



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Biologia

THAMIRIS GOMES SMANIA

**TAXA DE DESENVOLVIMENTO E EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DE *CHRYSOMYA*
ALBICEPS (INSECTA, DIPTERA, CALLIPHORIDAE) SOB ALTERNÂNCIA DE
TEMPERATURAS**

**RATE OF DEVELOPMENT AND THERMAL REQUIREMENTS OF *CHRYSOMYA*
ALBICEPS (INSECTA, DIPTERA, CALLIPHORIDAE) UNDER ALTERNATING
TEMPERATURES**

Campinas

2019

THAMIRIS GOMES SMANIA

TAXA DE DESENVOLVIMENTO E EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DE *CHRYSOMYA*
ALBICEPS (INSECTA, DIPTERA, CALLIPHORIDAE) SOB ALTERNÂNCIA DE
TEMPERATURAS

RATE OF DEVELOPMENT AND THERMAL REQUIREMENTS OF *CHRYSOMYA*
ALBICEPS (INSECTA, DIPTERA, CALLIPHORIDAE) UNDER ALTERNATING
TEMPERATURES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Biologia Animal, na Área de Relações Antrópicas, Meio Ambiente e Parasitologia.

Dissertation presented to the Institute of Biology of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Animal Biology in the field of Anthropic Relations, Environment and Parasitology.

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA
PELA ALUNA THAMIRIS GOMES SMANIA E
ORIENTADA PELA PROF.^a. DR.^a. PATRÍCIA
JACQUELINE THYSSEN

Orientadora: Professora Doutora Patrícia Jacqueline Thyssen

Campinas

2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

Sm22t Smania, Thamiris Gomes, 1992-
Taxa de desenvolvimento e exigências térmicas de *Chrysomya albiceps* (Insecta, Diptera, Calliphoridae) sob alternância de temperaturas / Thamiris Gomes Smania. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Patrícia Jacqueline Thyssen.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Estágios imaturos. 2. Insetos necrófagos. 3. Mosca-varejeira. 4. Entomologia forense. 5. Intervalo pós-morte. I. Thyssen, Patricia Jacqueline, 1973-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Rate of development and thermal requirements of *Chrysomya albiceps* (Insecta, Diptera, Calliphoridae) under alternating temperatures

Palavras-chave em inglês:

Immature stages

Necrophagous insects

Blowflies

Forensic entomology

Post-mortem interval

Área de concentração: Relações Antrópicas, Meio Ambiente e Parasitologia

Titulação: Mestra em Biologia Animal

Banca examinadora:

Patrícia Jacqueline Thyssen [Orientador]

Fernanda Janku Cabral

Carina Mara de Souza

Data de defesa: 23-08-2019

Programa de Pós-Graduação: Biologia Animal

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-5204-7556>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/414520004375672>

Campinas, 23 de agosto de 2019

Comissão Examinadora

Profª. Drª. Patrícia Jacqueline Thyssen

Profª Drª. Fernanda Janku Cabral

Profª Drª. Carina Mara de Souza

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa,
que se encontra no processo de vida acadêmica da aluna.

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª. Dr^ª. Patrícia Jacqueline Thyssen pela excelente orientação, pelo grande aprendizado compartilhado e principalmente pelo tempo e paciência gastos comigo. Nos conhecemos quando eu entrei para fazer iniciação científica em 2012 e desde lá, sempre me ajudou com tudo que precisei.

Aos Profs. Drs. Marlene Ueta, Maicon Grella, Carlos Eduardo Almeida, André Borges Veloso, Carina Mara de Souza e Fernanda Janku Cabral pelas excelentes contribuições e correções nos exames de qualificação, pré-banca e defesa. Vocês foram de fundamental importância para a construção deste trabalho.

Ao Prof^º. Dr^º. Arício Xavier Linhares, por ter me aceitado em seu laboratório e como aluna de iniciação científica em 2012, além de ter me orientado em dois dos meus projetos que foram de grande importância para minha formação acadêmica e trajetória com a pesquisa em entomologia forense;

À minha família, minha mãe, Regiane; meu pai, Alécio; meus avôs, Neide e Correia; meus tios; meus primos; minha irmã, Giovanna; Regina; meu namorado, Cássio; minhas amigas da época da graduação, Bruna, Petra, Luana, Gabis, Thais, Natão, Carol, Jessi, Marcela e Jao e às amigas e aos amigos do colégio, do cursinho e do Csf, que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões profissionais e entenderam minha ausência na época de experimento e escrita. Obrigada pelos conselhos, pela motivação e companheirismo.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia L2B, que me ajudaram muito durante o andamento do meu projeto, por todos os momentos de trabalho, conversas, apoio e bandejões: Leticia, Aline, Carol, Gabriela, Vinícius, Marcela, Gisele, Taís, Jackeline, Ken, Richard, Thays, Gustavo, Ed, Natane, Marina, Cauê, Maria Lígia, Daniel, André, Fábio, Mariana e Juliana.

À Dona Tacilda, pessoa incrível que sem ela não seria possível realizar os experimentos, cuidava com muito esmero da criação. E à todos do Departamento de Biologia Animal – Parasitologia. Em especial à Prof^ª Dr^ª. Selma Giorgio por ter me orientado durante o PED em 2018.

À Universidade de Campinas – UNICAMP e à todos os profissionais que aqui trabalham, pelo acolhimento, troca de conhecimento e principalmente por fornecer todas as condições necessárias para que eu conseguisse me graduar e me tornar mestra.

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

RESUMO

Os insetos e outros artrópodes, quando associados a corpos em decomposição, podem fornecer informações relevantes para o andamento ou conclusão de um processo investigativo. Indubitavelmente, a estimativa do intervalo pós-morte (IPM) tem sido uma das aplicações mais exploradas no âmbito forense. O IPM, quando baseado em dados entomológicos, pode ser calculado levando em conta os dados biológicos ou ecológicos dos insetos encontrados nos cadáveres. No que diz respeito à bionomia, o estudo da taxa de desenvolvimento influenciada pela temperatura ganha destaque em virtude dos insetos serem organismos ectotérmicos. Grande parte dos modelos de desenvolvimento disponíveis na literatura fazem referência à criação sob faixas de temperaturas constantes, não considerando as amplitudes térmicas diárias que poderiam gerar resultados distintos. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Insecta, Diptera, Calliphoridae) é uma das espécies necrófagas mais abundantes em corpos em decomposição, além de estar entre as primeiras colonizadoras. Assim, neste estudo objetivou-se avaliar as taxas de desenvolvimento e as exigências térmicas de imaturos de *Chrysomya albiceps* sob o efeito de temperaturas alternadas, em condições de laboratório. Colônias de *C. albiceps* foram estabelecidas em laboratório, a partir de adultos coletados em campo (22°82'S: 47°07'O), usando armadilhas contendo iscas putrefeitas. Ovos obtidos de fêmeas foram contados e transferidos para frascos com carne suína moída fresca (1 ovo/g) e mantidos em câmaras climáticas sob condições térmicas ajustadas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. As seguintes faixas de temperatura ($\pm 1^\circ\text{C}$) foram testadas: grupo I, 35–20; grupo II, 30–15; grupo III, 32,5–22,5; grupo IV, 27,5–17,5; grupo V, 30–25; e grupo VI, 25–20. Os imaturos permaneceram em temperaturas mais altas das 7:00 às 19:00 e em mais baixas das 19:00 às 07:00. Paralelamente, os grupos controles foram mantidos sob temperaturas constantes (15, 17,5, 20, 22,5, 25, 27,5, 30, 32,5 e $35\pm 1^\circ\text{C}$). A cada 12 h, 10 espécimes de cada grupo experimental foram retirados para mensuração da massa (mg) e comprimento (mm), desde a eclosão até a pupariação. O desenvolvimento ovo-adulto foi mais rápido no grupo V (240 h), seguido pelos grupos I (252 h), II e III (312 h), IV (384 h) e VI (420 h). Nas temperaturas mais baixa (15°C) e mais alta (35°C) foram registrados os intervalos de desenvolvimento de 672 h e 228 h, respectivamente. As taxas de sobrevivência foram superiores a 85% nos grupos II, IV e V e inferiores a 45% nos demais; nas temperaturas constantes, a maior (98%) e menor (1,3%) taxa foram observadas nas temperaturas de 27,5 e 15°C , respectivamente. Desse modo, é possível dizer que a temperatura ótima de desenvolvimento para *C. albiceps* é $27,5^\circ\text{C}$. As constantes térmicas foram maiores ($K= 1.111,1$) nos grupos IV e VI, aqueles cujos pares de temperaturas testados estão abaixo da temperatura ótima. Essas discrepâncias nas taxas de desenvolvimento decorrem das adaptações fisiológicas dos insetos às diferentes condições ambientais. Em uma extrapolação para o campo forense, as observações aqui registradas apontam para um possível erro de estimativa do IPM, se o efeito da temperatura alternada for ignorado.

Palavras-chaves: biologia de imaturos; necrófagos; varejeiras; entomologia forense; intervalo pós-morte.

ABSTRACT

Insects and other arthropods, when associated with decaying bodies, may provide relevant information to the progress or completion of an inquiry process. Undoubtedly, postmortem interval estimation (PMI) is one of the most commonly explored methods in the forensic field. When based on entomological data, the PMI is estimated considering biological or ecological data of the insects found in corpses. Regarding bionomy, the study of the temperature-influenced development rate become relevant because insects are ectothermic organisms. Most of the development models available in the literature refer to breeding under constant temperature ranges, not considering the daily thermal amplitudes that could generate distinct results. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Insecta, Diptera, Calliphoridae) is one of the most abundant necrophagous species in corpses, and one of the first colonizers. Thus, this study aimed to evaluate the developmental rates and thermal requirements of immature *Chrysomya albiceps* under the effect of alternating temperatures in controlled conditions. Colonies of this species were established in laboratory from field-collected adults (22°82'S: 47°07'O) using decayed baited traps. Eggs obtained from females were counted and transferred to vials with fresh ground pork (1 egg/g) and kept in climatic chambers under adjusted thermal conditions. All experiments were performed in triplicate. The following temperature ranges ($\pm 1^\circ\text{C}$) were tested: group I, 35–20; group II, 30–15; group III, 32.5–22.5; group IV, 27.5–17.5; group V, 30–25; and group VI, 25–20. Immatures were kept at the highest temperatures from 7:00 to 19:00 and at the lowest from 19:00 to 07:00. In parallel, control groups were kept at constant temperatures: 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30, 32.5 and $35\pm 1^\circ\text{C}$. Every 12 h, 10 specimens from each experimental group were removed to measure mass (mg) and length (mm), from hatching to pupariation. Egg-adult development was faster in group V (240 h), followed by group I (252 h), II and III (312 h), IV (384 h) and VI (420 h). At the lowest (15°C) and highest (35°C) temperatures, the total development was 672 h and 228 h, respectively. Survival rates were above 85% in groups II, IV and V, and below 45% in the other; at constant temperatures, the highest (98%) and lowest (1.3%) rates were observed at 27.5 and 15°C, respectively. Thus, it can be concluded that the optimal development temperature for *C. albiceps* is 27.5°C. Thermal constants were higher ($K= 1.111,1$) in groups IV and VI, those whose temperature pairs tested were below the optimal temperature. These discrepancies in developmental rates result from the physiological adaptations of insects to different environmental conditions. In an extrapolation to the forensic field, the observations recorded here lead to a possible PMI estimation error, if the alternating temperature effect is ignored.

Key words: immature biology; necrophagous; blowflies; forensic entomology; postmortem interval.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA	9
1.1. Ordem Diptera e sua importância	9
1.2. Um breve histórico da Entomologia Forense no Brasil e no Mundo.....	10
1.3. Estimativa do Intervalo Pós-morte.....	12
1.4. Modelos para compreender o desenvolvimento dos insetos.....	14
2. OBJETIVOS.....	18
3. Efeito da alternância de temperaturas no desenvolvimento de imaturos de <i>Chrysomya albiceps</i> (Insecta, Diptera, Calliphoridae).....	19
3.1 Introdução	20
3.2 Material e Métodos	21
3.3 Resultados.....	23
3.4 Discussão	26
3.5 Conclusões gerais	30
4. REFERÊNCIAS	31
5. APÊNDICES	39
6. ANEXOS.....	62

1. INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

1.1. Ordem Diptera e sua importância

Os representantes da ordem Diptera (Arthropoda, Insecta) são popularmente conhecidos como moscas e mosquitos, compreendendo uma das ordens mais diversas da classe Insecta, com aproximadamente 160 mil espécies descritas, distribuídas em cerca de 160 famílias, das quais, para a região tropical são conhecidas, 31 mil espécies em 118 famílias (Carvalho et al., 2012; Zhang, 2013). Os indivíduos desta ordem são considerados um grupo monofilético, apresentam algumas sinapomorfias como a transformação do segundo par de asas em halteres ou balancim e desenvolvimento de peças bucais adaptadas para sugar (Yeates et al., 2007).

Os dípteros podem viver em diversos tipos de habitats, como habitações humanas, matéria orgânica ou animal e se alimentam de diversos materiais, como folhas, néctar, sementes (Carvalho et al., 2012). Alguns podem ser parasitas ou predadores, além daqueles que se alimentam de carcaças de animais e cadáveres humanos em decomposição (Souza & Linhares, 1997). Constituindo a ordem de insetos mais importante do ponto de vista parasitológico, pois alguns representantes, são vetores biológicos e mecânicos de agentes patogênicos de algumas doenças que acometem o homem e animais.

As moscas pertencentes à família Calliphoridae (Diptera, Muscomorpha, Oestroidea), podem ter hábitos necrófagos ou biontófagos, causando miíases facultativas ou obrigatórias (Guimarães et al., 1979; Guimarães & Papavero, 1999) além de veicular patógenos (Greenberg, 1971). Deste modo, assumem grande importância nas áreas médica e veterinária, agravado por seu comportamento sinantrópico (Linhares, 1981a), afetando a economia e condições sanitárias (Guimarães et al., 1983).

No âmbito forense, os calliphorídeos ganham relevância por serem os mais abundantes e frequentemente encontrados associados a corpos em decomposição (Smith, 1986; Salviano, 1996; Carvalho et al., 2000; Oliveira-Costa, 2011). São moscas popularmente conhecidas como “moscas-varejeiras”, os adultos podem apresentar

coloração metálica variando entre azul, verde, violáceo ou cúprico principalmente no abdome e um tamanho que varia entre 4 a 16 mm de comprimento (Lenko & Papavero, 1996; Vargas & Wood, 2009). São conhecidas cerca de 1.526 espécies em 180 gêneros (Thompson, 2008; Carvalho et al., 2012), com ampla distribuição podendo ser encontradas em quase todas as regiões biogeográficas, com exceção dos oceanos e dos polos, só na região Neotropical são conhecidas cerca de 126 espécies (James, 1970; Amorim et al., 2002).

Chrysomya albiceps (Wiedemann, 1819) foi introduzida acidentalmente no Brasil no início da década de 70, provavelmente chegou pelo sul do Brasil por navios vindos da Angola (Guimarães et al., 1978). Os adultos apresentam corpo robusto e coloração verde brilhante, suas larvas possuem saliência proeminentes ao longo do corpo e são predadoras de outras larvas de dípteros, principalmente quando os recursos alimentares são escassos (Queiroz, 1996; Faria & Godoy, 2001; Grassberger et al., 2003). Os adultos são atraídos por fezes humanas, lixões e tecido animal em decomposição, sendo uma das primeiras e mais abundantes espécie de califorídeo a colonizar cadáveres (Marchenko, 2001; Carvalho et al., 2000; Kosmann et al., 2011; Thyssen et al., 2018). Essa espécie prefere altas temperaturas e umidade (Greenberg & Povolny, 1971) e pode ser encontrada em todo o território nacional graças a sua considerável habilidade de dispersão e adaptação (Souza & Linhares, 1997; Faria et al., 2013). Levantamentos feitos na região de Campinas, SP, utilizando carcaças de animais como iscas, mostraram que essa foi a espécie predominante entre os dípteros coletados devido à sua abundância e frequência (Carvalho et al., 2004).

1.2. Um breve histórico da Entomologia Forense no Brasil e no Mundo

A entomologia (*entomon* = insetos, *logos* = estudo) forense (*forum* = de praça pública) pode ser definida como o estudo de insetos e outros artrópodes, associados a questões criminais, que tem como propósito fornecer informações úteis no âmbito judicial, ajudando no andamento ou na conclusão de um processo investigativo (Thyssen, 2011).

Os insetos foram utilizados pela primeira vez com contexto forense na China do século XIII, em um caso de homicídio publicado no Manual de Medicina Legal de Sung Tzu, *The Washing Away of Wrongs*. Em uma zona rural, próxima a um campo de arroz, um lavrador foi encontrado morto, degolado por uma foice. Para encontrar o assassino e solucionar o caso, os camponeses da região foram obrigados a depositar seus instrumentos de trabalho (foices) no chão, ao ar livre. Pequenos resquícios de sangue que ainda estavam aderidos a lâmina atraíram as moscas varejeiras, que pousaram em uma única foice, quando o dono da foice foi confrontado, ele confessou o crime (Benecke, 2001).

Em 1855, o médico Bergeret foi o primeiro a estimar o intervalo pós-morte baseando-se em estudos dos insetos associados à cadáveres. Mas foi só em 1894, em “*La faune de cadavres*” de Mégnin, que a entomologia forense começou a ficar mais popular. Os conceitos fundamentados nessa obra sobre a fauna cadavérica e o padrão de sucessão de colonização de cadáveres por insetos, influenciam pesquisadores até hoje e servem de base para estudos de entomologia forense (Benecke, 2001; Pujol-Luz et al., 2008).

No Brasil, a entomologia forense teve seu início em 1908 com os trabalhos de Oscar Freire, quatorze anos depois de Mégnin. O pesquisador apresentou para a Sociedade Médica da Bahia sua coleção de insetos necrófagos e os primeiros resultados de suas investigações com cadáveres humanos e pequenos animais. Mais tarde, publicou “Algumas notas para o estudo da fauna cadavérica da Bahia” quando estudou muitos dípteros e fez críticas importantes ao método proposto por Mégnin. Roquette-Pinto, no mesmo ano, também após trabalhar com cadáveres humanos, publicou um estudo de caso intitulado “Nota sobre a fauna cadavérica no Rio de Janeiro”. Em 1911, Lüderwald abordou melhor a questão de besouros necrófagos, comparando a fauna de besouros do Brasil com a da Alemanha. Seus estudos, baseados em experimentos sobre a biologia e o comportamento de besouros necrófagos em carcaças, realizados no Horto do Museu Paulista, são ainda hoje uma referência importante sobre o tema (Pujol-Luz et al., 2008).

Dados biológicos, ecológicos, taxonômicos e de distribuição geográfica de insetos associados a corpos em decomposição podem fornecer importantes informações, por exemplo, para a estimativa do intervalo pós-morte (IPM) (Pujol-Luz et al., 2006); a causa e o modo como ocorreu a morte (Catts & Goff, 1992), em especial se a pessoa fez

uso de substâncias tóxicas (Beyer et al., 1980; Rezende et al., 2014); se houve movimentação do corpo (Bourel et al., 2001); associar suspeitos com a cena do crime (Catts & Goff, 1992); evidenciar casos de negligências a incapacitados (Thyssen et al., 2012); traçar rotas de tráfico de entorpecentes (Crosby et al., 1986), principalmente da maconha (Oliveira-Costa, 2011); na identificação do suspeito, como pelo DNA obtido do sangue ingerido por insetos hematófagos ou de suas fezes (Mumcuoglu et al., 2004).

1.3. Estimativa do Intervalo Pós-morte

O IPM pode ser definido como o intervalo de tempo entre a morte e o descobrimento do cadáver (Benecke, 2001). Para determinar esse intervalo, deve-se conhecer dois fenômenos responsáveis pelo processo de decomposição do cadáver: a autólise e a putrefação. E os processos conservativos, como a mumificação e a saponificação (Benecke, 2004). Muitos métodos são usados para tentar estimar o IPM, como a rigidez cadavérica e a perda de temperatura, porém são imprecisos, principalmente depois de horas de morte (Oliveira-Costa, 2011).

As espécies que colonizam o cadáver são atraídas pelo odor dos gases liberados pela decomposição do corpo e pela comunidade microbiana, poucos minutos após a morte (Wall & Warnes, 1994; Amendt et al., 2004). Segundo Catts & Goff (1992), há duas maneiras distintas de estimar o IPM, sendo que a primeira calcula o tempo máximo de morte pela sucessão de organismos que colonizam o cadáver, analisando a composição da comunidade de insetos presentes no corpo ou/e em seus arredores e comparando com as comunidades esperadas para o padrão de decomposição cadavérica encontrada no local de crime. A segunda maneira, leva em consideração o ciclo de vida dos insetos encontrados no local do crime, essa estimativa vai indicar o intervalo mínimo entre a morte e a descoberta do cadáver.

As espécies, que na fase imatura se alimentam do cadáver, são as com maior importância para a estimativa do IPM, já que realizam todo o seu desenvolvimento pós-embrionário no substrato (Pujol-Luz et al., 2008). A idade de um inseto encontrado em um corpo, especialmente dos estágios imaturos, pode fornecer evidências para a estimativa do IPM, dependendo da espécie de inseto envolvida, das condições inerentes

ao substrato onde se encontram (Thyssen et al., 2014) e, sobretudo, das condições climáticas registradas no local de crime, como a temperatura e a umidade (Ullyett, 1950; Thyssen, 2005).

Uma das variáveis mais estudadas é a temperatura, já que os insetos são organismos ectotérmicos e muitos de seus processos fisiológicos são afetados por ela (Welsh, 1938). A temperatura influencia as taxas de desenvolvimento ovariano, de fertilidade, de sobrevivência e de mortalidade, afetando, conseqüentemente, toda a taxa de desenvolvimento dos insetos (Wall et al., 1992).

De modo geral, ambientes mais frios retardam o desenvolvimento, provavelmente por diminuir a ação de enzimas metabólicas, enquanto que temperaturas mais altas aceleram o desenvolvimento e aumentam as taxas de crescimento. A temperatura afeta a fisiologia dos insetos para a alimentação, crescimento e reprodução, acelerando a eclosão, ganho de massa e de comprimento larval (Ames & Turner, 2003).

Porém, existe um limite mínimo e máximo de temperatura em que o organismo consegue se desenvolver, a partir do qual o crescimento cessa (Campobasso et al., 2001). É importante, para o cálculo do IPM, ter-se em mente que cada espécie responde de forma distinta às variações de temperatura (Reibe et al., 2010).

Dois métodos são bem conhecidos na entomologia forense, sendo que, o primeiro faz uma comparação entre o tamanho e o tempo de desenvolvimento da larva em função do tempo e da média de temperatura do ambiente gerando um diagrama (Grassberger & Reiter, 2002). De acordo com os autores, só é eficaz quando o corpo e, conseqüentemente as larvas, não estiverem expostos a temperaturas flutuantes, ou seja, estiverem em ambientes fechados sob temperatura constante (Reibe et al., 2010). O segundo método, cálculo de graus-horas-acumuladas (GHA), que consiste no tempo necessário para o desenvolvimento dos estádios larvais em relação a uma dada temperatura (Higley & Haskell, 2010).

1.4. Modelos para compreender o desenvolvimento dos insetos

A quantidade térmica necessária para os insetos desenvolverem pode ser avaliada por meio da constante térmica (K), usada para relacionar a temperatura com o tempo de desenvolvimento, partindo da hipótese de que a duração do desenvolvimento em função da temperatura é linear, sendo o somatório da temperatura computado a partir de um limiar térmico inferior, chamado de temperatura basal (Tb) e uma temperatura máxima superior (Haddad et al., 1999).

O desenvolvimento dos imaturos é medido em um conjunto de temperaturas constantes plotadas em um gráfico relativo ao tempo de duração do desenvolvimento (eixo x) e o produto da duração do desenvolvimento e o tempo (eixo y). A interceptação em y (K) e a inclinação (Tb) da linha de regressão resultante são usados para calcular o IPM (Ikemoto & Takai, 2000; Byrd & Allen, 2001).

Desde modo, baseando-se na taxa de desenvolvimento dependente da temperatura ambiente, pode-se utilizar o modelo de graus-horas-acumuladas (GHA) ou *accumulated degree hours* (ADH), um modelo de regressão linear que relaciona a taxa de desenvolvimento em relação à temperatura na qual o inseto está, ou foi exposto. O GHA é o valor entre os limiares de temperatura máximo e mínimo que uma espécie suporta (Higley & Haskell, 2009).

O cálculo do GHA é dado pela fórmula:

$$K = Y (T - Tb)$$

onde K é a constante térmica (graus/horas), Y é o tempo de desenvolvimento do inseto (em horas), T é a temperatura ambiente (°C) e Tb é a temperatura basal (°C), isto é, a temperatura mínima necessária para o desenvolvimento do inseto (Haddad & Parra, 1984).

Contudo, algumas observações devem ser levadas em conta relativas à esta estimativa, tais como a obtenção precisa (ou a mais próxima) da temperatura de desenvolvimento, o tipo de ambiente onde os espécimes foram coletados, o conhecimento do ciclo de vida do inseto e de sua temperatura base, o comportamento do inseto mediante variação de temperatura, presença de uma massa larval e até mesmo de

substâncias tóxicas (Greenberg & Kunich, 2002). Existem outros fatores, como por exemplo, a densidade larval, a competição inter e intra-específica e a variação no fotoperíodo que adicionalmente podem causar alterações no tempo de desenvolvimento (Goodbrood & Goff, 1990; Chaves, 2016).

Saber quanto varia o tempo de desenvolvimento de cada espécie, de acordo com a temperatura na qual ele esteve exposto, é crucial para a determinação de um IPM acurado. Frequentemente, o desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* é estudado sob temperaturas constantes, como, por exemplo, em Queiroz (1996), cujo estudo determinou a duração e temperatura basal de cada estágio do desenvolvimento, viabilidade larval e taxa de emergência em condição de temperaturas constantes de 18, 22, 27 e 32°C. Ainda, Queiroz (1996) observou que à 18°C, o tempo de desenvolvimento de ovo até adulto teve a maior duração (21,30 dias), apresentando também a menor viabilidade larval (76,5 %), porém os imaturos que estavam sob esta temperatura, não completaram seu desenvolvimento, não atingindo a fase de pupa. As temperaturas basais para o estágio larval, pupal e de larva-adulto foi de 15,04; 17,39 e 15,39°C, correspondendo a 65,67; 44,15 e 114,23 graus-dias, respectivamente, determinados pelo método da hipérbole.

Na África, Richards et al. (2009), estudaram as taxas de desenvolvimento de *C. albiceps* em 13 diferentes temperaturas constantes (variando de 15 - 45°C em intervalos de 2,5°C), calculando também a T_b e K para cada estágio de desenvolvimento. O período mais longo de desenvolvimento se deu a 20°C e foi de 28 dias, a maior larva mediu 16,22 mm de comprimento a 25°C, com a observação de que as larvas atingiram tamanhos médios maiores em temperaturas mais altas. Na temperatura mais baixa e na mais alta, 15°C e 45°C, respectivamente, as larvas não completaram seu desenvolvimento. Os autores conseguiram um excelente ajuste no modelo de GHA, com altos coeficientes de determinação e intervalos de confiança estreitos, sugerindo que exista uma correlação positiva entre K e a latitude geográfica.

Porém, sabe-se que a temperatura ambiente não permanece constante, tão pouco é previsível ao longo do dia, o que dificulta a simulação para fins experimentais (Anderson & Warren, 2003). Segundo Hagstrum & Hagstrum (1970), a maioria dos organismos estão sujeitos a temperaturas flutuantes no ambiente em que vivem, mas as temperaturas constantes são as mais utilizadas para estudos em laboratório.

Byrd & Butler (1996) trabalharam com imaturos de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) mantidos sob temperaturas cíclicas com médias de 15,6; 21,1; 26,7 e 32,2°C e uma amplitude de 5,5°C, confrontando estes dados com os dados de desenvolvimento de imaturos sob temperatura constante de 25°C. Nesse estudo, observou-se que os imaturos mantidos no regime de temperatura cíclica de 15,6°C apresentaram períodos mais longos de ovo até pupa (272 h). Além disso, para o regime de 21,1°C observou-se uma redução de 20 h no período de ovo, caracterizando a maior mudança na duração dos estádios, justamente porque os outros regimes produziram eclosão entre 12 e 16 h, incluindo o regime de temperatura única constante (25°C). Para a temperatura constante de 25°C produziu-se curvas de crescimento que não eram diferentes das temperaturas cíclicas, embora as temperaturas inferiores a 25°C aumentaram a duração do estágio de ovo.

Em outro exemplo, Anderson & Warren (2003) realizaram experimentos com temperaturas flutuantes em *Photophormia terraenova* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). Foram utilizados dois pares de temperaturas flutuantes, 4 - 28°C e 9 - 23°C, e uma temperatura constante de 16°C, esta última representando a temperatura ótima para *P. terraenovae*. O desenvolvimento total foi mais rápido na maior flutuação (4 - 28°C) e mais lenta na temperatura constante (16°C).

Ames & Turner (2003), em seu estudo com duas espécies, *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy) e *Calliphora vomitoria* (Linnaeus), questionaram o cálculo de GHA para temperaturas flutuantes, em particular quando as mínimas estão abaixo da temperatura limiar mínima. Os autores observaram que em grandes períodos de temperaturas frias, o cálculo de GHA subestimou o tempo de desenvolvimento, consequentemente aumentando o IPM.

Rashed et al. (2015), tentaram se aproximar ao máximo das alterações naturais de temperatura em um longo período de tempo, ao estudar o tempo total de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* durante um ano, em uma sala com condições naturais (ou não controladas) de temperatura. A taxa de emergência variou significativamente com a sazonalidade, tendo sido as maiores taxas ($96,12 \pm 0,24$ %) sido observadas no verão (média de $23 \pm 1^\circ\text{C}$). Com a diminuição da temperatura, o percentual diminuiu de forma gradual, chegando a $81,79 \pm 0,77$ % a $11 \pm 1^\circ\text{C}$ no

inverno. Quando mantidas a 30°C, o tempo de desenvolvimento ficou entre as faixas 9,5 - 10,5 dias; já no outono ficou entre 19 - 27 dias a 15°C.

Na literatura, a maioria dos estudos sobre taxa de desenvolvimento é realizada sob temperaturas constantes. Mas, de acordo com Higley & Haskell (2010), é muito importante considerar as variações de temperatura, já que isto pode ser útil para obter estimativas mais acuradas do IPM. Ainda segundo Howe (1967), existem cinco métodos para se estudar temperaturas alternadas: o primeiro que o autor cita, e foi o selecionado neste estudo, envolve a transferência dos insetos de uma temperatura para outra, após um certo período de tempo. Até o momento, não se tem conhecimento se para uma dada espécie, sob condições de alternância de temperatura, pode ser aplicado o mesmo método utilizado quando o inseto é submetido sob temperaturas constantes, em ambos visando estimar o GHA, isto é, a idade (= tempo de desenvolvimento) e, conseqüentemente, a estimativa do IPM.

2. OBJETIVOS

- i. Avaliar as taxas de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae), em laboratório, sob condições de alternância de temperatura, com amplitudes de 5, 10 e 15°C, e compará-las com as taxas de desenvolvimento quando mantidas sob temperaturas constantes;
- ii. Determinar a constante térmica (K) e a temperatura basal (T_b) de desenvolvimento de *C. albiceps* frente às diferentes condições relatadas acima;
- iii. Construir modelos de graus horas acumulado (GHA) usando como resposta diferentes parâmetros biológicos, tais como a massa e o comprimento.

3. Efeito da alternância de temperaturas no desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* (Insecta, Diptera, Calliphoridae)

THAMIRIS G. SMANIA¹ & PATRICIA J. THYSSEN¹

¹ Laboratório de Entomologia Integrativa, Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brasil

Resumo

Dípteros da família Calliphoridae (Insecta) são de grande importância forense por serem frequentemente empregados para descobrir o tempo decorrido entre a morte e a descoberta do corpo, isto é, a estimativa do intervalo pós-morte (IPM). Para calcular o IPM mínimo é essencial conhecer a biologia das espécies que estão se criando no cadáver. A temperatura é um dos fatores que mais influencia a taxa de desenvolvimento dos insetos, por esta razão, vários estudos têm se concentrado em avaliar o crescimento de diversas espécies em distintas temperaturas constantes. Porém, dados sobre o efeito de temperaturas alternadas são escassos. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de temperaturas alternadas na taxa de desenvolvimento e exigências térmicas de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) em condições de laboratório. Ovos foram obtidos de fêmeas, que foram mantidas em laboratório, contados, transferidos para frascos com carne suína moída fresca (1 ovo/g) e mantidos em câmaras climáticas, sob temperaturas ajustadas. Todos os experimentos foram feitos em triplicata. As seguintes faixas de temperatura ($\pm 1^\circ\text{C}$) foram testadas: Grupo I, 35–20; Grupo II, 30–15; Grupo III, 32,5–22,5; Grupo IV, 27,5–17,5; Grupo V, 30–25; e Grupo VI, 25–20. Durante o dia (7:00 às 19:00), os imaturos permaneceram em temperaturas mais altas e, à noite (19:00 às 07:00), sob as mais baixas. Paralelamente, os grupos experimentais, chamados controles, foram mantidos em temperaturas únicas (15, 17,5, 20, 22,5, 25, 27,5, 30, 32,5 e $35 \pm 1^\circ\text{C}$). A cada 12 h, 10 espécimes de cada grupo experimental foram retirados, aleatoriamente, para mensuração da massa (mg) e de comprimento (mm), desde a eclosão até a pupariação. O desenvolvimento ovo-adulto foi mais rápido no grupo V (240 h), seguido pelos grupos I (252 h), II e III (312 h), IV (384 h) e VI (420 h). Nas temperaturas mais baixa (15°C) e mais alta (35°C) foram registrados os intervalos de desenvolvimento de 672 h e 228 h, respectivamente. As taxas de sobrevivência foram superiores a 85% nos grupos II, IV e V e inferiores a 45% nos demais; nas temperaturas constantes, a maior (98 %) e menor (1,3 %) taxa foi observada nas temperaturas de 27,5 e 15°C , respectivamente. As maiores massas larvais estiveram associadas às temperaturas ou pares de temperaturas mais altos. Os resultados obtidos mostram que a alternância deve ser melhor explorada para a obtenção de modelos preditivos de idade mais acurados.

Palavras-chaves: biologia do desenvolvimento; imaturos; necrófagos; entomologia forense; IPM mínimo.

3.1 Introdução

Chrysomya albiceps (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae), espécie conhecida como mosca varejeira, foi introduzida acidentalmente no Brasil no início de 1970 provavelmente com a chegada de navios vindos da Angola (Guimarães et al., 1978). A espécie apresenta uma grande capacidade de adaptação e de dispersão podendo ser abundantemente encontrada em todo o território nacional (Souza & Linhares, 1997; Faria et al., 2013). Apresenta grande importância para a área da entomologia forense, uma vez que possui hábito necrófago, sendo frequentemente encontrada associada a corpos em decomposição, colonizando cadáveres logo nas primeiras horas após a morte (Reed, 1958; Smith, 1986; Carvalho et al., 2000; Kosmann et al., 2011; Thyssen et al., 2018). As larvas se alimentam do cadáver e realizam todo seu desenvolvimento pós-embrionário neste substrato. Sendo assim, é uma espécie valiosa e importante para fornecer dados para a estimativa do intervalo pós-morte (IPM) (Carvalho et al., 2004).

De acordo com Catts & Goff (1992), uma das formas de calcular o IPM é através do tempo gasto por uma espécie para atingir um determinado estágio de desenvolvimento. Desse modo, para se estimar a idade do imaturo e realizar um cálculo do IPM mais acurado é necessário conhecer a biologia, a ecologia, o ciclo de vida do inseto, as condições do substrato e, sobretudo, as condições climáticas registradas no local do crime, como a temperatura e a umidade (Ullyett, 1950; Thyssen et al., 2014).

A temperatura tem sido uma das variáveis mais estudadas, já que os insetos são ectotérmicos e com isto muitos de seus processos fisiológicos são afetados por ela (Welsh, 1938; Wall et al., 1992). Assim, ambientes frios retardam o desenvolvimento, provavelmente por diminuir a ação de enzimas metabólicas, enquanto temperaturas altas podem estimular um desenvolvimento mais rápido, acelerando a eclosão e o crescimento dos imaturos. Porém, existe um limiar mínimo e máximo de temperatura em que o inseto consegue se desenvolver, a partir do qual o crescimento cessa (Campobasso et al., 2001).

Para estimar o IPM, normalmente utiliza-se o cálculo de graus-horas-acumulados (GHA), um modelo de regressão linear que consiste na quantidade de

energia por hora necessária para que o inseto se desenvolva em uma dada temperatura (Higley & Haskell, 2010). Parte da hipótese de que a duração do desenvolvimento em função da temperatura é linear, sendo o somatório da temperatura computado a partir de um limiar térmico inferior, chamado de temperatura basal (T_b) e um limite letal superior (Haddad et al., 1999). A relação entre a temperatura e a taxa de desenvolvimento é tipicamente curvilíneo em altas e baixas temperaturas, e linear apenas em temperaturas intermediárias, aquelas consideradas ideais para o desenvolvimento (Reibe et al., 2010). Ao longo do dia a temperatura não se mantém constante, o que pode exercer grande influência na estimativa do IPM, principalmente se comparadas com estudos em temperaturas constantes (Kruger et al., 2013).

Até o presente, são escassos os estudos avaliando a taxa de desenvolvimento de espécies de importância forense sob temperaturas alternadas. Assim, não se tem conhecimento se para uma dada espécie, sob condições de alternância de temperatura, pode ser aplicado o mesmo método utilizado quando o inseto é submetido sob temperaturas constantes, em ambos visando estimar o GHA, isto é, a idade (= tempo de desenvolvimento) e, conseqüentemente, a estimativa do IPM. Neste estudo objetivou-se avaliar o efeito de temperaturas alternadas na taxa de desenvolvimento e exigências térmicas de *Chrysomya albiceps*, em condições de laboratório.

3.2 Material e Métodos

3.2.1. Estabelecimento de colônias em laboratório e obtenção de amostras

Colônias de *C. albiceps* foram estabelecidas a partir de moscas adultas coletadas no campo (Campinas, Estado de São Paulo, Brasil, 22°82'S: 47°07'O), utilizando armadilhas apropriadas (Moretti et al., 2009) contendo fígado bovino e vísceras de frango cru como iscas. As amostras coletadas foram levadas ao laboratório vivo, anestesiadas temporariamente em baixa temperatura (-20°C por aproximadamente 3 minutos), identificadas (Grella & Thyssen, 2011) e transferidas para gaiolas plásticas transparentes (Figura 1) em uma sala climatizada (25±1°C; 70±10% UR; 12h:12h). Moscas adultas receberam água e açúcar *ad libitum*. Uma porção de carne moída crua

foi usada para estimular a oviposição. Os ovos resultantes foram então utilizados nos experimentos.

3.2.2. *Delineamento experimental*

Os ovos, retirados com auxílio de pincel fino e pinça, foram contados e depositados em frascos plásticos (6 x 8 cm) contendo 100 g de carne suína moída fresca, em uma proporção 1 ovo/g, o que constituiu o único substrato para o desenvolvimento das larvas. Todos os experimentos, feitos em triplicata, foram mantidos em câmara climática modelo Eletrolab® EL202/4 (Figura 2).

Os pares de temperaturas selecionados para este estudo, com amplitudes variando em 5, 10 e 15°C, são apresentados na Tabela 1. A escolha levou em conta o histórico dos últimos 27 anos de registros de temperaturas mínimas e máximas feitos na Estação Meteorológica do CEPAGRI/UNICAMP, entre 1990 e 2017 (Figura 3). Das 7:00 às 19:00, os imaturos permaneceram sob temperaturas mais altas e das 19:00 às 07:00 sob as mais baixas. Paralelamente, grupos controles foram mantidos em temperaturas constantes (15, 17,5, 20, 22,5, 25, 27,5, 30, 32,5 e 35±1°C).

A cada 12 h, 10 espécimes de cada grupo experimental foram retirados, aleatoriamente, para mensuração da massa (mg) e do comprimento (mm), desde a eclosão até a pupariação. Antes da pesagem, os espécimes foram limpos com água destilada e secos em papel filtro, a fim de retirar os resíduos de substrato. As pesagens foram feitas com auxílio de uma balança analítica modelo Scientech® SA 210 (Figura 4-A). Após a pesagem, os imaturos foram mortos em água destilada aquecida a aproximadamente 60–70°C por 5 seg, e transferidos para frascos contendo solução de AFA (álcool etílico + formol + ácido acético) para preservação do material a ser mensurado posteriormente. As pupas foram fixadas diretamente em AFA. As mensurações, individuais, foram processadas com auxílio de uma câmara digital acoplada em uma lupa Zeiss® Discovery V.12 (Figura 4-B), sistema de captura de imagens AxioCam 5.0 e software ZEN versão 2.0. Os estágios larvais foram determinados com base no número de fendas espiraculares.

3.2.3. Análises dos dados

Para avaliar o efeito das temperaturas alternadas e constantes sobre o tempo total de desenvolvimento dos imaturos, as taxas de sobrevivência e de emergência, o ganho e perda de massa e comprimento foram conduzidos, primeiramente, os testes de Shapiro-Wilk para observar se todos os dados tinham distribuição normal. Constatada a normalidade, foram avaliados separadamente as variáveis dependentes massa, comprimento e tempo de desenvolvimento, para cada grupo experimental e seus respectivos controles, através de ANOVA de um fator. Posteriormente, as médias foram comparadas através do teste de Tukey. Todos os valores foram considerados significativos quando $p < 0,005$. As análises estatísticas foram conduzidas no software Past 3.X, versão 3.24.

Os cálculos da temperatura basal (T_b) e da constante térmica (K) foram feitos através do método de hipérbole proposto por Haddad & Parra (1984) a partir da equação:

$$K = Y (T - T_b)$$

onde K é a constante térmica (expressa em graus/horas), Y é o tempo de desenvolvimento (expresso em horas), T é a temperatura na qual o inseto se desenvolveu ($^{\circ}\text{C}$) e T_b é a temperatura basal ($^{\circ}\text{C}$).

3.3 Resultados

O tempo médio de desenvolvimento para os indivíduos de *Chrysomya albiceps* atingirem cada uma das suas fases de vida (1 $^{\circ}$, 2 $^{\circ}$ e 3 $^{\circ}$ estádios e pupa) até a emergência dos adultos, considerando cada par de temperatura alternada e as temperaturas constantes, é apresentado na Tabela 14. Observou-se que em todos os grupos experimentais, a eclosão das larvas se deu mais rapidamente nas temperaturas mais altas, isto é, acima de 30 $^{\circ}\text{C}$.

Nos grupos experimentais III–V, o tempo de incubação foi similar ao dos ovos expostos em seus respectivos controles de temperaturas mais baixas e constantes. Porém

nos grupos I, II e VI, as larvas eclodiram 12 h mais rápido quando comparados com os seus controles de temperaturas mais altas e constantes. Para todas as temperaturas, tanto constantes quanto alternadas, o 3º estágio e a fase de pupa foram os intervalos de vida mais duradouros, variando entre 48 e 168 h e 96 e 216 h, respectivamente.

Na temperatura mais baixa (15°C) e na temperatura mais alta (35°C) foram registrados os intervalos de desenvolvimento de 672 h e 228 h, respectivamente. Foi possível observar diferenças significativas ($p < 0,005$) no tempo total de desenvolvimento (ovo–adulto) em cinco dos seis grupos experimentais. No grupo I, observamos que o tempo total de desenvolvimento sob a temperatura baixa constante de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, se diferencia da temperatura constante alta e da temperatura alternada. No grupo II, observamos que a temperatura constante alta de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ se difere da temperatura alternada de $15/30 \pm 1^\circ\text{C}$, mas elas não se diferem da temperatura constante baixa de $15 \pm 1^\circ\text{C}$. No grupo III, a temperatura constante alta de $32,5 \pm 1^\circ\text{C}$ se difere das demais ($22,5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $22,5/32,5 \pm 1^\circ\text{C}$). No grupo IV, a temperatura constante baixa de $17,5 \pm 1^\circ\text{C}$ se difere das demais. No grupo V, a temperatura constante alta de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ se difere das demais e no grupo VI, não observamos diferenças estatísticas significativas no tempo total de desenvolvimento entre as temperaturas (Tabela 14).

As taxas de sobrevivência foram superiores a 85% nos grupos II, IV e V e inferiores a 45% nos demais; nas temperaturas constantes, a maior (98%) e menor (1,3%) taxa foi observada nas temperaturas de $27,5$ e $15 \pm 1^\circ\text{C}$, respectivamente (Tabela 14).

Observamos um maior número de larvas mortas, que não atingiram a fase de pupa, na temperatura constante de $15 \pm 1^\circ\text{C}$, apresentando a menor viabilidade larval (1,33%). Porém essa temperatura não foi a que produziu uma menor taxa de emergência, já que em 50% das pupas emergiram adultos. A menor taxa de emergência, de 25%, se deu na temperatura constante de $17,5 \pm 1^\circ\text{C}$. A maior taxa de emergência foi de 97,7% sob as temperaturas alternadas de $15/30 \pm 1^\circ\text{C}$ e $17,5/27,5 \pm 1^\circ\text{C}$ (Tabela 14).

Nas Figuras 6–17 temos as representações gráficas da variação de massa (mg) e de comprimento (mm) larval, a cada 12 h até a pupariação e equações de desenvolvimento para os seis grupos experimentais. Observamos que nos grupos I; II, III, IV, V, o tempo de desenvolvimento larval de *Chrysomya albiceps* teve uma maior

duração sob as temperaturas baixas constantes de cada grupo, 228; 444; 168; 324 e 168 h, respectivamente, além dos imaturos terem ganhado massa e comprimento de maneira mais lenta. Nas temperaturas altas constantes desses grupos, observamos que o tempo de desenvolvimento foi o mais curto, 132; 108; 120; 168 e 108 h, respectivamente, além dos imaturos terem ganhado massa e comprimento de maneira mais rápida.

Já nas temperaturas alternadas, o ganho de massa e de comprimento se deu de forma mais rápida quando comparada a temperatura mais baixa e mais lenta quanto comparada a temperatura mais alta. O grupo VI, foi o único grupo experimental em que tanto sob temperatura baixa constante ($20\pm 1^\circ\text{C}$) quanto sob temperatura alternada ($20/25\pm 1^\circ\text{C}$) a duração do tempo total de desenvolvimento foi de 420 ± 6 h enquanto a temperatura alta constante ($25\pm 1^\circ\text{C}$), apresentou uma redução de 156 h no tempo total de desenvolvimento (264 ± 6 h) (Tabela 14).

A amplitude térmica de 15°C foi a que produziu maiores diferenças no tempo total de desenvolvimento, entre a temperatura baixa e a temperatura alternada. Sendo a diferença de 168 h no grupo I e 300 h no grupo II. Para a amplitude de 10°C temos a diferença de 2 h e 136 h para os grupos III e IV. E para a amplitude de 5°C temos a diferença de 24 h e 0 h para os grupos V e VI, respectivamente.

Quando analisamos o parâmetro massa, o maior registro foi de $168,92\pm 5,67$ mg na temperatura alternada de $20/35\pm 1^\circ\text{C}$ em 156 h. Percebemos que os grupos I, II, VI (Tabelas 2, 3 e 7) foram os grupos que apresentaram diferenças significativas ($p < 0,005$) nas médias das massas. No grupo I observamos que a temperatura mais baixa ($20\pm 1^\circ\text{C}$) se difere significativamente da temperatura alternada ($20/35\pm 1^\circ\text{C}$) e da temperatura alta ($35\pm 1^\circ\text{C}$) ($F= 5,85$; $p= 0,0029$). No grupo II a temperatura alternada ($15/30\pm 1^\circ\text{C}$) se difere significativamente da temperatura baixa ($15\pm 1^\circ\text{C}$) e da temperatura alta ($30\pm 1^\circ\text{C}$) ($F= 16,34$; $p < 0,0001$). No grupo VI, temos um comportamento similar como o que aconteceu no grupo I, a temperatura baixa ($20\pm 1^\circ\text{C}$) difere significativamente da temperatura alternada ($20/25\pm 1^\circ\text{C}$) e da temperatura alta ($25\pm 1^\circ\text{C}$) ($F= 5,838$; $p= 0,0030$).

Quando analisamos o parâmetro comprimento, o maior registro foi de $16,54\pm 0,98$ mm na temperatura alternada de $17,5/27,5\pm 1^\circ\text{C}$ em 168 h. Percebemos um maior número de grupos experimentais apresentaram diferenças significativas ($p <$

0,005) nas médias dos comprimentos, o que indicaria o comprimento como melhor parâmetro para calcular o tempo de vida do inseto. São os grupos, II, IV, V, VI (Tabelas 9, 11–13). No grupo II, a média do comprimento na temperatura baixa ($15\pm 1^{\circ}\text{C}$) difere significativamente da média do comprimento na temperatura alternada ($15/30\pm 1^{\circ}\text{C}$) e na temperatura alta ($30\pm 1^{\circ}\text{C}$) ($F= 69,34$; $p < 0,0001$). No grupo IV, a média do comprimento na temperatura alta ($27,5\pm 1^{\circ}\text{C}$) difere significativamente da média do comprimento na temperatura alternada ($17,5/27,5\pm 1^{\circ}\text{C}$) e na temperatura mais baixa ($17,5\pm 1^{\circ}\text{C}$) ($F= 9,847$; $p < 0,0001$). No grupo V a média do comprimento na temperatura alta ($30\pm 1^{\circ}\text{C}$) difere significativamente da média do comprimento na temperatura alternada ($30/25\pm 1^{\circ}\text{C}$) e na temperatura baixa ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$) ($F= 6,122$; $p= 0,0023$). No grupo VI, nas três temperaturas ($20\pm 1^{\circ}\text{C}$; $20/25\pm 1^{\circ}\text{C}$; $25\pm 1^{\circ}\text{C}$) as médias de comprimento diferem significativamente entre si ($F= 14,5$; $p < 0,0001$).

A temperatura basal (T_b) e a constante térmica (K) para cada grupo experimental foram calculados. Para T_b temos os seguintes valores 0,2; 0,7; 0,1; 0,3; 0,1, $^{\circ}\text{C}$, para K , 833,3; 769,2; 909,1; 1.111,1; 714,3; 1.111,1, respectivamente, para cada grupo experimental (Tabela 14). Na Figura 5, são apresentadas as representações gráficas e as equações da velocidade de desenvolvimento para a espécie em cada grupo experimental. Todos os cálculos foram feitos levando em conta somente o limite térmico onde houve desenvolvimento total dos espécimes (ovo-adulto), $15-35\pm 1^{\circ}\text{C}$.

3.4. Discussão

Estudos focados na biologia das espécies necrófagas de interesse forense são de grande importância, uma vez que diversos fatores, abióticos e bióticos, podem influenciar na duração do desenvolvimento destes insetos, levando a uma estimativa pouco acurada do IPM, principalmente quando este é baseado na taxa de desenvolvimento dos imaturos. A maioria dos organismos estão sujeitos a temperaturas flutuantes no ambiente em que vivem, ou seja, aquelas que se alteram ao longo do dia, mas as temperaturas constantes são as mais utilizadas para estudos em laboratório (Hagstrum & Hagstrum, 1970; Marchenko 2001).

Nas Figuras 6-17, podemos observar que da eclosão até a fase de pupa, o crescimento, em ambos os parâmetros, ocorreu de modo progressivo, aumentando durante os estádios e reduzindo na fase pré-pupa, provavelmente por conta da diminuição da alimentação e retração dos tecidos para entrar no estágio de pupa (Thyssen, 2005). Os indivíduos mantidos sob as temperaturas mais altas constantes tiveram tempos menores de desenvolvimento quando comparados aos indivíduos mantidos sob temperaturas mais baixas constantes, o que corrobora a teoria de que animais ectotérmicos, como os insetos, têm seu ciclo de vida, influenciado pela temperatura ambiente, completando seu desenvolvimento mais rapidamente em temperaturas quentes e mais lentamente em temperaturas frias (Wall et al., 1992).

Podemos observar que a velocidade de desenvolvimento é baixa a nula em baixas temperaturas, aumentando linearmente em temperaturas intermediárias e desacelerando em altas temperaturas. Para 15; 17,5; 20; 22,5; 25±1°C temos um aumento quase que linear no tempo total de desenvolvimento, sendo respectivamente, 672; 520; 420; 314; 264±6 h. Em 27,5±1°C observamos que o desenvolvimento desacelera (300±6 h). Na temperatura de 30±1°C o desenvolvimento foi mais rápido observado para as temperaturas constantes (204±6 h), a 32,5 e 35±1°C terminaram em 216 e 228±6 h respectivamente. Isso ocorre pois existe um limiar mínimo e máximo suportável que o inseto consegue se desenvolver idealmente (Higley & Haskell, 2009).

Os indivíduos mantidos sob condição de alternância de temperatura tiveram seu desenvolvimento acelerado, quando comparados aos indivíduos somente sob as temperaturas baixas constantes. Por exemplo, a 15±1°C temos um tempo total de 672±6 h e a 15/30±1°C temos um tempo total de 312±6 h, ou seja, 360 h mais rápido para o indivíduo completar seu ciclo. Nesse caso, o aumento da temperatura a cada 12 h exerceu grande influência na redução do tempo de desenvolvimento. Hagstrum & Hagstrum (1970), já haviam observado esse comportamento, segundo os autores, os insetos tendem a se desenvolver mais rapidamente em temperaturas flutuantes do que em temperaturas baixas constantes, quando o máximo e mínimo das temperaturas flutuantes estiverem dentro da faixa ideal de desenvolvimento para o organismo.

O grupo VI foi o único que não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os tempos totais de desenvolvimento. Provavelmente, devido ao fato das temperaturas, tanto a mínima quanto a máxima (20/25±1°C) estarem fora de um

intervalo ótimo para o desenvolvimento do inseto, duas temperaturas relativamente baixas e uma amplitude térmica também baixa. Aparentemente quando os imaturos estavam sob a temperatura máxima da alternância, a mesma não foi capaz de acelerar o desenvolvimento. Percebemos que a alternância de temperatura não reduziu o tempo de desenvolvimento, apresentando um tempo total de 420 ± 6 h, assim como na temperatura baixa constante. O grupo V, também tinha amplitude térmica de 5°C , porém as temperaturas mínima e máxima, eram duas temperaturas consideravelmente altas. Assim, o tempo de desenvolvimento na temperatura alternada ($25/30\pm 1^{\circ}\text{C}$) foi 36 h mais rápido do que o tempo de desenvolvimento na temperatura baixa constante. Observamos que quanto maior a amplitude térmica, maior a diferença no tempo total de desenvolvimento entre a temperatura baixa constante e a temperatura alternada.

Em relação à viabilidade larval das temperaturas constantes, as menores taxas (1,3; 26,6; 46; 34%) foram observadas nas temperaturas mais baixas $15; 17,5; 20$ e $22,5\pm 1^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Provavelmente pelo fato do desenvolvimento sofrer um retardo, devido ao estresse fisiológico, as larvas não se alimentam com a mesma intensidade, ficando pequenas e leves, morrendo sem atingir os estádios seguintes. As duas maiores taxas de viabilidade larval (%) foram de 98% e 72% para as temperaturas constantes de $27,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $32\pm 1^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Resultado muito semelhante ao de Queiroz (1996), que observou as maiores taxas de viabilidade larval e de taxa de emergência nas temperaturas constantes de 27°C e 32°C , respectivamente, em experimentos com *C. albiceps*.

Entre as temperaturas alternadas, observamos que em $17,5/27,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ tivemos a maior quantidade de larvas que chegaram a fase de pupa (89,3%) e a maior taxa de emergência (97,7%). Mais uma vez, destacamos a alternância de $20/25\pm 1^{\circ}\text{C}$, que pareceu produzir um stress elevado para os indivíduos, refletindo na menor taxa de viabilidade larval entre as temperaturas alternadas (17,0%).

Analisando os valores calculados para as temperaturas basais de cada grupo experimental, observamos valores muito baixos, entre $0,7$ e 0°C , o que difere da literatura, já que a literatura traz valores acima de zero e mais altos. Marchenko (1985), calculou a temperatura basal para *C. albiceps* para a eclosão, chegou a um resultado de $10,21^{\circ}\text{C}$. Em comparação com Grassberger et al. (2003) calcularam a T_b e chegaram a

0,10°C e Queiroz (1996), 16,52°C. Provavelmente essa discrepância tenha sido ocasionado justamente pelo uso das temperaturas alternadas.

Já em relação aos valores de constantes térmicas calculadas, 714,3–1.111,1 GH, observamos uma maior proximidade aos valores da literatura. Richards et al. (2009), acharam valores semelhantes como 655,63 GH, para a primeira ecdise e 984,71 GH, para a segunda ecdise. Segundo Honêk (1996a), há uma relação inversamente proporcional entre a T_b e K, T_b com valores altos e K com valores baixos seriam características de espécies de regiões tropicais.

Com os dados de sobrevivência e de K calculados, podemos dizer que a temperatura ótima de desenvolvimento para *C. albiceps* é 27,5°C. As constantes térmicas foram maiores (K= 1.111,1 GH) nos grupos IV e VI, aqueles cujos pares de temperaturas testados estão abaixo da temperatura ótima.

O modelo de GHA utilizado procurou estabelecer uma relação linear entre a taxa de desenvolvimento do inseto e a condição de alternância de temperatura. De um modo geral, quando analisamos os coeficientes de determinação (R^2), percebemos valores baixos, diferentes dos encontrados na literatura ($R^2 < 0,50$). Não observamos nenhum grupo que apresentasse um coeficiente maior ou igual a 0,90 (Haddad et al., 1999). Resultado que demonstra que a duração do desenvolvimento *vs* a temperatura, nos casos de temperaturas alternadas, provavelmente não possa ser explicada por este modelo de regressão.

Em três dos seis grupos experimentais (IV–VI) a relação tempo de desenvolvimento *versus* temperatura tendeu a não linearidade à medida que se aproximava dos limiares máximos e mínimos de desenvolvimento do inseto. Deste modo, provavelmente o modelo não-linear seja o mais adequado para estimar a idade do inseto, fato também observado por Thyssen (2015) em experimentos com *H. segmentaria* e *H. semidiaphana*.

3.5. Conclusões gerais

- A taxa de desenvolvimento expressa pelo tempo (= idade), ganho de massa e de comprimento, assim como a taxa de sobrevivência, sofreram influência das temperaturas alternadas.

- Essas discrepâncias nas taxas de desenvolvimento decorrem das adaptações fisiológicas dos insetos às diferentes condições ambientais. Em uma extrapolação para o campo forense, as observações aqui registradas apontam para um possível erro de estimativa do IPM, se o efeito da temperatura alternada for ignorado.

- Quando considerado o tempo de desenvolvimento de ovo-adulto, foi possível observar que em todos os casos, sob temperaturas alternadas, os imaturos se desenvolveram mais rápido do que aqueles mantidos sob temperatura única e mais baixa, porém mais lentamente do que aqueles que estiveram sob temperatura única e mais alta.

- Os coeficientes de determinação encontrados sob temperaturas alternadas foram muito distintos daqueles estimados para imaturos mantidos sob temperaturas constantes disponíveis na literatura. Esse encontro sugere que a duração do desenvolvimento *vs* temperatura, nos casos de temperatura alternada, não pode ser explicado por este modelo de regressão linear.

- Uma vez que os modelos de GHA propostos para o estudo de desenvolvimento e estimativa da idade de imaturos não podem ser aplicados quando os mesmos são criados sob condições de temperatura alternada, mais estudos são necessários para aprimorar a parte experimental e possibilitar testar outros modelos matemáticos.

4. REFERÊNCIAS

- AMENDT, J., KRETTEK, R. & ZEHNER, R. 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften* 91: 51–65.
- AMES, C. & TURNER, B. 2003. Low temperature episodes in development of blowflies: implications for postmortem interval estimation. *Medical and Veterinary Entomology*, 17:178–186.
- AMORIN, D. S., SILVA, V. C. & BALBI, M. I. P.A. 2002. Estado do conhecimento dos Dípteros neotrópicos, p. 29 – 36. In: Costa, C.; Vanin, S.A.; Lobo, J.M.; Melic, A. (Eds). *Proyecto de Red IberoAmericana de Biogeografía y Entomología Sistemática PrIBES. M3m Monografías Tercer Milênio*, vol. 2. Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA) & Cytel Zaragoza, 329 p.
- ANDERSON, G. S. & WARREN, J. 2003. Effect of Fluctuating Temperatures on the Development of a Forensically Important Blow Fly, *Protophormia terraenovae* (Diptera: Calliphoridae). *Environ. Entomol.* 42(1): 167–172.
- BENECKE, M. 2001. A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International* 120: 2–114.
- BENECKE, M. 2004. Arthropods and Corpses. In: TSOKOS, M. *Forensic Pathology Review Vol II*. New Jersey: Humana Press, v. 2, n. p. 207-240.
- BEYER, J.C., ENOS, W. F. & STAJIC, M. 1980. Drug identification through analysis of maggots. *J. For. Sci.*, 25: 411-412.
- BOUREL, B., TOURNEL, G., HEDOUIN, V., DEVEAUX, M., GOFF, M.L. & GOSSET, D. 2001. Morphine extraction in necrophagous insects remains for determining ante-mortem opiate intoxication. *Forensic Science International*, 120: 127–3.
- BYRD, J. H. & ALLEN, J. C. 2001. Computer modeling of insect growth and its application to forensic entomology. In: Byrd JH, Castner JL (eds) *Forensic Entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. CRC Press, New York, p 41.

- BYRD, J. H. & BUTLER, J. F. 1996. Effects of Temperature on *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) Development. *Journal of medical entomology*, vol 33, no6.
- CAMPOBASSO, C. P., VELLA, G. D. & INTRONA, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization, *Forensic Science International*, 120: 18– 27.
- CARVALHO, C. J. B., RAFAEL, J. A., COURI, M. S. & SILVA, V. C. Diptera. 2012. In: Rafael JA, Melo GAR, Carvalho CJB, Casari SA, Constantino R (eds) *Insetos do Brasil, Diversidade e Taxonomia*. Ribeirão Preto: Ed. Fapeam/Holos, p. 701–743.
- CARVALHO, L. M. L., THYSSEN, P. J., GOFF, M. L. & LINHARES, A. X. 2004. Observations on the succession patterns of necrophagous insects onto a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil. *Aggrawal's Int J Forensic Med Toxicol* 5: 33-39.
- CARVALHO, L. M. L., THYSSEN, P. J. & LINHARES, A. X. 2000. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 135-138.
- CATTS, E. P. & GOFF, M. L. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annual Review of Entomology*, 37: 253–272.
- CROSBY, T., J. WATT., A. KISTEMAKER & P. NELSON. 1986. Entomological identification of the origin of imported Cannabis. *Forensic Science Society* 26: 35–44.
- FARIA, L. S., PASETO, M. L., FRANCO, F. T., PERDIGÃO, V. C., CAPEL, G. & MENDES, J. 2013. Insects Breeding in Pig Carrion in Two Environments of a Rural Area of the State of Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Entomology*, 42:216–222.
- FARIA, L. D. B & GODOY, W. A. C. 2001. Prey choice by facultative predator larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 875-878.
- FERREIRA, M. J. M. 1978. Sinantropia de dípteros muscóideos de Curitiba, Paraná. I. Calliphoridae. *Revista Brasileira de Biologia*, 38: 445–454.
- GOODBROOD, J. R. & GOFF, M. L. 1990. Effects of larval population density on rates of development and interactions between two species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the laboratory culture. *Journal of Medical Entomology*, 27: 338–343.

GREENBERG, B. 1971. Flies and disease, Ecology, classification and biotic association. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 83 (6): 1210- 1214.

GREENBERG, B. 2002. Problems in estimating the time of death. In: GREENBERG, B.; KUNICH, J.C. 2002. *Entomology and the law: flies as forensic indicators*, Cambridge: University Press. 356p.

GREENBERG, B. & POVOLNY, D. 1971. Biomonics onf flies. In Greenberg, *Flies and disease*, Vol. 1. Princeton University Press, Princenton, NJ., pp: 57-83.

GRASSBERGER, M. & REITER, C. 2002. Effect of temperature on development of the forensically important holartic blow fly *Protophormia terranova* (RobineauDesvoidy) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International*, 128: 177-182.

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* 117:75–8.

GRELLA, M. D. & THYSSEN, P. J. 2011. Chave taxonômica interativa para espécies de dípteros califorídeos (Infraordem: Muscomorpha) do Brasil. Disponível em: http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/calliphoridae_brazil> Acesso em 09 de novembro de 2011.

GUIMARÃES, J. H. 1983. Moscas: Biologia, Ecologia e Controle. *Agroquímica*, Ciba Geigy (23) : 20 - 26.

GUIMARÃES, J. H., PRADO, A. P. & LINHARES, A. X. 1978. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Rev. Bras. Entomol* 22: 5360.

GUIMARÃES, J. H. & N, PAPAVERO. 1999. Myiasis in man and Animals in Neotropical Region. São Paulo, pp 97–166.

GUIMARÃES, J. H., PRADO, A. P. & BURALLI, G. M. 1979. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Rev.Bras. Ent.*, 23: 245-255

HADDAD, M. L. & PARRA, J. R. P. 1984. Métodos para estimar os limites técnicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo dos insetos. Piracicaba, Sp. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP (Brasil). 12p.

HADDAD, M. L., PARRA, J. R. P. & MORAES, R. C. B. 1999. Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos. São Paulo: FEALQ. 29 p.

HAGSTRUM, D. W. & HAGSTRUM, W. R. 1970. A Simple Device for Producing Fluctuating Temperatures, with an Evaluation of the Ecological Significance of Fluctuating Temperatures. *Annals of the entomological society of America*. Vol. 63, no. 5.

HIGLEY, L. G. & HASKELL, N. H. 2010. Insect development and forensic entomology, p. 389–406. In: Byrd, J. H.; Castner, J. L. (Eds.). *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Boca Raton, CRC Press, 681 p.

HONĚK, A. 1996a. Geographical variation in thermal requirements for insect development. *Eur J Entomol* 93:303–12.

HOWE, R. W. 1967. Temperature effects on embryonic development in insects. *Pest Infestation Laboratory, Agricultural Research Council, Slough, England*.

IKEMOTO, T. & TAKAI, K. 2000. A new linearized formula for the law of total effective temperature and the evaluation of line-fitting methods with both variables subject to error. *Environ Entomol* 29:671–682.

JAMES, M. T. 1970. Family Calliphoridae. In: *A catalogue of the America South of The United States*, São Paulo, Museu de Zoologia da USP, São Paulo, 102: 88p.

KOSMANN, C., MACEDO, M. P., BARBOSA, T. A. F. & PUJOL-LUZ, J. R. 2011. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) and *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) used to estimate the postmortem interval in a forensic case in Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 55(4): 621–623.

- KRUGER, R. F. & AZEVEDO, R. R. 2013. The influence of temperature and humidity on abundance and richness of Calliphoridae (Diptera). *Iheringia, Sér. Zool.* vol.103 no.2 Porto Alegre June.
- LENKO, K. & N. PAPAVERO. 1996. *Insetos no Folclore*, 2a ed., Plêiade/FAPESP, 468 p.
- LINHARES, A. X. 1981a. Synantropy of Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 25: 189-215.
- MARCHENKO, M. I. 2001. Medicolegal relevance of cadáver entomofauna for the determination of the time of death. *Forensic Science International*, v. 120, p. 89 – 109.
- MORETTI, T.C., THYSSEN, P. J. & SOLIS, D. R. 2009. Breeding of the Scuttle Fly *Megaselia scalaris* in a fish Carcass and Implications for the use in Forensic Entomology (Diptera: Phoridae). *Entomologia Generalis*, 31: 349–353.
- MUMCUOGLU, K., GALLILI, N., RESHEF, A., BRAUNER, P. & GRANT, H. 2004. Use of human lice in forensic entomology. *Journal of Medical Entomology* 41: 803–806.
- OLIVEIRA-COSTA, J. 2011. *Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios*. Campinas, Ed. Millenium, 502p.
- PUJOL-LUZ, J., P. FRANCEZ; A. URURAHY-RODRIGUES & R. CONSTANTINO. 2008. The black-soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera, Stratiomyidae), used to estimate the postmortem interval in a case in Amapá State, Brazil. *Journal of Forensic Sciences* 53: 476–478.
- PUJOL-LUZ, J. R., ARANTES, L. C. & CONSTANTINO, R. 2008a. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). *Revista Brasileira de Entomologia* 52(4): 485-492.
- PUJOL-LUZ, J. R., MARQUES, H., URURAHY-RODRIGUES, A., RAFAEL, J.A., SANTANA, F. H., ARANTES, L. C. & CONSTANTINO, R. 2006. A forensic entomology case from the Amazon rain forest of Brazil. *Journal of Forensic Sciences* 51(5): 1151-1153.

QUEIROZ, M. C. 1996. Temperature requirements of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera, Calliphoridae) under laboratory conditions. Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol.91 no.6 Rio de Janeiro Nov./Dec.

RASHED, S. S., YAMANY, A. S., EL-BASHEIR, Z. M. & ZAHER, E. E. 2015. Influence of Fluctuated Room Conditions on the Development of the Forensically Important *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). British Journal of Medicine & Medical Research 5(11): 1413-1421.

REED, H. B. 1958. A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. The American Midland Naturalist, 59(1): 213–245.

REIBE, S., DOETINCHEM, P. & MADEA, B. 2010. A new simulation-based model for calculating post-mortem intervals using developmental data for *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae).

REIBE, S., DOETINCHEM, P. & MADEA, B. 2010. A new simulation-based model for calculating post-mortem intervals using developmental data for *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae).

REZENDE, F., ALONSO, M. A., SOUZA, C. M., THYSSEN, P. J. & LINHARES, A. X. 2014. Developmental rates of immatures of three *Chrysomya* species (Diptera: Calliphoridae) under the effect of methylphenidate hydrochloride, phenobarbital, and methylphenidate hydrochloride associated with fenobarbital. Parasitology Research 113:1897–1907.

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

SALVIANO, R. J. B. 1996. Sucessão de Diptera Calyptratae em carcaça de *Sus scrofa*, L. MsD Thesis, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 123 pp.

SMITH, K.G.V. 1986. A manual of forensic entomology. University Printing House, Oxford, 205p.

SOUZA, A. M. & LINHARES, A. X. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. Medical and Veterinary Entomology, 11: 8–12.

THOMPSON, F.C. 2008. The Diptera site. The biosystematic database of world Diptera. Nomenclator status statistics. Version 10.5.

THYSSEN, P. J., AQUINO, M. F. K., PURGATO, N. C. S., MARTINS, E., COSTA, A. A., LIMA, C. G. P. & DIAS, C. R. 2018. Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil. *Journal of Forensic Science and Research*, v. 2, p. 1-8.

THYSSEN, J. P. 2005. Caracterização das formas imaturas e determinação das exigências de duas espécies de califorídeos (Diptera) de importância forense. Campinas-SP. Universidade de Estadual de Campinas, São Paulo, Tese de Doutorado, 116p.

THYSSEN, P. J. 2011. Entomologia Forense. In: Marcondes CB (org.) *Entomologia Médica e Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu. p. 129-137.

THYSSEN, P. J., NASSU, M. P., COSTELLA, A. M. & COSTELLA, M. L. 2012. Record of oral myiasis by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): case evidencing negligence in the treatment of incapable. *Parasitology*, v.111, p. 957–959.

THYSSEN, P. J., SOUZA, C. M., SHIMAMOTO, P. M., SALEWSKI, T. B. &

MORETTI, T. C. 2014. Rates of development of immatures of three species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) reared in different types of animal tissues: implications for estimating the post-mortem interval. *Parasitology Research*, 113: 3373–3380.

ULLYETT, G. C. 1950. Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 234: 77–174.

VARGAS & WOOD. Calliphoridae (Blowflies). In Brown, B. V.; Borkent, C.; Cumming, J.M; Wood, D.M.; Woodley, N.E. & M.A. Zumbado. 2009. *Manual of Central American Diptera*. National Research Councilor, Canada. 1297-1304.

WALL, R., FRENCH, N. & MORGAN, K. L. 1992. Effects of temperature on the development and abundance of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Bull. Ent. Res.* 82: 125-131.

WALL, R. & WARNES M. L. 1994. Responses of the sheep blowfly *Lucilia sericata* to carrion odour and carbon dioxide. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 73:239-246.

WELSH, J. H. 1938. Diurnal Rhythms. *The Quartely Review of Biology*, v. 13, p. 123–139.

YEATES, D. K., WIEGMANN, B. M., COURTNEY, G.W., MEIER, R., LAMBKIN, C. & PAPE, T. 2007. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. *Zootaxa*, 1668: 565–590.

ZHANG, Z. Q. 2013. Phylum Arthropoda. In: Zhang, Z. Q. (Ed.) *Animal Biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness* (Addenda 2013). *Zootaxa*, 3703: 1–82.

5. APÊNDICES



Figura 1. Adultos de *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) acondicionados em gaiolas plásticas transparentes e mantidos sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade relativa do ar ($70 \pm 10\%$) e fotofase (12 h).



Figura 2. Câmaras climáticas Eletrolab® EL202/4, utilizadas nos experimentos.

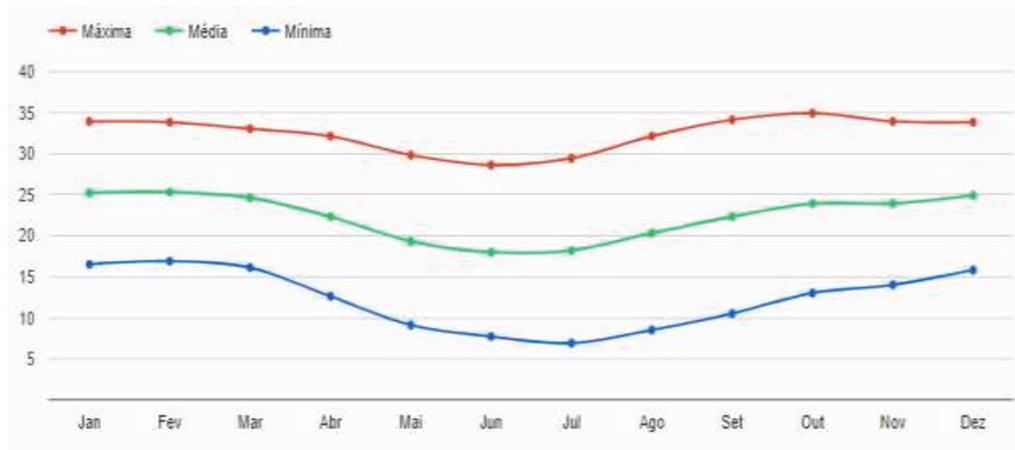


Figura 3. Média mensal da temperatura máxima, temperatura média e temperatura mínima, em graus Celsius (°C), dos dados registrados na Estação Meteorológica do Cepagri/Unicamp, no período de 1990 a 2017. *Fonte: Cepagri*

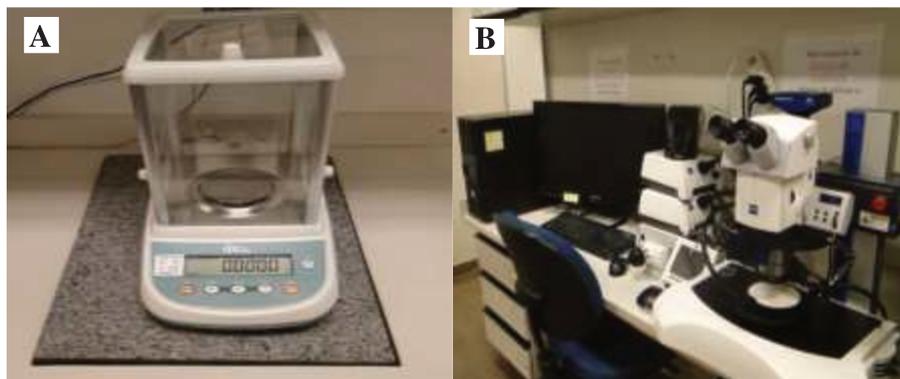


Figura 4. A) Balança analítica utilizada para mensuração da massa corporal dos imaturos de *Chrysomya albiceps*; B) Lupa acoplada a uma câmera utilizada na mensuração do comprimento (mm) dos imaturos e das pupas.

Tabela 1. Pares de temperaturas para avaliação da taxa de desenvolvimento de imaturos de *Chrysomya albiceps* criados sob temperaturas alternadas.

Pares de temperatura	Amplitudes (°C)	Temperaturas (°C) ajustadas a cada 12 h em que:	
		Máximas (± 1)	Mínimas (± 1)
1		35	20
2	15	30	15
3		32,5	22,5
4	10	27,5	17,5
5		30	25
6	5	25	20

Tabela 2. Média da massa (mg) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 20; 35 e 20/35°C, em intervalos de 12 h. Grupo I, em destaque, a amplitude de 15°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	20 ± 1	20/35 ± 1	35 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	4,13±1,02
36	-	2,06±0,33	5,24±0,49
48	0,16±0,25	2,19±0,51	27,86±3,11
60	0,19±0,32	4,76±1,64	62,45±13,59
72	1,22±0,36	12,13±2,18	79,08±4,39
84	1,07±0,77	16,98±4,96	133,05±7,73
96	1,59±0,50	34,32±5,73	62,47±10,93
108	1,48±0,77	33,95±8,15	52,92±8,78
120	7,94±2,12	82,36±4,30	68,71±4,17
132	11,27±2,37	87,67±4,60	59,42±3,52*
144	11,58±2,44	91,72±6,49	
156	10,63±2,07	168,92±5,67	
168	10,08±3,14	30,67±4,56*	
180	20,55±5,13		
192	22,25±3,87		
204	24,20±4,45		
216	35,82±8,40		
228	33,31±2,32*		
ANOVA F= 5,855; p= 0,0029			
Tukey** a b b			

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes ($p < 0,005$).

Tabela 3. Média da massa (mg) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 15; 30 e 15/30°C, em intervalos de 12 h. Grupo II, em destaque, a amplitude de 15°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	15 ± 1	15/30 ± 1	30 ± 1
12	-	-	1,24±0,73
24	-	-	0,99±0,57
36	-	0,14±0,50	9,07±1,49
48	0,18±0,79	0,36±0,24	23,6±3,48
60	0,29±0,10	1,12±0,49	70,19±10,0
72	0,24±1,88	1,76±0,95	70,20±10,06
84	0,34±0,46	4,83±0,63	96,34±5,27
96	0,55±0,098	5,43±0,55	87,39±3,53
108	0,66±0,17	6,76±0,61	65,29±5,13*
120	0,77±0,095	7,83±0,72	
132	1,00±0,022	9,31±3,32	
144	1,34±0,052	15,17±2,14	
156	0,71±0,19	14,61±3,73	
168	1,34±0,47	28,09±4,79	
180	1,76±0,19	28,23±2,60	
192	1,99±0,17	33,85±5,80	
204	4,05±0,49	28,26±4,61	
216	5,17±0,34	31,70±0,77*	
228	5,17±0,38		
240	5,39±0,53		
252	5,58±0,32		
264	6,61±0,56		
276	6,53±0,512		
288	6,69±0,90		
300	11,44±3,53		
312	12,45±2,06		
324	11,98±5,70		
336	12,72±4,98		
348	19,75±4,19		
360	33,15±3,94		
372	36,05±3,04		
384	35,10±7,20		
396	37,66±4,70		
408	44,31±6,08		
420	54,70±7,47		
432	53,28±9,24		
444	59,22±10,55*		
ANOVA	F= 16,34; p< 0,0001		
Tukey**	a	b	a

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes (p< 0,005).

Tabela 4. Média da massa (mg) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 22,5; 32,5 e 22,5/32,5°C, em intervalos de 12 h. Grupo III, em destaque, a amplitude de 10°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	22,5 ± 1	22,5/32,5 ± 1	32,5 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	4,96±0,53
36	0,09±0,70	3,87±1,35	12,56±2,96
48	0,59±0,50	8,25±0,71	48,87±11,65
60	3,07±0,57	22,83±3,20	98,81±6,80
72	4,57±1,43	39,34±7,66	77,99±21,29
84	7,62±1,39	62,41±8,59	108,89±4,14
96	13,34±2,82	76,19±7,51	107,26±13,55
108	37,24±4,60	80,67±11,11	93,88±8,87
120	27,56±6,26	69,74±4,07	67,75±5,94*
132	32,84±6,09	74,36±7,39	
144	72,71±18,44	49,63±5,28*	
156	29,59±3,42		
168	31,33±3,21*		
ANOVA		F= 2,234; p= 0,1076	
Tukey**		a	a

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes ($p < 0,005$).

Tabela 5 . Média da massa (mg) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 17,5; 27,5 e 17,5/27,5°C, em intervalos de 12 h. Grupo IV, em destaque, a amplitude de 10°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	17,5 ± 1	17,5/27,5 ± 1	27,5 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	0,17±0,23
36	0,073±0,15	0,13±0,36	0,44±0,096
48	0,17±0,68	0,28±0,55	1,36±0,35
60	0,26±0,36	0,63±0,18	7,09±1,10
72	0,30±0,10	0,70±0,25	20,37±2,52
84	0,45±1,05	1,73±0,34	33,80±3,81
96	0,57±0,16	3,70±0,78	71,68±5,63
108	1,01±0,17	9,40±1,49	71,11±3,75
120	1,92±0,49	12,58±1,72	79,04±4,95
132	1,87±0,34	25,68±4,15	83,81±6,34
144	2,74±1,06	50,87±6,40	74,80±6,26
156	3,68±1,06	59,39±5,81	74,66±7,08
168	6,02±0,83	78,09±4,42	56,86±5,42*
180	9,20±1,44	73,84±7,69	
192	18,52±3,65	84,77±8,52	
204	33,38±3,81	77,55±4,17	
216	29,42±7,78	78,37±5,89	
228	45,67±7,44	77,48±13,72	
240	38,90±6,03	59,79±4,73*	
252	62,00±6,87		
264	54,04±10,69		
276	56,29±12,44		
288	56,69±7,79		
300	52,59±6,37		
312	57,03±5,00		
324	55,09±6,78*		
ANOVA	F= 3,47; p= 0,03128		
Tukey**	a	a	a

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes ($p < 0,005$).

Tabela 6 . Média da massa (mg) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 25; 30 e 25/30°C, em intervalos de 12 h. Grupo V, em destaque, a amplitude de 5°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	25 ± 1	25/30 ± 1	30 ± 1
12	-	-	1,24±0,73
24	0,55±0,32	0,84±0,20	0,99±0,57
36	2,66±0,82	3,79±1,06	9,07±1,49
48	4,37±1,20	25,49±2,46	23,6±3,48
60	6,68±1,13	24,43±5,66	70,19±10,0
72	10,20±2,60	33,70±2,49	70,20±10,06
84	29,03±2,85	59,70±11,37	96,34±5,27
96	37,59±10,69	76,83±14,4	87,39±3,53
108	67,68±11,15	90,32±8,08	65,29±5,13*
120	79,39±12,87	79,26±2,92	
132	79,72±7,15	72,38±5,90	
144	83,49±20,67	54,45±11,52*	
156	67,76±7,40		
168	59,44±5,79*		
ANOVA	F= 1,22; p= 0,2952		
Tukey**	a	a	a

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes (p < 0,005).

Tabela 7 . Média da massa (mg) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 20; 25 e 20/25°C, em intervalos de 12 h. Grupo VI, em destaque, a amplitude de 5°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	20 ± 1	20/25 ± 1	25 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	0,55±0,32
36	-	-	2,66±0,82
48	0,16±0,25	-	4,37±1,20
60	0,19±0,32	1,17±0,35	6,68±1,13
72	1,22±0,36	1,45±0,17	10,20±2,60
84	1,07±0,77	3,03±0,45	29,03±2,85
96	1,59±0,50	5,43±0,43	37,59±10,69
108	1,48±0,77	4,51±0,88	67,68±11,15
120	7,94±2,12	9,29±2,22	79,39±12,87
132	11,27±2,37	12,12±1,73	79,72±7,15
144	11,58±2,44	14,55±3,33	83,49±20,67
156	10,63±2,07	22,44±5,09	67,76±7,40
168	10,08±3,14	25,64±2,60	59,44±5,79*
180	20,55±5,13	45,54±5,76	
192	22,25±3,87	48,50±8,96	
204	24,20±4,45	52,43±6,36	
216	35,82±8,40	57,28±6,53	
228	33,31±2,32*	61,88±4,12	
240		66,27±8,78	
252		57,63±3,68	
264		57,40±5,22*	
ANOVA	F= 5,838; p= 0,003003		
Tukey**	a	b	b

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes ($p < 0,005$).

Tabela 8. Média do comprimento (mm) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 20; 35 e 20/35°C, em intervalos de 12 h. Grupo I, em destaque, a amplitude de 15°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	20 ± 1	20/35 ± 1	35 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	2,95±0,21
36	-	2,23±0,38	4,81±0,51
48	1,53±0,71	2,73±0,35	11,33±0,73
60	2,58±0,30	6,07±0,71	14,90±1,24
72	3,16±0,37	7,60±1,11	16,21±0,99
84	2,76±0,42	11,39±1,13	15,07±1,54
96	5,01±0,46	8,03±2,19	14,22±1,11
108	5,79±1,13	12,6±1,95	12,68±1,11
120	5,40±0,66	16,25±0,73	13,80±1,76
132	7,59±1,11	14,21±0,72	8,96±0,57*
144	7,38±1,10	14,33±1,03	
156	7,42±0,75	14,54±1,32	
168	8,05±1,10	6,57±0,74*	
180	9,08±1,02		
192	12,15±1,69		
204	8,73±2,52		
216	11,754±1,97		
228	6,45±0,78*		
ANOVA F= 0,2954; p= 0,7443			
Tukey** a a a			

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes ($p < 0,005$).

Tabela 9. Média do comprimento (mm) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 15; 30 e 15/30°C, em intervalos de 12 h. Grupo II, em destaque, a amplitude de 15°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	15 ± 1	15/30 ± 1	30 ± 1
12	-	-	2,28±0,38
24	-	-	3,76±0,48
36	-	2,07±0,31	5,63±0,95
48	1,33±0,19	2,04±0,25	7,83±0,78
60	1,82±0,28	3,66±1,14	15,96±1,65
72	1,83±0,35	2,93±0,33	14,40±1,07
84	2,53±0,16	4,65±1,06	16,43±1,38
96	2,41±0,26	5,01±0,60	15,22±0,74
108	3,02±0,38	5,58±0,52	9,69±0,40*
120	3,08±0,30	6,92±0,64	
132	3,35±0,53	7,61±1,64	
144	3,62±0,47	9,71±1,28	
156	3,64±0,50	9,48±0,74	
168	3,71±0,66	12,00±0,87	
180	4,99±0,40	10,94±0,55	
192	3,56±0,46	12,68±1,12	
204	5,56±0,73	11,70±1,09	
216	6,18±0,25	7,11±0,36*	
228	6,22±0,20		
240	5,93±1,08		
252	6,17±0,83		
264	6,54±0,94		
276	5,54±1,12		
288	6,08±1,03		
300	8,32±1,09		
312	6,44±1,26		
324	7,88±0,71		
336	9,19±1,10		
348	9,91±1,46		
360	11,74±0,44		
372	12,37±0,43		
384	12,40±0,32		
396	12,47±0,79		
408	12,33±0,51		
420	14,03±0,07		
432	12,95±0,84		
444	7,45±0,08*		
ANOVA	F= 69,34; p< 0,0001		
Tukey**	a	b	b

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes (p< 0,005).

Tabela 10. Média do comprimento (mm) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 22,5; 32,5 e 22,5/32,5°C, em intervalos de 12 h. Grupo III, em destaque, a amplitude de 10°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	22,5 ± 1	22,5/32,5 ± 1	32,5 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	4,90±0,66
36	2,68±0,25	4,98±0,87	8,15±1,36
48	3,36±0,53	10,247±1,34	6,59±0,84
60	5,18±1,06	9,43±1,68	13,36±3,10
72	5,95±0,94	13,26±1,11	14,88±1,59
84	6,45±0,91	15,50±0,66	15,46±1,11
96	7,93±0,86	14,71±1,80	16,27±1,29
108	12,85±2,09	14,79±0,79	15,07±1,64
120	11,36±0,98	14,00±0,79	9,61±0,63*
132	11,88±1,05	12,96±1,62	
144	14,44±1,29	8,82±0,38*	
156	9,57±1,72		
168	7,42±0,91*		
ANOVA	F= 2,234; p= 0,1076		
Tukey**	a	a	a

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes ($p < 0,005$).

Tabela 11. Média do comprimento (mm) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 17,5; 27,5 e 17,5/27,5°C, em intervalos de 12 h. Grupo IV, em destaque, a amplitude de 10°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	17,5 ± 1	17,5/27,5 ± 1	27,5 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	1,98±0,14
36	1,67±0,23	2,12±0,18	2,74±0,23
48	2,20±0,18	1,92±0,20	3,85±0,38
60	2,62±0,29	2,46±0,32	4,64±0,44
72	2,35±0,35	2,55±0,48	10,79±0,62
84	2,44±0,39	3,89±0,53	13,98±0,75
96	3,02±0,55	4,89±0,55	15,87±1,05
108	3,28±0,22	7,15±1,03	13,56±0,97
120	4,33±0,33	8,30±1,01	14,87±1,14
132	5,27±0,78	11,04±1,93	14,41±1,12
144	5,78±1,01	14,622±0,96	14,13±1,08
156	6,63±0,57	16,26±0,97	13,96±1,50
168	7,19±0,65	16,54±0,98	9,21±0,62
180	8,71±1,35	15,47±0,82	
192	9,60±0,76	15,79±1,87	
204	10,14±0,81	13,29±0,67	
216	12,96±1,05	15,63±0,71	
228	14,03±1,05	15,28±1,33	
240	13,83±0,75	9,29±0,95*	
252	12,54±0,52		
264	12,01±0,80		
276	14,42±0,72		
288	14,33±1,42		
300	14,39±0,25		
312	10,81±0,63		
324	7,90±0,36*		
ANOVA	F= 9,847; p< 0,0001		
Tukey**	a	a	b

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes (p< 0,005).

Tabela 12. Média do comprimento (mm) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 25; 30 e 25/30C, em intervalos de 12 h. Grupo V, em destaque, a amplitude de 5°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	25 ± 1	25/30 ± 1	30 ± 1
12	-	-	2,28±0,38
24	2,81±0,33	3,02±0,3	3,76±0,48
36	3,37±0,40	5,25±1,11	5,63±0,95
48	7,25±0,61	12,74±1,55	7,83±0,78
60	6,57±1,11	11,17±1,28	15,96±1,65
72	9,02±0,74	13,43±1,10	14,40±1,07
84	13,24±1,30	15,77±0,67	16,43±1,38
96	13,37±1,20	15,39±1,03	15,22±0,74
108	15,84±0,84	16,23±1,28	9,69±0,40*
120	15,88±0,90	12,06±0,64	
132	15,93±0,75	14,91±0,68	
144	16,29±1,49	9,05±0,99*	
156	14,85±1,04		
168	8,92±0,37*		
ANOVA	F= 6,122; p= 0,00227		
Tukey**	a	a	b

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes (p < 0,005).

Tabela 13. Média do comprimento (mm) de larvas de *Chrysomya albiceps* expostas à 20; 25 e 20/25C, em intervalos de 12 h. Grupo VI, em destaque, a amplitude de 5°C.

Tempo (h)	Temperaturas (°C)		
	20 ± 1	20/25 ± 1	25 ± 1
12	-	-	-
24	-	-	2,81±0,33
36	-	-	3,37±0,40
48	1,53±0,71	-	7,25±0,61
60	2,58±0,30	1,96±0,37	6,57±1,11
72	3,16±0,37	3,10±0,54	9,02±0,74
84	2,76±0,42	5,36±0,76	13,24±1,30
96	5,01±0,46	6,09±0,63	13,37±1,20
108	5,79±1,13	6,12±0,40	15,84±0,84
120	5,40±0,66	7,97±1,04	15,88±0,90
132	7,59±1,11	8,93±1,40	15,93±0,75
144	7,38±1,10	11,58±1,57	16,29±1,49
156	7,42±0,75	11,21±0,85	14,85±1,04
168	8,05±1,10	10,93±1,48	8,92±0,37*
180	9,08±1,02	14,66±0,85	
192	12,15±1,69	13,60±1,02	
204	8,73±2,52	13,31±0,69	
216	11,754±1,97	15,83±0,91	
228	6,45±0,78*	14,85±1,00	
240		14,90±1,59	
252		15,32±0,96	
264		8,46±0,44*	
ANOVA			
F= 14,5 / p < 0,0001			
Tukey**			
	a	b	c

* Fase de pupa; ** letras iguais não são significativamente diferentes (p < 0,005).

Tabela 14. Duração de cada etapa (ovo, larva de 1, 2 e 3º estádios e pupa) e do tempo total de desenvolvimento, em h, viabilidade larval (%), taxa de emergência (%), temperatura basal (°C) e constante térmica (K) de *Chrysomya albiceps* submetida a diferentes condições de temperatura. Em negrito, as alternâncias de temperatura em que os imaturos foram submetidos.

	Temperaturas (±1°C)	Tempo de vida (h)					Ovo – Adulto *	Viabilidade larval (%)	Taxa de emergência (%)	Tb	K	
		Ovo	1º estádio	2º estádio	3º estádio	Pupa						
Nas amplitudes de:	20	48±6	48±3	24±6	108±12	192±6	420±6 b	46,0	96,6			
	35	24±6	12±3	12±6	84±12	96±6	228±6 a	66,0	94,3	0,2	833,3	
	20/35	36±6	12±3	12±6	108±12	84±6	252±6 a	45,0	86,7			
	15/30	36±6	48±3	36±6	96±12	96±6	312±6 b	88,0	97,7			
	15	48±6	84±3	156±6	168±12	216±6	672±6 a,b	1,3	50,0	0,7	769,2	
	30	12±6	24±3	24±6	48±12	96±6	204±6 a	51,0	92,1			
	15	22,5	36±6	36±3	24±6	84±12	170±6	314±6 b	34,0	47,1		
		32,5	24±6	12±3	12±6	72±12	96±6	216±6 a	72,0	94,4	0,1	909,1
		22,5/32,5	36±6	12±3	12±6	72±12	144±6	312±6 b	31,0	87,1		
		17,5/27,5	36±6	48±3	36±6	120±12	144±6	384±6 b	89,3	97,7		
		17,5	36±6	84±3	60±6	144±12	216±6	520±6 a	26,6	25,0	0,3	1.111,1
		27,5	24±6	36±3	12±6	96±12	132±6	300±6 b	98,0	72,0		
	10	25	24±6	24±3	24±6	96±12	96±6	264±6 a	70,0	92,8		
		30	12±6	24±3	24±6	48±120	96±6	204±6 a	51,0	92,1	0,1	714,3
		25/30	24±6	24±3	24±6	72±12	96±6	240±6 a	85,0	86,7		
		20/25	60±6	12±3	48±6	144±12	156±6	420±6 b	17,0	82,3		
		20	48±6	48±3	24±6	108±12	192±6	420±6 b	46,0	96,6	0	1.111,1
		25	24±6	24±3	24±6	96±12	96±6	264±6 a	70,0	92,8		
5												

* Letras iguais não são significativamente diferentes ao nível de $p < 0,005$ dentro de cada grupo de amplitude observado.

Figura 5. Taxa de desenvolvimento, em horas, e equações de exigências térmicas de ovo-adulto de *Chrysomya albiceps* levando em conta os diferentes pares de temperaturas constantes e em alternância estudados.

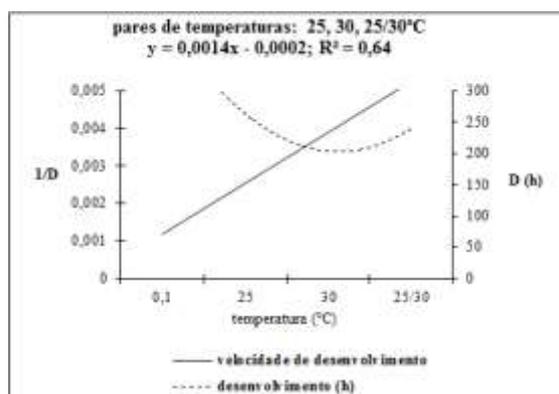
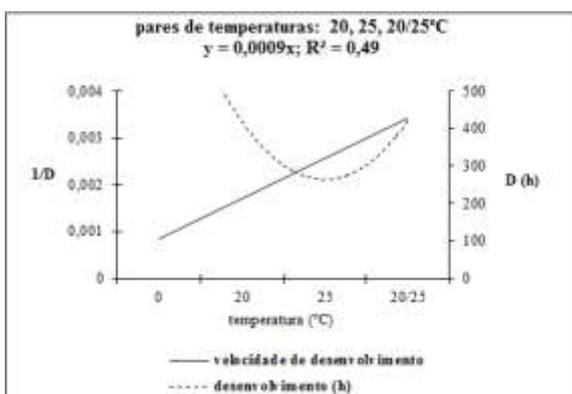
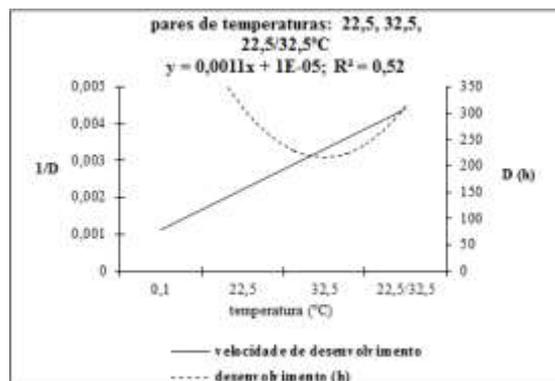
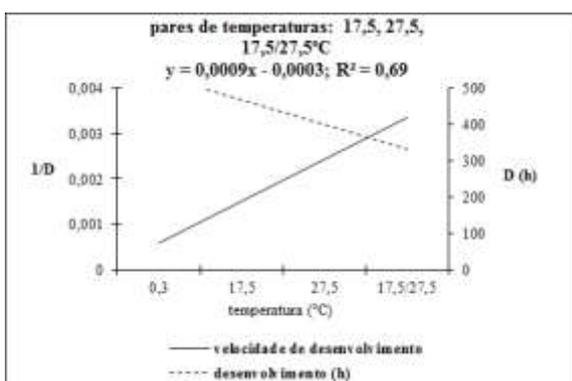
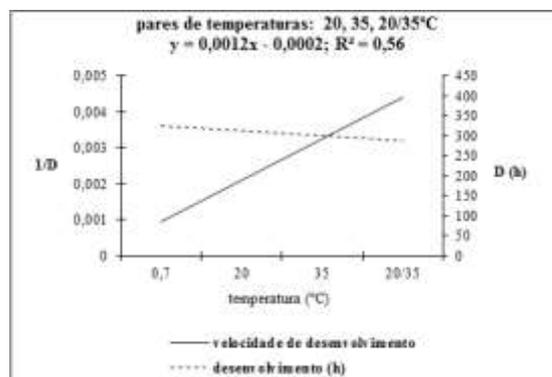
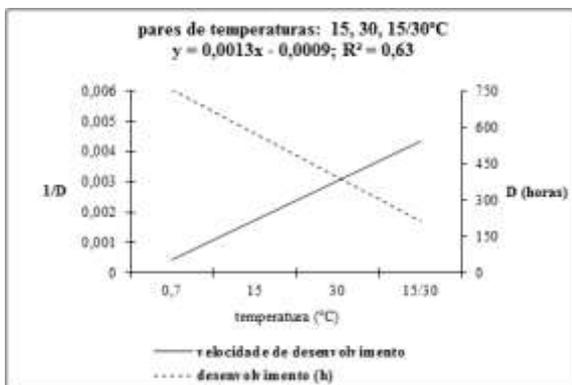
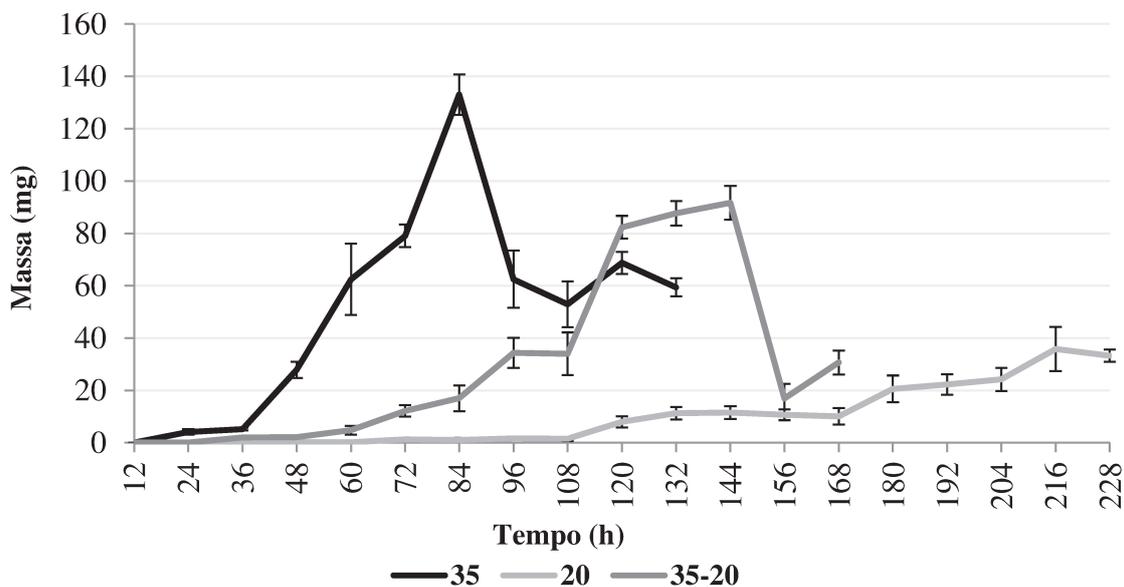
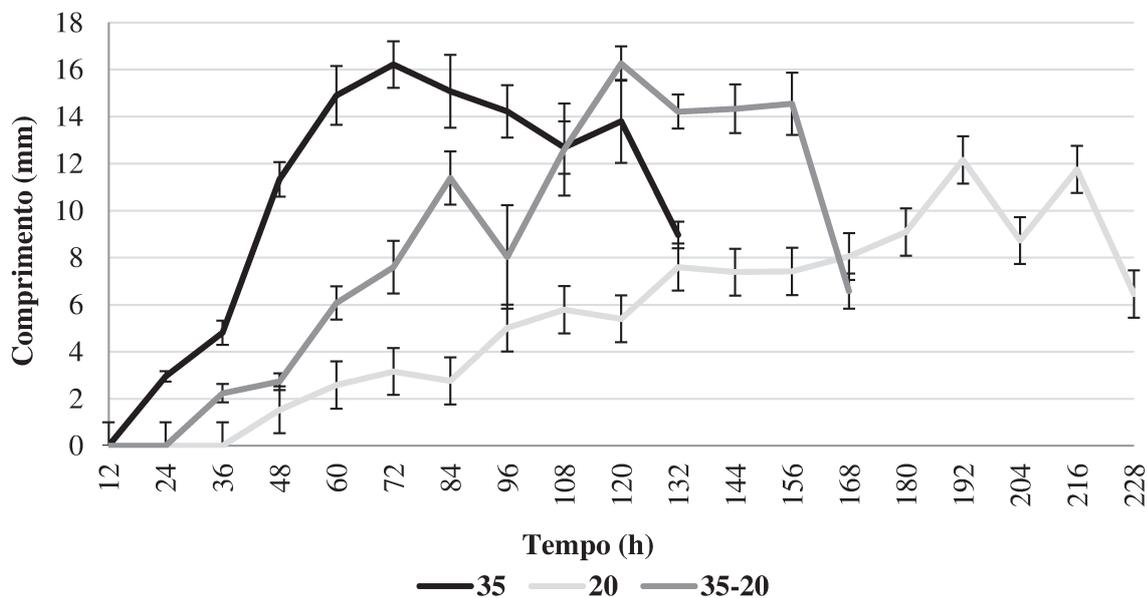


Figura 6. Variação da massa (mg) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 35; 20 e 35/20°C.



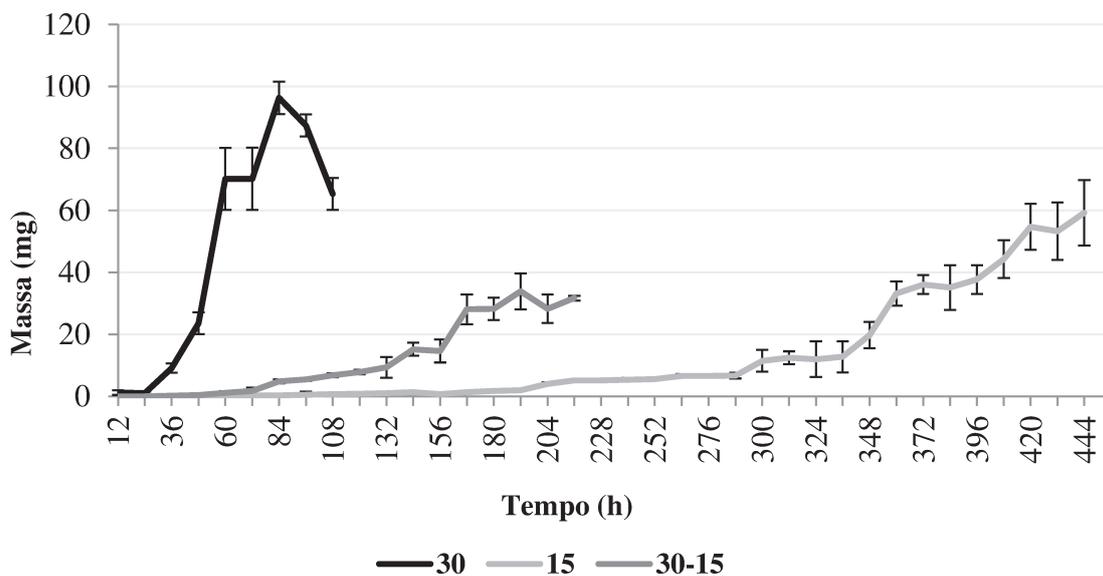
Para: [35°C] $y = 0,0076x + 0,0048$; $R^2 = 0,4096$; [20°C] $y = 0,0019x - 0,0088$; $R^2 = 0,8331$; [35-20°C] $y = 0,0091x - 0,0276$; $R^2 = 0,5842$

Figura 7. Variação do comprimento (mm) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 35; 20 e 35/20°C.



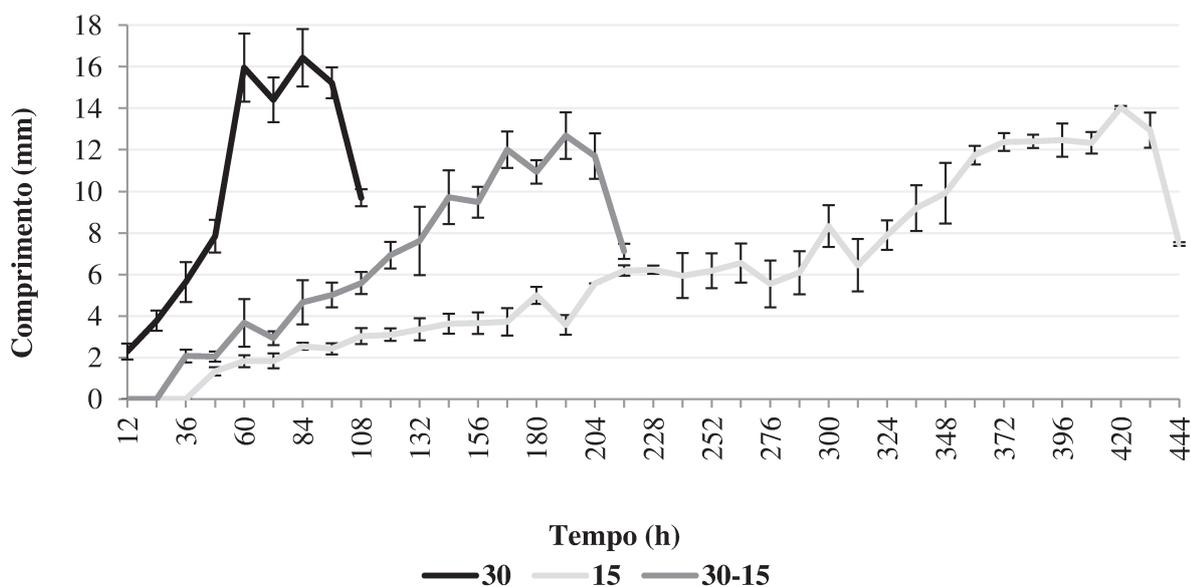
Para: [35°C] $y = 1,0712x + 4,024$; $R^2 = 0,41$; [20°C] $y = 0,6134x - 0,614$; $R^2 = 0,84$; [35-20°C] $y = 1,0929x + 0,1317$; $R^2 = 0,65$

Figura 8. Variação da massa (mg) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 30; 15 e 30/15°C.



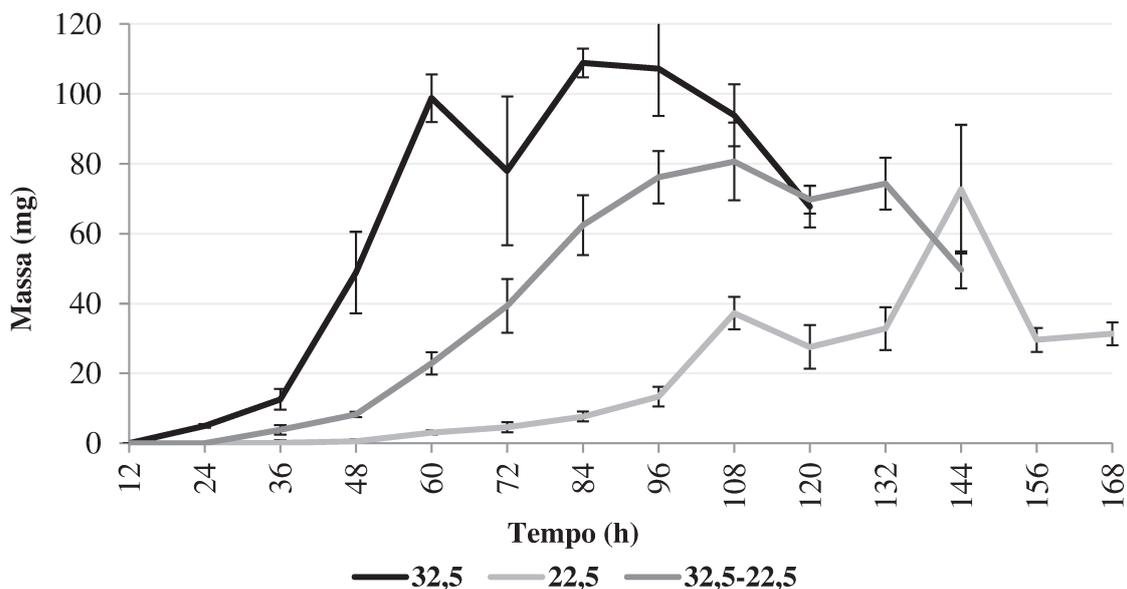
Para: [30°C] $y = 0,0123x - 0,0142$; $R^2 = 0,77$; [15°C] $y = 0,0014x - 0,0135$
 $R^2 = 0,71$; [30-15°C] $y = 0,0017x - 0,0054$; $R^2 = 0,60$

Figura 9. Variação do comprimento (mm) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 30; 15 e 30/15°C.



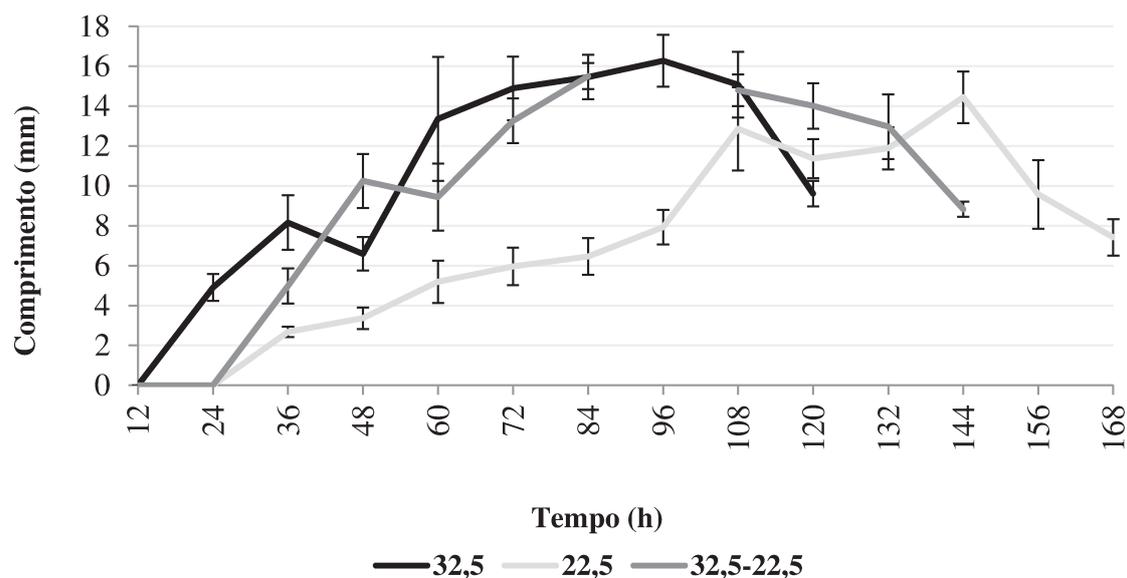
Para: [30°C] $y = 1,5368x + 2,4545$; $R^2 = 0,58$; [15°C] $y = 0,3516x - 0,6064$; $R^2 = 0,89$;
[30-15°C] $y = 0,7097x - 0,4014$; $R^2 = 0,85$

Figura 10. Variação da massa (mg) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 32,5; 22,5 e 32,5/22,5°C.



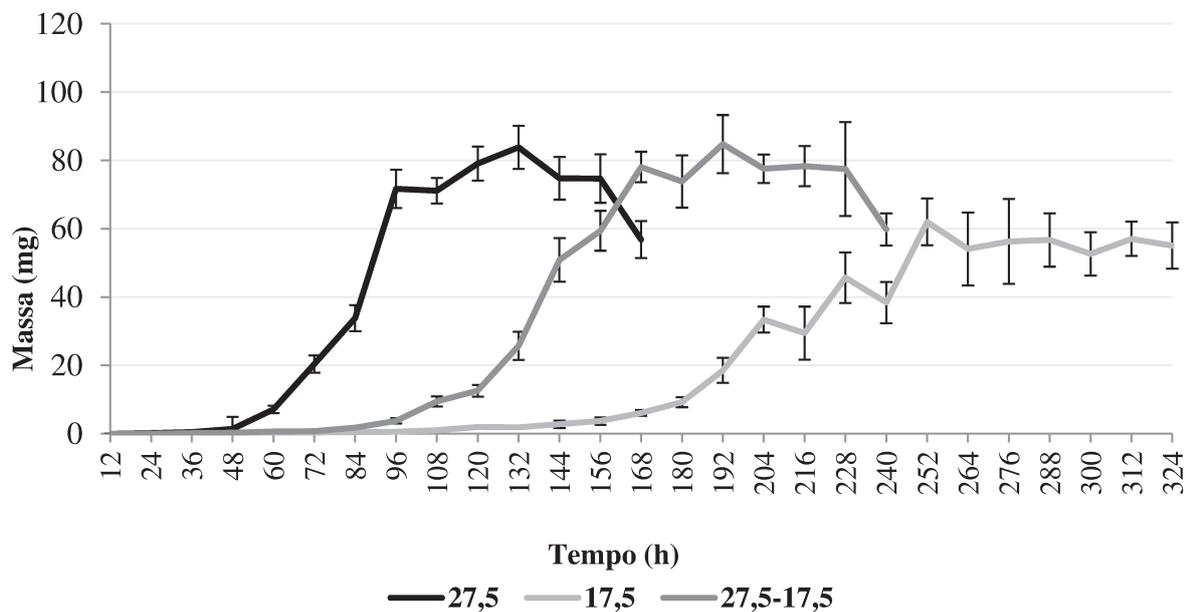
Para: [32,5°C] $y = 0,0113x - 0,0000005$; $R^2 = 0,63$; [22,5°C] $y = 0,004x - 0,0117$; $R^2 = 0,64$; [32,5-22,5°C] $y = 0,0078x - 0,0099$; $R^2 = 0,75$

Figura 11. Variação do comprimento (mm) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 32,5; 22,5 e 32,5/22,5°C.



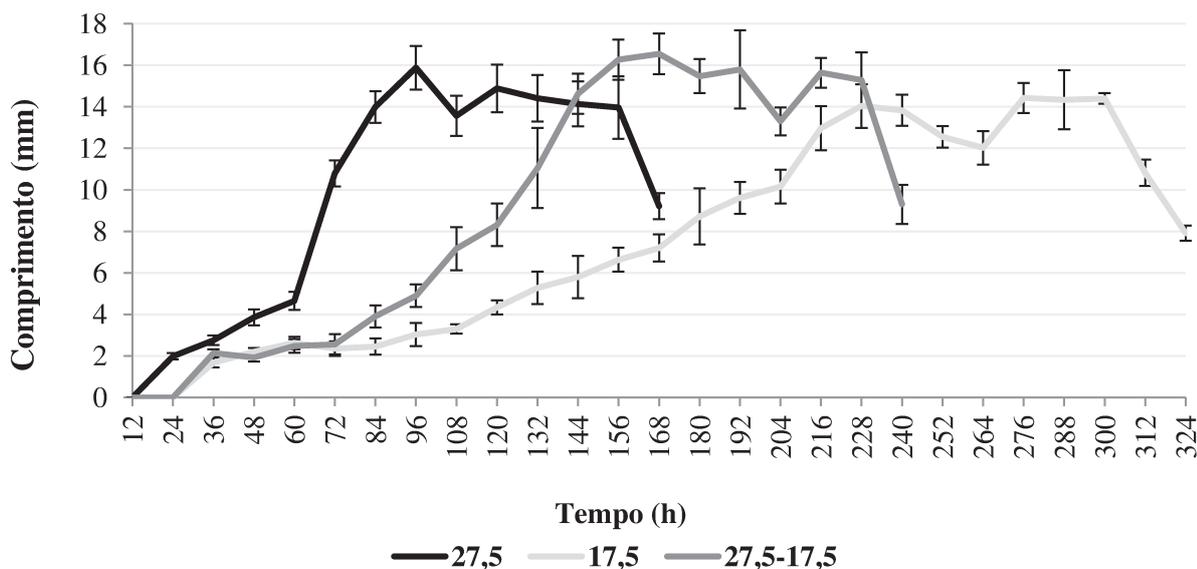
Para: [32,5°C] $y = 1,3724x + 2,8846$; $R^2 = 0,58$; [22,5°C] $y = 0,9239x + 0,1511$; $R^2 = 0,71$; [32,5-22,5°C] $y = 1,0743x + 2,6206$; $R^2 = 0,52$

Figura 12. Variação da massa (mg) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 27,5; 17,5 e 27,5/17,5°C.



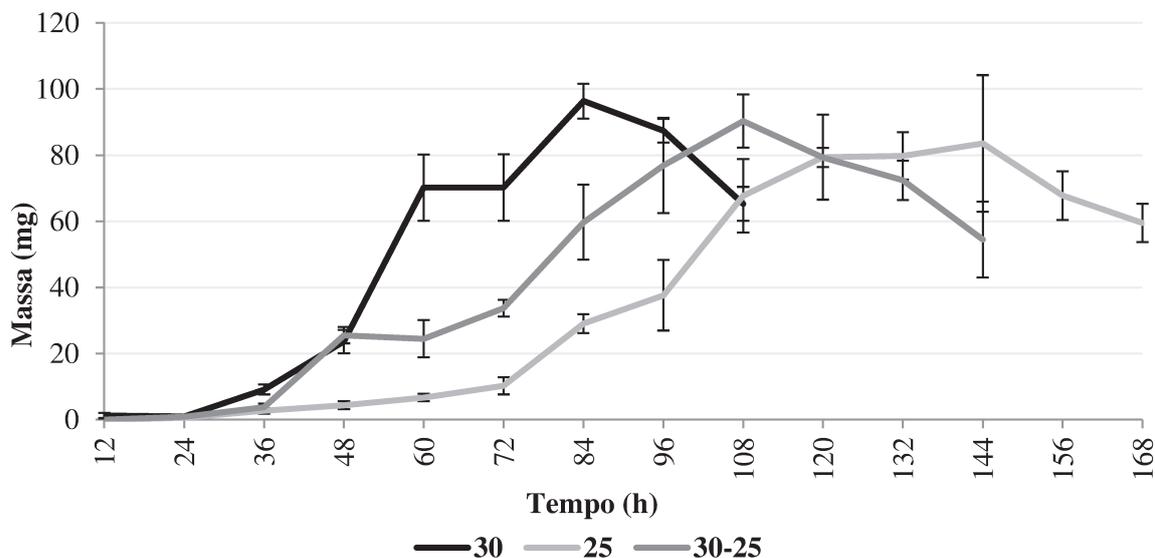
Para: [27,5°C] $y = 0,0074x - 0,0142$; $R^2 = 0,78$; [17,5°C] $y = 0,0028x - 0,0176$; $R^2 = 0,84$; [27,5-17,5°C] $y = 0,0054x - 0,0218$; $R^2 = 0,83$

Figura 13. Variação do comprimento (mm) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 27,5; 17,5 e 27,5/17,5°C.



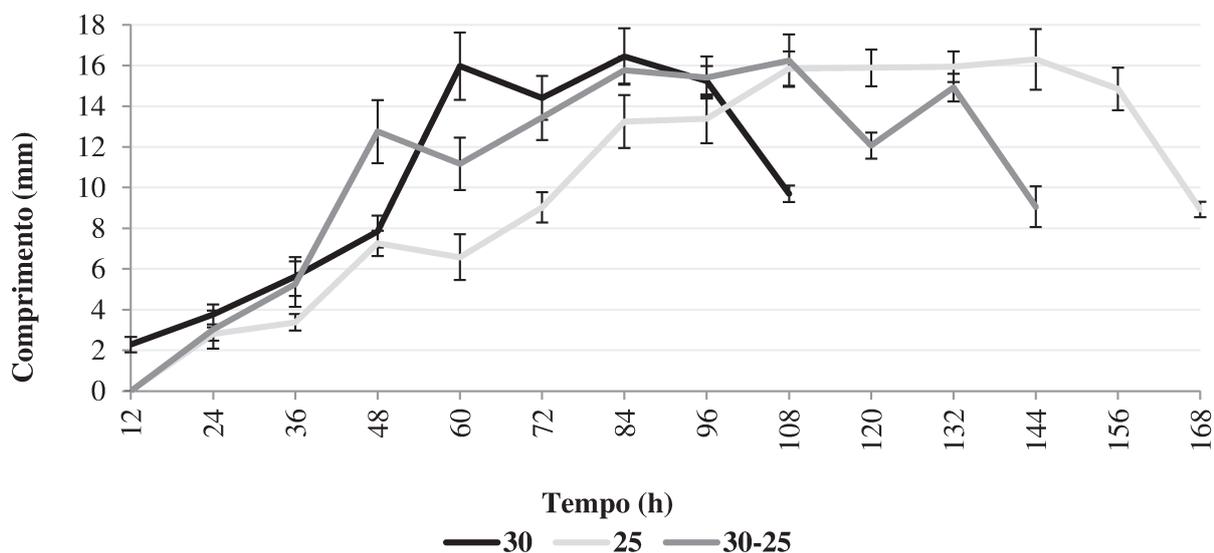
Para: [27,5°C] $y = 1,0753x + 1,51$; $R^2 = 0,62$; [17,5°C] $y = 0,5649x - 0,4068$; $R^2 = 0,83$; [27,5-17,5°C] $y = 0,9175x - 0,8054$; $R^2 = 0,77$

Figura 14. Variação da massa (mg) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 30; 25 e 30/25°C.



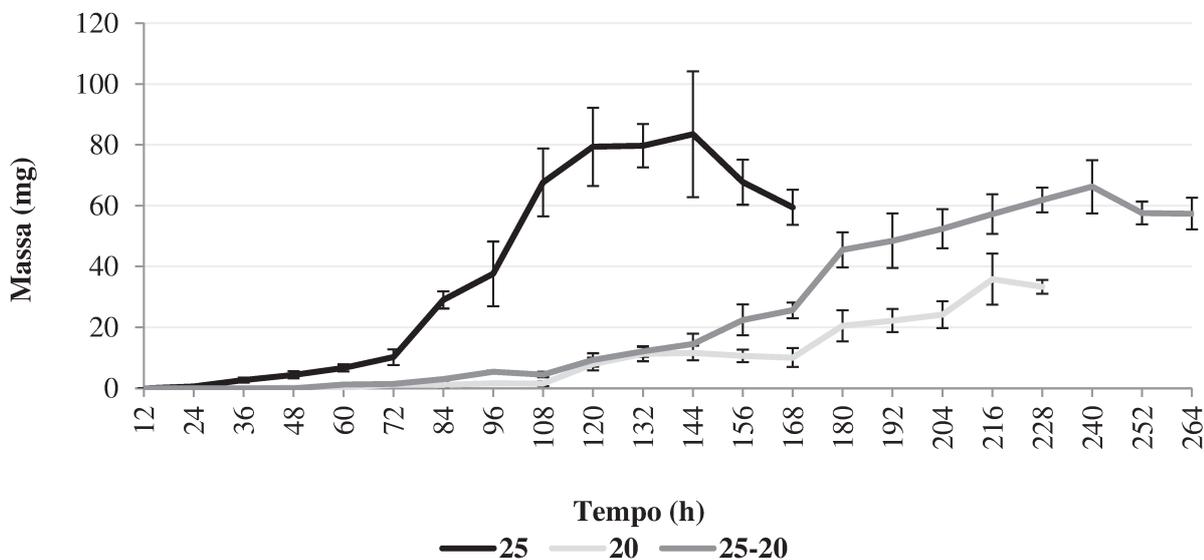
Para: [30°C] $y = 0,0123x - 0,0142$; $R^2 = 0,77$; [25°C] $y = 0,0073x - 0,0168$; $R^2 = 0,81$;
 [30-25°C] $y = 0,008x - 0,0084$; $R^2 = 0,76$

Figura 15. Variação do comprimento (mm) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 30; 25 e 30/25°C.



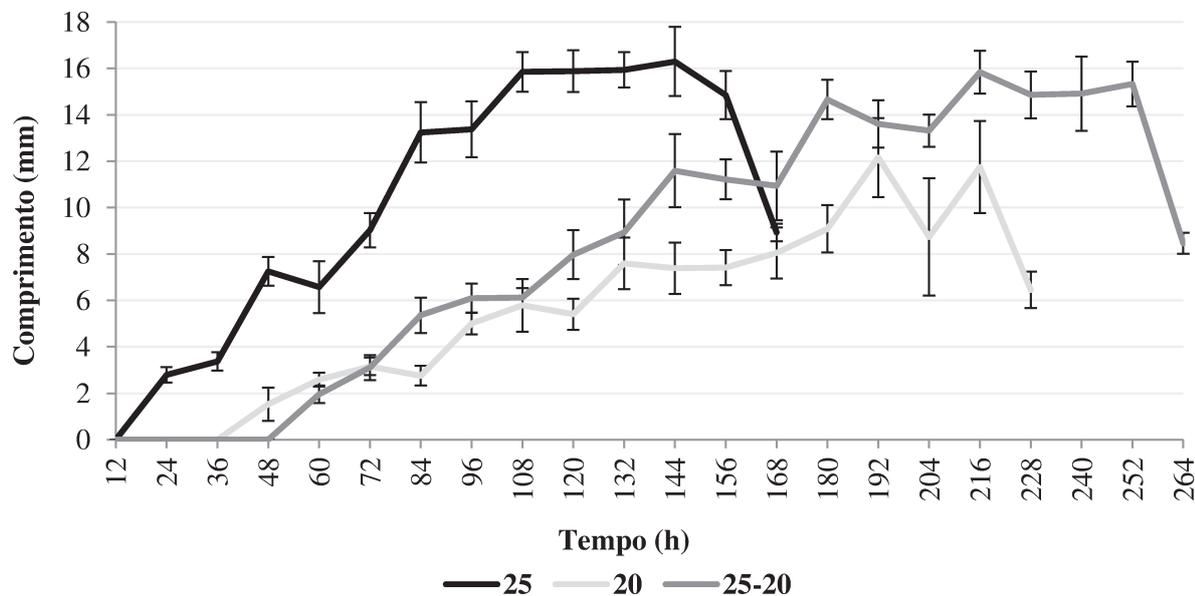
Para: [30°C] $y = 1,5368x + 2,4545$; $R^2 = 0,58$; [25°C] $y = 1,0831x + 2,1185$; $R^2 = 0,66$;
 [30-25°C] $y = 1,0025x + 4,2401$; $R^2 = 0,45$

Figura 16. Variação do massa (mg) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 25; 20 e 25/20°C.



Para: [25°C] $y = 0,0073x - 0,0168$; $R^2 = 0,81$; [20°C] $y = 0,0019x - 0,0088$; $R^2 = 0,83$;
 [25-20°C] $y = 0,0037x - 0,0173$; $R^2 = 0,89$

Figura 17. Variação do comprimento (mm) larval, a cada 12 h, e equações de desenvolvimento de larvas de *Chrysomya albiceps* mantidas em 25; 20 e 25/20°C



Para: [25°C] $y = 1,0831x + 2,1185$; $R^2 = 0,66$; [20°C] $y = 0,6134x - 0,614$; $R^2 = 0,84$;
 [25-20°C] $y = 0,7953x - 0,7691$; $R^2 = 0,83$

6. ANEXOS

Anexo 1. Declaração de bioética e biossegurança.



COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
Universidade Estadual de Campinas
Caixa Postal 6109. 13083-970, Campinas, SP, Brasil
Fone (19) 3521-6378. email: cpgib@unicamp.br



DECLARAÇÃO

Em observância ao **§5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15**, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Dissertação de Mestrado, intitulada "**Taxa de desenvolvimento e exigências térmicas de *Chrysomya albiceps* e *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) criadas sob alternância de temperaturas .**", desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: Thamiris Gomes Smania
Nome do(a) aluno(a): Thamiris Gomes Smania

Profª Drª Patricia J. Thyssen
PPG Biologia Animal - IB - Unicamp
Matricula 306923

Assinatura: Patricia J. Thyssen
Nome do(a) orientador(a): Profª. Drª. Patricia Jacqueline Thyssen

Data: 28/02/2018

Anexo 2. Declaração de direito autoral.**Declaração**

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **TAXA DE DESENVOLVIMENTO E EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DE CHRYSOMYA ALBICEPS (INSECTA, DIPTERA, CALLIPHORIDAE) SOB ALTERNÂNCIA DE TEMPERATURAS**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 09 de outubro de 2019

Assinatura : Thamiris Gomes Smania
Nome do(a) autor(a): **Thamiris Gomes Smania**
RG n.º 33.581.772-5 SSP/SP

Assinatura : 
Nome do(a) orientador(a): **Patricia Jacqueline Thyssen**
RG n.º 22.771.091-5 SSP/SP