	1	II	0,18	R	Ac
ODONATA					
LIBELLULIDAE					
Libellulidae sp. 1	6	I, II, III, IV, V	1,05	Rc	A
LEPIDOPTERA					
NYMPHALIDAE					
<i>Diaethria clymena meridionalis</i> (H. Bates, 1864)	1	III	0,18	R	Ac

A diversidade de insetos encontrada em cada fase de decomposição das carcaças distinguiu-se em todos os parâmetros analisados. A fase de Putrefação Negra (IV) apresentou maior número de indivíduos e espécies assim como os mais elevados índices de Simpson (0,860), Shannon (2,779) e Margalef (8,211). Os menores índices de diversidade foram observados para a fase Fresca (Margalef = 2,339), que conseqüentemente apresentou o maior índice de Equitabilidade de Pielou (0,838), em função da menor diversidade de espécies e da alta dominância (0,462). A fase de Esqueletização apresentou uma diminuição na abundância e riqueza de espécies, assim como nos índices de diversidade (Margalef = 5,014 e Shannon = 2,380), o que resultou no aumento do índice de Equitabilidade de Pielou (0,782), tornando a fase mais similar, em termos de distribuição da diversidade, das fases iniciais (Tabela II, Figura 4).

TABELA II – Índices de diversidade, equitabilidade e dominância de insetos, ao longo das fases de decomposição (Fresca – I, Cromática – II, de Inchamento – III, Putrefação Negra – IV, Esqueletização – V) de carcaças suínas, no período de 07 a 20 de dezembro de 2011, em Viamão, no sul do Brasil.

Fase de decomposição	I	II	III	IV	V
Abundância	13	39	192	271	54
Riqueza	7	18	37	47	21
Diversidade de Margalef	2,339	4,640	7,038	8,211	5,014
Diversidade de Shannon	1,631	2,174	2,637	2,779	2,380
Diversidade de Simpson	0,734	0,767	0,843	0,860	0,821
Equitabilidade de Pielou	0,838	0,752	0,725	0,722	0,782
Dominância de Berger-Parker	0,462	0,462	0,359	0,336	0,389

Através da dominância de Berger-Parker foi possível identificar a dominância de determinadas morfoespécies para cada fase de decomposição das carcaças, as quais podem ser apontadas como espécies-chave: *L. eximia* na fase fresca, *C. albiceps*, respectivamente para as fases cromática e de inchamento e Aphodiinae sp. 1, para as fases de Putrefação Negra e Esqueletização (Tabela II).

A análise de agrupamento a partir do método *Two-way joining* apresentou as relações de similaridade entre as fases de decomposição observadas nas carcaças e as famílias que apresentaram maior abundância ($NI \geq 10$). O teste demonstrou a elevada abundância de Calliphoridae durante todo processo de decomposição, estando principalmente centrada nas fases de Inchamento e Putrefação Negra, se destacando sobre as demais famílias.

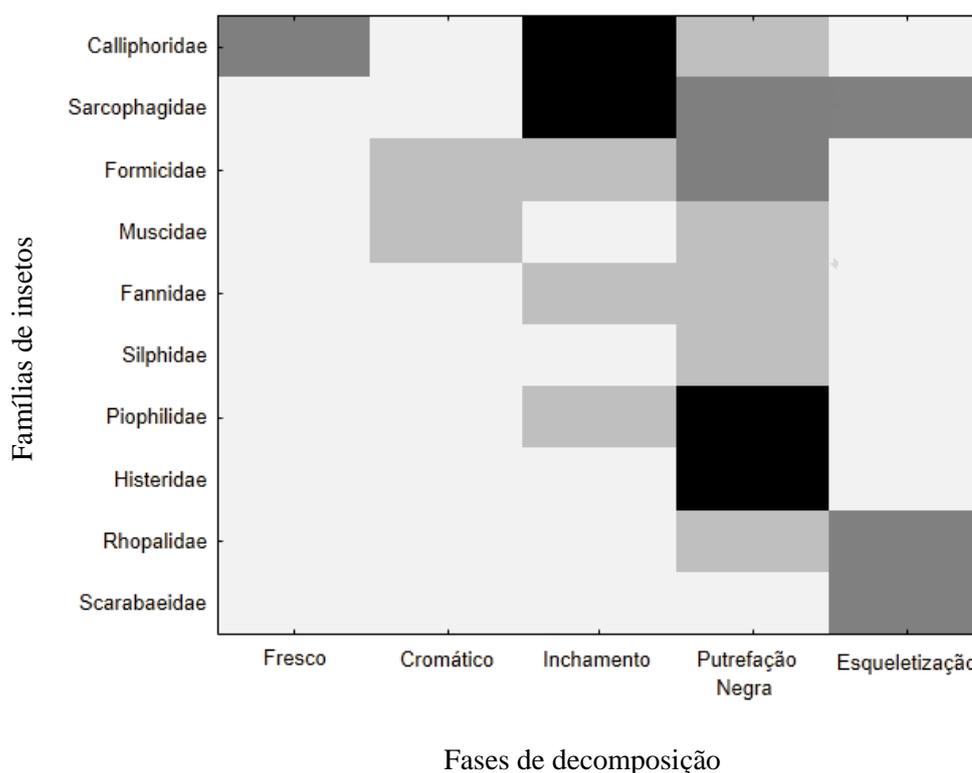


Fig. 4: Análise de agrupamento das famílias de maior representatividade associada às fases de decomposição observadas em carcaças suínas, em Viamão, no sul do Brasil.

Ocorrência de indivíduos: □ 10 |— 23; ▒ 24 |— 43; ▓ 44 |— 63; ■ ≥ 64.

A projeção da riqueza de espécies de insetos registradas nas carcaças em decomposição, e obtida através dos estimadores de riqueza (Sobs, Chao 1 e 2, Jackknife de 1ª e 2ª ordem e Bootstrap), não atingiu a assíntota demonstrando que o número de coletas foi insuficiente para amostrar as espécies raras (Figura 5).

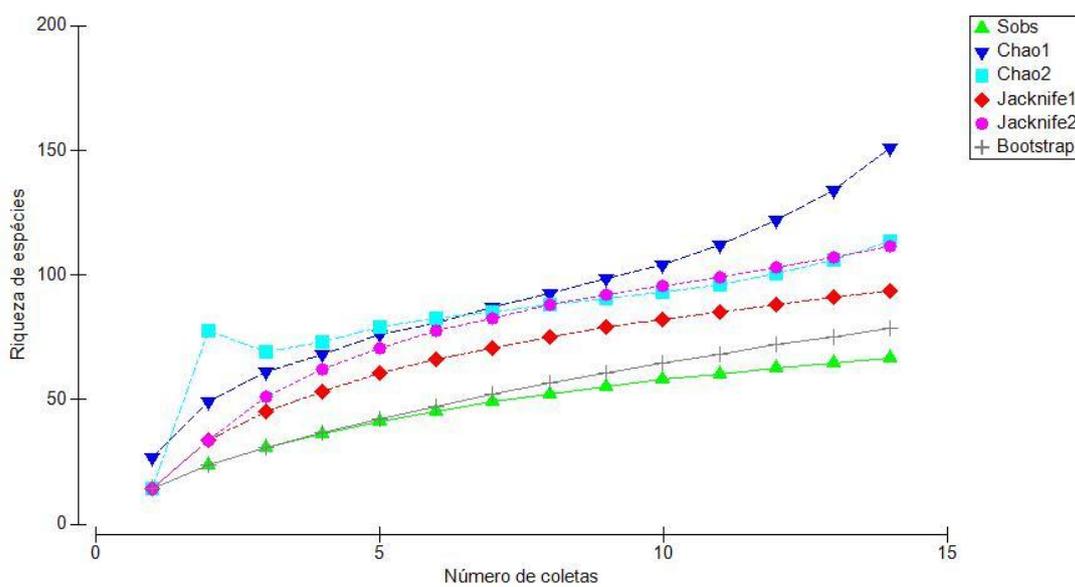


Fig. 5: Estimativas de riqueza de espécies de insetos associados a carcaças de suínos, em Viamão, no sul do Brasil.

Discussão

Cinco fases de decomposição foram observadas utilizando a classificação de Gomes (1997) para países neotropicais, como também descrito por Moura e colaboradores (1997) e Carvalho e colaboradores (2004), em estudos semelhantes. A decomposição avançou rapidamente na maioria dos estágios, como é esperado para o verão em países neotropicais (Moura et al. 1997; Carvalho & Linhares 2001), restando somente ossos no 14º dia.

As condições meteorológicas registradas durante o processo de decomposição são características do verão na área do estudo, com médias diárias altas de temperatura e umidade relativa do ar. Estas condições contribuíram para acelerar o processo de decomposição corroborando com os estudos de Rodriguez & Bass (1983) e Shean e colaboradores (1993). Porém como observado a partir do teste de correlação de Pearson, tais fatores não obtiveram significância com o número de indivíduos coletados nas carcaças em decomposição. Tal fato realça a hipótese de que a temperatura máxima é mais importante que a temperatura mínima, quando se trata da taxa de decomposição das carcaças, assim como a elevada umidade relativa do ar, pois age diretamente sob a decomposição da carcaça e no surgimento de estágios alternativos de decomposição, como, por exemplo, a fermentação butírica (Moura et al. 1997). Entretanto, a relação dos fatores abióticos com o número de indivíduos é mais evidente quando há uma variação estacional, como proposto no estudo de Carvalho & Linhares (2001), em São Paulo, que registrou baixas temperaturas no inverno (7,5 °C) relacionado com um baixo número de indivíduos coletados, em contraponto com a temperatura no verão (29,2 °C), em que houve um alto número de insetos e a decomposição foi mais rápida. Como as condições de temperatura e umidade relativa do ar ao longo do estudo exibiram poucas variações, não foi possível evidenciar a influência destes fatores na presença de insetos nas carcaças e no processo de decomposição em si.

No decorrer do estudo foram registradas 68 espécies, mostrando a predominância de Scarabaeidae, Calliphoridae, Muscidae e Formicidae. Tal padrão também foi observado por Moura e colaboradores (1997), em estudo semelhante realizado no sul do Brasil. Membros destas famílias, principalmente califorídeos, são considerados os principais colonizadores e consumidores desse tipo de substrato (Campobasso et al. 2001). Tais famílias compreendem o maior número de espécies

encontradas, devido ao seu freqüente uso de matéria animal em decomposição como sítio para desenvolvimento (Stevens 2003).

A predominância de indivíduos de Calliphoridae durante os primeiros estágios da decomposição é atribuída à alta percepção dos odores da decomposição a grandes distâncias (Magaña 2001; Smith 1986). Martinez e colaboradores (2007), em Paramo, na Colômbia, observaram que Calliphoridae se encontrou presente nos estágios III e IV, mas não no estágio de Esqueletização (V), pois a rápida perda de peso está associada na conversão da biomassa da carcaça em biomassa larval e subsequente saída dos insetos da carcaça durante a pupação. Rodriguez & Bass (1983), em estudo realizado no Tennessee, indicaram moscas do gênero *Lucilia* como as pioneiras na colonização de carcaças. Em concordância, no presente estudo, *L. eximia* foi a primeira espécie a chegar a carcaça, aproximadamente uma hora após a morte.

Chrysomya albiceps, conhecida popularmente como varejeira, originária do continente africano, foi introduzida no Brasil a partir da década de 70 (Guimarães et al. 1978), e atualmente encontra-se distribuída em quase todo território nacional, dada sua habilidade de dispersão e adaptação, onde também se destaca pela importância na área econômica por estar associada aos quadros de míases (Zumpt 1965; Guimarães et al. 1983). Além disso, Zumpt (1965) a caracterizou como especialista, devido à utilização de um único substrato para criação das suas larvas, e nesse caso, matéria animal em decomposição. É um dos primeiros insetos a colonizar corpos em decomposição demonstrando seu grande potencial para uso como vestígio em processos periciais (Carvalho et al. 2004). Contudo, sua característica invasora, interfere na distribuição de outras espécies de Calliphoridae, como *Cochliomyia macellaria* (Rosa et al. 2011; Faria et al. 2004). Além disso, *C. albiceps* pode ser considerada uma espécie chave na determinação do IPM por não apresentar preferência por estação ou área geográfica

(Souza & Linhares 1997; Grassberger et al. 2003), tendo sido encontrada associada a diversos recursos em decomposição, incluindo corpos humanos (Rodriguez & Bass 1983; Oliveira & Vasconcelos 2010). Neste estudo, *C. albiceps* foi a espécie mais abundante de Calliphoridae nas amostragens, estando presente em todas as fases de decomposição. Rosa e colaboradores (2011) também registraram essa espécie como a mais abundante em carcaças em decomposição no Cerrado, sendo reconhecida como importante espécie indicadora forense para estudos no Brasil (Souza & Linhares 1997; Carvalho & Linhares 2001; Oliveira & Vasconcelos 2010). Em outra pesquisa também realizada no sul do Brasil, Vianna e colaboradores (2004) registraram maior ocorrência da espécie nos meses mais quentes, com temperaturas entre 18,5 °C e 23,5 °C, em consonância com o ocorrido no presente estudo. Um fator que provavelmente contribuiu para a alta abundância da espécie é o fato dessa consumir intensamente o alimento, em curto período de tempo, facilitando seu desenvolvimento (Prado & Guimarães 1982).

Entre os coleópteros, a família com maior representatividade foi Scarabaeidae, seguida de Histeridae e Silphidae. Tais famílias são comumente encontradas associadas a carcaças em decomposição, principalmente por atuarem como predadores (Mise et al. 2007), sendo Scarabaeidae também consumidor de matéria em decomposição (Marinoni et al. 2001). Uma das espécies de importância forense é *Oxelytrum discicolle*, sendo muito comum em carcaças (Peck & Anderson 1985), e por tanto adultos quanto larvas colonizarem carcaças é um importante compositor de populações de colonizadores de carcaças em decomposição (Moura et al. 1997).

Já Aphodiinae sp. 1 que apresentou a maior abundância, principalmente associada a fase de putrefação negra, pertence a subfamília Scarabaeinae, e são geralmente associados a estrume. Contudo, algumas espécies podem se alimentar de diferentes tipos de carcaça e material animal e vegetal em decomposição (Mise et al.

2007). O alto número de indivíduos coletados pode estar relacionado ao método utilizado, devida à habilidade de escavação do gênero, ou ainda a elevada diversidade de espécies do gênero relacionadas a preferências diversas quanto ao habitat e alimentação (Scholtz & Grebennikov 2005). A presença da carcaça no solo provavelmente proporcionou maior riqueza de matéria orgânica, atraindo os insetos.

A família Formicidae representou o táxon com o maior número de morfoespécies nas carcaças em decomposição (10 spp.) em concordância com outras pesquisas (Cruz & Vasconcelos 2006; Monteiro-Filho & Penereiro 1987). Embora poucos estudos forenses tenham destacado este grupo taxonômico, Cruz & Vasconcelos (2006) ressaltaram a importância das formigas associadas a corpos em decomposição, em um fragmento de Mata Atlântica em Pernambuco, por ocuparem diversas guildas ecológicas e possivelmente acelerarem a decomposição. *Camponotus* spp. apresentou a maior abundância, corroborando com Moura e colaboradores (1997) em Curitiba, que registraram o gênero como de importância médico-legal.

No âmbito relacionado às fases de decomposição observadas nas carcaças, o maior número de indivíduos coletados foi durante a fase de putrefação negra, fato que pode ser atribuído a maior duração da fase (seis dias), a alta disponibilidade de alimento e recursos para desenvolvimento dos insetos, fato também observado por Carvalho & Linhares (2001), em São Paulo. O odor da putrefação resultou na maior atração de colonizadores, tanto relativamente à abundância quanto à diversidade de insetos. Contudo, foi observado um baixo valor do índice de Equitabilidade de Pielou evidenciando uma distribuição desigual da entomofauna presente nas carcaças nesse período, relacionado à alta diversidade e baixa dominância, e tornando a Putrefação Negra a fase mais distinta do processo de decomposição. As fases iniciais (I e II) se assemelharam a fase final de decomposição (V) no que diz respeito aos índices de

diversidade. A baixa diversidade observada na fase Fresca, evidenciada pelo índice de Margalef, e a alta proporção de distribuição da diversidade, demonstrada pela Equitabilidade de Pielou, apontam para a distribuição mais uniforme das espécies, fato que se repete na fase de Esqueletização. Tal fato pode estar relacionado à diminuição da biomassa e conseqüente menor disponibilidade de alimento, reduzindo a diversidade de insetos que colonizaram as carcaças em decomposição, aumentando, por sua vez, a dominância (Berger-Parker = 0,389).

A curva de acumulação de espécies da entomofauna coletada nas três carcaças não atingiu a assíntota, situação semelhante a observada em outros estudos semelhantes (Lopes et al. 2007; Sousa 2008), que sugerem a necessidade de um maior esforço amostral para amostrar espécies raras, acessando a riqueza real dos táxons na área estudada. Tal resultado é compatível com achados na região Neotropical onde há elevada diversidade de espécies de insetos (Sousa 2008). Além disso, associado à baixa constância da maioria das espécies, observou-se também uma reduzida abundância das mesmas.

O conhecimento do padrão sucessional de insetos que colonizam carcaças para áreas geográficas específicas pode ser de grande relevância para determinação do tempo de morte. O presente estudo proveu informações sobre a entomofauna cadavérica observada em carcaças e seu padrão de colonização durante o verão no sul do Brasil, que podem ser utilizadas em outros estudos na área por cientistas forenses. Levando em consideração a área em questão e condições climáticas específicas, podem-se designar espécies-chave para cada fase da decomposição observada, baseado no índice de dominância de espécies associado às fases de decomposição: Fresco – *L. eximia*; Cromático e de Inchamento – *C. albiceps*; Putrefação Negra e Esqueletização – Aphodiinae sp. 1. Contudo este padrão pode variar para outras estações, o que ressalta a

importância de realizar mais estudos na área geográfica em questão. O estudo da fauna de insetos associada a carcaças em decomposição, a definição das fases de decomposição para determinada área geográfica, assim como a relação da sucessão com os fatores abióticos são elementos primordiais para o estabelecimento de um banco de dados para uso futuro em investigações criminais.

Agradecimentos. Agradeço aos seguintes pesquisadores pela identificação do material: José Roberto Pujol-Luz e equipe do Núcleo de Entomologia Forense da Universidade de Brasília (Calliphoridae), Cláudio Barros de Carvalho (Muscidae), Fernando Leivas e Kléber Mise (Histeridae) da Universidade Federal do Paraná, Cátia Antunes Mello-Patiu (Sarcophagidae) do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Luciano de Azevedo Moura (Coleoptera) da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Jocélia Grazia (Hemiptera) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Kátia Matiotti (Orthoptera) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

REFERÊNCIAS

Anderson GS 2011. Comparison of decomposition rates and faunal colonization of carrion in indoor and outdoor environments. *J Forensic Sci* 56: 136-142.

Anderson GS, Hobischak NR 2004. Decomposition of carrion in the marine environment in British Columbia, Canada. *Int J Legal Med* 118: 206-209.

Anderson GS, VanLaerhoven SL 1996. Initial studies on insect succession on carrion in Southwestern British Columbia. *J Forensic Sci* 41: 617-625.

Archer MS 2004. Rainfall and temperature effects on the decomposition rate of exposed neonatal remains. *Sci Justice* 44: 35-41.

Atlas socioeconômico do Rio Grande do Sul. Secretaria de Planejamento, Gestão e Participação Cidadã. Disponível em <<http://www.seplag.rs.gov.br/atlas>> Acessado em: 07 de janeiro de 2013.

Benecke M, Lessig R 2001. Child neglect and forensic entomology. *Forensic Sci Int* 120: 155–159.

Braack LEO 1986. Arthropods associated with carcasses in the northern Kruger National Park. *S. Afr. J. Wild. Res.* 16: 91–98.

Brasil. Ministério da Justiça. Sistema Nacional de Estatística de Segurança e Justiça Criminal. Disponível em <<http://www.mj.gov.br/senasp/>> Acessado em 15 de dezembro de 2012.

Bornemissza GF 1956. Na analysis of arthropod succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. *Aust J Zool* 5: 1-12.

Campobasso CP, Vella D, Introna F 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Sci Int* 120: 18-27.

Carvalho LML, Linhares AX 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. *J Forensic Sci* 46: 604-608.

Carvalho LML, Thyssen PJ, Goff ML, Linhares AX 2004. Observations on the succession patterns of necrophagous insects onto a pig carcass in a urban area of Southeastern Brazil. *Internet J Forensic Med Toxicol* 5: 33–39.

Catts, EP, Goff ML 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu Rev Entomol* 37: 253–272.

Catts EP, Haskell NH 1991. Entomology and death: a procedural guide. Clemson, Joyce's Print Shop, 180 pp.

Clarke KR, Gorley RN 2006. Primer v6: User Manual/Tutorial. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth.

Dillon LC 1997. Insect succession on carrion in three biogeoclimatic zones in British Columbia. Dept. of Biological Sciences. Burnaby B.C., Simon Fraser University: 76

Dillon LC, Anderson GS 1995. Forensic Entomology: The use of insects in death investigations to determine elapsed time since death, Canadian Police Research Centre.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA. Centro nacional de pesquisa de solos. 1999. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Brasília, Produção de informação. 412 pp.

Faria LDB, Trinca LA, Godoy WAC 2004. Cannibalistic behavior and functional response in *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). *J Insect Behav* 17: 251:261.

Ferreira MJM 1978. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba, Paraná. I. Calliphoridae. *Rev Bras Biol* 38: 445-454.

Friebe B 1983. Zur Biologie eines Buchenwaldbodens: 3 Die Katerfauna. *Carolinea* 41: 45-80

Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária [homepage na internet]. Rio Grande do Sul: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio. Disponível em <<http://www.fepagro.rs.gov.br/>> Acessado em: 16 de janeiro de 2013.

Goff ML 1993 Estimation of postmortem interval using arthropod development and successional patterns. *Forensic Sci Rev* 5: 81–94.

Goff ML, Lord WD 1994. Entomotoxicology: a new area for forensic investigation. *Am J Foren Med Path* 15: 51-57.

Gomes H 1997. Medicina Legal. 32ed. Rio de Janeiro, Freitas Bastos, 846 pp.

Gomes L 2010. Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais. 1ed. Rio de Janeiro, Technical Books, 524 pp.

Grassberger M, Friedrich E, Reiter C 2003. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *Int J Legal Med* 117: 75–81

Greenber B 1991. Flies as forensic indicators. *J Med Entomol* 28: 565-77.

Guimarães JH, Prado AP, Linhares AX 1978. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera:Calliphoridae) *Rev Bras Entomol* 22: 53-60.

Guimarães JH, Papavero N, Prado AP 1983. As miíases na região neotropical (identificação, biologia, bibliografia). *Rev Bras Zool* 4: 239-416.

Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 9 pp.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acessado em 02 de janeiro de 2013.

Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Dados Climatológicos. Disponível em <<http://www.inmet.gov.br/portal/>> Acessado 04 de dezembro de 2012.

Introna F, Campobasso CP, Goff ML 2001. Entomotoxicology. *Forensic Sci Int* 120: 42-47

Kearns CA, Inouye DW 1993. Techniques for pollination biologists. University of Texas Press.

Krebs CJ 1999. Ecological Methodology, 2ed. Menlo Park, California, 619pp.

Kuinchtner A, Buriol GA 2001. Clima do Estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. *Discip sci* 2:171-182.

Lopes LA, Blochtein B, Ott AP 2007. Diversidade de insetos antófilos em áreas com reflorestamento de eucalipto, Município de Triunfo, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Sér. Zool.* 97: 181–193.

Magaña C 2001. La entomología forense y su aplicación a la medicina legal. Data de la muerte. *Rev Iber Aracnol* 28:49-57.

Magurran AE 1988. Ecological diversity and its measurement. Great Britain, Cambridge, 179 pp.

Maluf JRT, Caiaffo MRR 2001. Regiões Ecoclimáticas do Estado do Rio Grande do Sul. *In: XII Congresso Brasileiro de Agrometeorologia e III Reunião Latino-Americana de Agrometeorologia*. Fortaleza. p.151-152.

Margalef R 1958. Information theory in ecology. *General Systems* 3: 36-71.

Marinoni RC, Ganho NG, Monne LM, Mermudes JRM 2001. Hábitos alimentares em Coleoptera (Insecta). Ribeirão Preto, Holos Editora. 64pp

Martinez E, Duque P, Wolff M 2007. Succession pattern of carrion-feeding insects in Paramo, Colombia. *Forensic Sci Int* 166: 182-189.

Miller RW 1997. Urban Foresty – Planning and Managing Urban Greenspaces. Prentice Hall. 502pp.

Mise KM, Almeida LM, Moura MO 2007. Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. *Rev Bras Entomol* 51: 358–368.

Monteiro-Filho ELA, Penereiro JL 1987. Estudo de decomposição e sucessão sobre uma carcaça animal numa área do estado de São Paulo, Brasil. *Rev Bras Biol* 47: 289-295.

Montoya AL, Sánchez JD, Wolff M 2009. Sinantropía de Calliphoridae (Diptera) del Municipio la Pintada, Antioquia – Colombia. *Rev Colomb Entomol* 35: 73-82.

Moreno JA 1961. *Clima do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, Secretaria da Agricultura. 42 pp.

Moura MO, Carvalho CJB, Monteiro-Filho ELA 1997. A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. *Mem Ins Oswaldo Cruz* 92: 269-274.

Oliveira TC, Vasconcelos SD 2010. Insects (Diptera) associated with cadavers at the Institute of Legal Medicine in Pernambuco, Brazil and its implications for forensic entomology. *Forensic Sci Int* 198: 97-102.

Payne JA 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus Scrofa*. *Ecology* 46: 592-602.

Peck SB, Anderson RS 1985. Taxonomy, phylogeny and biogeography of the carrion beetles of Latin America (Coleoptera: Silphidae). *Quaest Entomol* 21: 247-317.

Prado AP, Guimarães JH 1982. Estado atual de dispersão e distribuição do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy na região Neotropical (Diptera:Calliphoridae). *Rev Bras Entomol* 26: 225-231.

Rodriguez WC, Bass WM 1983. Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in east Tennessee. *J Forensic Sci* 28: 423-432.

Rosa TA, Babata MLY, Souza CM de, Sousa D de, Mello-Patiu CA, Mendes J 2009. Dípteros de interesse forense em dois perfis de vegetação de cerrado em Uberlândia, MG. *Neotrop Entomol* 38: 859–866.

Rosa TA, Babata MLY, Souza CM de, Sousa D de, Mello-Patiu CA, Vaz-de-Mello FZ, Mendes J 2011. Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Bras Entomol* 55: 424-434.

Schoenly KG, Haskell NH, Mills DK, Bieme-Ndi C, Larsen K, Lee Y 2006. Recreating death's acre in the school yard: using pig carcasses as model corpses to teach concepts of forensic entomology & ecological succession. *Am Biol Teach* 68: 402-410.

Scholtz, C. & V.V. Grebennikov. 2005. Scarabaeiformia. *In*: Beutel, R.G. & R.A.B. Leschen (Eds.). *Coleoptera, Vol. 1: Morphology and Systematics (Archostemata, Adephaga, Myxophaga, Polyphaga partim)*. *In*: Band/Volume IV Arthropoda: Insecta Teilband / Part 38. *Handbook of Zoology*. Berlin, New York, De Gruyter. 567 pp.

Shean BS, Messinger L, Papworth M 1993. Observations of diferencial decomposition on sun exposed v. shaded pig carrion in coastal Washington State. *J Forensic Sci.* 38: 938 - 949.

Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Villa Nova NA 1976. *Manual de ecologia dos insetos*. Piracicaba. Ceres, 419 pp.

Smith KGV 1986. *A Manual of Forensic Entomology*. London, British Museum (Natural History), 205 pp.

Sousa JRP 2008. *A fauna de califorídeos e sarcófagídeos (Insecta, Diptera) das matas e clareiras com diferentes coberturas vegetais da base de extração petrolífera, Bacia do Rio Urucu, Coari, Amazonas*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará Belém, xviii + 116 pp.

Souza AM de, Linhares AX 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in Southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med Vet Entomol* 11: 8-12.

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Version 12.0. [Computer program]. Chicago: SPSS Inc.; 2006.

StatSoft, Inc. 2012. *STATISTICA* (data analysis software system), version 10, for Windows. Disponível em <www.statsoft.com>.

Stevens JR 2003. The evolution of myiasis in blowflies (Calliphoridae). *Int J Parasitol* 33: 1105-1113.

Vasconcelos SD, Araujo MCS 2012. Necrophagous species of Diptera and Coleoptera in northeastern Brazil: state of the art and challenges for the Forensic Entomologist. *Rev Bras Entomol* 56: 7-14.

Cruz TM, Vasconcelos SD 2006. Entomofauna de solo associada à decomposição de carcaça de suíno em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco, Brasil. *Biociências* 14: 193-201.

Vianna EES, Costa PRP, Fernandes AL, Ribeiro PB 2004. Abundância e flutuação populacional das espécies de *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Sér. Zool* 94: 231-234.

Zumt F 1965. Myiasis in man and animals in the Old World. London, Butterworths. 276pp.

PREVALÊNCIA DE IMATUROS DE *Chrysomya Albiceps* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) ASSOCIADOS A CARCAÇAS EM DECOMPOSIÇÃO NO SUL DO BRASIL: RELAÇÕES DE PREDACÃO E CANIBALISMO¹

Ana Carolina Reimann Ries ^{2,1}, Betina Blochtein²,

¹Parte da Dissertação de Mestrado primeira autora, PPG-Zoologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; projeto financiado pela CAPES.

²Departamento de Biodiversidade e Ecologia, Faculdade de Biociências, Laboratório de Entomologia. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Avenida Ipiranga, 6681, 90619-900, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

^{2,1} anacarolinaries@hotmail.com; ²betinabl@puers.br

RESUMO

Calliphoridae é o principal grupo de Diptera relacionado a decomposição de carcaças, estando Chrysomyinae entre as subfamílias mais representativas. Suas larvas são utilizadas na estimativa do intervalo *post mortem*, através da taxa de desenvolvimento. Algumas espécies deste grupo destacam-se por seus hábitos predadores e/ou canibais, como *Chrysomya albiceps*. Este estudo enfocou a prevalência de *C. albiceps* sobre outros insetos imaturos associados às carcaças de *Sus scrofa* L. no sul do Brasil. Para tal, observou-se o comportamento da espécie utilizando-se carcaças suínas. Coletaram-se 269 espécimes de califorídeos, dos quais 97,4% foram identificados como *C. albiceps*, demonstrando sua forte prevalência. Tal resultado pode ser explicado pelo caráter predador e canibal da espécie durante o período larval, principalmente no terceiro instar, interferindo na detecção de outros insetos necrófagos. A espécie pode ser apontada como indicador forense para intervalo mínimo de tempo de morte.

Palavras-chave: ciência forense, insetos, califorídeos, predação, canibalismo, suínos, área urbana.

ABSTRACT

Calliphoridae is the main group of related Diptera decomposing carcasses, being Chrysomyinae between the representative subfamilies. Larvae of this subfamily are used in the estimation of *Post mortem* Interval (PMI) through rate of development. Some species of this group are noted for their predation and/or cannibal habits, as *Chrysomya albiceps*. This study focused on the prevalence of *C. albiceps* over other immature insects associated to carcasses of *Sus scrofa* L. in southern Brazil. For this, it was observed the behavior of the species using pig carcasses. We collected 269 specimens of Calliphoridae, of which 97.4% were identified as *C. albiceps*, demonstrating its strong prevalence. This result can be explained by the predatory and cannibalistic character of the species during the larval period, mainly during the third instar, interfering in the detection of other insects scavengers. This species can be identified as forensic indicator of minimum interval of time of death.

Key-words: forensic science, insects, Calliphoridae, predation, cannibalism, pigs, urban area.

Larvas de insetos representam um importante papel ecológico sendo responsáveis por cerca de 90% da degradação da massa corpórea de cadáveres (1-3). A decomposição é mais rápida quando associada à presença de insetos, especialmente pelo fato de suas larvas alimentarem-se nas carcaças. (4-6).

Os dípteros muscóides constituem um grupo caracterizado pela sinantropia, sendo que o estudo destes não só é importante devido ao fator ecológico, mas pelo alto grau de associação com o homem, se aproveitando das condições criadas para o seu desenvolvimento (7). Dentre esses, as principais famílias que se destacam associadas a carcaças são: Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae, Fannidae e Anthomyiidae (8).

Insetos muscóides são os primeiros a colonizarem um cadáver e dessa forma, ovipositam logo após encontrá-lo (9).

Desde os registros de Mégnin, na França, em 1894, os califórideos têm sido reconhecidos como participantes da primeira onda de sucessão de insetos que visitam uma carcaça em decomposição (9). Sendo que a fauna de califórideos para a região Neotropical é reduzida e somente quatro subfamílias podem ser encontradas: Mesembrinellinae, Toxotarsinae, Calliphorinae e Chrysomyinae (10,11). Essa última encontra-se em todas as regiões zoogeográficas, e está subdividida em duas tribos: Phormiini, que é um grupo de regiões temperadas, e Chrysomyini, que está mais associada a regiões tropicais e subtropicais, estando ambas associadas a carcaças (12). A tribo Chrysomyini é representada no Novo Mundo por 20 espécies, incluindo algumas espécies introduzidas do Velho Mundo e bem estabelecidas na América Central e do Sul, como *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) e *Chrysomya rufifacies* (Macquart, 1842). Esse gênero apresenta grande diversidade ecológica, e seus representantes ocupam diferentes habitats e suas larvas estão entre os principais dípteros associados ao processo de decomposição da matéria orgânica (12-14).

Guimarães e colaboradores (15) realizaram as primeiras observações sobre a presença de *C. albiceps*, *C. megacephala* e *C. putoria* no Brasil. De acordo com os autores, tais espécies foram introduzidas no Brasil na década de 70 provenientes de navios vindos da Angola, África. Atualmente encontra-se distribuída em quase todo território nacional dada sua considerável habilidade de dispersão e adaptação, também ganhando importância na área econômica por estar associada aos quadros de miíases. A introdução do gênero *Chrysomya* causou alterações no padrão de distribuição de outras espécies nativas como *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (16). Além disso,

Zumpt (14) caracterizou *C. albiceps* como especialista, devido a utilização de um único substrato para criação das suas larvas, e nesse caso, material de origem animal em decomposição, sendo um dos primeiros insetos a colonizar corpos em decomposição demonstra seu grande potencial para uso como vestígio dentro dos processos periciais (17).

Em carcaças em decomposição, muitas vezes os recursos alimentares podem ser limitados, fato que pode levar a competição, canibalismo ou predação entre as espécies. Entre as moscas ditas varejeiras, *C. albiceps* apresenta comportamento predador facultativo sobre outras espécies, sendo classificada como predadora generalista. Isto é, escolhendo suas presas a partir no valor energético que essas provém e no custo associado a predação (18), sendo que tal hábito pode ter efeitos importantes sobre a população das presas, ainda mais em regiões onde há redução do número de indivíduos das populações de espécies nativas (19). Esse comportamento pode influenciar na dinâmica populacional da fauna de necrófagos que coloniza uma carcaça, pois diversos fatores ecológicos contribuem para o sucesso ou fracasso do desenvolvimento de espécies associadas às carcaças (20). Além da predação larval por *C. albiceps* (6,20), essa espécie também atua como canibal durante o terceiro estágio larval (16). Contudo, em função da disponibilidade de alimento em uma carcaça ser algumas vezes escassa, devido ao número de indivíduos que colonizam o substrato, a abundância de presas suscetíveis a *C. albiceps* é muito alta, fazendo com que a sua taxa de canibalismo seja menor que a taxa de predação. Segundo Faria e colaboradores (16), *C. macellaria* e *C. megacephala* são possíveis presas para *C. albiceps*.

Este estudo visou avaliar a interferência de *Chrysomya albiceps* na detecção de imaturos de outras espécies de insetos necrófagos em carcaças de suínos no sul do Brasil.

Materiais e métodos

Local de coleta. O estudo foi realizado em área da Estação de Pesquisa e Produção Águas Belas, da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro), pertencente a Secretaria de Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Estado do Rio Grande do Sul, com área total de 150 ha, sob as coordenadas 30°02'10,47''S, 51°01'19,05', no município de Viamão, região metropolitana de Porto Alegre, Sul do Brasil (21). A área de estudo se encontra na região ecoclimática da Depressão Central (22), e o clima na área, segundo a classificação de Koppen, é do tipo Cfa (subtropical, úmido com verões quentes), com temperatura máxima média de 28 °C e mínima de 20 °C no verão (23), e uma precipitação anual média de 1.322mm com chuvas bem distribuídas durante o ano (24). O solo é classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico (25), com vegetação composta por campos e resquícios de mata nativa, além do uso em atividades de agricultura e pecuária.

Procedimentos de coleta de amostras. Para realização do estudo foram abatidos três porcos domésticos (*Sus scrofa* L.), de aproximadamente 16kg, com disparo de arma de fogo calibre .38 na região occipital, no local. Imediatamente as carcaças foram dispostas em decúbito lateral direito, protegidas por caixas de malha metálica (1,5 cm²) com dimensões de 100 x 70 x 60 cm³ para evitar a intervenção de vertebrados carnívoros e permitir o acesso da entomofauna. A distância entre as caixas contendo as carcaças suínas foi de 10 m.

As coletas diárias de insetos imaturos iniciaram no dia da morte, cerca de uma hora após o abate dos animais, no dia 07 de dezembro e finalizaram no dia 20 de dezembro de 2011, quando somente restaram ossos nas carcaças. As coletas tiveram

início às 12h, com duração de 30 minutos em cada carcaça, alternando-se a ordem das mesmas a cada dia. Pinças e pincéis foram usados para coletar os imaturos observados sobre as carcaças, evitando-se manipular a carcaça de modo a influenciar no processo de decomposição. As larvas foram armazenadas em recipientes contendo álcool 70%.

Triagem e registro dos espécimes. As larvas coletadas foram identificadas com o auxílio de chaves especializadas (26,27) e de um microscópio estereoscópico Zeiss Discovery V8. Os insetos amostrados encontram-se depositados na Coleção de Insetos do Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Dados abióticos. Registros diários de temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade, do período do estudo, de 07 a 20 de dezembro de 2011, foram obtidos do 8º Distrito de Meteorologia de Porto Alegre/Instituto Nacional de Meteorologia (8ºDISME/INMET) (28).

Análise estatística dos dados. Os dados referentes à diversidade de espécies de imaturos em cada fase do processo de decomposição nas três carcaças de *Sus scrofa* L foram agrupados para análise estatística devido a similaridade entre os mesmos (Teste de Kruskal-Wallis, $p > 0.05$). O teste foi realizado a partir do programa estatístico Palaeontological Statistics, versão 2.17b (29).

Uma análise de correlação de Pearson foi realizada a partir do programa SPSS, versão 12.0 (30), entre os dados brutos de abundância de insetos imaturos de cada dia de coleta e dados diários de temperatura média e umidade relativa do ar.

Aspectos éticos. O tratamento dos animais obedeceu às recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e legislação vigente (Lei Arouca nº 11.794, de 08/10/2008), assim como a Resolução 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária. O Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul aprovou o experimento sob o registro 152 do dia 28/11/2011.

Resultados

As amostragens de insetos imaturos em carcaças resultaram em 274 larvas de dípteros compreendendo cinco estágios de decomposição das carcaças suínas. A totalidade destas larvas pertence ao gênero *Chrysomya*, representadas pelas espécies *C. albiceps* e *C. megacephala* (Tabela I). Uma hora após o início do experimento foi observada a presença de ovos de *Chrysomya* sobre as carcaças, principalmente nos orifícios naturais e próximos ao ferimento. Dos espécimes coletados, 262 foram identificados como *C. albiceps*, representando 97,4% do total, e sete indivíduos foram de *C. megacephala*, que por sua vez apareceu como primeira espécie a colonizar a carcaça (Tabela I).

Tabela 1 – Larvas de califorídeos (Diptera) coletados durante o processo de decomposição de carcaças suínas, em Viamão, no sul do Brasil, no período de 07 a 20 de dezembro de 2011.

Fase	Dia	Espécie	Nº de indivíduos
Fresca	1º	<i>Chrysomya</i> sp.	Massa de ovos
Cromática	2º	<i>C. megacephala</i>	4
Inchamento	3º	<i>C. albiceps</i>	7
	4º	<i>C. albiceps</i>	45
	5º	<i>C. albiceps</i>	22
Putrefação Negra	6º	<i>C. albiceps</i>	68
	6º	<i>C. megacephala</i>	3
	7º	<i>C. albiceps</i>	9
	8º	<i>C. albiceps</i>	1
	9º	<i>C. albiceps</i>	7
	10º	<i>C. albiceps</i>	11
Esqueletização	11º	<i>C. albiceps</i>	66
	12º	<i>C. albiceps</i>	26
	13º		0
	14º		0

A decomposição das carcaças suínas prolongou-se por quatorze dias, desde o dia da morte até cessar a atividade de insetos imaturos. As fases Fresca e Cromática apresentaram uma duração de 24 horas, cada. A fase de Inchamento iniciou no 3º dia e teve seu término no 6º dia, a quarta fase (Putrefação Negra) teve o maior período, de cinco dias, apresentando a maior abundância de dípteros imaturos com 165 indivíduos. A fase de Esqueletização iniciou no 12º dia e no dia seguinte não havia atividade de larvas sobre as carcaças.

Durante o experimento as temperaturas diárias médias variaram entre 22,0°C e 27,7°C, e a umidade relativa do ar entre 54 e 79% (Figura 1). Através da análise de correlação, verificou-se que não houve significância na relação de número de indivíduos

imatuos coletados nas carcaças e dados diários de temperatura e umidade relativa do ar ($p>0.05$).

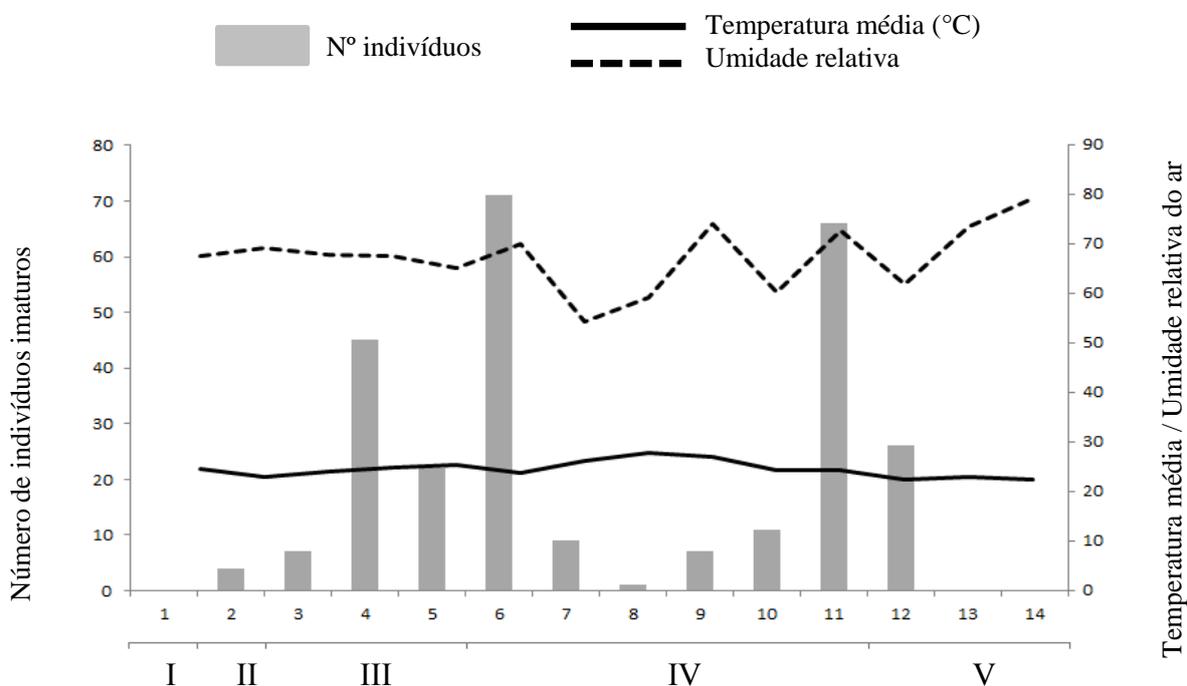


Figura 1. Número de larvas de califorídeos (Diptera) coletadas em carcaças suínas nas fases de decomposição (Fresca – I, Cromática – II, de Inchamento – III, Putrefação Negra – IV, Esqueletização – V), relacionado aos valores diários médios de temperatura e umidade relativa do ar, no período de 07 a 20 de dezembro de 2011, em Viamão, no sul do Brasil.

Discussão

Dípteros muscóides são os primeiros insetos a colonizar cadáveres em decomposição e desta forma ovipositam logo após encontrá-lo (9,31). Sua principal aplicação na entomologia forense é para a estimativa do intervalo *post-mortem* (IPM) (32). Tal método visa estabelecer o tempo mínimo e máximo, entre a morte e o exame Perinecrocópico. Para o cálculo do intervalo de morte mínimo são utilizados os dados a respeito do tempo de desenvolvimento dos espécimes imaturos coletados nos cadáveres,

à medida que o intervalo máximo está relacionado ao padrão de sucessão dos insetos adultos (3,33). Segundo Kashyap & Pillai (34), os insetos servem como instrumento de maior precisão para a estimativa desse intervalo, principalmente no intervalo de 72 a 96 horas após a morte.

A função ecológica dos dípteros muscóides se destaca na decomposição de cadáveres dos quais se alimentam. Sua detecção em todas as fases da decomposição das carcaças suínas foi marcante, embora o número de indivíduos imaturos tenha sofrido um aumento notável na fase de inchamento, em concordância com os achados de Hobson (35). Segundo Aguiar-Coelho (36), a atividade dos insetos que colonizam a carcaça provoca mudanças no microambiente, tornando-o suscetível à alocação de novas comunidades, interferindo no processo de sucessão ecológica. Entretanto, nas carcaças suínas estudadas, a totalidade dos insetos imaturos pertencia a apenas duas espécies de *Chrysomya*, com prevalência de *C. albiceps* ao longo de todo o experimento. Este resultado corrobora com os registros de Sabanoğlu & Sert (37) que mencionam ser esta a espécie de Calliphoridae mais comumente associada a corpos em decomposição.

Chrysomya megacephala, também introduzida no Brasil na década de 70 e atualmente amplamente distribuída, devido a sua capacidade de colonizar diversos habitats, tendo seus ovos depositados do mesmo modo em lotes numerosos na superfície dos cadáveres, e seu desenvolvimento varia de acordo com a temperatura ambiente (38). Essa espécie apresenta maior abundância em dias quentes (15) e em condições de laboratório o estágio larval chegou a ser completado em aproximadamente quatro dias (6). Contudo, de acordo com Aguiar-Coelho (36), o período de incorporação das larvas de *C. albiceps* é o mais curto entre os Calliphoridae introduzidos no Brasil.

A competição larval entre os dípteros em processos de decomposição é o principal fator de influência sobre o tamanho da população que coloniza o corpo, seja pela

competição intra ou inter-específica (39). Rosa e colaboradores (40) sugeriram que algumas espécies de Calliphoridae apresentam diferentes habilidades competitivas, e que quando associadas à predação ou canibalismo podem interferir na convivência das espécies, alterando as suas populações e até mesmo as excluindo. Segundo Zumpt (14), dependendo das condições ambientais as larvas de *C. albiceps* eclodem de seus ovos e começam a se alimentar do substrato, porém a partir do segundo e terceiro instar podem se tornar predadoras e até mesmo canibais. Neste sentido, um dos primeiros registros foi realizado por Coe (41) em cadáveres de elefantes, no Quênia, onde o autor registrou *C. albiceps* predando outra espécie do mesmo gênero presente na carcaça.

Mesmo antes de manifestar seu caráter predador, *C. albiceps* apresenta comportamento canibal durante seus estágios larvais (42). Queiroz e colaboradores (43) observaram que no primeiro instar larval *C. albiceps* não apresenta peças bucais desenvolvidas para matar a presa, e Faria e seus co-autores (16) também evidenciaram que larvas de segundo instar não se alimentam de outras da mesma espécie. Entretanto, em termos de consumo de presas, larvas de terceiros instar apresentam-se mais vorazes que larvas de outros ínstars (44,45). Contudo, em experimentos executados por Faria e colaboradores (45), *C. albiceps* apresentou uma baixa taxa de canibalismo (12,5%) quando comparada com sua taxa de predação sobre outras espécies como *C. megacephala* (100%) e *Cochliomyia macellaria* (92,5%). Tal fato foi corroborado nos estudos de Faria & Godoy (18), que documentaram que *C. albiceps* somente realiza canibalismo na ausência de alimento ou outras presas como *C. megacephala*, *Chrysomya. Putoria* (Wiedemann, 1818) e *C. macellaria*. Em locais onde a presença de *C. albiceps* é abundante, as espécies nativas podem ser reduzidas em até 90%, de acordo com Faria e co-autores (45). Em outras pesquisas, foram observados imaturos de *C.*

albiceps de terceiro instar predando larvas de outras espécies, como *C. macellaria* e *C. megacephala* (19,20).

Barros Cordeiro (46) afirmou que o desenvolvimento de *C. albiceps*, em condições de laboratório atingiria o 3º instar larval em aproximadamente 36 horas. Gião & Godoy (47) constataram que na presença de larvas de terceiro instar de *C. albiceps* as fêmeas de *C. megacephala* não realizavam posturas, evidenciando sua interferência na composição das espécies presentes nos cadáveres. Confrontando esses achados com os resultados obtidos no presente estudo, onde todos os espécimes coletados encontravam-se no terceiro instar larval, sugere-se que a dominância de *C. albiceps* possa ter sido determinada pela alteração no comportamento de postura de outras espécies necrófagas e ainda por seu comportamento predador. Frente a estas colocações, infere-se que a prevalência de *C. albiceps* possa estar correlacionada as suas habilidades competitivas.

As larvas de *C. albiceps*, assim como outros califorídeos, logo após emergirem procuram migrar para tecidos próximos da pele, provocando a queda dos pelos adjacentes. Tal situação foi observada por Braack (48) em carcaças de antílopes no Parque Nacional Kruger, no Quênia. *C. albiceps*, tem como hábito abandonar a carcaça para pupação, escolhendo comumente o solo ao redor dos restos mortais (48,49,50), fato que também pode ter sucedido nas carcaças suínas analisadas nesse estudo, dada a ausência de pupas sobre as carcaças.

O registro exclusivo de insetos imaturos pertencentes ao terceiro instar larval pode estar relacionado ao caráter predador da espécie dominante (*C. albiceps*). Suspeita-se também que o método de coleta utilizado, com amostragem de indivíduos sobre as carcaças, possa ter subestimado a presença de outros ínstares larvais. Larvas de primeiro e segundo instar poderiam estar localizadas em camadas mais profundas dos tecidos em decomposição, hábito característico da família Calliphoridae.

Apesar de introduzida no Brasil, *C. albiceps* encontra-se amplamente distribuída no território nacional, associada a ambientes antropizados. Tal fato pode caracterizar a espécie como indicadora de influência antrópica sobre os ambientes (51,52), e destacar sua importância forense na elucidação de crimes em ambientes urbanos no sul do Brasil.

Conclusões

A fauna de imaturos associada a carcaças suínas em decomposição no sul do Brasil foi representada exclusivamente por espécies de *Chrysomya*, sendo *C. albiceps* a espécie dominante. A dominância de larvas de 3º instar nos estágios de Inchamento, Putrefação Negra e início da Esqueletização configura o caráter predador e eventualmente canibal de *C. albiceps*, reduzindo a representatividade de outros insetos necrófagos potencialmente associados a corpos em decomposição.

Agradecimentos

Agradeço aos pesquisadores da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Dr. João Marcelo Ketzer e Prof. Anderson Maraschin, e Flávio Albite e Bruno Brito Lisboa da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro) pelo apoio na realização do projeto.

REFERÊNCIAS

1. Salviano RJB, Mello RP, Beck LCNH, Ferreira A. Calliphoridae (Diptera) associated with human corpses in Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Entomol y Vect* 1993;3(5):145-6.
2. Souza AM. Sucessão entomológica na decomposição de carcaça animal, com ênfase nas famílias Calliphoridae e Sarcophagidae (Diptera). (Dissertação de mestrado). Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas, 1994.
3. Oliveira-Costa J. Quando os insetos são vestígios. 2ª ed. Campinas: Millenium Editora, 2008.
4. Payne JA. A summer carrion of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology* 1995;46:592-602.
5. Jirón LF, Cartín VM. Insect succession in the decomposition of a mammal in Costa Rica. *J News York Entomol Soc* 1981;89:158-65.
6. Aguiar-Coelho VM, Milward-de-Azevedo EMV. Associação entre larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemann), *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Calliphoridae, Diptera) sob condições de laboratório. *Rev Bras Zool* 1995;12(4):991-1000.
7. Nuorteva P, Vesikari T. The synanthropy of blowflies (Diptera, Calliphoridae) on the Coast of the Arctic Ocean. *Ann Med Exp Fenn* 1966;44:544-8.

8. Souza AM de, Linhares AX. Diptera and Coleoptera of potencial forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med Vet Entomol* 1997;11:8-12.
9. Smith KGV. A manual of forensic entomology. British Museum (Natural History). London: Ed. Cornell University, 1986.
10. Amat EC. Contribución al conocimiento de las Chrysomyinae y Toxotarsinae (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 2009;80:693-708.
11. Pape T, Wolff M, Amat EC. Los califóridos, éstridos, rinofóridos y sarcófágidos (Diptera: Calliphoridae, Oestridae, Rhinophoridae, Sarcophagidae) de Colombia. *Biota Colombiana* 2004;5(2):201-8.
12. Dear JP. A revision of the New World Chrysomyini (Diptera:Calliphoridae). *Rev Bras Zool* 1985;3(3):109-69.
13. Nuorteva P. Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. In: Tedeschi CGM, Eckert WG, Tedeschi LG org. *Forensic medicine: a study in trauma and environmental hazards*. V. II. London, 1977.
14. Zumpt F. *Myiasis in Man and Animals in the Old World*. London: Butterworths, 1965.
15. Guimarães JH, Prado AP, Linhares AX. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil. *Rev Bras Entomol* 1978;22:53-60.

16. Faria LDB, Reigada C, Trinca LA, Godoy WAC. Foraging behavior by an intraguild predator blowfly, *Chrysomya albiceps* (Diptera:Calliphoridae). *J Ethol* 2007;25:287-94.
17. Carvalho LML, Thyssen PJ, Goff ML, Linhares AX. Observations on the succession patterns of necrophagous insects on a pig carcass in a urban area of southeastern Brazil. *Internet J Forensic Med Toxicol* 2004;5:33-9.
18. Faria LDB, Godoy WAC. Prey choice by facultative predator larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera:Calliphoridae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96(6):875-8.
19. Reigada C, Godoy WAC. Dispersal and predation behavior in larvae of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae). *J Insect Behav* 2005;18(4):543-55.
20. Faria LDB, Orsi L, Trinca LA, Godoy WAC. Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*. *Entomol Exp Appl* 1999;90:149-55.
21. Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária [homepage na internet]. Rio Grande do Sul: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio. Disponível em <<http://www.fepagro.rs.gov.br/>> Acessado em: 16 de janeiro de 2013.
22. Maluf JRT, Caiaffo MRR. Regiões Ecoclimáticas do Estado do Rio Grande do Sul. *In: XII Congresso Brasileiro de Agrometeorologia e III Reunião Latino-Americana de Agrometeorologia*; 2001 3 a 6 de julho; Fortaleza (CE);151-2.
23. Kuinchtner A, Buriol GA. Clima do Estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. *Discip sci* 2001;2:171-82.

24. Moreno JA. Clima do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Secretaria da Agricultura, 1961.
25. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA. Centro nacional de pesquisa de solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília, Produção de informação, 1999.
26. Stehr, F. Immature insects. Vol 2, Kendall/Aunt Publishing Company, Iowa, 1991.
27. Florez E, Wolff M. Description and Key to the Main Species of Calliphoridae (Diptera) Larvae of Forensic Importance from Colombia. Neotrop Entomol 2009;38(3):418-29
28. Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Dados Climatológicos. Disponível em < <http://www.inmet.gov.br/portal/> > Acessado 04 de dezembro de 2012.
29. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4: 9 pp.
30. Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Version 12.0. [Computer program]. Chicago: SPSS Inc.; 2006.
31. Carvalho LML, Thyssen PJ, Linhares AX, Palhares FAB. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000;95(1):135-8.

32. Catts EP, Goff ML. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu Rev Entomol* 1992;37:253-72.
33. Catts EP, Haskell NH. *Entomology and death: a procedural guide*. Joyce's Print Shop, Clemson, South Carolina, 1991.
34. Kashyap VK, Pillay VV. Efficacy of entomological method in estimation of postmortem interval: a comparative analysis. *Forensic Sci Int* 1989;40:245-50.
35. Hobson RP. Studies on the nutrition of blo-fly larvae. IV The normal role of micro-organisms in larval growth. *J Exp Biol* 1932;9:366-77.
36. Aguiar-Coelho VM. Dinâmica populacional de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) e *C. megacephala* (Fabricius) (Diptera:Calliphoridae): relações intra e inter-específicas, sob condições de laboratório. (Tese de doutorado). Rio de Janeiro (RJ): Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1994.
37. Sabanoğlu B, Sert O. Determination of Calliphoridae (Diptera) fauna and seasonal distribution on carrion in Ankara Province. *J Forensic Sci* 2010;55(4):1003-7.
38. Pianka ER. r and K selection or b and d selection ? *Am Nat* 1970;106(951):581-8.
39. Putman RJ. *Carrion and dung: the decomposition of animal wastes*. London: Southampton University, 1983.

40. Rosa GS, Carvalho LR de, Reis SF dos, Godoy WAC. The dynamics of intraguild predation in *Chrysomya albiceps* Wied. (Diptera:Calliphoridae): interactions between instars and species under different abundances of food. *Neotrop Entomol* 2006;35(6):775-80.
41. Coe M. The decomposition of elephant carcasses in the Tsavo (East) National Park, Kenya. *J Arid Environ* 1978;1:71-86.
42. Ulyett GC. Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Phil Trans R Soc Lond* 1950;234:77-174.
43. Queiroz MMC, Mello RP, Lima MM. Morphological aspects of the larval instars of *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) reared in the laboratory. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997;92(2):187-96.
44. Andrade JB, Rocha FA, Rodrigues P, Rosa GS, Faria LDB, Von Zuben CJ et al. Larval dispersal and predation in experimental populations of *Chrysomya albiceps* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97(8):1137-40.
45. Faria LDB, Godoy WAC, Reis SF dos. Larval predation on diferente instars in blowfly populations. *Braz Arch Biol Techn* 2004;47(6):887-94.
46. Barros-Cordeiro KB. Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya albiceps* (Diptera:Calliphoridae) sob condições controladas em laboratório e contribuições para a entomologia forense. (Monografia). Brasília (DF): Universidade de Brasília e Universidade Estadual de Góias, 2011.

47. Gião JZ, Godoy WAC. Ovipositional behavior in predator and prey blowflies. *J Insect Behav* 2007;20:77-86.
48. Braack LEO. Visitation patterns of principal species of the insect-complex at carcasses in the Kruger National Park. *Koedoe* 1981;24(1):33-49.
49. Vélez MC, Wolff M. Rearing five species of Diptera (Calliphoridae) of forensic importance in Colombia in semicontrolled field conditions. *Pap avulsos zool (São Paulo)* 2008;48(6):41-7.
50. Anderson GS. Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). *J Forensic Sci* 2000;45(4):824-32.
51. Centeno N, Almorza D, Arnillas C. Diversity of Calliphoridae (Insecta: Diptera) in Hudson, Argentina. *Neot Entomol* 2004;33(3):387-90.
52. Grassberger M, Friedrich E, Reiter C. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *Int J Legal Med* 2003;117:75-81.

CONCLUSÕES GERAIS

- As carcaças suínas apresentaram cinco fases de decomposição: fresca, cromática, de inchamento, putrefação negra e esqueletização.
- A fase de decomposição mais atrativa tanto para adultos quanto para larvas de insetos foi a de putrefação negra.
- A composição de insetos foi semelhante nas três carcaças suínas.
- Diptera, com destaque para Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae, foi o táxon mais abundante dentre os insetos detectados nas carcaças em decomposição.
- Representantes de Aphodiinae sp. 1(Coleoptera) e *Chrysomya albiceps* (Diptera) foram os táxons mais coletados, sendo que o primeiro prevaleceu nos estágios mais avançados de decomposição.
- *Chrysomya albiceps*, tanto na forma adulta quanto larval, esteve presente em todo o processo de decomposição das carcaças.
- A prevalência de imaturos de *Chrysomya albiceps* de terceiro instar possivelmente está relacionada ao seu comportamento predador e canibal durante esse estágio larval, reduzindo a ocorrência de outros insetos necrófagos potencialmente associados aos suínos em decomposição.

- As espécies-chave determinadas para cada fase da decomposição das carcaças foram: *Lucilia eximia* - fase Fresca, *Chrysomya albiceps* - fase Cromática e de Inchamento, Aphodiinae sp. 1 - fase de Putrefação Negra e de Esqueletização.

ANEXOS

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

Capítulo I: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The manuscript should be prepared using standard word processing software and should be printed (font size 12) double-spaced throughout the text, figure captions, and references, with margins of at least 3 cm. The figures should come in the extension tiff, with a minimum resolution of 300 dpi. Tables and legends to figures must be submitted all together in a single file. Figures, must be uploaded separately as supplementary file.

The manuscript should be arranged in the following order:

Running title: with up to 40 characters (letters and spaces)

Title: with up to 250 characters

Author's names: without titles or graduations

Institutional affiliations: full address of the corresponding author only

Summary: up to 200 words (100 words in case of short communications). It should emphasize new and important aspects of the study or observations.

Key words: 3-6 items must be provided. Terms from the Medical Subject Headings (Mesh) list of Index Medicus should be used.

Sponsorships: indicating the sources of financial support and change of address.

Introduction: should set the purpose of the study, give a brief summary (not a review) of previous relevant works, and state what new advance has been made in the investigation. It should not include data or conclusions from the work being reported.

Materials and Methods: should briefly give clear and sufficient information to permit the study to be repeated by others. Standard techniques need only be referenced.

Ethics: when reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or a national research council's guide for, or any national law on the care and use of laboratory animals was followed.

Results: should be a concise account of the new information discovered, with the least personal judgement. Do not repeat in text all the data in the tables and illustrations.

Discussion: should be limited to the significance of the new information and relate the new findings to existing knowledge. Only unavoidable citations should be included.

Acknowledgements: should be short and concise, and restricted to those absolutely necessary.

REFERENCES

Must be accurate. Only citations that appear in the text should be referenced. Unpublished papers, unless accepted for publication, should not be cited. Work accepted for publication should be referred to as "in press" and a letter of acceptance of the journal must be provided. Unpublished data should only be cited in the text as "unpublished observations", and a letter of permission from the author must be provided. The references at the end of the paper should be arranged in alphabetic order according to the surname of the first author.

THE TITLE OF JOURNALS

Should be abbreviated according to the style used in the Index Medicus.

Consult: <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>

In the text use authors' surname and date

Lutz (1910) or (Lutz 1910)

With two authors it is

(Lutz & Neiva 1912) or Lutz and Neiva (1912)

When there are more than two authors, only the first is mentioned

Lutz et al. (1910) or (Lutz et al. 1910).

AT THE END OF THE PAPER USE THE FOLLOWING STYLES

Journal article

Chagas C, Villela E 1922. Forma cardiaca da tripanosomiase americana. Mem Inst Oswaldo Cruz 14: 15-61.

Book and Thesis

Forattini OP 1973. Entomologia Médica. Psychodidae, Phlebotominae, Leishmaniose, Bartonelose, Vol. IV, Edgard Blucher, São Paulo, 658 pp.

Morel CM 1983. Genes and Antigens of Parasites. A Laboratory Manual, 2nd ed., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, xxii + 580 pp.

Mello-Silva CC 2005. Controle alternativo e alterações fisiológicas em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni* Sambom, 1907 pela ação do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B (Euphorbiaceae), PhD Thesis, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 85 pp.

Chapter in book

Cruz OG 1911. The prophylaxis of malaria in central and southern Brasil. In R Ross, The Prevention of Malaria, John Murray, London, p. 390-398.

Journal article on the Internet

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from:

<http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Monograph on the Internet

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [monograph on the Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>.

Homepage/Web site

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Part of a homepage/Web site

American Medical Association [homepage on the Internet]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated 2001 Aug 23; cited 2002 Aug 12]. AMA Office of Group Practice Liaison; [about 2 screens]. Available from: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

DATABASE ON THE INTERNET

Open database

Who's Certified [database on the Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp>

Closed database

Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). c1999 [updated 2001 Nov 20; cited 2002 Aug 12]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome_title.html

Part of a database on the Internet

MeSH Browser [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2002 - [cited 2003 Jun 10]. Meta-analysis; unique ID: D015201; [about 3 p.]. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Files updated weekly. Updated June 15, 2005
FIGURES AND TABLES MUST BE UNDERSTANDABLE WITHOUT REFERENCE TO THE TEXT

Figures: presented in tiff format with a minimum of 300 dpi and photographs must be sharply focused, well contrasted, and if mounted onto a plate, the figures should be numbered consecutively with Arabic numbers. Magnification must be indicated by a line or bar in the figure, and referenced, if necessary in the caption (e.g., bar = 1 mm). Plates and line figures should either fit one column (8 cm) or the full width (16.5 cm) of the page and should be shorter than the page length to allow inclusion of the legend. Letters and numbers on figures should be of a legible size upon reduction or printing. A colour photograph illustrates the cover of each issue of the Journal and authors are invited to submit illustrations with legends from their manuscript for consideration for the cover.

Tables: should supplement, not duplicate, the text and should be numbered with Roman numerals. A short descriptive title should appear above each table, with any explanations or footnotes (identified with a, b, c, etc.) below.

Technical Notes: Technical Notes should communicate rapidly single novel techniques or original technical advances. The entire note should occupy no more than three printed pages including figures and/or tables (it means around 10 double-spaced typed Word file maximum). The text must not be divided into sections. Therefore, the state of art must be very briefly presented; results must be rapidly presented and discussed at a time. Complementary tables and figures may be published as supplementary data. References must be limited to few essential ones and cited at the end of the note, using the same format as in full papers. A brief summary and three key words must be provided.

Short communications: should communicate rapidly single results or techniques. They should occupy no more than three printed pages including figures and/or tables. They should not contain excessive references. References should be cited at the end of the paper using the same format as in full papers. A brief summary and three key words must be provided.

Alternative format: manuscripts may be submitted following the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" produced by the International Committee of Medical Journal Editors also known as the Vancouver Style. In this case, authors should follow the guidelines in the fifth edition (Annals of Internal Medicine 1997; 126: 36-47, or at the website <http://www.acponline.org/journals/resource/unifreqr/htm>) and will be responsible for modifying the manuscript where it differs from the instructions given here, if the manuscript is accepted for publication.

Authors should also follow the Uniform Requirements for any guidelines that are omitted in these Instructions.

In case of clinical trials it's mandatory to inform the registration number of the REBEC platform.

A statement that the data/results of the manuscript are not plagiarism and have not been published elsewhere.

Capítulo II: Journal of Forensic Science

PREPARATION OF MANUSCRIPT

Use double-spacing throughout the manuscript, including title page, abstract, text, acknowledgments, references, individual tables and legends. Number pages consecutively, beginning with the title page. Put the page number in the upper right-hand corner of each page.

The cover letter should give statements about where the work has been presented at professional meetings, and should identify any sources of support.

Authorship

All persons designated as authors should qualify for authorship. The order of authorship should be a joint decision of the coauthors. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content.

Authorship credit should be based only on substantial contributions to: a) conception and design, or analysis interpretation of data, to b) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, and on c) final approval of the version to be published.

Conditions a), b) and c) must all be met. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship. General supervision of the research group is not sufficient for authorship. Any part of an article critical to its main conclusions must be the responsibility of at least one author.

JFS may require authors to justify the assignment of authorship. Increasingly, multi-center trials or work are attributed to a corporate author. All members of the group who are named as authors, either in the authorship position below the title or in a footnote, should fully meet the criteria for authorship as defined in the Uniform Requirements. Group members who do not

meet these criteria should be listed, with their permission, under Acknowledgments or in an appendix (see Acknowledgments).

Abstract and Keywords

Abstracts should be no more than 150 words. This journal uses unstructured abstracts; however, the abstract should include the following – background, brief description of methods and results (give specific data and their statistical significance, if possible), and conclusions. Emphasize new and important aspects of the study or observations. The word **ABSTRACT** should be in capitals and bolded.

Authors should provide a minimum of six keywords that will assist indexers in cross-indexing the article and that may be published with the abstract. The first keyword must be Forensic Science; the second and subsequent words should assist abstracters in properly categorizing the work so that it will be found in journal article data bases by interested researchers. Use terms from the medical subject headings (MeSH) list of Index Medicus; if suitable MeSH terms are not yet available for recently introduced terms, present terms may be used. Frequently, the second keyword represents a subfield of forensic science, e.g. forensic anthropology, forensic pathology, or DNA typing. In manuscripts on DNA typing, every locus involved in the study should be listed as a separate keyword. Do not use abbreviations for keywords, e.g., polymerase chain reaction, not PCR; gas chromatography-mass spectrometry, not GCMS.

Text

The text of observational and experimental articles is usually – but not necessarily – divided into sections with headings. *JFS* does not use an “Introduction” heading. The introductory text begins on the first text page. Other typical headings include Methods (or Materials and Methods), Results, and Discussion. Long articles may need subheadings within the sections to clarify their content, especially the Results and Discussion sections. Other types of articles, such as Case Reports are likely to need different headings and subheadings. Generally, avoid overuse of subheadings, especially in the Methods section. Headings should be bolded and subheadings italicized.

Introduction

In *JFS*, the text component of the manuscript begins with an introduction, but *JFS* does not use the “Introduction” heading. State the purpose of the article. Summarize the rationale for the study or observation. Give only strictly pertinent references, and do not review referenced articles extensively. Do not include data or conclusions from the work being reported.

Methods

Describe your selection of the observational or experimental subjects (patients or laboratory animals, including controls) clearly. Identify the methods, apparatus (manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods (see below); provide references and brief descriptions for methods, that have been published but are not well known; describe new or substantially modified methods, give reasons for using them, and evaluate their limitations. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic name(s), dose(s), and route(s) of administration. Generally avoid the overuse of subheadings in the Methods section. Describe the methods and materials in narrative style, not in the style of a laboratory procedure handout.

Ethics

When reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) or with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983. Do not use patient's names, initials, or hospital numbers, especially in illustrative material. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or the National Research Council's guide for, or any national law on, the care and use of laboratory animals was followed.

Statistics

Describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid sole reliance on statistical hypothesis testing, such as the use of P values, which fails to convey important quantitative information. Discuss eligibility of experimental subjects. Give details about randomization. Describe the methods for and success of any blinding of observations. Report treatment complications. Give numbers of observations. Report losses to observation (such as dropouts from a clinical trial). References for study design and statistical methods should be to standard works (with pages stated) when possible rather than to papers in which the designs or methods were originally reported. Specify any general-use computer programs used.

Put a general description of methods in the Methods section. When data are summarized in the Results section, specify the statistical methods used to analyze them. Restrict tables and figures to those needed to explain the argument of the paper and to assess its support. Use graphs as an alternative to tables with many entries; do not duplicate data in graphs and tables.

Avoid non-technical uses of technical terms in statistics, such as "random" (which implies a randomizing device), "normal," "significant," "correlations," and "sample." Define statistical terms, abbreviations and most symbols.

Results

Present your results in logical sequence in the text, tables and illustrations. Do not repeat in the text all the data in the tables or illustrations; emphasize or summarize only important observations.

Discussion

Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. Do not repeat in detail data or other material given in the Introduction or the Results section. Include in the Discussion section the implications of the findings and their limitations, including implications for future research. Relate the observations to other relevant studies. Link the conclusions with the goals of the study, but avoid unqualified statements and conclusions not completely supported by your data. Avoid claiming priority and alluding to work that has not been completed. State new hypotheses when warranted, but clearly label them as such. Recommendations, when appropriate, may be included.

In shorter manuscripts, such as those intended to be Technical Notes or Case Reports, the Results and Discussion sections should be combined.

Acknowledgements

The Acknowledgements section immediately precedes the Reference list. Here, specify contributions that need acknowledging but do not justify authorship, such as general support by a department chair or acknowledgments of technical help. Persons who have contributed intellectually to the paper but whose contributions do not justify authorship may be named and their function or contribution described – for example, "scientific adviser," "critical review of study proposal," "data collection," or "participation in clinical trial." Such persons must have given their permission to be named. The Acknowledgements header should be italicized.

Authors are responsible for obtaining written permission from persons acknowledged by name, because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Technical help should be acknowledged in a paragraph separate from those acknowledging other contributions.

Acknowledgements of financial support should appear as footnotes to the title of the paper on the Title Page.

References

The heading of the reference list should be "References," and it should contain only published or in-press references cited by number in the text. Published abstracts (duly noted as being abstracts), printed manufacturers' protocols or instructions, and world wide web site URLs may be validly cited as references. Personal communications and submitted manuscripts are not valid references. Personal communications should be cited in the text, in parentheses, at the appropriate location. The References header should be bolded.

Number references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in tables, and legends by Arabic numerals. References cited only in tables or legends should be numbered in accordance with a sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. Within the text, tables or figures, cite references by Arabic numeral in parentheses. Within the reference list, number the references 1., 2., 3., etc.

References in the reference list should be in accordance with Uniform Requirements - style of the examples given below. This style is based with slight modifications on the formats used by the U.S. National Library of Medicine in *Index Medicus*. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Consult List of Journals Indexed in *Index Medicus*, published annually as a separate publication by the library and as a list in the January issue of *Index Medicus*.

The references must be verified by the author(s) against the original documents. Examples of correct forms of references are given below.

Articles in Journals

1. Standard journal article

(List all authors, but if the number exceeds six, give six followed by et al.) You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980 Aug;79(2):311-4.

As an option, if a journal carries continuous pagination throughout a volume, the month and issue number may be omitted.

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4.

Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2. Organization as author

The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3. No author given

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

4. Article not in English

Massone L, Borghi S, Pestarino A, Piccini R, Gambini G. Localisations palmaires purpuriques de la dermatite herpétiforme. *Ann Dermatol Venereol* 1987;114:1545-7.

5. Volume with supplement

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-8.

6. Issue with supplement

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore R. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

7. Volume with part

Hanly C. Metaphysics and innateness: a psychoanalytic perspective. *Int J Psychoanal* 1988;69(Pt 3):389-99.

8. Issue with part

Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1989;20(2 Pt 1):257-60.

9. Issue with no volume

Baumeister AA. Origins and control of stereotyped movements. *Monogr Am Assoc Ment Defic* 1978;(3):353-84.

10. No issue or volume

Danoek K. Skiing in and through the history of medicine. *Nord Medicinhist Arsb* 1982;86-100.

11. Pagination in roman numerals

Ronne Y. Ansvarsfallen Blodtransfusion till fel patient. *Vardfacket* 1989;13:XXXVI-XXVII.

12. Type of article indicated as needed

Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery [letter]. *Anaesthesia* 1989;44:363-4.

13. Article containing retraction

Shishido A. Retraction notice. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retraction of Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MN. In: *Jpn J Med Sci Biol* 1979;32:53-65]. *Jpn J Med Sci Biol* 1980;33:235-7.

14. Article retracted

Alsabti EA, Ghalib ON, Sale MN. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retracted by Shishido A. In: *Jpn J Med Sci Biol* 1980;33:235-7]. *Jpn J Med Sci Biol* 1979;32:53-65.

15. Article containing comment

Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment] *Nephron* 1989;51:289-91. Comment on: *Nephron* 1988;48:12-7.

16. Article commented on

Kobayashi Y, Fujii K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA neuropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. *Nephron* 1988;48:12-7. Comment in: *Nephron* 1989;51:289-91.

17. Article with published erratum

Schofield A. The CAGE questionnaire and psychological health [published erratum appears in *Br J Addict* 1989;84:701]. *Br J Addict* 1988;83:761-4.

Books and Other Monographs

18. Personal author(s)

Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*. 2nd rev. ed. London: S. Paul, 1986.

19. Editor(s), compiler as author

Diener HC, Wilkinson M, editors. *Drug-induced headache*. New York: Springer-Verlag, 1988.

20. Organization as author and publisher

Virginia Law Foundation. *The medical and legal implications of AIDS*. Charlottesville: The Foundation, 1987.

21. Chapters in a book

Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974;457-72.

22. Conference proceedings

Vivian VL, editor. *Child abuse and neglect: a medical community response*. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.

23. Conference paper

Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. Indoor air and human health. Proceedings of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985;69-78.

24. Scientific or technical report

Akutsu T. Total heart replacement device. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Heart and Lung Institute; 1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-691 218514.

25. Dissertation

Youssef NM. School adjustment of children with congenital heart disease [dissertation]. Pittsburgh (PA): Univ. of Pittsburgh, 1988.

26. Patent

Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Epoxidation process. US patent 3,654,317. 972 Apr 4.

Other Published Material

27. Newspaper article

Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. The Washington Post 1989 Aug 7; Sect. A:2 (col. 5).

28. Audiovisual

AIDS epidemic: the physician's role [videorecording]. Cleveland (OH): Academy of Medicine of Cleveland, 1987.

29. Computer file

Renal system [computer program]. MS-DOS version. Edwardsville (KS): MediSim, 1988.

30. World Wide Web address or URL

<http://www.uocf.edu/pharmacy/depts/drugdose/barbituates/index.html>

31. Legal material

Toxic Substances Control Act: Hearing on S. 776 Before the Subcomm. on the Environment of the Senate Comm. on Commerce. 94th Cong., 1st Sess. 343 (1975).

32. Map

Scotland [topographic map]. Washington: National Geographic Society (US), 1981.

33. Book of the Bible

Ruth 3:1-18. The Holy Bible. Authorized King James version. New York: Oxford Univ. Press, 1972.

34. Dictionary and similar references

Ectasia. Dorland's illustrated medical dictionary. 27th ed. Philadelphia: Saunders, 1988;527.

35. Classical material

The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. London: Rex, 1973.

Unpublished Material

36. In press

Lillywhite HD, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation aquatic snake. Science. In press.

Additional Information and Reprint Requests

A section of the manuscript, immediately following the reference list, entitled "Additional information and reprint requests:", should include the full name, title and mailing address of the corresponding author. If reprints will not be available from the author(s), entitle this section: "Additional Information - Reprints Not Available from Author."

Tables

Tables should be submitted as separate files. Do not submit tables as photographs. Number tables with Arabic numerals consecutively in the order of their first citation in the text and supply a brief title for each. Give each column a short or abbreviated heading. Place explanatory matter in footnotes, not in the heading. Explain in footnotes all nonstandard abbreviations that are used in each table. For footnotes use the following symbols, in this sequence:

*, †, ‡, §, ¶, **, ††, ‡‡.

Identify statistical measures of variations such as standard deviation and standard error of the mean. Do not use internal horizontal and vertical rules. Be sure each table is cited in the text.

If you use data from another published or unpublished source, obtain permission and acknowledge fully. The use of too many tables in relation to the length of the text may produce difficulties in the layout of pages.

The Editor, upon accepting a paper, may recommend or even require as a condition of acceptance, that additional tables containing important backup data too extensive to publish be deposited with an archival service, such as the National Auxiliary Publication Service in the United States, or be made available by the authors, or be available at a web site. In that event an appropriate statement will be added to the text. Submit such tables for consideration with the paper.

Illustrations (Figures)

Figures should be saved in a neutral data format such as TIFF or EPS with a resolution of 300 dpi. Please do not use Power Point, Harvard Graphics, or PC Paint and do not import graphics into Word. Scanned figures (only in TIFF format) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size. More detailed information on the submission of electronic artwork can be found at http://authorservices.wiley.com/prep_illust.asp.

Figures should be numbered consecutively (in Arabic numerals) according to the order in which they have been first cited in the text. If a figure has been published, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce the material. Permission is required irrespective of authorship or publisher, except for documents in the public domain.

JFS does not routinely publish color photographs or other color artwork. If a color photograph (or other color artwork) is considered absolutely essential to the published presentation of the work, authors must be prepared to pay the substantial costs associated with color art

reproduction and printing. *JFS* can provide authors with estimates of these costs in advance upon request.

As a general rule, *JFS* will keep original figures and photographs in the manuscript file during revision(s). If figures are added or deleted during the review / revision cycle(s), authors should clearly indicate to the Editor what changes were made, and any changes to the figure numbering scheme. It is never a good idea to supply *JFS* with only one publication-quality set of figures and/or photographs. There is always a chance that these items can be lost in the mail.

Legends for Illustrations

Figure legends should be supplied as a separate file, double-spaced, with Arabic numerals corresponding to the illustrations. When symbols, arrows, numbers or letters are used to identify parts of the illustrations, identify and explain each one clearly in the legend. Explain the internal scale and identify the method of staining in photomicrographs.

UNITS OF MEASUREMENT

Measurements of length, height, weight and volume should be reported in metric units (meter, kilogram, or liter or their decimal multiples). Temperatures should be given in degrees Celsius. Blood pressures should be given in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). In some types of manuscripts (e.g. engineering), the use of non-metric units is permitted if they are the norm in that field or professional area.

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

Terms and nomenclature in all disciplines should be in accordance with the current standards and lists approved or adopted by appropriate national or international committees or organizations, such as the International Anatomical Nomenclature Committee, I.U.P.A.C., I.U.B., the Enzyme Commission, the Committee on International Standardization of Gene Nomenclature (ISGN), etc. Use only standard abbreviations. Generally, avoid abbreviations in the title, abstract and keywords. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in text unless it is a standard unit of measurement. Liter(s) is abbreviated L, not l. Micro should be abbreviated with μ , not u.