

ESCLARECIMENTO

De: Paulo Roberto Martins Queiroz

Para: Assessoria Programa Iniciação Científica do UniCEUB.

Brasília, 25 de agosto de 2017.

Ilma coordenadora.

Em anexo segue o relatório final do PIC 2016.

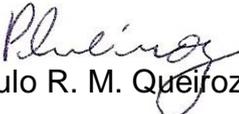
A partir do apresentado pelo avaliador a respeito das linhas adotadas na pesquisa, a saber:

“A ausência de coletas em área rural atinge significativamente a proposta da pesquisa, já que era esperada uma diversidade de insetos bem diferente entre as duas áreas. Agora só serão coletados insetos de área urbana o que vai deixar uma lacuna sobre a comparação proposta originalmente”.

Dessa forma, a partir do apontamento do avaliador, o projeto foi reavaliado e o objetivo inicial foi executado. Ou seja, foram feitas coletas em duas áreas, uma urbana e outra rural.

Sendo assim, procurou-se atender, integralmente, aos posicionamentos do avaliador.

Respeitosamente.


Paulo R. M. Queiroz

Professor orientador



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UniCEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E DA SAÚDE – FACES

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

KARINA NASCIMENTO CARDOSO

LUCAS MOL MOHAMAD

ESTUDO DA SUCESSÃO DE ENTOMOFAUNA DE INTERESSE
FORENSE EM UMA ÁREA DE CERRADO

BRASÍLIA

2017



KARINA NASCIMENTO CARDOSO

LUCAS MOL MOHAMAD

ESTUDO DA SUCESSÃO DE ENTOMOFAUNA DE INTERESSE
FORENSE EM UMA ÁREA DE CERRADO

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa pela Faculdade de Ciências da Educação e da Saúde – FACES

Orientação: Paulo Roberto Martins Queiroz.

BRASÍLIA

2017

ESTUDO DA SUCESSÃO DE ENTOMOFAUNA DE INTERESSE FORENSE EM UMA ÁREA DE CERRADO

Karina Nascimento Cardoso – UniCEUB, PIC Institucional, aluno bolsista

knc1694@gmail.com

Lucas Mol Mohamad – UniCEUB, PIC institucional, aluno voluntário

lucasmolmohamad@hotmail.com

Paulo Roberto Martins Queiroz – UniCEUB, professor orientador

paulo.silva@uniceub.br

Devido aos seus fatores ambientais característicos, observa-se no cerrado do Distrito Federal a ocorrência de artrópodes de interesse forense. A sucessão dessa entomofauna é um elemento que influencia na decomposição de carcaças de *Sus scrofa* quando colocadas sobre o solo e expostas a diversas variáveis ambientais. Os objetivos desta pesquisa foram coletar dípteros e coleópteros necrófagos em áreas rural e urbana, realizar a caracterização morfológica dos indivíduos coletados de acordo com as fases de decomposição da carcaça, analisar estatisticamente a ocorrência da entomofauna e relacionar os dados obtidos com regiões mitocondriais para a identificação das famílias de Diptera. Para isso, um indivíduo de *Sus scrofa* natimorto de 1,5 kg foi colocado em uma gaiola adaptada, assim como, uma armadilha tipo PET foi adaptada para a coleta dos insetos. Foram montados dois experimentos com período de coleta de 9 dias em zonas rural e urbana para o estudo comparativo da diversidade das famílias de Diptera e Coleoptera de interesse forense presentes nessas regiões. Os insetos coletados foram preservados em tubos contendo álcool 70% e, posteriormente, foram identificados por ordens e famílias mediante o uso de chaves de identificação específicas. Em virtude das condições ambientais predominantes do período de coleta, observou-se que as carcaças utilizadas sofreram rápido processo de dessecação e, dessa forma, a coleta de indivíduos da ordem Coleoptera foi prejudicada, não havendo exemplares dessa ordem para serem analisados nesse estudo. Dessa forma, realizou-se a análise dos resultados obtidos de identificação das famílias da ordem Diptera. Foram identificados indivíduos das famílias Calliphoridae, Muscidae, Otitidae e Sarcophagidae. Os dados foram organizados em planilhas e submetidos a análises de diversidade segundo os índices de Shannon e Simpson visando analisar possíveis diferenças entre as famílias de Diptera que foram coletadas nas zonas urbana e rural. Observou-se que não houve diferença quanto aos tipos de famílias coletadas e, também, não houve abundância de uma família específica. Em função dos dados obtidos realizou-se uma análise de bioinformática a partir da sequência de DNA do gene citocromo oxidase subunidade I para a determinação de *contigs* específicos para algumas espécies de Diptera e a obtenção de uma sequência de DNA que pudesse ser utilizada como *barcode*. As sequências de DNA mitocondrial foram usadas para a determinação de um dendrograma para análise do grau de similaridade de algumas espécies pertencentes às famílias de Diptera analisadas. A partir da sequência de DNA estabelecida como

barcode relacionou-se os dados de diversidade obtidos. Dessa forma, o levantamento da entomofauna coletada nos indivíduos de *Sus scrofa* será útil para futuros estudos de entomologia forense, permitindo o conhecimento das espécies presentes no bioma do cerrado do Brasil central.

Palavras-Chave: Entomologia Forense. Sucessão de entomofauna. Cerrado.

Sumário

1. Introdução.....	7
2. Fundamentação teórica e Objetivos.....	8
3. Metodologia.....	10
3.1 Montagem do experimento.....	10
3.2 Coleta e acondicionamento dos insetos.....	13
3.3 Caracterização morfológica.....	13
3.4 Análise ecológica das amostras.....	13
3.5 Análise estatística das amostras.....	14
4. Resultados e Discussão.....	15
5. Considerações finais.....	25
Referências.....	26

Lista de figuras

- Figura 1. Sobre o solo, indivíduo de *Sus scrofa* natimorto coberto por tela de polietileno e quatro pequenos vergalhões nas extremidades.....11
- Figura 2. Estrutura confeccionada para a captura dos insetos da ordem Diptera.....12
- Figura 3. Etapas e instrumentos necessários para cortar as garrafas que originaram as armadilhas adaptadas e as pitfall.....13
- Figura 4. Distribuição das famílias pertencentes à ordem Diptera de interesse forense coletadas em áreas rural e urbana do Distrito Federal através de garrafas do tipo PET adaptadas. As barras azuis representam a área rural enquanto que a as verdes representam a área urbana.....16
- Figura 5. Sucessão entomológica de indivíduos coletados em área rural e fases de decomposição (coloração, gasosa, coliquativa e seca) do suíno.....18
- Figura 6. Sucessão entomológica de indivíduos coletados em área urbana e fases de decomposição (coloração, gasosa, coliquativa e seca) do suíno.....19
- Figura 7. Dendrograma representando o monofiletismo das cinco espécies selecionadas juntamente com seus *Barcodes*.....26

Lista de tabelas

Tabela 1. Espécies pertencentes à ordem Diptera selecionadas mediante a ferramenta de busca NCBI. Cada uma delas conta com cinco sequências de DNA mitocondrial cujos tamanhos foram os mesmos.....	14
Tabela 2. Frequências absolutas e relativas das famílias de ordem Diptera coletadas em áreas rural e urbana.....	16
Tabela 3. Índices de Shannon-Wiener (H') e de Simpson (D) referentes às coletas rural e urbana de quatro famílias da ordem Diptera.....	20
Tabela 4. Frequências absolutas e relativas de nucleotídeos presentes em cinco espécies da ordem Diptera.....	21
Tabela 5. Barcodes que individualizam cada uma das cinco espécies.....	22
Tabela 6. Relação entre análise ecológica e <i>Barcode</i> da espécie <i>Chrysomya albiceps</i> coletada nos experimentos e selecionada mediante ferramenta de busca NCBI para análises estatísticas.....	24

1. Introdução

Com uma representatividade mundial de mais de 50%, as várias espécies agrupadas na classe Insecta cumprem diversas funções dentro de um ecossistema, sendo uma delas a de decomposição (SATO, 2014). Seja em corpos humanos ou em outros animais, sua fase inicial é feita por fatores internos aos corpos, mas também por, principalmente, espécies pertencentes às famílias Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae. E, na fase final, os besouros tornam-se presentes, juntando-se às moscas (SANTOS, 2014). Calliphoridae conta com cerca de 1.526 espécies e se constitui como o grupo de maior importância para a Entomologia Forense devido ao seu hábito necrófago (SOARES, 2014).

Por se tratar de uma classe com uma grande quantidade de espécies é possível calcular sua diversidade. Para isso, leva-se em consideração o número de espécies e quanto cada uma delas está presente em uma comunidade (MELO, 2008). A diversidade é variável a depender das interferências que o habitat sofre, sendo menor quando existe influência antrópica e maior quando o ambiente é preservado (SOUZA, ESPOSITO, FILHO, 2011). Além disso, a área geográfica, a depender de fatores abióticos, também pode sofrer diversas influências (CERIGATTO, 2009).

Vários índices de diversidade estão disponíveis para uso sendo que, dois deles são os de Shannon-Wiener e de Simpson. O primeiro estima a diversidade baseada na aleatoriedade de determinado indivíduo escolhido ao acaso dentro do espaço amostral de uma determinada espécie. Quanto menos certeza o pesquisador tiver em prever qual espécie seria escolhida da amostra, menor a diversidade. O segundo índice diz respeito ao quanto de chance existe do pesquisador escolher, também ao acaso, dois indivíduos concernentes à mesma espécie. Esse índice possui um intervalo entre 0 e 1, sendo que quanto mais próximo de 1, maior a dominância e menor a diversidade (RIES, 2013).

A identificação de uma espécie pode ser feita por taxonomia clássica e requer um profissional bem capacitado para caracterizar indivíduos morfologicamente (AMENDT et al., 2011). Um método alternativo ao anterior é chamado de DNA

Barcoding. Ele faz uso de uma sequência padronizada encontrada no DNA mitocondrial (DNAMt) que individualiza uma espécie. Essa sequência recebe o nome de *Barcode* (LEITE, 2012). Um atrativo para a utilização dos *Barcodes* é a otimização da identificação por bioinformática. A identificação é feita a partir da análise de uma região do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) que está contido no DNAMt. No gene *COI* existem diferentes nucleotídeos que são capazes de diferenciar distintas espécies (RODRIGUES, 2011).

2. Fundamentação teórica

Os insetos, que podem trazer benefício como controle biológico de pragas e malefício como vetores ativos de doenças para outros animais (NEVES, 2009) são o cerne da Entomologia. Eles formam um grupo com inúmeras variações taxonômicas resultantes de adaptações que ocasionaram centenas de milhares de espécies. A capacidade de adaptação, o alto potencial de reprodução e o rápido desenvolvimento da maioria dos insetos são alguns dos atributos que fornecem vantagens sobre outros animais, o que faz com que sejam encontrados em grande quantidade em quase todos os ambientes terrestres (CARRANO-MOREIRA, 2015). Outra primazia desses seres constitui-se na percepção de odores. Em comparação com os humanos, é um atributo de superior qualidade cuja utilidade consiste no encontro de um habitat propício como corpos em decomposição que são usufruídos como alimento, sítios de cópula e de oviposição favoráveis à sua sobrevivência e à sua reprodução (SANTOS, 2014).

A área da Entomologia que diz respeito à área criminal é a médico-legal. O objeto de estudo da Entomologia Forense é a fauna de artrópodes necrófagos. Segundo Michaud, Schoenly; Moreau (2012), a Entomologia Forense caracteriza-se como uma ciência de inferência diferindo, assim, das demais ciências forenses. Os insetos configuram-se como uma das evidências capazes de fornecer indícios de maus tratos às pessoas, vestígios de morte violenta (NETO, 2015) e o intervalo pós-morte (IPM) (CANEPARO et al, 2012). Compõem, assim, provas riquíssimas para peritos e para a justiça, que muitas vezes ignoram a presença dos insetos e, conseqüentemente, perdem informações que poderiam até mesmo resolver vários crimes (OLIVEIRA-COSTA, 2011). O IPM pode ser desenvolvido mediante pesquisas

relativas aos padrões e taxas de sucessão de determinados insetos (ORLOFF, PENA; RIQUELME, 2012). As várias colonizações das várias espécies que podem usufruir dos recursos de uma carcaça até que ela atinja a esqueletização pode ser entendido como a sucessão entomológica (SANTOLIN, 2015).

Para o desenvolvimento de estudos nessa vertente, autores como Hewadikaram; Goff (1991), Carvalho et al. (2000), Mise, Almeida; Moura (2007), Barbosa et al. (2009), Rosa et al. (2011), Oliveira-Costa et al. (2013) e Mayer; Vasconcelos (2013) adotam o porco doméstico, cientificamente nomeado como *Sus scrofa* Linnaeus. Marchiori et al. (2000), Santana (2006), Barros et al. (2006), Barros et al. (2008) e Biavati et al (2010) realizaram experimentos dessa natureza especificamente no centro-oeste brasileiro. A quantidade de pesquisa nessa área tem crescido, em contrapartida, tratando-se do bioma cerrado, ainda está em escassez (ROSA et al., 2011).

Com a morte dos tecidos de animais, os insetos já começam a ser atraídos e participam da decomposição, inicialmente dos tecidos moles e dos orifícios como nariz, boca e ânus e os causados por perfurações como facadas ou armas de fogo e posteriormente do resto da carcaça ou cadáver até que se chegue à esqueletização. Os dípteros, ordem mais importante na área da entomologia forense, e coleópteros, responsáveis pela ingestão da matéria orgânica, compõem a fauna necrófaga mais abundante. A velocidade da decomposição será influenciada, por exemplo, pela presença de algumas substâncias no corpo do indivíduo (OLIVEIRA-COSTA, 2011).

As fases de decomposição são os fenômenos que alteram a aparência do corpo. Com o pH intracelular e extracelular diminuindo, as membranas celulares se rompem desintegrando os tecidos. Posteriormente, microrganismos e toxinas ocasionam a putrefação dos tecidos moles. A putrefação é um processo no qual suas fases de decomposição podem ter períodos variados, mas a ordem em que ocorrem é a mesma. É imprescindível relacionar as fases de decomposição com os fatores acima citados pois nem sempre elas ocorrem de acordo com os períodos decretados pelos autores. Segundo a divisão adotada por Oliveira-Costa (2011), a primeira fase é a da coloração na qual aparece uma mancha verde no baixo ventre pela proximidade do ceco com a parede abdominal. Acontece também o descoloramento da face e

escroto e vulva se incham. A fase perdura entre 18 e 24 horas e se estende ao resto do corpo após o terceiro dia. A próxima fase é a gasosa na qual os gases acumulados no corpo, que criam bolhas na pele, saem juntamente com o sangue. A fase atinge seu ápice em 96 horas, quando as áreas atingidas começam a se romper. A seguinte fase é a coaliquativa que se inicia com o rompimento da pele e com o desmanche dos tecidos moles. Ela pode durar de um a vários meses. Em sequência vem a fase de esqueletização pela terceira ou quarta semanas em que ocorre a exposição dos ossos.

A partir do exposto, o objetivo geral desse projeto foi coletar dípteros e coleópteros necrófagos em carcaças de porcos no cerrado do Distrito Federal e analisá-los para averiguar seus padrões de sucessão. E os objetivos específicos foram coletar dípteros e coleópteros necrófagos nos períodos de seca e de chuva em área rural e urbana, realizar a caracterização morfológica dos indivíduos coletados de acordo com as fases de decomposição da carcaça e analisar estatisticamente a ocorrência da entomofauna.

3. Metodologia

O projeto foi realizado no Distrito Federal (latitude 15°46'8.94" S e longitude 47°53'48.65" O) onde o bioma predominante é o Cerrado e sua temperatura média anual corresponde a 21° C. Os locais de coleta determinados foram dois sendo que um era localizado em zona urbana (15°45'57.35"S) e o outro em zona rural (15°45'21.8"S 47°46'08.8"W).

3.1 Montagem do experimento

Para a coleta dos insetos foram utilizadas 2 carcaças de indivíduos de *Sus scrofa* natimortos que foram doadas e cujos pesos variaram de 1,5 a 2 quilogramas. Utilizou-se 1 carcaça de *Sus scrofa* em área rural de vegetação mais densa com maior quantidade de árvores e 1 em área urbana com poucas árvores. Cada carcaça foi utilizada por 9 dias e o experimento foi conduzido entre 09 de dezembro de 2016 a 17 de dezembro de 2016, dias em que o clima encontrava-se seco.

Sus scrofa natimortos foram colocados sobre o solo. Sobre eles, uma tela de polietileno foi afixada ao solo com quatro pequenos vergalhões nas quatro pontas da tela para proporcionar proteção contra possíveis ataques de animais carniceiros de médio ou grande porte (Figura 1). Sobre as carcaças já protegidas, foi colocado um banco de plástico cujo assento continha um pequeno buraco no centro com diâmetro equivalente ao de uma garrafa do tipo PET (Polietileno tereftalato) de dois litros. Ao redor do banco, na parte externa, fixou-se um tecido de TNT liso de cor preta com auxílio de grampos e um grampeador. Nos quatro pés do banco, colocaram-se vergalhões de aço para fixá-lo ao solo. Esquentou-se com isqueiro a ponta dos vergalhões e, com a alta temperatura, derreteram-se as áreas dos pés do banco que resultou em pequenas aberturas nas quais os vergalhões foram inseridos. Na parte superior do banco, no pequeno buraco, encaixou-se uma garrafa do tipo PET adaptada para a coleta dos insetos. A garrafa foi encaixada no buraco com o gargalo de cabeça para baixo e sem tampa. Quatro pequenos buracos com dimensões equivalentes à parte inferior da garrafa do tipo PET foram cavados ao redor de cada banco de plástico com o auxílio de uma pá (Figura 2). Em cada um dos buracos colocou-se uma armadilha modificada do tipo pitfall. Utilizou-se formitol ao redor dos bancos e das armadilhas modificadas pitfall.



Figura 1. Indivíduo de *Sus scrofa* natimorto coberto por tela de polietileno e quatro pequenos vergalhões nas extremidades.



Figura 2. Estrutura confeccionada para a captura dos insetos da ordem Diptera. Observa-se também os quatro buracos cavados ao redor do banco, prontos para receberem armadilhas modificadas do tipo pitfall.

Para a confecção da armadilha para a coleta dos dípteros cortou-se transversalmente e um pouco acima da sua linha média uma garrafa do tipo PET com o auxílio de um estilete. Dentro da parte inferior, encaixou-se a parte superior com o gargalo posicionado de cabeça para baixo. Fizeram-se dois cortes transversais em outra garrafa idêntica à anterior com um estilete. Dessa vez, o primeiro corte foi na parte inferior da garrafa, abaixo da sua linha média enquanto que o segundo corte foi feito na parte superior, próximo ao gargalo, também acima de sua linha média. Dessa segunda garrafa, apenas a parte superior foi utilizada para confeccionar a garrafa adaptada. Ela foi encaixada sobre a primeira garrafa com o gargalo voltado para cima. Ambas foram unidas com fita durex. Para a armadilha modificada pitfall, usou-se a parte inferior da segunda garrafa que já havia sido cortada para a confecção da garrafa do tipo PET (Figura 3). Essa segunda armadilha trata-se de um recipiente de boca

larga que é enterrado no solo e nivelado com a superfície (CARRANO-MOREIRA, 2015).



Figura 3. Etapas e instrumentos necessários para cortar as garrafas que originaram as armadilhas para coleta de Diptera e as armadilhas pitfall para coleta dos Coleoptera.

3.2 Coleta e acondicionamento dos insetos

Todos os dias, no mesmo horário, retirou-se a garrafa que continha os insetos capturados. Em seguida, a armadilha era substituída por uma nova. A que foi removida foi identificada com uma etiqueta de papel branco e lápis. As anotações indicavam se a coleta foi realizada em área urbana ou rural, a data da coleta e o número ordinal referente à duração do experimento. Em laboratório, os insetos foram cuidadosamente retirados das garrafas e transferidos para potes de plástico que continham álcool etílico 70% e neles permaneceram até o momento da caracterização morfológica.

3.3 Caracterização morfológica

Com o auxílio de pinça entomológica, retiraram-se os insetos da imersão de álcool etílico 70% e os espetaram em alfinetes entomológicos. Os indivíduos foram

caracterizados por famílias com o auxílio de lupa estereoscópica do LABOCIEN, laboratório do Centro Universitário de Brasília (UniCEUB) e chave dicotômica. Eles foram organizados, contados e armazenados em caixas entomológicas fechadas.

3.4 Análise ecológica das amostras

Com todos os indivíduos devidamente caracterizados morfológicamente, usou-se o programa Microsoft Excel 2013 (15.0.4420.1017) para organizar os dados em tabelas. Ainda nesse programa, calcularam-se frequências relativas e índices de diversidade de Shannon-Wiener e de Simpson. A primeira tabela gerada foi referente às frequências absolutas e relativas das famílias coletadas nas áreas urbana e rural e a segunda foi referente às famílias e seus respectivos índices de diversidade.

3.5 Análise estatística das amostras

A partir de uma busca em bibliografias encontradas no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), segundo a base de dados do PubMed, com palavras-chave como *necrophagous* Diptera e *necrophagous* Coleoptera, selecionou-se cinco espécies da ordem Diptera (*Calliphora vicina*, *Chrysomya albiceps*, *Melieria cana*, *Phormia regina* e *Protophormia terraenovae*) e cinco da ordem Coleoptera (*Creophilus maxillosus*, *Dermestes lardarius*, *Nicrophorus vespilloides*, *Sciodrepoides watsoni* e *Thanatophilus rugosus*).

Ainda com essa ferramenta de busca, segundo a base de dados *Nucleotide*, registrou-se cinco sequências de DNA do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) para cada uma das cinco espécies necrófagas da ordem Diptera (Tabela 1) e para outras cinco da ordem Coleoptera. Para cada uma das ordens, obtiveram-se vinte e cinco sequências, resultando em um total de cinquenta. Nessa etapa, obedeceu-se ao requisito de não repetir autores para cada uma das espécies.

Tabela 1. Espécies pertencentes à ordem Diptera selecionadas mediante a ferramenta de busca NCBI. Cada uma delas conta com cinco sequências de DNA mitocondrial cujos tamanhos foram os mesmos.

Espécie	Genbank	Tamanho (pb)
<i>Calliphora vicina</i>	KR755496.1; KX422283.1; KC617807.1; EU880191.1; KJ862846.1	658
<i>Chrysomya albiceps</i>	AF083657.1:7-1539; HE814061.1; KF919017.1; JX438026.1; JQ246659.1	658
<i>Melieria cana</i>	KU496777.1; KR697317.1; KC755956.1; KP043262.1; KM570870.1	658
<i>Phormia regina</i>	GU013648.1; KR757625.1; KR383089.1; KT702555.1; KJ165701.1	658
<i>Protophormia terraenovae</i>	KR756394.1; KJ129247.1; KF908124.1; JQ246670.1; JN257244.1	658

Em seguida, com o auxílio do programa *BioEdit Sequence Alignment Editor* versão 7.2.5 do ano de 2013 geraram-se cinco *contigs* para cada ordem, totalizando dez. A partir dos cinco *contigs* da ordem Diptera, cinco *barcodes* foram selecionados. Deve-se salientar que para Coleoptera, os *barcodes* não foram gerados.

Uma terceira tabela foi construída com as espécies anteriormente selecionadas na base de dados NCBI, com os seus números de acesso no *Genbank* e valores de cobertura correspondentes. A quarta tabela fez referência à composição de nucleotídeos, suas frequências absolutas e relativas e coberturas de sequência de acordo com cada espécie. No sítio com as ferramentas para análises de bioinformática denominada *Sequence Manipulation Suite*, mediante a ferramenta *DNA Stats*, obtiveram-se todas as quantidades (em porcentagem) dos nucleotídeos que compõem as sequências de DNA mitocondrial das cinco espécies. Na quinta tabela, os *barcodes* foram organizados de acordo com suas respectivas espécies. A última tabela, de número 6, as quatro famílias coletadas nos dois experimentos foram relacionadas com seus *barcodes* e os índices de diversidade.

Ainda com as cinquenta sequências selecionadas mediante a busca realizada no sítio de internet NCBI, gerou-se um dendrograma da ordem Diptera que, posteriormente, foi relacionado com os *barcodes*. O programa utilizado para o

dendrograma foi o programa Geneious (<http://www.geneious.com>, Kearse et al., 2012).

4. Resultados e Discussão

Durante os experimentos em áreas rural e urbana, mediante o uso de armadilhas elaboradas com garrafas do tipo PET, coletou-se 5.824 e 4.979 indivíduos da ordem Diptera (figura 4) que foram identificados nas famílias Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae e Otitidae pelo emprego da chave dicotômica de Carvalho e Mello-Patiu (2008).

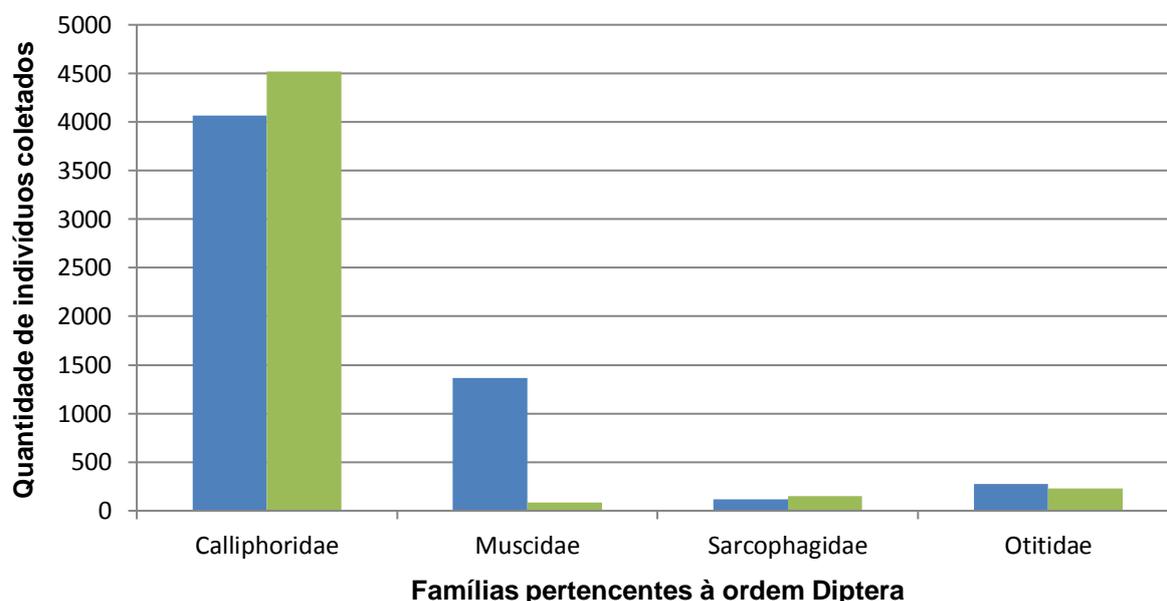


Figura 4. Distribuição das famílias pertencentes à ordem Diptera de interesse forense coletadas em áreas rural e urbana do Distrito Federal através do uso de armadilhas confeccionadas com garrafas do tipo PET adaptadas. As barras azuis representam a área rural enquanto que as verdes representam a área urbana.

Observou-se que a família Calliphoridae registrou a maior distribuição absoluta tanto em área rural quanto em urbana. No entanto, a família Sarcophagidae representou a menor distribuição absoluta na área rural e a família Muscidae a menor na área urbana. Segundo Vasconcelos; Araujo (2012), Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae são as famílias mais abundantes que usufruem de matéria orgânica

em decomposição devido aos seus hábitos alimentares e reprodutivos. Os insetos pertencentes à família Calliphoridae habitam a carcaça em todas as fases de decomposição (Oliveira-Costa, 2013).

Tabela 2. Frequências absolutas e relativas das famílias de ordem Diptera coletadas em áreas rural e urbana.

Família	Área Rural		Área Urbana	
	Quantidade	%	Quantidade	%
Calliphoridae	4064	69%	4519	91%
Muscidae	1369	24%	82	2%
Sarcophagidae	119	2%	148	3%
Otitidae	272	5%	230	5%
Total	5824	100%	4979	100%

As frequências relativas de Calliphoridae representaram os valores mais expressivos nas coletas de ambas as áreas, com maior destaque para a área urbana que correspondeu a 91% dos indivíduos coletados e com 69% na área rural.

Ressaltou-se também na coleta de área rural, a família Muscidae cujo percentual (24%) foi bem maior que as outras duas famílias, Sarcophagidae (2%) e Otitidae (5%).

Para Calliphoridae, na área rural, foram identificadas duas espécies. A primeira foi *Chrysomia albiceps* com um total de 3.931 (97%) e a segunda espécie foi *Chrysomia megacephala* com um total de 133 (3%). Na área urbana, identificaram-se um total de 4.064 indivíduos (89,9%) para *Chrysomia albiceps* e 455 indivíduos (9,1%) para *Chrysomia megacephala*.

Em estudo realizado com carcaças de *Sus scrofa* cujos pesos aproximavam-se a 10 quilogramas no cerrado próximo ao perímetro urbano de Uberlândia, Minas Gerais, Rosa et al. (2011) obtiveram para Sarcophagidae uma frequência absoluta de 86.764 indivíduos enquanto que para Calliphoridae esse valor correspondeu a 7.999 e para Muscidae o equivalente a 7.632. Utilizando apenas esses dados, as duas

últimas famílias representaram, juntas, aproximadamente 18% do que foi coletado de Sarcophagidae.

Os insetos da ordem Coleoptera não foram coletados durante os experimentos devido a um conjunto de fatores que não favoreceram o cumprimento dessa etapa: a rápida decomposição do suíno de pequeno porte, a qual seria mais lenta se o porco tivesse maior biomassa (Matuszewski et al., 2014), a ação da fauna local (foi possível identificar a ação de animais que atuam em cadáveres), as condições abióticas de vegetação circundante, temperatura alta e baixa umidade relativa do ar a qual as carcaças ficaram submetidas (Oliveira-Costa, 2013) e o fator antrópico, principalmente na área urbana e as próprias condições da armadilha pitfall que, segundo Mise, Almeida, Moura (2007) não é o melhor método para a realização da captura, ficando atrás de métodos como bandeja (deixada embaixo do suíno) e armadilha Shannon adaptada. Esse último fator é proveniente da alta seletividade da armadilha pois a pitfall só captura insetos terrestres, restringindo a diversidade que pode ser coletada, e ainda sofre influência do solo e da vegetação ao redor.



Dia 1



Dia 3



Dia 6



Dia 9

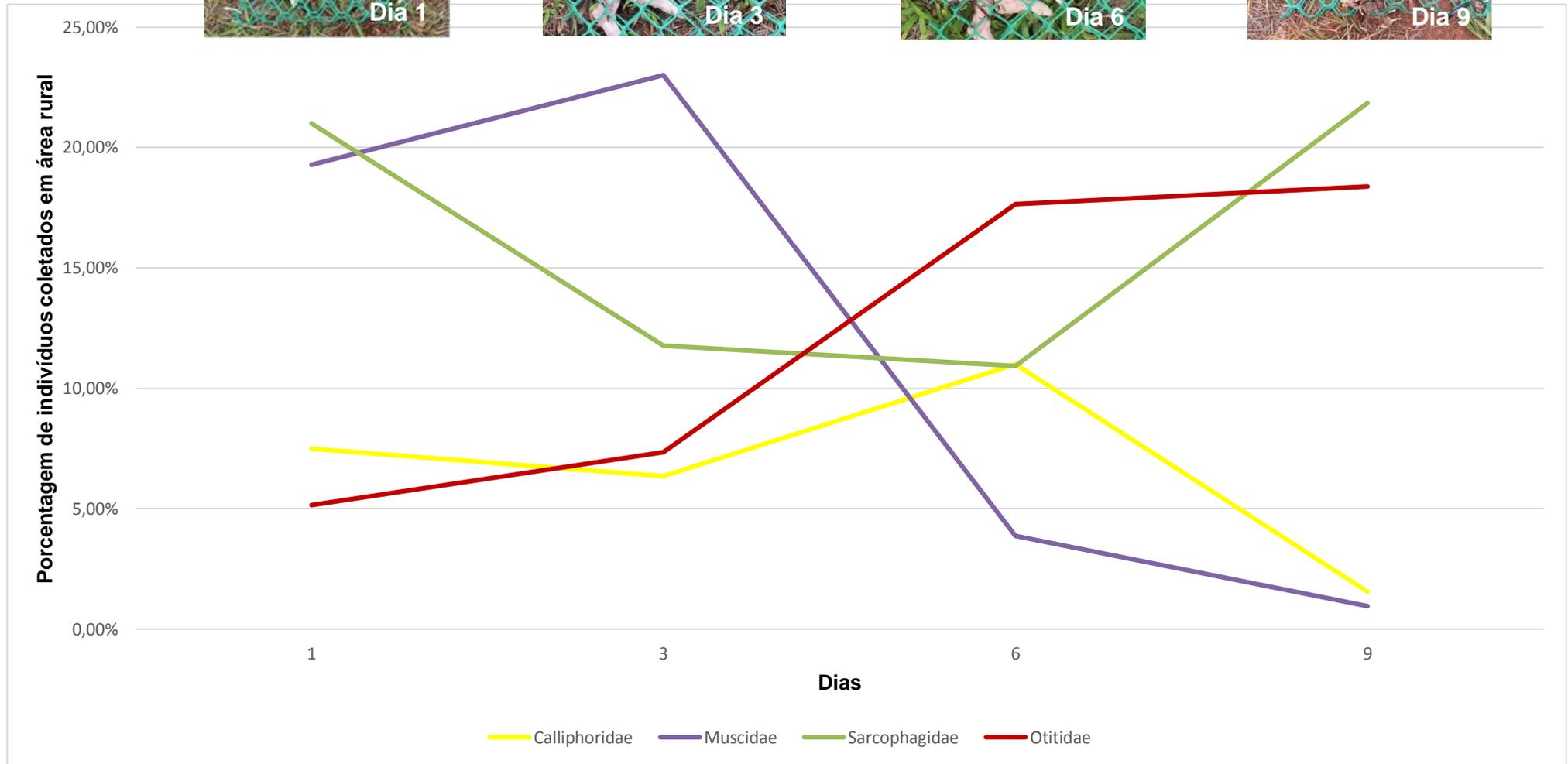


Figura 5. Sucessão entomológica de indivíduos coletados em área rural e fases de decomposição (coloração, gasosa, coagulativa e seca) do suíno.

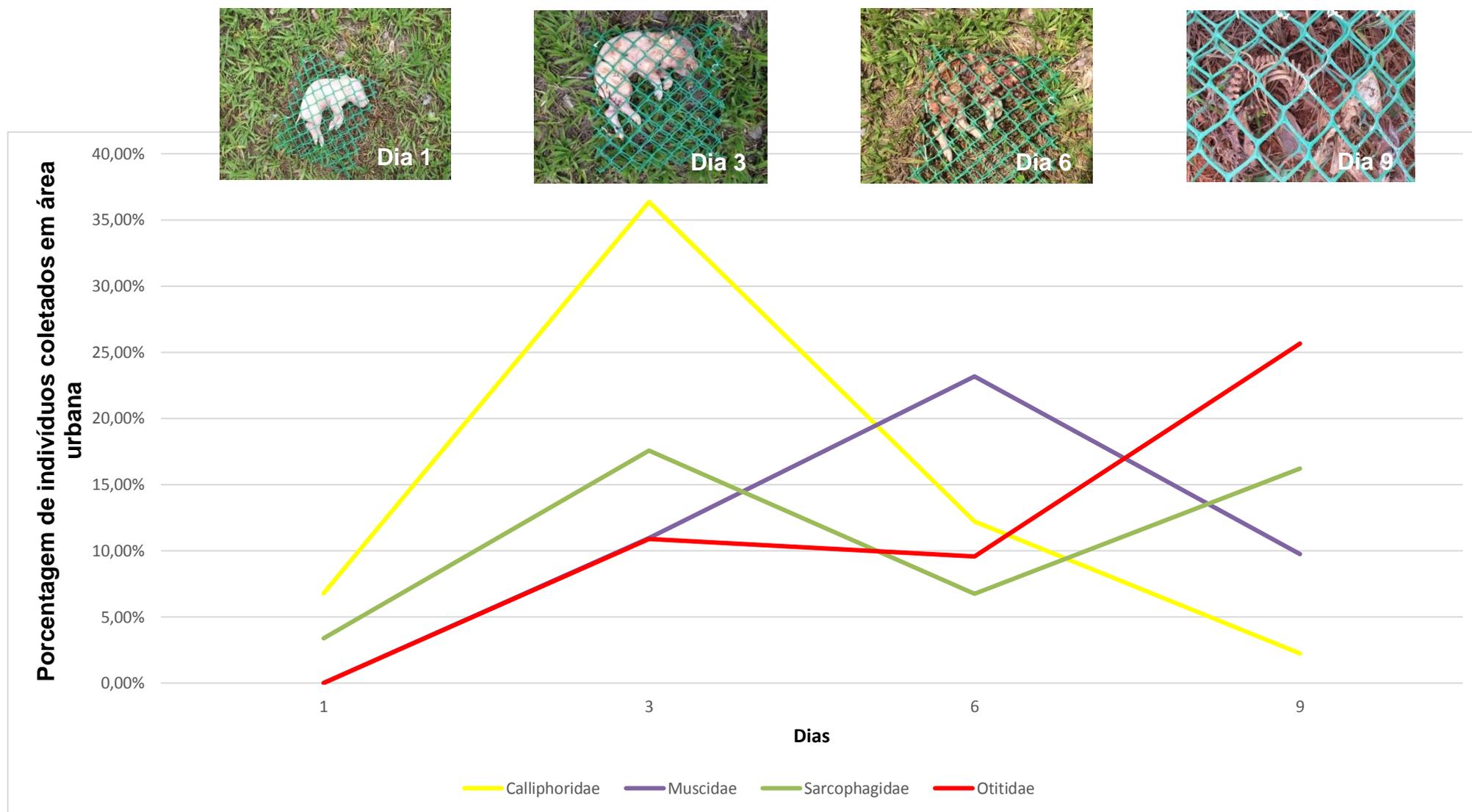


Figura 6. Sucessão entomológica de indivíduos coletados em área urbana e fases de decomposição (coloração, gasosa, coaliquativa e seca) do suíno.

Durante a realização do experimento feito em área rural (Figura 5) os indivíduos pertencentes às quatro famílias colonizaram a carcaça em todos os dias. A partir das frequências relativas, Sarcophagidae foi a mais coletada no primeiro dia (21,01%) e em seguida foram Muscidae (19,29%), Calliphoridae (7,48%) e Otitidae (5,15%). Muscidae foi a mais coletada no terceiro dia representando 23,01% dos indivíduos coletados. A segunda família a colonizar a carcaça foi Sarcophagidae com 11,76% e, logo depois, Otitidae com 7,35% e Calliphoridae com 6,35%. Otitidae correspondeu à maior parte das coletas do sexto com 17,65%, Calliphoridae foi estimada em 11%, Sarcophagidae com 10,92% e Muscidae com 3,87%. Sarcophagidae foi a mais coletada no nono dia e representou 21,85%. Otitidae foi estimada em 18,38%, Calliphoridae em 1,55% e Muscidae em 0,95%.

Na coleta urbana (Figura 6) observou-se que a família Calliphoridae foi a principal colonizadora no primeiro dia com 6,77% do total de indivíduos coletados. Ainda no primeiro dia, as famílias Muscidae e Otitidae não contaram com nenhum indivíduo coletado enquanto que a família Sarcophagidae teve uma coleta de 3,38%. No terceiro dia, a coleta de Calliphoridae correspondeu a 36,36%. Sarcophagidae apresentou-se com 17,57% enquanto que Muscidae e Otitidae tiveram aproximadamente 11% dos indivíduos colonizando a carcaça. No sexto dia, a família Calliphoridae sofreu um declínio no número de insetos coletados, o que correspondeu a aproximadamente 12%. Ainda no sexto dia, a família Muscidae comportou, em porcentagem, uma grande quantidade de indivíduos que usufruíram da carcaça enquanto que Sarcophagidae sofreu uma queda. Otitidae se manteve em aproximadamente 10%. No nono e último dias observaram-se diferenças comparadas aos outros dias. Referente à Calliphoridae, 2,24% corresponderam a sua coleta. Para Otitidae coletaram-se 25% do total de indivíduos que foram coletados no último dia.

Tabela 3. Índices de Shannon-Wiener (H') e de Simpson (D) referentes às coletas rural e urbana de quatro famílias da ordem Diptera.

Famílias	Área rural		Área urbana	
	H'	D	H'	D
Calliphoridae				
Muscidae	0,814	0,545	0,402	0,827
Sarcophagidae				
Otitidae				

Os dípteros, inseridos no filo Arthropoda, representam um dos grupos mais diversos do planeta (SANTOS, 2012). O primeiro índice informou que a coleta em ambiente rural foi 41% mais abundante em relação à urbana, já o índice de Simpson indicou que para a coleta urbana houve uma dominância de 28% sobre a rural. Em vista disso, a coleta rural mostrou-se com diversidade mais elevada.

Os valores de diversidade apontados nessa tabela corroboram com a relação afirmada por Melo (2008) no sentido de quanto mais perturbação existir próxima ao local do experimento, menor a diversidade presente naquela comunidade.

Com relação às vinte e cinco sequências adquiridas mediante a ferramenta de busca NCBI (Tabela 1), todas elas continham a mesma quantidade de nucleotídeos (A, T, C e G) para cada uma das espécies, o que resultou em uma cobertura de 658 pb. Nessa etapa de desenvolvimento do projeto, constatou-se significativa dificuldade na seleção das espécies. Muitas não haviam ao menos cinco sequências depositadas no *Genbank* e, muitas, quando haviam, apresentavam-se com baixa quantidade de autores, mostrando-se insuficiente para obedecer ao requisito de não repetí-los. Tentou-se buscar cinco sequências derivadas de autores distintos para a espécie *Chrysomia megacephala*. No entanto, não foi possível devido à desobediência ao requisito definido como parâmetro metodológico. Para essa espécie, o empecilho foi relativo aos autores e não relativo à escassez de sequências disponíveis. Por esse motivo, *C. megacephala* não apareceu em um dado posterior referente à tabela 6. Observou-se que para a família Otitidae haviam poucas espécies que continham sequências disponíveis e a busca ficou ainda mais complicada com a postulação do requisito de não repetição. O obstáculo fez-se ainda maior na busca de espécies da

ordem Coleoptera na qual a escassez de sequências disponíveis comprometeu a busca para algumas espécies. Além disso, como não houve coleta em campo, não haveria possibilidade de se relacionar os dados de campo com os dados gerados pelas análises de bioinformática.

Tabela 4. Frequências absolutas e relativas de nucleotídeos presentes em cinco espécies da ordem Diptera.

Espécies	A	%	T	%	C	%	G	%	Cobertura (pb)
<i>Calliphora vicina</i>	200	30,40%	248	37,69%	107	16,26%	103	15,65%	658
<i>Chrysomya albiceps</i>	201	30,55%	254	38,60%	102	15,50%	101	15,35%	658
<i>Melieria cana</i>	183	27,81%	230	34,95%	134	20,36%	111	16,87%	658
<i>Phormia regina</i>	191	29,03%	255	38,75%	108	16,41%	104	15,81%	658
<i>Protophormia terraenovae</i>	189	28,72%	253	38,45%	110	16,72%	106	16,11%	658

Notou-se que, para todas as espécies enunciadas, a timina é a base mais abundante, correspondendo a mais de 30% e, em *Phormia regina*, encarrega-se de complementar sua sequência com 255 nucleotídeos. Em contrapartida, a guanina se destacou pela sua menor quantidade, também em todas as espécies, equivalendo-se a pouco mais de 15% dos nucleotídeos presentes nas sequências de DNA mitocondrial. Na espécie *Chrysomya albiceps*, apresenta-se com 101 nucleotídeos. Ainda sobre as diferenças, a maior entre as espécies está relacionada à *Chrysomya albiceps*, enquanto a menor relaciona-se à *Melieria cana*.

O DNA mitocondrial caracteriza-se por apresentar polimorfismos e por sua herança ser principalmente matrilinear. Nos insetos, esse genoma é constituído de uma região não codificadora chamada de região rica em A+T por agrupar uma grande quantidade de timinas e adeninas (RODRIGUES, 2011). A utilização desse método mostra-se como uma ferramenta para redefinir filogeneticamente o grupo Hexapoda que engloba os dípteros, além de oferecer várias vantagens para a análise filogenética e também ser mais uma ferramenta para contar a história evolutiva dos seres

(SANTOS, 2012). Isso é viável devido à alta conservação da sequência de nucleotídeos e, tratando-se de insetos, o gene citocromo oxidase subunidade I é o mais conservado (RODRIGUES, 2011).

Tabela 5. *Barcodes* derivados dos genes citocromo oxidase I que foram utilizados para identificar as cinco espécies de Diptera.

Espécies	<i>Barcodes</i>
<i>Calliphora vicina</i>	AGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCT TTTATTATAATTTTTTTTATAGTAATACCAATTATAATTGG AGGATTTGGTAATTGATTAGTCCCTTTAATATTAGGAGCT CCAGATATAGCCTTCCCTCGGATAAACAAT
<i>Chrysomya albiceps</i>	AGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTAACAGCTCATGC CTTTATTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTG GAGGATTTGGAAATTGACTAGTTCCTTTAATATTAGGAG CCCCAGATATAGCTTTCCCACGAATAAATAAT
<i>Melieria cana</i>	TGATGACCAAATCTATAATGTAATTGTTACAGCTCATGCT TTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAACCCATTATAATTGG AGGATTCGGAAATTGATTAGTTCCTTAATACTAGGGGC TCTGATATAGCATTCCCACGAATAAATAAT
<i>Phormia regina</i>	AGATGACCAAATTTATAACGTAATTGTAACAGCTCATGC TTTTATTATAATTTCTTTATAGTTATAACCAATTATAATTG GAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGGG CTCCTGATATAGCTTTCCCACGAATAAACAAT
<i>Protophormia terraenovae</i>	AGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTAACGGCTCACGC TTTTATTATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAATTG GAGGATTTGGAAATTGACTAGTTCCTTATATTAGGGG CTCCTGATATAGCATTCCCTCGAATAAATAAT

O gene COI codificado pelo DNAm^t constitui-se como método para identificação de uma espécie (AMENDT et al., 2011). Cada um dos cinco *Barcodes*

permite individualizar cada uma das cinco espécies. Cada região codificada do DNA mitocondrial dessas espécies é diferente entre si. O desenvolvimento da geração de dados dessa natureza agrega mais ferramentas para o campo da Entomologia Forense, além de atrair pesquisadores de áreas como a Biologia Molecular, fazendo com que esse ramo torne-se mais multidisciplinar.

Tabela 6. Relação entre análise ecológica e *Barcode* da espécie *Chrysomya albiceps* coletada nos experimentos e selecionada mediante ferramenta de busca NCBI para análises estatísticas.

Espécie	Área rural		Área urbana		<i>Barcode</i>
	H'	D	H'	D	
<i>Chrysomya albiceps</i>	0,814	0,545	0,402	0,827	AGATGACCAAATTT ATAATGTAATTGTT ACAGCTCATGCTTT TATTATAATTTTTTT TATAGTAATACCAA TTATAATTGGAGGA TTTGGTAATTGATT AGTCCCTTTAATAT TAGGAGCTCCAGA TATAGCCTTCCCTC GGATAACAAT

Tendo em vista que a coleta rural obteve maior diversidade em relação a urbana, *Chrysomya albiceps* é uma das espécies mais abundantes que costuma ser coletada em experimentos nos quais coloca-se matéria orgânica em decomposição para servir de fonte de alimentação e reprodução. A identificação dessa espécie pode ser feita através de bioinformática fazendo uso do seu *Barcode*, que é único para essa espécie (tabela 6).

A partir da obtenção dos contigs de cinco espécies de Diptera, estes foram usados para a elaboração de um dendrograma (Figura 7). Observou-se que as espécies *Phormia regina* e *Protophormia terraenovae* agruparam em um mesmo clado. As demais espécies, *Calliphora vicina*, *Chrysomya albiceps* e *Melieria cana* agruparam-se individualmente. Essa análise foi particularmente importante para

demonstrar que mesmo que se tenham espécies com proximidade genética, o *barcode* pode ajudar a discriminar as espécies em estudo.

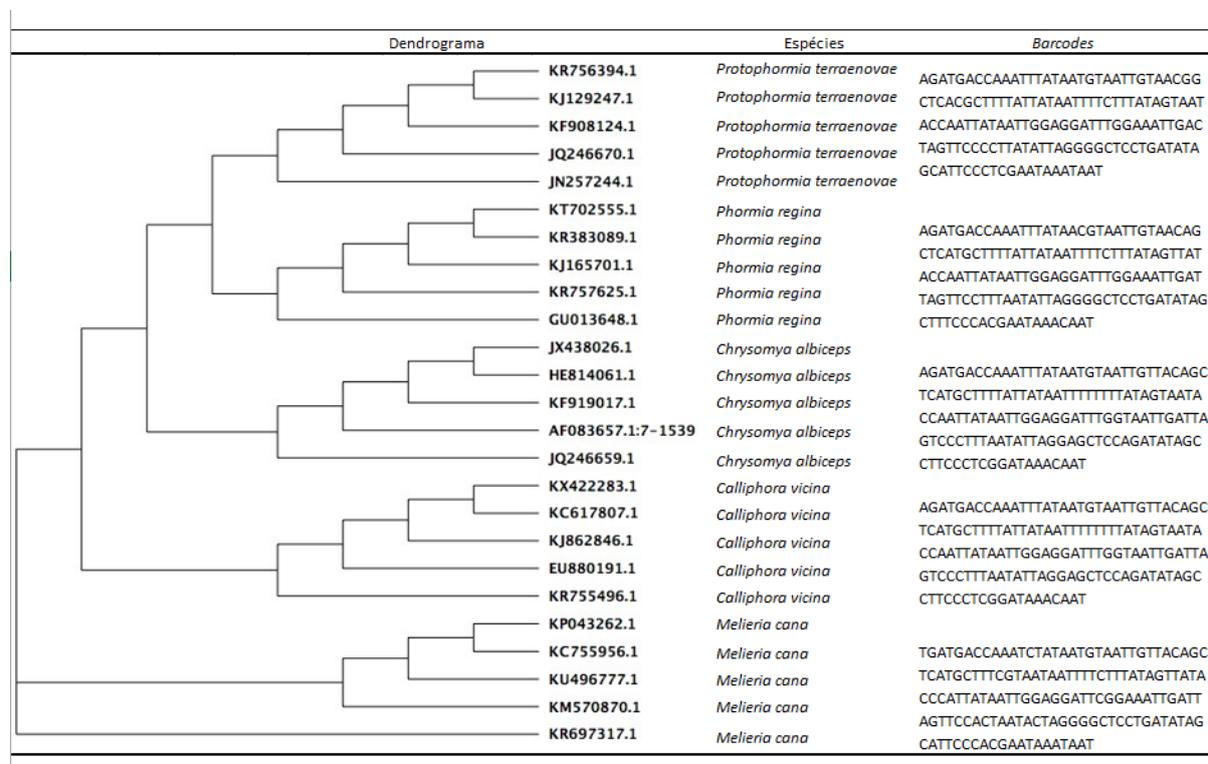


Figura 7. Dendrograma representando a similaridade entre as cinco espécies selecionadas juntamente com seus *Barcodes*.

A sistemática filogenética é um dos recursos para observar a diversidade (SANDOVAL, 2015). Houve um tempo em que o monofiletismo de Arthropoda esteve sobre debate, mas atualmente existe um consenso a respeito de sua condição monofilética graças à sistemática molecular (SANTOS, 2012), o que significa dizer que os indivíduos compartilham características de um único ancestral comum. Portanto, as espécies que constituem a ordem Diptera são consideradas monofiléticas (SANDOVAL, 2015). Isso corrobora o que foi apresentado na figura 6 cujo dendrograma mostrou similaridades moleculares entre as espécies *Protophormia terraenovae*, *Phormia regina*, *Chrysomya albiceps*, *Calliphora vicina* e *Melieria cana*.

5. Considerações finais

Tendo em vista a realização da coleta de insetos de interesse forense das ordens Diptera e Coleoptera em áreas urbana e rural em porcos natimortos, a relação entre indivíduos coletados com as fases de decomposição das carcaças e as análises ecológicas e estatísticas, a metodologia adotada foi capaz de gerar resultados que ilustram a realidade do cerrado do Distrito Federal.

A pouca biomassa disponível em carcaças de porcos natimortos, com pesos de até 2 quilogramas, não foi um empecilho para a coleta de dípteros necrófagos mesmo que o experimento possa seguir em um ritmo mais acelerado de decomposição devido a esse fator, diferente se fosse um porco de maior peso. Contudo, isso até pode significar uma vantagem no que diz respeito à obtenção dos suínos e à aplicabilidade dessa metodologia em qualquer outra fitofisionomia além do cerrado do Distrito Federal. Todavia, o curto tempo de realização do experimento, desde a fase fresca até a fase seca, pode ter sido um dos obstáculos para o aparecimento de famílias da ordem Coleoptera.

A depender da quantidade de interferência que uma determinada área sofre, o número de insetos presentes pode ser alterado. Além de ações antrópicas e fatores abióticos, a metodologia pode ser afetada por outros animais que habitam uma mesma comunidade. O uso do TNT liso de cor preta envolto aos bancos posicionados sobre as carcaças de suínos e os vergalhões de aço que fixaram o banco no solo mostraram-se uma maneira eficiente para atribuir dificuldade caso animais carniceiros tentassem acessar o experimento. Sem eles, animais de médio ou grande porte poderiam, com maior facilidade, espantar os insetos ou até mesmo deslocar as carcaças para outros lugares forçando a interrupção daquele procedimento.

A obtenção das sequências *barcode* em conjunto com os dados de diversidade poderão ser usados conjuntamente como elementos auxiliares para a identificação da espécie *Chrysomia albiceps*.

Referências

- AMENDT, J.; RICHARDS, C. S.; CAMPOBASSO, C. P.; ZEHNER, R.; HALL, M. J. R. *Forensic entomology: applications and limitations*. Forensic Science, Medicine and Pathology, Berlim, n. 7, p. 379-392, 2011.
- BARBOSA, R. R.; MELLO-PATIU, C. A.; MELLO, R. P.; QUEIROZ, M. M. C. *New records of calyptrate dipterans (Fanniidae, Muscidae and Sarcophagidae) associated with the decomposition of domestic pigs in Brazil*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 104, n. 6, p. 923-926, 2009.
- BARROS, R. M.; MELLO-PATIU, C. A.; PUJOL-LUZ, J. R. *Sarcophagidae (insecta, diptera) associados à decomposição de carcaças de sus scrofa linnaeus (suidae) em área de cerrado do Distrito Federal, Brasil*. Revista Brasileira de Entomologia, Curitiba, v. 52, n. 4, p. 606-609, 2008.
- BARROS, R. M.; PENTEADO-DIAS, A. M.; PUJOL-LUZ, J. R. *Registro de Peckia (Squamatodes) trivittata (Curran) (Diptera, Sarcophagidae) parasitada por Gnathopleura semirufa (Brullé) (Hymenoptera, Braconidae, Alysiinae) no cerrado de Brasília, DF*. Revista Brasileira de Entomologia, Curitiba, v. 50, n. 3, p. 436-438, 2006.
- BIAVATI, G. M.; SANTANA, F. H. A.; PUJOL-LUZ, J. R. *A checklist of Calliphoridae blowflies (Insecta, Diptera) associated with a pig carrion in central Brazil*. Journal of Forensic Sciences, v. 55, p. 1603-1606, 2010.
- CANEPARO, M. F. C. et al. *Entomologia médico-criminal*. Estudos de Biologia: Ambiente e Diversidade, Paraná, v. 34, n. 83, p. 215-223, 2012.
- CARRANO-MOREIRA, A. F. *Insetos: manual de coleta e identificação*. Rio de Janeiro: Tecnical Books, 2015.
- CARVALHO, L. M. L.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X.; PALHARES, F. A. B. *A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 95, n. 1, p. 135-138, 2000.
- CARVALHO, L. M.; MELLO-PATIU, C. A. *Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America*. Revista Brasileira de Entomologia, Curitiba, v. 58, n. 3, p. 390-406, 2008.
- CERIGATTO, W. *Análise faunística de Dípteros necrófagos: ecologia e aplicação forense*. 2009. 61 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2009.

HEWADIKARAM, K. A.; GOFF, M. L. *Effect of carcass size on rate of decomposition and arthropod succession patterns*. American Journal of Forensic Medical and Pathology, Philadelphia, v. 12, n. 3, p. 235-240. 1991.

LEITE, L. A. R. *Mitochondrial pseudogenes in insect DNA barcoding: differing points of view on the same issue*. Biota Neotropica, Campinas, v. 12, n. 3, p. 301-306, 2012.

MARCHIORI, C. H.; SILVA, C. G.; CALDAS, E. R.; VIEIRA, C. I. S.; ALMEIDA, K. G. S.; TEIXEIRA, F. F.; LINHARES, A. X. *Artrópodos associados com carcaça de suíno em Itumbiara, sul de Goiás*. Arquivos do Instituto Biológico, v. 67, p. 167-170, 2000.

MATUSZEWSKI, S.; KONWERSKI, S.; FRĄTCZAK, K.; SZAFALOWICZ, M. *Effect of body mass and clothing on decomposition of pig carcasses*. International Journal of Legal Medicine, Berlim, v. 128, p. 1039-1048, 2014.

MAYER, A. C.G; VASCONCELOS, S. D. *Necrophagous beetles associated with carcasses in a semi-arid environment in Northeastern Brazil: Implications for forensic entomology*. Forensic Science International, Holanda, v. 226, p. 41-45, 2013.

MELO, A. S. *O que ganhamos “confundindo” riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade?* Biota Neotropica, Campinas, v. 8, n. 3, p. 21-26, 2008.

MICHAUD, J. P.; SCHOENLY, K. G.; MOREAU G. *Sampling Flies or Sampling Flaws? Experimental Design and Inference Strength in Forensic Entomology*. Journal of Medical Entomology, Oxford, v. 49, n.1, p. 1-10, 2012.

MISE, K. M.; ALMEIDA, L. M.; MOURA, M. O. *Levantamento da fauna de coleóptera que habita a carcaça de Sus scrofa L., em Curitiba, Paraná*. Revista Brasileira de Entomologia, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 358-368, 2007.

NETO, E. H. *Biologia e descrição dos imaturos de oxelytrum cayennense (sturm, 1826) (coleoptera: silphidae) associadas à decomposição de cadáver suíno na reserva florestal Ducke em Manaus, Amazonas, Brasil*. 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2015.

NEVES, J. A. *Análise da decomposição e sucessão ecológica relacionada ao sexo e a ambiente indoor e outdoor em carcaças de suínos (Sus scrofa L.) expostas no litoral norte do Estado de São Paulo*. 2009. 60f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2009.

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

- OLIVEIRA-COSTA, J.; OLIVEIRA, R. G.; BASTOS, C. S. *Diptera Calliphoridae de importância forense no município do Rio de Janeiro*. Revista Eletrônica Novo Enfoque, Rio de Janeiro, v. 16, n. 16, p. 41-52, 2013.
- RIES, A. C. R. *Sucessão da entomofauna associada a carcaças de Sus scrofa L. no sul do Brasil*. 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
- ROSA, T. A et al. *Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil*. Revista Brasileira de Entomologia, Curitiba, v. 55, n. 3, p. 424-434, 2011.
- SANDOVAL, R. C. S. *Revisão taxonômica e filogenia do gênero Paralucilia Brauer & Bergenstamm, 1891 (Diptera: Calliphoridae)*. 2015. 114 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.
- SANTANA, F. H. A. *Dipterofauna associada a carcaças de Sus scrofa Linnaeus em área de cerrado do Distrito Federal*. 2006. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- SANTOLIN, S. F. *Calliphoridae e Sarcophagidae (Diptera) indicadores de estágio de decomposição e sucessão ecológica em carcaças de porcos de pequena biomassa*. 2015. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- SANTOS, M. A. O. *Reconstrução filogenética do filo Arthropoda baseada no genoma mitocondrial*. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.
- SANTOS, W. E. *Papel dos besouros (Insecta, Coleoptera) na Entomologia Forense*. Revista Brasileira de Criminalística, Brasília, v. 3, n. 2, p. 36-40, 2014.
- SATO, T. P. *Fauna necrófaga (Diptera muscomorpha) associada a decomposição de porcos domésticos Sus scrofa L. coletada em área de cerrado de Mato Grosso do Sul, Brasil*. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Saúde) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.
- SOARES, T. F. *Padrão temporal de atividade de dípteros necrófagos (Calliphoridae) em um fragmento urbano de mata atlântica em Pernambuco*. 2014. 63 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.
- SOUZA, J. R. P.; ESPOSITO, M. C.; FILHO, F. S. C. *Diversity of Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera, Oestroidea) in continuous forest and gaps at different*

stages of regeneration in the Urucu oilfield in western Brazilian Amazonia. Revista Brasileira de Entomologia, Curitiba, v. 55, n. 44, p. 578-582, 2011.

VASCONCELOS, S. D.; ARAUJO, M. C. S. *Necrophagous species of Diptera and Coleoptera in northeastern Brazil: state of the art and challenges for the Forensic Entomologist*. Revista Brasileira de Entomologia, Curitiba, v. 56, n. 1, p. 7-14. 2012.