

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS Instituto de Biologia

ALINE MARRARA DO PRADO

Caracterização morfológica e chaves dicotômica e interativa para larvas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea) de importância forense

Morphological characterization and dichotomous and interactive keys for first and third instars larvae of Calliphoridae species (Insecta, Diptera, Oestroidea) of forensic importance

> CAMPINAS 2023

ALINE MARRARA DO PRADO

Caracterização morfológica e chaves dicotômica e interativa para larvas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea) de importância forense

Morphological characterization and dichotomous and interactive keys for first and third instars larvae of Calliphoridae species (Insecta, Diptera, Oestroidea) of forensic importance

> 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.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. PATRÍCIA JACQUELINE THYSSEN

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA ALINE MARRARA DO PRADO E ORIENTADA PELA PATRÍCIA JACQUELINE THYSSEN

CAMPINAS

2023

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

Prado, Aline Marrara, 1992-

P882c Caracterização morfológica e chaves dicotômica e interativa para larvas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea) de importância forense / Aline Marrara Prado. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

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

1. Insetos necrófagos. 2. Inseto - Larva. 3. Diptero - Classificação. 4. Intervalo pós-morte. 5. Entomologia forense. I. Thyssen, Patrícia Jacqueline, 1973-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Morphological characterization and dichotomous and interactive keys for first and third instars larvae of Calliphoridae species (Insecta, Diptera, Oestroidea) of forensic importance Palavras-chave em inglês: Carrion insects Insects - Larvae Diptera - Classification Post-mortem interval

Forensic entomology

Área de concentração: Relações Antrópicas, Meio Ambiente e Parasitologia **Titulação:** Mestra em Biologia Animal

Banca examinadora:

Patrícia Jacqueline Thyssen [Orientador]

Carolina Reigada Montoya

João Vasconcellos Neto

Data de defesa: 15-12-2022

Programa de Pós-Graduação: Biologia Animal

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a) - ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0003-3843-4974

⁻ Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/1391215749965916

Campinas, 15 de Dezembro de 2022

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.(a) Dr.(a). Patrícia Jacqueline Thyssen

Dr.(a) Carolina Reigada Montoya

Prof.(a) Dr(a). João Vasconcellos Neto

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

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa de Pós Graduação da Biologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas

DEDICATÓRIA

À minha família, amigos e todos que me acompanharam e me apoiaram nesta jornada

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu gostaria de agradecer aos meus pais Wilson e Jussara que sempre me escutaram, me apoiaram e me incentivaram a chegar até aqui, nunca me deixando desistir nem por um segundo. Sei o quanto vocês se esforçaram para que eu pudesse ter acesso à uma universidade e para que eu conseguisse fazer o curso que eu queria e ainda seguir na área acadêmica. Obrigada por sempre me perguntarem sobre as minhas apresentações, pesquisas e dia-a-dia no laboratório. Obrigada por se orgulharem de mim, me apoiarem em todos os momentos (meus altos e baixos) e por estarem sempre ao meu lado, eu amo muito vocês, sem vocês eu não teria ido tão longe. Obrigada por todo o amor de vocês. E por vocês continuarei seguindo em frente e fazendo o que gosto que é o ensino e a pesquisa.

Agradeço também aos meus tios, Marco e Vana por me apoiarem, se orgulharem de mim e estarem sempre comigo, curiosos para saber o que eu tenho feito e o que fazemos com os insetos. Amo vocês.

Agradeço à minha orientadora, Patrícia, por ter me acolhido em seu laboratório e na universidade desde o meu ensino médio, quando eu tive meu primeiro contato com a pesquisa, no Ciência e Arte nas Férias e onde eu construí a minha primeira chave de identificação usando insetos de borracha! Desde então, tomei gosto por essa área e quando entrei para a universidade, ingressando no curso de Ciências Biológicas, o primeiro lugar que eu retornei foi para o Laboratório de Entomologia Integrativa para fazer a minha IC com a minha atual orientadora. Obrigada Patrícia por me acolher com tanto carinho e aceitar ser a minha orientadora. Obrigada pelas diversas oportunidades, pelo incentivo, preocupações, apoio e "puxões de orelha", porque sei que sem esses "puxões" eu não teria crescido tanto. Muito obrigada pela sua amizade e por todos os ensinamentos, levarei eles no meu coração. Obrigada por nos ajudar a ir cada vez mais longe, sem seu apoio também, não estaria aqui.

À minha querida e grande amiga, Laura e sua mãe Jacke, por tantos anos de amizade e cumplicidade – mais de 20 anos até aqui – e por sempre estarem ao meu lado, me perguntando como estava o mestrado e por torcerem por mim em cada etapa. Obrigada pelos passeios, jogos e risadas e por sempre estarem comigo nos meus melhores e piores momentos e me dizendo que eu era capaz e que ia dar tudo certo. Obrigada por me ajudar a levantar sempre que eu caía, obrigada por ser a minha amiga mais querida, Laura.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Entomologia Integrativa, Ana, Andréia, Bárbara, Gabi Zampim, Gabimol, Gisele, Julia, Ken, Letícia (mesmo lá da Eslovênia), Luis, Lucas, Maicon, Marcela, Marcelo, Matheus, Natane, Thamiris, Taís, Tacilda (Tata) e Vinicius, pela ciência e pesquisa que desenvolvemos todos juntos, pelas coletas, viagens, pelas risadas, cafezinhos e festas. Estendo meus agradecimentos aos professores e colegas de laboratórios do departamento de biologia animal, pelos ensinamentos e pelos alegres cumprimentos de "Bom dia!" pela manhã.

Agradeço também aos meus professores e tantas outras pessoas que fazem e fizeram parte da minha vida, as quais seriam necessárias inúmeras páginas para lista-las. Obrigada pelos aprendizados que levarei para toda a vida.

O presente estudo foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo número 133090/2019-1.

RESUMO

Calliphoridae é uma família de dípteros (Insecta, Diptera, Oestroidea) com mais de 1.500 espécies conhecidas e distribuídas mundialmente, das quais cerca de 70 e 20 têm ocorrência registrada para a região Neotropical e Brasil, respectivamente. A maioria das espécies tem hábito necrófago, por esta razão seus imaturos são frequentemente encontrados em corpos em decomposição. Dados biológicos e ecológicos de califorídeos têm sido usados, dentro do escopo forense, para auxiliar na estimativa do intervalo pós-morte. No entanto, para acessar tais dados se faz necessária a correta identificação das espécies. Comumente, a identificação de espécimes imaturos é feita por meio de comparações com imagens ou a partir de descrições e chaves de identificação disponíveis na literatura. A grande variação intraespecífica e pouca variação interespecífica torna a identificação dos imaturos mais laboriosa. Adicionalmente, a inexistência ou escassez de descrições, chaves e alternativas para identificação para algumas fases de desenvolvimento e espécies também contribuem para ampliar esse impedimento taxonômico. Levando isso em conta, neste estudo objetivou-se descrever ou redescrever, fotodocumentar e ilustrar os caracteres anatômicos de larvas de primeiro e terceiro estádio de califorídeos dos gêneros Calliphora, Chrysomya, Cochliomvia, Hemilucilia, Lucilia, Paralucilia e Sarconesia de importância forense, especialmente para a região Neotropical. Visando tornar a identificação mais acessível também foram elaboradas chaves tradicionais (dicotômicas) e de múltiplo acesso e interativas. Larvas foram obtidas a partir de colônias de moscas adultas mantidas em laboratório, coletadas no campo ou parasitando vertebrados. Caracteres anatômicos internos, como o cefaloesqueleto, e externos como o tegumento, espinhos, papilas e espiráculos foram observados e fotografados por microscopia comum e por microscopia de varredura. Matrizes de caracteres versus espécies foram construídas utilizando os softwares Mesquite® e LUCID®. Descrições para larvas de primeiro e terceiro estádios de *Calliphora* sp. são apresentadas pela primeira vez. Na chave dicotômica e na chave interativa para larvas de primeiro estádio foram listados 13/36 e 18/44 caracteres/estados de caracteres, respectivamente, enquanto que para terceiro estádio foram listados 27/55 e 26/70 caracteres/estados de caracteres, respectivamente. As chaves de múltiplo acesso e interativas estão disponíveis na rede mundial de computadores nos idiomas português e inglês. Neste estudo também estão sendo apresentadas pela primeira vez, chaves para larvas de primeiro estádio de Calliphoridae neotropicais de importância forense, assim como a primeira chave interativa para larvas de primeiro e terceiro estádios. Espera-se que as descrições, diagnoses e chaves disponíveis possam contribuir para minimizar o impedimento taxonômico de espécies de importância forense neotropicais.

Palavras-chaves: Moscas necrófagas; Larvas; Taxonomia; Intervalo pós-morte; Entomologia forense.

ABSTRACT

Calliphoridae is a family of Diptera (Insecta, Diptera, Oestroidea) with more than 1,500 species known and distributed worldwide, of which about 70 and 20 are registered in the Neotropical region and Brazil, respectively. Most species have a scavenger habit, for this reason, their immatures are often found in decomposing bodies. Biological and ecological data from calliphorids have been used, within the scope of forensics, to assist in the estimating of the postmortem interval. However, to access such data it is necessary to correctly identify the species. Commonly, the identification of immature specimens is done through comparisons with images or from descriptions and identification keys available in the literature. The large intraspecific variation and little interspecific variation make the identification of the immatures more laborious. Additionally, the inexistence or scarcity of descriptions, keys, and alternatives for identification for some stages of development and species also contribute increasing these taxonomic impediment. Taking this into account, this study aimed to describe or redescribe, photo document and illustrate the anatomical characters of first and third instars larvae of calliphorids of the genera Calliphora, Chrysomya, Cochliomyia, Hemilucilia, Lucilia, Paralucilia and Sarconesia of forensic importance, especially for the Neotropical region. In order to make identification more accessible, traditional (dichotomous) and multiple access and interactive keys were also developed. Larvae were obtained from colonies of adult flies kept in the laboratory, collected in the field, or parasitizing vertebrates. Internal anatomical characters, such as the cephaloskeleton, and external, such as the integument, spines, papillae, and spiracles were observed and photographed by ordinary and scanning microscopy. Character versus species matrices were constructed using MesquiteTM and LUCIDTM software. Descriptions for the first and third instar larvae of Calliphora sp. are presented for the first time. In the dichotomous key and in the interactive key for first instar larvae, 13/36 and 18/44 characters/character states were listed, respectively, while for third instar larvae, 27/55 and 26/70 characters/character states were listed, respectively. The multiple access and interactive keys are available on the World Wide Web in Portuguese and English. In this study, keys for first instar larvae of Neotropical Calliphoridae of forensic importance are also being presented for the first time, as well as the first interactive key for first and third instar larvae. It is expected that the available descriptions, diagnoses, and keys can contribute to minimizing the taxonomic impediment of Neotropical forensically important species.

Keywords: Necrophagous Flies; Larvae; Taxonomy; Post-mortem interval; Forensic entomology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I

Figura 1	Caracteres anatômicos de larvas de terceiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] segmentos corporais, espinulação e o espiráculo respiratório anterior (ampliado no inset), vista lateral; [B] pseudocéfalo, vista ventral; [C] e [E] segmentos corporais e espinulação, vista ventral e dorsal, respectivamente; [D] divisão anal; [F] espiráculos respiratórios posteriores; [G] e [H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1–T3= segmentos torácicos; A1–A7= segmentos abdominais; DA= divisão anal; CLR= cinturão lateral de rastejamento; CVR= cinturão ventral de rastejamento; BA= banda de espinhos anterior; BP= banda de espinhos posterior; AI= área interbandas; an= complexo antenal; pm= palpo maxilar; mf= máscara facial; co= cavidade oral; EP= espiráculo posterior; P1–P3= papilas dorsais; P4–P7= papilas ventrais; AA= almofada anal; PA= papila anal; pa= poro anal; FE= fenda espiracular; P= peritrema; b= botão espiracular; GO= gancho oral; ELA= esclerito labial anterior; ELP= esclerito labial posterior; ED= esclerito dental; BP= barra parastomal; DO= depressão óptica; PD= ponte dorsal; PV= placa vertical; HP= hipofaringe; EI= esclerito intermediário; CD= corno dorsal; JV= janela ventral; CV= corno ventral	77
Figura 2	Larva de terceiro estádio de <i>Calliphora</i> sp. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]–[G] almofada anal e microtubérculos, vista posterior, lateral e dorsal, respectivamente; [H]–[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos; mi= microtubérculos; EO= esclerito oral acessório	78
Figura 3	Larva de terceiro estádio de <i>Chrysomya albiceps</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal e tubérculos duplos laterais nos segmentos abdominais (ampliado no inset); [D] divisão anal; [E] tubérculo e placas do segmento A5; [F]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]–[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos; Tb= tubérculos	79
Figura 4	Larva de terceiro estádio de <i>Chrysomya megacephala</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior, respectivamente; [F]– [H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente, e variações do esclerito oral acessório (ver no inset). Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos; EO= esclerito oral acessório	80
Figura 5	Larva de terceiro estádio de <i>Chrysomya putoria</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E] segmentos A2–A4, vista dorsal, mostrando as diferenças entre cerdas e protuberâncias (com maior aumento no inset); [F]–[G] almofada anal, vista	

	dorsal e posterior, respectivamente; [H]–[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos; Ce= cerdas; Pt= protuberância	81
Figura 6	Larva de terceiro estádio de <i>Cochliomyia hominivorax</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] A5–A7 e divisão anal com traquéias respiratórias pigmentadas; [E] divisão anal; [F]– [G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]–[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: $Pc=$ pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; A5–A7= quinto ao sétimo segmentos abdominais; DA= divisão anal; esp, espinhos; Tr= traquéias respiratórias principais; Pe= pigmentação externa do corno dorsal	82
Figura 7	Larva de terceiro estádio de <i>Cochliomyia macellaria</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal dos segmentos larvais; [D] divisão anal; [E]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]–[H] cefaloesqueleto, vistal lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos	83
Figura 8	Larva de terceiro estádio de <i>Lucilia cuprina</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]–[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: $Pc=$ pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; $esp=$ espinhos	84
Figura 9	Larva de terceiro estádio de <i>Lucilia eximia</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]-[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos	85
Figura 10	Larva de terceiro estádio de <i>Hemilucilia semidiaphana</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista posterior; [C] vista dorsal; [D] estrias do tegumento do A5; [E] divisão anal; [F]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]–[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos	86
Figura 11	Larva de terceiro estádio de <i>Hemilucilia segmentaria</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] estrias do tegumento do A5; [E] divisão anal; [F]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]–[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos	87
Figura 12	Larva de terceiro estádio de <i>Paralucilia fulvinota</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]–[H] cefaloesqueleto, vista dorsal e ventral, respectivamente, e variações do esclerito oral acessório (ver no inset). Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos	88

Figura 13	Larva de terceiro estádio de <i>Sarconesia chlorogaster</i> . Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]–[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]–[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos	89
Figura 14	Região anterior de uma larva de terceiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Em: [A] pseudocéfalo; [B] lobo do pseudocéfalo e em detalhe o complexo antenal e o palpo maxilar com suas sensilas. Abreviaturas: an = complexo antenal; pm = palpo maxilar; co = cristas orais; sb = sensilas basicônicas; sc = sensilas celocônicas	90
Figura 15	Divisão anal de larvas de terceiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] <i>Calliphora</i> sp.; [B] <i>Chrysomya albiceps</i> ; [C] <i>Chrysomya megacephala</i> ; [D] <i>Chrysomya putoria</i> ; [E] <i>Cochliomyia</i> <i>hominivorax</i> ; [F] <i>Cochliomyia macellaria</i> . Abreviaturas: EP = espiráculo posterior; P1–P3 = papilas dorsais; P4–P6 = papilas ventrais	91
Figura 16	Divisão anal de larvas de terceiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] <i>Lucilia cuprina</i> ; [B] <i>Lucilia eximia</i> ; [C] <i>Hemilucilia semidiaphana</i> ; [D] <i>Hemilucilia segmentaria</i> ; [E] <i>Paralucilia</i> <i>fulvinota</i> ; [F] <i>Sarconesia chlorogaster</i>	92

Capítulo II

- Caracteres anatômicos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] **Figura 1** segmentos corporais e espinulação; [B] pseudocéfalo, vista ventral; [C]–[E] segmentos corporais e espinulação, vista ventral e dorsal, respectivamente; [D] detalhes da divisão anal; [F] almofada anal, vista ventral; [G]–[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1–T3= segmentos torácicos; A1–A7= segmentos abdominais; DA= divisão anal; AI= área interbandas; CVR= cinturão ventral de rastejamento; **BA=** banda de espinhos anterior; **BP=** banda de espinhos posterior; **an**= complexo antenal; **pm**= palpo maxilar; **mf**= máscara facial; co= cavidade oral; EP= espiráculo posterior; P1-P3= papilas dorsais; P4-P7= papilas ventrais; AA= almofada anal; PA= papila anal; pa= poro anal; GO= gancho oral; BL= braço lateral; Lb= labro; BP= barra parastomal; DO= depressão óptica; PD= ponte dorsal; PV= placa vertical; EI= esclerito intermediário; CD= corno dorsal; CV= corno ventral 124
- Figura 2 Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Calliphora* sp. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1–T3= segmentos torácicos; A1–A7= segmentos abdominais; DA= divisão anal; CVR= cinturão ventral de rastejamento; EP= espiráculo posterior; P1-P3= papilas dorsais; P4–P7= papilas ventrais; AA= almofada anal; GO= gancho oral; BL= braço lateral; Cr= cirros/dentículos; Lb= labro; BP= barra parastomal; DO=

	depressão óptica; PD= ponte dorsal; PV= placa vertical; EI= esclerito intermediário; CD= corno dorsal; CV= corno ventral	125
Figura 3	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Chrysomya albiceps</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: P1–P3= papilas dorsais; P4–P6= papilas ventrais; A3–A5= segmentos abdominais; ppd= processo postero-dorsal	126
Figura 4	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Chrysomya megacephala</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais; EH= estrutura hemisférica	127
Figura 5	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Chrysomya putoria</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista lateral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais; CLR= cinturão lateral de rastejamento; EH= estrutura hemisférica	128
Figura 6	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Cochliomyia hominivorax</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais; CLR= cinturão lateral de rastejamento; Arc= arco ventral	129
Figura 7	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Cochliomyia macellaria</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivemente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais; CLR= cinturão lateral de rastejamento	130
Figura 8	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Lucilia cuprina</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais	131
Figura 9	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Lucilia eximia</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais	132
Figura 10	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Hemilucilia semidiaphana</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais	133

Figura 11	Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de <i>Sarconesia chlorogaster</i> . Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: A3–A5= segmentos abdominais; Arc= arco ventral	134
Figura 12	Vistas lateral e ventral dos cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A]–[B] <i>Calliphora</i> sp; [C]–[D] <i>Chrysomya albiceps;</i> [E]– [F] <i>Chrysomya megacephala</i> ; [G]–[H] <i>Chrysomya putoria</i> ; [I]–[J] <i>Cochliomyia hominivorax</i>	135
Figura 13	Cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] <i>Calliphora</i> sp., vista lateral; [B]–[C] <i>Calliphora</i> sp., porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente; [D] <i>Chrysomya albiceps</i> , vista lateral; [E]– [F] <i>Chrysomya albiceps</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente; [G] <i>Chrysomya megacephala</i> , vista lateral; [H]–[I] <i>Chrysomya megacephala</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente; [J] <i>Chrysomya putoria</i> , vista lateral; [K]–[L] <i>Chrysomya putoria</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente; [M] <i>Cochliomyia hominivorax</i> , vista lateral; [N]–[O] <i>Cochliomyia hominivorax</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente	136
Figura 14	Vistas lateral e ventral de cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A]–[B] <i>Cochliomyia macellaria</i> ; [C]–[D] <i>Lucilia cuprina</i> ; [E]–[F] <i>Lucilia eximia</i> ; [G]–[H] <i>Hemilucilia semidiaphana</i> ; [I]–[J] <i>Sarconesia chlorogaster</i>	137
Figura 15	Cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] <i>Cochliomyia macellaria</i> , vista lateral; [B]–[C] <i>Cochliomyia macellaria</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral; [D] <i>Lucilia cuprina</i> , vista lateral; [E]– [F] <i>Lucilia cuprina</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral; [G] <i>Lucilia eximia</i> , vista lateral; [H]–[I] <i>Lucilia eximia</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral; [J] <i>Hemilucilia semidiaphana</i> , vista lateral; [K]–[L] <i>Hemilucilia semidiaphana</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral; [M] <i>Sarconesia chlorogaster</i> , vista lateral; [N]–[O] <i>Sarconesia chlorogaster</i> , porção anterior, vistas lateral e ventral	138
Figura 16	Região anterior e posterior de uma larva de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Em: [A] pseudocefalo, em detalhe o complexo antenal, palpo maxilar, cristas orais, cirros e lábios; [B] divisão anal. Abreviaturas: ci = cirros/dentículos; an = complexo antenal; pm = palpo maxilar; co , cristas orais; ls = lábio superior; li = lábios inferiores; EP = espiráculo posterior	139
Figura 17	Pseudocefalos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] <i>Calliphora</i> sp; [B] <i>Chrysomya albiceps</i> ; [C] <i>Chrysomya megacephala</i> ; [D] <i>Chrysomya putoria</i> ; [E] <i>Cochliomyia</i> <i>hominivorax</i> ; [F] <i>Cochliomyia macellaria</i> . Abreviaturas: ci = cirros/dentículos	140

Figura 18	Pseudocefalos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] <i>Lucilia cuprina</i> ; [B] <i>Lucilia eximia</i> ; [C] <i>Hemilucilia semidiaphana</i> ; [D] <i>Sarconesia chlorogaster</i>	141
Figura 19	Espiráculos respiratórios posteriores de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] <i>Calliphora</i> sp; [B] <i>Chrysomya albiceps</i> ; [C] <i>Chrysomya megacephala</i> ; [D] <i>Chrysomya putoria</i> ; [E] <i>Cochliomyia hominivorax</i> ; [F] <i>Cochliomyia macellaria</i> . Abreviaturas: r = ramificações; fe = fendas espiraculares	142
Figura 20	Espiráculos respiratórios posteriores de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] <i>Lucilia cuprina</i> ; [B] <i>Lucilia eximia</i> ; [C] <i>Hemilucilia semidiaphana</i> ; [D] <i>Sarconesia chlorogaster</i>	143

Capítulo III

Figura 1	Lucid TM interface and, highlighted, the initial steps for users to access	
_	forensically important Neotropical Calliphoridae third instar larvae	
	identification key 15	58

Capítulo IV

Figura 1	À título de exemplo, larva de primeiro estádio de Calliphoridae, em vista lateral [A] e em detalhe os espinhos (esp), último segmento abdominal, em vista posterior [B] exibindo os espiráculos respiratórios (ep), cefaloesqueleto em vista lateral [C] e pseudocéfalo em vista ventral. Em: go = gancho oral; b = braço lateral; Lb = labro; ei= esclerito intermediário; pd = ponte dorsal, ft = fragma tentorial; cd = corno dorsal; cv = corno ventral	169
Figura 2	Interface da chave interativa para larvas de primeiro estádio de Calliphoridae de importância forense do Brasil. Em: [A] janelas e barra de recursos do software, [B] lista de caracteres e estados disponíveis para o usuário, [C] janela que exibe os caracteres que foram selecionados pelo usuário, [D] lista de espécies disponíveis na chave e [E] espécies eliminadas no decorrer do uso da chave	170

LISTA DE TABELAS

Capítulo III

Table 1.	Organization	and summa	ry of the	characters	and	character	states	used	for the	key
elaboratio	on		•••••				•••••			.157

Capítulo IV

Tabela 1	I. Lista	de esp	écies de	Calliphorida	e de	importância	forense	registradas	para o	9 Brasil
que estão	o conten	nplada	s na chav	e interativa						168

SUMÁRIO

1. Introdução	19
2. Revisão bibliográfica	21
2.1. Entomologia Forense	21
2.2. Família Calliphoridae (Diptera, Oestroidea)	22
2.3. Chaves taxonômicas e ferramentas computacionais	24
2.4. Uso de chaves taxonômicas no âmbito forense	25
3. Objetivos	28
3.1. Geral	28
3.2. Específicos	28
4. CAPÍTULO I – Morfologia e chave de identificação para larvas de terceiro estádi	io de
Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) de importância forense da região Neotropical	29
4.1. Resumo	30
4.2. Introdução	31
4.3. Material e Métodos	32
4.4. Resultados	34
4.5. Chave de identificação para larvas de terceiro estádio de espécies de Calliphoridae de	e
importância forense da região Neotropical	62
4.6. Discussão	64
4.7. Conclusões	65
4.8. Referências	65
5. CAPÍTULO II – Morfologia e chave de identificação para larvas de primeiro está	dio
de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) de importância forense da região Neotropica	ıl 93
5.1. Resumo	94
5.2. Introdução	95
5.3. Material e Métodos	96
5.4. Resultados	97
5.5. Chave de identificação para larvas de primeiro estádio de espécies de Calliphoridae o	de
importância forense da região Neotropical	118
5.6. Discussão	119
5.7. Conclusões	120
5.8. Referências	121
6. CAPÍTULO III – Chave interativa para larvas de terceiro ínstar de moscas vareje	eiras
neotropicais (Insecta, Diptera, Calliphoridae): a contribuição de ferramentas	
computacionais para auxiliar na identificação de espécies	144
6.1. Abstract	145
6.2. Introduction	146
6.3. Material and Methods	147
6.4. Results	149
	,
6.5. Discussion	150

7. CAPÍTULO IV - Interatividade e taxonomia: uso da computação j	para o diagnóstico				
de larvas de primeiro estádio de moscas varejeiras (Insecta, Diptera, Calliphoridae) do					
Brasil	160				
7.1. Resumo	161				
7.2. Introdução	162				
7.3. Material e Métodos	163				
7.4. Resultados	164				
7.5. Discussão	164				
7.6. Referências	165				
8. Conclusões gerais	171				
9. Referências	172				
10. Material Suplementar	196				
11. Anexos	208				

1. Introdução

Por ser um grupo de organismos bem diverso e amplamente distribuído na natureza, presentes em quase todos os habitats (Rafael et al., 2012), não é de surpreender que os insetos (Arthropoda) ganhem destaque e se tornem relevantes em vários campos, desde o econômico, sanitário, médico, terapêutico, ambiental, alimentar até o forense (e.g., Guimarães e Papavero, 1999; Cabrini et al., 2013; Grisi et al., 2014; Costa-Neto e Dunkel, 2016; Marcondes e Thyssen, 2017; Masiero et al., 2020). No que diz respeito à entomologia forense, para qual este estudo buscou trazer contribuições para ampliar seu conhecimento, é uma área que pode ser definida como o estudo dos insetos e outros artrópodes que, quando associado aos demais procedimentos periciais, tem o propósito de descobrir informações que possam ter valia para o andamento ou conclusão de um processo investigativo (Thyssen, 2011). Para responder questões acerca do intervalo pós-morte, causa da morte, maus tratos ou negligência muitas vezes se faz necessário acessar os dados biológicos, ecológicos ou de distribuição dos insetos que estão associados aos corpos (Thyssen et al., 2012; 2018; Souza et al., 2013). Para tanto, a identificação correta de um ou, em certas circunstâncias, de mais de um táxon é fundamental.

Atualmente, a identificação de adultos e imaturos de moscas varejeiras, como são conhecidos os dípteros da família Calliphoridae, é feita mais frequentemente por meio de consulta às descrições morfológicas, chaves de identificação (e.g., Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009; Grella et al., 2015) e, alternativamente, através de métodos moleculares (e.g. Sperling et al., 1994; Thyssen et al., 2005). As formas imaturas, particularmente, estão mais sujeitas ao impedimento taxonômico. Isso porque há pouca variação interespecífica e grande variação intraespecífica associada ao número reduzido de caracteres anatômicos nesta fase da vida de um inseto holometábolo (Thyssen, 2010). Adicionalmente, chaves de identificação para imaturos são escassas ou pouco abrangentes (e.g., Queiroz e Carvalho, 1987), além do fato de que para algumas espécies descrições de ovos, larvas e pupas podem não estar disponíveis (e.g. Thyssen e Linhares, 2007).

Tornar o processo de identificação mais acessível, prático e seguro, e fornecer descrições detalhadas incluindo, de preferência, imagens de boa qualidade, se tornam cada vez mais necessários para que os impedimentos taxonômicos e as limitações, pertinentes até mesmo ao método escolhido para atingir o diagnóstico, sejam diminuídos. Levando em conta todas essas questões, esta dissertação foi estruturada em quatro capítulos: nos dois primeiros são apresentadas descrições e redescrições dos caracteres anatômicos de larvas de primeiro e

terceiro estádios de espécies de Calliphoridae neotropicais de importância forense, assim como chaves taxonômicas tradicionais (ou dicotômicas) para espécies de cada um destes estádios; os dois seguintes apresentam, pela primeira vez, chaves taxonômicas de múltiplo acesso e interativas para os mesmos estádios e espécies de insetos amostrados nos capítulos anteriores.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Entomologia Forense

Desde o século XIII, a literatura vem reportado uma série de relatos sobre como os insetos podem ser úteis para elucidar questões de cunho judicial ao redor do mundo (Benecke, 2001), incluindo o Brasil (Pujol-Luz et al., 2008). No entanto, como ciência, a entomologia forense foi formalmente reconhecida a partir da publicação de *La faune des cadavres: application de l'entomologie à la médecine légale* (Mégnin, 1894). A entomologia forense médico-legal é um dos braços (Lord e Stevenson, 1986 apud Byrd e Castner, 2010) mais difundidos devido à possibilidade em usar informações fornecidas pelos insetos para estimar o intervalo pós-morte (IPM), a causa da morte, evidenciar casos de negligência ou maus tratos, entre outros (e.g., Kosmann et al., 2011; Thyssen et al., 2012, 2018; Vairo et al., 2014; Pujol-Luz et al., 2016).

O IPM, de modo geral, é estimado a partir da evolução do *livor*, *algor* e *rigor mortis*, contudo, quanto maior o tempo de óbito, menor será a probabilidade de se obter uma estimativa mais acurada devido, sobretudo, à sobreposição dos fenômenos cadavéricos (Campobasso e Introna, 2001). O intervalo de tempo entre a colonização de um corpo por insetos e o encontro do mesmo também pode ser usado para estimar o IPM (Erzinçlioglu, 1983), com uma certa vantagem quando comparado aos demais métodos de avaliação tanatológica no que diz respeito à confiança, particularmente após 72 horas do óbito (Kashyap e Pillai, 1989; Goff, 2010).

De acordo com Catts (1992), existem duas metodologias para calcular o IPM através dos dados entomológicos: o IPM mínimo (IPMmin) e o IPM máximo (IPMmax). O IPMmin toma como base a idade dos espécimes imaturos que se criam nos corpos, a qual pode ser definida a partir de caracteres morfológicos ou ontogênicos (Villet et al., 2010). Em função disso, o IPMmin só pode ser aplicado em casos de morte recente onde há certeza de que os primeiros colonizadores permanecem associados aos corpos (Thyssen, 2011). Já o IPMmax se baseia na sucessão ecológica, isto é, no padrão de visita e/ou colonização dos insetos no cadáver ao longo do processo de decomposição, como proposto inicialmente por Mégnin (1894). É importante ressaltar que fatores ambientais como, por exemplo, temperatura, umidade relativa do ar e altitude, podem interferir diretamente na decomposição e na distribuição de uma espécie em um dado local, resultando assim em problemas na reprodutibilidade e consequentemente na aplicabilidade do IPMmax (Wells e LaMotte, 2017; Matuszewski, 2017, 2021).

Entre os insetos mais comumente reportados em corpos em decomposição estão as moscas (Diptera), besouros (Coleoptera), borboletas e mariposas (Lepidoptera), formigas, abelhas e vespas (Hymenoptera) (Reed, 1958; Smith, 1986). Dípteros são os mais representativos tanto no que diz respeito à frequência quanto pela abundância em corpos em decomposição, ovipositando ou larvipositando neste substrato, cerca de 10 a 30 minutos após a morte (Smith, 1986; LéBlanc e Logan, 2010). Entre os primeiros colonizadores estão as moscas das famílias Calliphoridae e Sarcophagidae (Greenberg, 1991; Oliveira Costa e Mello-Patiu 2004; LéBlanc e Logan, 2010), seguidas por Muscidae, Fanniidae, Phoridae, Piophilidae, Ulidiidae, Sepsidae e Scatophagidae (Carvalho e Mello-Patiu, 2008; Carvalho e Linhares, 2000; Campobasso et al., 2004).

2.2. Família Calliphoridae (Diptera, Oestroidea)

Existem mais de 1.500 espécies de Calliphoridae mundialmente distribuídas (Courtney et al., 2017), das quais mais de 100 são Neotropicais e mais de 20 são encontradas no Brasil (Carvalho e Ribeiro, 2000; Carvalho e Mello-Patiu, 2008; Whitworth et al., 2010; 2012; 2014; Kosmann et al., 2013; Wolff e Kosmann, 2016). Na busca por substratos para sua alimentação e para a criação de seus imaturos, os califorídeos podem parasitar hospedeiros vertebrados (miíases) ou entrar em contato com lixo urbano, fezes e outros tipos de matéria orgânica, tornando-se potenciais carreadores de uma ampla gama de patógenos, tais como ovos de helmintos, oocistos de protozoários, bactérias e vírus (Greenberg, 1971; Oliveira et al., 2002; Graczyk et al., 2003; Thyssen et al., 2004; Tomberlin et al., 2017; Marcondes e Thyssen, 2017). Do ponto de vista da relação parasita-hospedeiro, as miíases podem ser classificadas em obrigatórias, facultativas ou acidentais.

As miíases obrigatórias (ex. *Cochliomyia hominivorax*) são caracterizadas pela ingestão de tecidos corporais ou outras substâncias em hospedeiros vivos. Nas miíases facultativas (ex. *Chrysomya megacephala*), as larvas consomem matéria orgânica em decomposição e eventualmente, de maneira oportunista, se alimentam de tecido desvitalizado de vertebrados vivos. As miíases acidentais ou pseudomiíases, ocorrem através da ingestão de formas imaturas (ovos e larvas) - raramente pela penetração de larvas nos orifícios naturais dos animais - sendo a maioria dos casos registrados como urogenitais, intestinais ou nasofaríngeas (ex. *Calliphora vicina*) (Zumpt, 1965; Guimarães e Papavero, 1999; Lee et al., 2005; Marcondes e Thyssen, 2017).

No Brasil, além de afetar os seres humanos, as miíases também afetam as criações de gado e de outros animais, causando prejuízos diretos na produção de carne, couro e leite resultando em sérios problemas econômicos (Grisi et al., 2014). Assim, técnicas de controle de miíases têm sido conduzidas e investigadas, bem como, o uso de miíases facultativas como forma de terapia (terapia larval ou bioterapia) para cicatrização de determinados tipos de feridas (ex. *Cochliomyia macellaria*) (Hall e Wall, 1995; Sherman, 2003; Masiero et al., 2016).

Espécies de Calliphoridae também compõem substancialmente a fauna decompositora (Ferrar, 1987; Greenberg, 1971; Wolff e Kosmann, 2016) e por sua associação a praticamente todos os estágios de decomposição são relevantes no âmbito forense (Carvalho et al., 2000; Oliveira e Vasconcelos, 2017). Ao se utilizarem de corpos em decomposição para o desenvolvimento de seus imaturos, têm se tornado importantes na resolução de casos periciais (Carvalho e Linhares, 2001; Oliveira e Vasconcelos, 2010; Kosmann et al., 2011, Thyssen et al., 2012; 2018; Vasconcelos et al., 2014), principalmente quando as larvas são as únicas evidências da cena de um crime (Thyssen et al., 2005; 2018) e podem ser encontradas em grande quantidade (Greenberg e Kunich, 2002). Morfologicamente seus adultos são caracterizados pelo tamanho variando entre 4 a 16mm, sua coloração verde ou azul metálica, a nervura M da asa geralmente angulosa, presença de fileira de cerdas na hipopleura e presença de duas cerdas na notopleura (Dear, 1985; Carvalho e Mello-Patiu, 2008) e suas larvas são caracterizadas pelo corpo cilíndrico, placa espiracular sem cavidade e fendas respiratórias retilíneas (Szpila, 2010; Thyssen, 2010).

As larvas de Calliphoridae apresentam três estádios de desenvolvimento, cada uma com características gerais próprias. As larvas de primeiro estádio podem ser identificadas pela presença do labro no cefaloesqueleto, pela ausência de espiráculos respiratórios anteriores visíveis em microscopia óptica comum na região anterior da larva e na divisão anal, pela presença de peritrema fracamente pigmentado e geralmente a presença de uma única fenda espiracular. As larvas de segundo estádio são caracterizadas pelo gancho oral anguloso no cefaloesqueleto, pela presença de espiráculo respiratório anterior com lobos dispostos em leque e na divisão anal, os espiráculos respiratórios posteriores apresentam duas fendas espiraculares cada. Já as larvas de terceiro estádio são identificadas pelo gancho oral semicircular ou curvado no cefaloesqueleto, pela presença de espiráculo respiratório anterior com lobos dispostos em leque e na divisão anal, os espiráculos respiratórios posteriores apresentam duas fendas espiraculares cada. Já as larvas de terceiro estádio são identificadas pelo gancho oral semicircular ou curvado no cefaloesqueleto, pela presença de espiráculo respiratório anterior com lobos dispostos em leque e na divisão anal, os espiráculos respiratórios posteriores apresentam três fendas espiraculares cada.

2.3. Chaves taxonômicas e ferramentas computacionais

A taxonomia tradicional é feita por meio da interpretação teórica de caracteres com preferência por caracteres mais relevantes (ou diagnósticos) que possam distinguir um grupo (Amorim, 2002), e a partir da observação e seleção desses caracteres, é possível produzir descrições de qualidade e elaborar ferramentas para a identificação, chamadas de chaves taxonômicas. A chave taxonômica, é um dispositivo utilizado para diferenciar e separar organismos a partir de conjuntos de caracteres e estados de caracteres contrastantes, que através de uma série de escolhas, levam o usuário à identificação de um espécime (Gordh e Headrick, 2001; Walter e Winterton, 2007). O uso de diagramas ou métodos similares a chaves taxonômicas atuais, tornou possível a caracterização de diferentes organismos, trazendo importantes avanços científicos (Hagedorn et al., 2010).

A habilidade de se identificar uma espécie é pré-requisito para a maioria das áreas das ciências biológicas e algumas das primeiras chaves de identificação estão associadas a Linnaeus e sua obra *Systema naturae* em 1758 e à Lamarck, que notou a importância de se utilizar dois estados de caracteres contrastantes para o ensino de identificação de plantas, formalizando este método que culminou na publicação da *Flore française* em 1778 (Walter e Winterton, 2007; Griffing, 2011).

As chaves taxonômicas podem ser classificadas em "chaves de único acesso ou monotéticas", correspondendo às chaves dicotômicas e dicotômicas pictóricas, e as "chaves de múltiplo acesso/acesso livre" e "multi-entrada", encaixando-se aqui as chaves interativas (Hagedorn et al., 2010). Nas chaves dicotômicas, o usuário é apresentado a pares de caracteres com estados contrastantes e a escolha de uma derivação o leva a um indicador para o próximo par de caracteres ou a um ponto final, determinando o táxon do espécime avaliado. As chaves dicotômicas pictóricas, funcionam da mesma maneira, porém com fotos ou ilustrações que permitam a visualização dos caracteres e estados definidos na chave (Walter e Winterton, 2007).

As chaves dicotômicas são mais convencionais e frequentemente utilizadas por serem facilmente imprimíveis, porém, cada par de caracteres deve ter distribuições idênticas de seus estados, o que limita as possibilidades e permite ao usuário um caminho único de escolhas. Esta limitação pode impossibilitar a identificação, caso algum caracter ou estado não seja observável ou seja perdido do exemplar, e ainda, qualquer erro do usuário na atribuição de um estado de

caráter ao espécime, o leva inevitavelmente à identificação incorreta (Edwards e Morse, 1995; Dallwitz et al., 2000).

A partir de inovações tecnológicas e computacionais as chaves interativas têm ganho espaço na taxonomia permitindo uma abordagem menos abstrata da identificação de um espécime. A chave interativa é um programa de computador que armazena caracteres e estados taxonômicos como uma matriz de caracteres por táxon no qual o usuário, ao selecionar atributos de uma amostra biológica, elimina taxa cujos atributos não correspondem aos do espécime avaliado, continuando este processo até que apenas um táxon permaneça (Dallwitz et al., 2000; Walter e Winterton, 2007).

Algumas vantagens do uso deste tipo de chave é que, diferente da chave dicotômica, o usuário é livre para iniciar a identificação de qualquer característica que seja facilmente observável, tem acesso facilitado ao link da chave interativa e acesso a fotos, ilustrações, hiperlinks de glossários e notas sobre caracteres. Outros recursos utilizáveis incluem, conselhos sobre quais caracteres são mais adequados para se usar em qualquer fase da identificação; localização de erros que foram contornados pelo mecanismo de tolerância a erros; dependência de caracteres, tornando determinados estados inaplicáveis; provisão para recuperação de informações; e encontrar diferenças e semelhanças entre táxons e descrições de diagnóstico (Dallwitz, 2000a; 2000b; Dallwitz et al., 2000). Então, este tipo de chave fornece uma ferramenta de identificação profissional, tanto para morfologistas, quanto para nãomorfologistas (Virgilio et al., 2014).

Esforços vêm ocorrendo para que a dinamização e viabilização das chaves interativas seja possível, sendo 22 matrizes de dados interativas disponíveis para a utilização e construção de chaves (Walter e Winterton, 2007). Dentre os softwares com maior aceitação com acesso livre e sem custos estão o Open DELTA Suite [™] (Description Language for Taxonomy) desenvolvido em 1998 (Dallwitz et al., 2016) por pesquisadores da Austrália (Atlas of Living Australia) (disponível em <u>https://www.delta-intkey.com/www/programs.htm</u>) e o Lucid [™], cuja primeira versão foi desenvolvida em 1994 no CBIT (Centre for Biological Information Technology) por pesquisadores da Universidade de Queensland em Brisbane, Austrália (disponível em <u>https://www.lucidcentral.org/</u>) (CBIT, 2019).

2.4. Uso de chaves taxonômicas no âmbito forense

Os insetos encontrados em matéria orgânica em decomposição são mais difíceis de serem identificados na fase imatura do que na adulta, especialmente nos estágios iniciais de

desenvolvimento (Thyssen, 2010), sendo recomendado na literatura que o imaturo coletado seja mantido vivo e transportado ao laboratório para completar o seu desenvolvimento e possa ser identificado mais facilmente (Greenberg e Kunich, 2002). Contudo, tal prática requer que o material seja levado prontamente para sala de criação (nem sempre possível na rotina pericial), o que levará um tempo considerável para obter o diagnóstico (alguns dias para a emergência dos adultos), além da necessidade de dieta e condições adequadas a sobrevivência do espécime (Tao, 1927; Thyssen, 2011).

Na maioria das vezes a identificação de imaturos tem sido feita por meio de comparação, isto é, pela busca por similaridade entre as estruturas anatômicas do espécime a ser identificado e aquelas ilustradas ou descritas para uma espécie (por exemplo, Erzinçliogu, 1989; Greenberg, 1990; Tantawi e Greenberg, 1993; Amorim e Ribeiro, 2001). Embora a maioria das chaves taxonômicas disponíveis para imaturos de Calliphoridae sejam dicotômicas pictóricas e para o terceiro instar (Knipling, 1983; Greenberg e Szyska, 1984; Wells, 199; Wallman, 2001; Florez e Wolff, 2009; Szpila, 2010), algumas ainda podem trazer problemas para a identificação, uma vez que as estruturas diagnósticas estão desenhadas sem escala e proporção apropriados (ex. Queiroz e Carvalho, 1987).

Outros métodos diagnósticos, tais como os químicos e moleculares, têm sido pouco utilizados em rotina (Thyssen, 2011). Tratando-se das análises moleculares, embora sejam rápidas, tem custo relativamente alto, são dependentes de uma preservação adequada da amostra e, apesar dos recentes avanços (Nelson *et al.*, 2012; Szpila et al., 2012; Williams e Villet, 2014; Madeira-Ott *et al.*, 2019), não existem marcadores moleculares adequados para todas as espécies de importância forense (Oliveira-Costa, 2008; Mendonça et al., 2014). Além disso, os resultados da biologia molecular não estão relacionados com o tempo de desenvolvimento larval, o que ainda torna necessária uma avaliação por microscopia de luz (Mendonça et al., 2014).

A discrepância ou inexistência de descrições, grandes variações intraespecíficas e poucas interespecíficas e escassez de caracteres anatômicos diagnósticos (Thyssen, 2010; 2011) contribuem para ampliar o impedimento taxonômico, particularmente entre as formas imaturas, tanto para larvas de primeiro quanto para larvas de terceiro estádio. Adicionalmente, os ovos e larvas de primeiro estádio, em particular, são mais difíceis de avaliar e identificar devido à necessidade de equipamentos com maior resolução e capacidade de aumento, nem sempre facilmente disponíveis (O' Flynn e Moorhouse, 1980; Liu e Greenberg, 1989; Szpila et al., 2012; 2013; 2014).

Como nas larvas de primeiro estádio, as chaves taxonômicas para o segundo estádio de larvas de Calliphoridae são escassas (Tao, 1927; Knipling, 1936; Liu e Greenberg, 1989). Contudo, se eles são os únicos espécimes disponíveis, descrições detalhadas de outros estádios podem auxiliar em parte de sua identificação, sendo possível comparar as descrições da distribuição das bandas de espinhos com outros estádios, como ocorre para *Paralucilia pseudolyrcea*, por exemplo (Da Silva et al., 2018).

Assim, novas chaves taxonômicas e descrições detalhadas são necessárias para diminuir os impedimentos taxonômicos e melhorar a eficiência nas identificações de espécies de importância forense. As chaves interativas se tornam ferramentas interessantes na diminuição de algumas limitações taxonômicas e na acessibilidade a este conhecimento (Dallwitz, 2000b; Hagedorn et al., 2010). Em comparação com as chaves dicotômicas, as chaves interativas ainda são pouco frequentes para Calliphoridae e direcionadas para a identificação de adultos (Grella e Thyssen, 2001). Embora seja necessário um computador para sua utilização, estudos envolvendo a construção de chaves interativas e a melhoria da qualidade destas chaves seriam benéficos na área forense e em diversos campos da biologia.

3. Objetivos

3.1. Geral

Estudar os aspectos da morfologia de larvas de dípteros e contribuir para minimizar os impedimentos taxonômicos existentes em Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea).

3.2. Específicos

- Descrever e redescrever características morfológicas de larvas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae pertencentes aos gêneros: *Calliphora*, *Chrysomya*, *Cochliomyia*, *Lucilia*, *Hemilucilia*, *Paralucilia* e *Sarconesia*;
- Elaborar chaves dicotômicas pictóricas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae de importância forense da região Neotropical;
- Elaborar chaves interativas para larvas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae de importância forense da região Neotropical.

4. CAPÍTULO I

Morfologia e chave de identificação para larvas de terceiro estádio de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) de importância forense da região Neotropical

Morfologia e chave de identificação para larvas de terceiro estádio de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) de importância forense da região Neotropical

Aline M. Prado¹, Patrícia J. Thyssen¹

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

4.1. Resumo

A identificação de imaturos de importância forense é uma etapa fundamental para que a determinação do intervalo pós-morte ocorra. No presente estudo, a caracterização morfológica foi realizada e uma chave dicotômica pictórica elaborada para larvas de terceiro estádio de doze espécies de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) Neotropicais de interesse forense: *Calliphora* sp, *Chrysomya albiceps, Chrysomya megacephala, Chrysomya putoria, Cochliomyia hominivorax, Cochliomyia macellaria, Hemilucilia segmentaria, Hemilucilia semidiaphana, Lucilia cuprina, Lucilia eximia, Sarconesia chlorogaster e Paralucilia fulvinota.* Informações sobre a biologia e distribuição geográfica das espécies avaliadas também são fornecidas. As seguintes estruturas foram documentadas e fotografadas: pseudocéfalo, cefaloesqueleto, espiráculos anteriores e posteriores, espinulação dos segmentos torácicos e abdominais, tegumento da área interbandas, almofada anal e papilas da divisão anal. As informações aqui presentes podem ser úteis para a identificação de espécies Neotropicais associadas a corpos em decomposição, bem como para o complemento e esclarecimento de informações taxonômicas existentes.

Palavras-chaves: Caracterização morfológica; Taxonomia; Varejeira; Imaturos; Entomologia Forense.

4.2. Introdução

Larvas de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) são comumente encontradas em corpos em decomposição e geralmente estão entre os seus primeiros colonizadores (Reed, 1958; Nuorteva, 1977; Thyssen, 2010) o que as torna relevantes para casos de negligência e maus tratos, mas, especialmente para a estimativa mais precisa do intervalo pós-morte (IPM), seja através do estágio de desenvolvimento de seus colonizadores ou de sua sucessão ecológica (Catts, 1992; Goff, 2010; Thyssen, 2011). Sua aplicação em investigações forenses tem crescido nos últimos anos (Smith, 1986; Pujol-Luz et al. 2006; Oliveira-Costa e Mello-Patiu, 2004; Oliveira e Vasconcelos, 2010; Kosmann et al., 2011; Vairo et al., 2014; Vasconcelos et al., 2014; 2017; Thyssen et al., 2012; 2018), mas, para que esta aplicação ocorra, a correta identificação de suas espécies larvais é uma etapa primordial (Thyssen, 2010), bem como a consulta de dados morfológicos (descrições e redescrições), dados biológicos e de sua distribuição (Goff, 2010).

Mundialmente, mais de mil espécies são conhecidas para Calliphoridae e para a região Neotropical seu número varia entre 99 a 140 espécies (Kosmann et al., 2013; Wolff e Kosmann, 2016; Jaume-Schinkel e Ibáñez-Bernal, 2020). Dentre elas, ainda existem espécies duvidosas, como é o caso de algumas espécies pertencentes a *Calliphora, Lucilia* e *Paralucilia* (Whitworth, 2010; 2012; 2014; Madeira-Ott, 2019), cujos estudos taxonômicos são necessários e estão em andamento.

Embora existam chaves de identificação para larvas de Calliphoridae de terceiro estádio (Knipling, 1936; Queiroz e Carvalho, 1987; Greenberg e Szyska, 1984; Liu e Greenberg, 1989; Holloway, 1991; Wells et al., 1999; Florez e Wolff, 2009; Szpila, 2010; Thyssen, 2010; Szpila e Grzywacz, 2019), ainda existem espécies da região Neotropical que precisam ser incluídas e divergências taxonômicas a serem esclarecidas, uma vez que as larvas podem ser muito semelhantes, apresentando variações intraespecíficas e poucos caracteres diagnósticos e interespecíficos (Szpila et al., 2008; Szpila et al., 2012; Mendonça et al., 2014; Da Silva, 2018). Ferramentas de identificação suportadas por atualizações de descrições e novas descrições taxonômicas bem detalhadas podem ser mais rápidas e baratas (Szpila et al., 2012), auxiliando na diminuição de impedimentos taxonômicos e permitindo uma identificação mais acurada e facilitada.

Desse modo, objetivou-se neste estudo caracterizar morfologicamente larvas de terceiro estádio de 12 espécies de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) neotropicais de importância

forense, assim como elaborar uma chave taxonômica para a identificação específica. Adicionalmente, informações sobre a biologia e a distribuição destas espécies foram atualizadas.

4.3. Material e Métodos

Obtenção e preparo de amostras. Amostras foram obtidas a partir de três estratégias distintas: (i) da coleção de imaturos do Laboratório de Entomologia Integrativa (LEI) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) que estavam armazenadas em álcool 70% (Adams e Hall, 2003) ou solução de Kahle (30 mL de álcool etílico 95%, 12 mL de formaldeído, 4 mL de ácido acético glacial e 60 mL de água destilada - Borror e Delong, 2010); (ii) de posturas feitas por fêmeas de colônias comumente mantidas por até 30 gerações no LEI; e (iii) por coleta de indivíduos adultos em campo, ativamente ou usando armadilhas (adaptada de Shuey, 1997 e de Moretti et al., 2009) expostas por até 12 h, para posterior manutenção em laboratório, utilizando como isca figado bovino com 72h de putrefação. A exceção foi *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858), de hábito parasita, cujas larvas de primeiro estádio, seguindo as orientações de Cardoso et al. (2014).

Adultos e imaturos foram coletados em Campina Verde (MG), Extrema (MG) Arroio do Padre (RS), horto florestal do Capão do Leão (RS), no campus da Universidade Federal de Pelotas (UFPel - RS), no campus da Universidade Federal do Paraná (UFPR -PR), no campus da Universidade Estadual de Campinas (SP), Atibaia (SP), Itatiba (SP), São Paulo (SP), Cabreúva (SP), Paulínia (SP), Monte Mor (SP), Serra do Lopo (SP) e Mogi Guaçu (SP). Estas localidades podem ser visualizadas em: tinyurl.com/interactiveKeyLarva. Os imaturos foram diretamente identificados (Guimarães e Papavero, 1999) e os adultos foram congelados (-20 °C) durante três minutos para sua anestesia e identificados utilizando chaves taxonômicas (Guimarães e Papavero, 1999; Carvalho e Ribeiro, 2000; Grella e Thyssen, 2011). Indivíduos adultos mantidos em laboratório ou oriundos do campo permaneceram acondicionados em gaiolas plásticas sob condições controladas (27±1 °C, 70±10 %, 12:12 h).

Para a sobrevivência dos adultos, foram fornecidas água e dieta à base de açúcar, leite em pó e levedo (porção de 1:1:1) *ad libitum*. Para a oviposição, uma porção de 50 g de carne bovina moída crua fresca foi oferecida por cerca de 120 min. Em seguida, os ovos obtidos foram retirados da carne e depositados em frascos plásticos, contendo carne bovina moída crua na proporção de 0,5 g/ovo e mantidos sob as mesmas condições controladas dos adultos. Para os estudos morfológicos, as amostras de terceiro estádio foram lavadas em água destilada e detergente orgânico, em seguida mortas por imersão em água aquecida (70–80 °C) para evitar a retração do tegumento e depositadas em frascos com solução de Kahle ou álcool 70%.

Análise de caracteres e elaboração de chaves taxonômicas. Para a seleção das espécies de Calliphoridae de importância forense foram estabelecidos os seguintes critérios: se suas formas imaturas estavam se desenvolvendo em corpos humanos ou em suínos em decomposição, em que o desenvolvimento em suínos foi estabelecido pela sua analogia aos seres humanos (Matuszewski et al., 2019); se os imaturos eram reportados como evidência em casos de negligência e maus tratos e se estas espécies pertenciam à região neotropical (ver material suplementar 1). No material suplementar 1, as condições ambientais expostas correspondem ao ambiente ao qual o corpo foi encontrado e classificado em silvestre (floresta, campos, estepes, restinga), rural, urbano ou áreas de transição (ecótonos) e em ambiente interno ou externo (indoor/outdoor).

As características morfológicas internas e externas foram observadas em estereomicroscópio e para as estruturas internas (cefaloesqueleto) houve a dissecção de exemplares e clareamento em KOH 10% (Sukontason et al., 2004). Os registros fotográficos foram feitos no estereomicroscópio Discovery V. 12 Carl Zeiss® com sistema de captura de imagem Axiocam MRc5 e programa Zen Pro 2012® com profundidade de foco e também com uma câmera digital Samsung WB85OF®. A edição de figuras foi feita utilizando o Adobe Photoshop® CS6 Portable 2020. A chave dicotômica pictórica foi elaborada a partir de uma matriz de dados com o editor de dados Mesquite[™] v. 3.70, contendo os caracteres morfológicos e seus respectivos estados.

Para as análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV), as amostras foram retiradas do líquido fixador, lavadas em solução tampão (PBS 10 %) e desidratadas em série etanólica crescente (50, 70, 80, 90, 95 e 100 %). Em seguida, foram secas em temperatura ambiente e posteriormente imersas em hexametildisilazano (HMDS). O material seco foi fixado definitivamente em porta-amostras utilizando cola e grafite para receber a cobertura de uma fina camada de ouro no sputter coater SCD-050. Os exemplares preparados foram analisados em microscópio eletrônico JEOL® modelo JSM-840-A.

Nomenclatura e terminologia. As terminologias utilizadas para as estruturas anatômicas e para o número de segmentos das larvas seguem: Erzinçlioglu (1985), Shewell et al. (1987), Courtney et al. (2000) e Szpila et al. (2013). Ao longo do texto as seguintes abreviaturas podem ser encontradas: pseudocéfalo (Pc), segmentos torácicos (T1-T3), segmentos abdominais (A1-A7) e divisão anal (DA). As terminologias adotadas para as estruturas da divisão anal são: papilas dorsais interna, mediana e lateral (P1-P3), papilas ventrais interna, mediana e lateral (P4-P6) e papila interna superior (P7).

4.4. Resultados

Taxonomia, biologia e distribuição de espécies de larvas de terceiro estádio de Calliphoridae

Aspectos gerais. Corpo cilíndrico, com coloração variando entre branco e amarelado e, assim como em outros muscóides, com 12 segmentos corporais: 1 pseudocéfalo (Pc), 3 torácicos (T1-T3), 7 abdominais (A1-A7) e uma divisão anal (Figs.1 A-E). As larvas de terceiro estádio são reconhecidas pelo par de espiráculos anteriores desenvolvido e pela presença de três fendas respiratórias nos espiráculos posteriores (Figs.1 A-F). Os espiráculos anteriores estão alocados em um pedúnculo e são compostos por numerosos lobos em forma de dedo dispostos em fileira e albergando apicalmente uma fenda respiratória cada (Fig.1 A). O Pc, é bilobado e contém o complexo antenal, o palpo maxilar e a máscara facial. O complexo antenal é ânterodorsal e composto por um par de antenas e um par de domos antenais. O palpo maxilar é ânteroventral e tem numerosas sensilas do tipo basicônica e celocônica. A máscara facial está ao redor da cavidade oral e contém numerosas cristas orais cuticulares irradiando até a região lateral da larva (Figs. 1 B e 14 A). A cavidade oral apresenta um par de lobos laterais e um superior com sensilas (Figs. 1 B e 14 A-B). Internalizado e localizado nos três primeiros segmentos da larva está o cefaloesqueleto. Algumas das estruturas que o compõem estão em pares, como, os ganchos orais, barras parastomais, escleritos dentais e labiais, placas verticais e cornos dorsais e ventrais. Os ganchos orais são simétricos e o esclerito intermediário tem forma de "H", em vista ventral (Figs.1 G-H). T1-T3 com bandas de espinhos anteriores e completas. A2-A7 apresentam cinturão ventral de rastejamento. Na divisão anal, embora a distância, posição e tamanho das papilas possa variar, as papilas espiraculares internas (P7) são reduzidas e presentes na mesma posição, mesmo que para algumas espécies sejam pouco evidentes em estereomicroscopia ótica comum (Fig.1 D).

Calliphora Robineau-Desvoidy

Este grupo é conhecido em todas as regiões biogeográficas, contudo, tem melhor representação nas regiões Neártica, Paleártica e Australiana (Rognes). Na região Neotropical, estudos com Calliphora têm sido conduzidos principalmente no Brasil e Argentina, representados por duas espécies endêmicas (C. lopesi Mello e C. nigribasis Macquart) e uma introduzida (C. vicina Robineau-Desvoidy) (Whitworth, 2012; Olea e Mariluis, 2013). A disponibilidade de descrições com caracteres que possam definir o grupo *Calliphora* ainda é escassa e, do ponto de vista morfológico, alguns caracteres combinam disposição e morfologia dos espinhos e o tamanho e separação de espiráculos posteriores (Smith, 1986; Erzinçlioglu, 1985; Wallman 2001). Contudo, alguns autores ressaltam que o tamanho por si só não é um caracter confiável dada à sua variabilidade de acordo com a idade, qualidade de sua dieta, grau de retração cuticular e estado de preservação (Erzinçlioglu, 1985; Wallman 2001; Day e Wallman, 2008). Um caracter que pode auxiliar na identificação de *Calliphora* é a presença de microtubérculos na divisão anal (Fig. 2 F) que, embora esteja presente em Lucilia sericata, estão presentes em todas as espécies descritas até o momento (Erzinçlioglu, 1985; Liu e Greenberg, 1989; Wallman 2001). Adicionalmente, a presença de espinhos posteriores em A7, porém com pigmentação mais escura e evidente, pode ser útil em relação a espécies de outros grupos como Sarconesia e Hemilucilia.

Calliphora sp. (Figs. 2A–I; Fig. 15A) (194-198 h; N=61)

Diagnose. Pseudocefalo com nove sensilas totais, das quais três são basicônicas e seis são celocônicas. Esclerito oral acessório em forma de "Y" em vista ventral. Placa vertical mais longa do que alta com margem posterior com concavidade estreita. Em vista ventral, o corno ventral pode apresentar ou não arco pigmentado unindo as extremidades posteriores. Hipofaringe estriada e fracamente pigmentada. Espiráculo anterior com número de lobos variando de 9-12 com maioria 10. T1 com fileiras de espinhos concêntricos. A1-A4 com bandas de espinhos anteriores e completas. A5 com bandas de espinhos anteriores completes e posteriores incompletas, apresentando fileiras dorsais e laterais. A6-A7 apenas com bandas de espinhos posteriores e completas. Área interbandas de A2-A6 apresentam cinturão lateral de rastejamento (raramente presentes em A1), com espinhos pouco evidentes. Divisão anal com

tegumento coberto por microtubérculos, melhor visíveis na almofada anal. Espiráculos posteriores com peritrema delgado e completo e com botão completo. As papilas dorsais e ventrais são equidistantes, sendo P1 um terço maiores que P2-P3. Fileiras de espinhos na região dorsal da almofada anal, distribuídas em "V" ou "X" e na região posterior, as fileiras de espinhos superiores ao ânus se unem às fileiras inferiores. Acima do ânus existem grupos de espinhos concentrados.

Comentários. As larvas de *Calliphora* sp. são similares a outras espécies neotropicais, *C. vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 e *C. nigribasis* Macquart, 1851, mas, podem ser diferenciadas através da distribuição de espinhos nos segmentos e pela distância entre as papilas da divisão anal. Diferente do descrito para *Calliphora* sp., a banda de espinhos anteriores de A5 é incompleta e a área interbandas é lisa em *C. nigribasis* (*C. peruviana* em Greenberg e Szyska, 1984) (Greenberg e Szyska, 1984; Liu e Greenberg, 1989; Florez e Wolff, 2009). Em relação à divisão anal, *C. vicina* apresenta P2 mais próximas de P3 e, na almofada anal, apresenta fileiras em semicírculos de espinhos presentes superior e inferior ao ânus (Erzinçlioglu, 1985; Greenberg e Szyska, 1984; Liu e Greenberg, 1989; Wallman, 2001; Florez e Wolff, 2009), diferindo de *Calliphora* sp.

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Brasil, Equador, Uruguai.

Biologia. Esta espécie tem sido coletada em figado bovino e músculo bovino moído em putrefação, vísceras de peixe e caldo de cana fermentado e banana (Cabrini et al. 2013; Blacio et al. 2020). Em laboratório, suas larvas foram criadas em músculo bovino moído à aproximadamente 20°C, levando de 9-10 dias de ovo ao terceiro estádio. Além de sua importância forense, são potenciais bioindicadores de degradação ambiental e tem sido reportadas principalmente em florestas ombrófilas (*e.g.* Mata Atlântica) e raramente em áreas rurais (plantações e pastos) (Cabrini et al. 2013), com independência de assentamentos humanos (Vianna et al., 1998; Blacio et al. 2020).

Chrysomya Robineau-Desvoidy

Até a década de 70, esse grupo era restrito aos trópicos do Velho Mundo estando entre as moscas mais abundantes e importantes economicamente, até quatro espécies serem acidentalmente introduzidas nas Américas: *C. rufifacies* (Macquart), *C. megacephala* (Fabricius), *C. albiceps* (Wiedemann), *C. putoria* (Wiedemann). Em 1975, as três últimas espécies foram introduzidas no Sul do Brasil através de navios provenientes da África e desde
então espalharam-se rapidamente pela América do Sul, afetando as comunidades de insetos nativos (Baumgartner e Greenberg, 1985; Souza e Linhares, 1997; Guimarães e Papavero, 1999). Na literatura, não existem caracteres morfológicos exclusivos para o gênero *Chrysomya* e que abranjam todas as espécies, embora Wells et al. (1999) tenha sugerido o peritrema incompleto como característica do grupo Chrysomyinae. Ainda assim, embora não seja um caracter presente em todas as espécies, aquelas que apresentam tubérculos ao longo dos segmentos larvais (T1-A7) (Fig. 3 A, C, E), podem ser agrupadas diretamente neste gênero.

Chrysomya albiceps (Wiedemann) (Figs. 3A–I; Fig. 15B)

(96 h; N= 30)

Diagnose. Esclerito intermediário amplo e trapezoidal, em vista lateral. Barra parastomal curta, 5 vezes menor que o gancho oral. Placa vertical mais longa do que alta, com margem dorsal fracamente pigmentada. Janela estreita no ápice do corno dorsal. Dois processos e janela oval e ampla no corno ventral. Hipofaringe lisa e hialina. Espiráculo anterior com número de lobos variando de 6-12, com maioria 10. T1 contém espinhos largos, achatados com extremidades arredondadas (lembrando escama de peixe) dispostos horizontalmente em fileiras. Tegumento coberto por placas arredondadas, com pigmentação variando de menos para mais intensa, e tubérculos cônicos, os quais contém espinhos apicais delgados, agrupados e concêntricos. Oito pares de tubérculos em cada segmento abdominal, sendo o par lateral mais próximos um do outro e unidos pela base (Fig. 3C). Peritrema espesso, incompleto e com botão incompleto ou ausente. Tegumento ao redor do peritrema coberto por numerosos espinhos minúsculos. Fileiras de espinhos dispostas em arco na região dorsal da almofada anal; na região posterior, as fileiras de espinhos superiores ao ânus podem ou não se encontrar com as fileiras inferiores.

Comentários. Larvas de *C. albiceps* podem se assemelhar às larvas de outro califorídeo neotropical, *C. rufifacies*, que pode estar presente em outros países da região neotropical os quais *C. albiceps* também se encontra (ver Material Suplementar [1]) pode ser facilmente confundida, exceto pela forma (cilíndricos) e distribuição de espinhos (excêntricos e dispersos) nos tubérculos (ver Tantawi e Greenberg, 1993; Wells et al., 1999; Mendonça et al., 2010). Wells et al. (1999) reportaram que a pigmentação das placas nas bases dos tubérculos difere entre *C. albiceps* e *C. rufifacies*, mas a variação de pigmentação observada nos exemplares de *C. albiceps* aqui examinados mostra que este caractere não é útil para separar as duas espécies.

Erzinçlioglu (1987) relata espinhos no eixo dos primeiros tubérculos dorsais para *C. albiceps*, mas os espécimes avaliados apresentaram variação na presença destes espinhos.

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Dominica, Equador, Guatemala, Nicarágua, Paraguai, Peru, Porto Rico, Uruguai, Venezuela.

Biologia: Sinantrópica, endofílica e prefere locais de alta umidade e temperatura (Greenberg, 1971; Baumgartner e Greenberg, 1985). Tem sido registrada no semi-árido da caatinga, cerrado, savana, em florestas ombrófilas e latifoliadas, restinga, pampas, estepes e raramente em áreas costeiras (Faria et al., 2013; Carvalho et al., 2004; Alves et al., 2014; Armani et al., 2015; Amat et al. 2016; Cavalcante et al., 2015; Vasconcelos et al., 2015; 2016; Oliveira e Vasconcelos, 2017; Luz et al., 2020). Na região sudeste do Brasil pode ser encontrada o ano inteiro (Souza e Linhares, 1997; Moretti et al., 2008). Tem sido atraída e se cria em uma grande variedade de substratos alimentares tais como, mais comumente, corpos e vísceras de animais (cão, cavalo, coelho, galinha, gato, humanos, porco, raposa, rato, vaca ou peixe), e menos frequentemente em lixo, vinhoto e fezes humanas (Queiroz e Carvalho, 1987; Carvalho et al., 2000, Andrade et al., 2005; Centeno et al., 2002; Mendonça et al., 2010; Alves et al., 2014, apud in Baumgartner e Greenberg, 1985). Larvas de segundo ou terceiro estádios apresentam comportamento predatório facultativo de outras larvas de Diptera (e.g. Stratiomyidae, Sarcophagidae e outros Calliphoridae), particularmente quando a densidade larval é maior que o recurso alimentar disponível (Faria et al., 1999; Faria e Godoy, 2001; Cherix et al. 2012). Está associada à miíases facultativas (Oliveira, 1985; Smith, 1986; Fernandes et al., 2009) e também casos forenses para determinação do IPM (Oliveira e Vasconcelos, 2010; Kosmann et al., 2011; Vairo et al., 2014; Vasconcelos et al., 2014; 2017; Thyssen et al., 2018). Em laboratório, as larvas se desenvolvem bem em carne moída bovina fresca e em dietas artificiais com acréscimo de tecido animal (Estrada et al., 2009), levando em média de 9-14 dias para se desenvolver de ovo a adulto entre 25-27°C (Queiroz e Azevedo, 1991; Beuter e Mendes, 2013).

Chrysomya megacephala (Fabricius) (Figs. 4A–H; Fig. 15C)

(96 h; N=30)

Pseudocéfalo. Como descrito nos comentários gerais. **Palpo maxilar.** mostra um conjunto de nove sensilas, sendo sete sensilas celocônicas e uma basicônica dispostas em círculo na região central; uma sensila basicônica adicional está arranjada latero-dorsalmente no tegumento.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Com dentes robustos e semicirculares, com região basal quadrada e concavidade na margem dorsal. Esclerito oral acessório. Fortemente pigmentado, apresenta duas variações: a primeira, em forma de vírgula e a segunda, em forma de ponto. Esclerito dental. Fortemente pigmentado, é semi-circular ou oval, com processo em forma de espinho na margem posterior. Esclerito labial (anterior). É duas vezes menor que o esclerito dental e quadrado, com extremidades arredondadas; em vista ventral, é em arco e une os ganchos orais. Esclerito labial (posterior). Fortemente pigmentado e em forma de bastão; em vista ventral, é arredondado. Esclerito intermediário. Estreito e em forma de "T" com pontas arredondadas; região posterior com protuberância adicional arredondada. Barra parastomal. Em forma de bastão e com mais da metade do comprimento do esclerito intermediário. Ponte dorsal. Afilado apicalmente e fortemente pigmentado. Placa vertical. Fortemente pigmentada, mais longa do que alta e com margem posterior com concavidade de abertura estreita. Depressão óptica. Abertura estreita, com projeção marginal fortemente pigmentada. Corno dorsal. Alongado, curvado e com margens ventral e apical fortemente pigmentadas; o ápice é afilado a aloca uma janela estreita. Corno ventral. Alongado, com aproximadamente metade do comprimento do corno dorsal; margem posterior com dois processos, um superior e um inferior, em que o superior contém uma janela triangular e apresenta metade do comprimento do inferior e curvatura acentuada; em vista ventral, o par pode apresentar ou não arco pigmentado unindo a extremidade posterior. **Hipofaringe.** É lisa e hialina.

Segmentos torácicos. Espiráculo anterior. O número de lobos varia de 7-11, com a maioria 9. **Espinhos.** Fortemente pigmentados na metade apical; T1 com fileiras de espinhos concêntricos; na região mediana os espinhos tem pontas duplas ou triplas e na região lateral e posterior, com pontas únicas em gancho ou retilíneas; T2-T3 com espinhos dispersos, com maioria de pontas duplas ou triplas, diminuindo gradualmente de tamanho em direção posterior. **Área interbandas.** Rugosa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A5 com bandas de espinho anteriores e completas; A6 com banda de espinhos anteriores incompletas (raramente completas) estando restritas ventralmente e látero-ventralmente; A7 com fileiras de espinhos posteriores dorsais; a maioria dos espinhos presentes nos segmentos possuem pontas dupla ou tripla; em <u>vista ventral</u>, todos os segmentos apresentam bandas de espinho anteriores, mas, apenas A3-A7 apresentam uma porção de espinhos minúsculos e posteriores localizados látero-ventralmente. **Área interbandas.** Rugosa e com cinturão lateral de rastejamento na margem posterior de A1-A4,

com espinhos de ponta única e fracamente pigmentados; margem posterior de A5 pode ou não apresentar cinturão lateral de rastejamento.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos incompleta, restrita ventralmente e látero-ventralmente. **Espiráculos posteriores.** Peritrema espesso, incompleto e sem botão; o tegumento que margeia a placa espiracular é liso. **Papilas espiraculares.** São cônicas com ápice arredondado ou arredondadas e com ranhuras concêntricas; o tegumento que margeia as papilas apresenta minúsculos espinhos não pigmentados. **Papilas dorsais.** P2-P3 mais próximas entre si do que de P1; P2 pequenas, geralmente com metade do tamanho de P3. **Papilas ventrais.** P4-P6 equidistantes, com P6 mais externas e aproximadamente três vezes menores em relação à P4-P5. **Almofada anal.** Com espinhos de ponta única fortemente pigmentados; na região dorsal, as fileiras de espinhos estão dispostas em arco; na região posterior, as fileiras de espinhos superiores ao ânus atingem as fileiras de espinho inferiores. **Papilas anais.** Cônicas, proeminentes e com ranhuras concêntricas.

Comentários. Morfologicamente, *C. megacephala* é similar a outras espécies de *Chrysomya*, em particular C. putoria, e ambas podem ser diferenciadas por caracteres presentes no tegumento (presença ou não de cerdas e protuberâncias) e na almofada anal (espinulação não pigmentada). Chrysomya megacephala pode ser distinta das demais Chrysomya, entre elas, C. rufifacies, por estruturas do cefaloesqueleto (presença ou não do esclerito oral acessório). Algumas discrepâncias e variações foram observadas nos exemplares de C. megacephala aqui examinados e devem ser levadas em consideração a fim de evitar erros durante sua identificação. Na literatura é relatada a pigmentação parcial do esclerito oral acessório, ora em forma de vírgula (ver Ishijima, 1967) e ora em forma de ponto (ver Erzinçlioglu, 1990 e Florez e Wolff, 2009), sendo utilizadas em chaves de identificação (Ishijima, 1967; Wells et al., 1999; Thyssen, 2010), mas, ambas as formas foram observadas no presente estudo. Houve discrepância em relação ao padrão de espinhos dos segmentos abdominais. Erzinçlioglu (1990) e Holloway (1991) relatam A5 com bandas de espinhos incompletas e Ishijima (1967) e Barros-Cordeiro e Pujol-luz (2010) relatam A6 com bandas de espinhos completas, diferindo do observado aqui para C. megacephala, em que a banda de espinhos de A5 é sempre completa e em A6 é variável (incompleta ou completa).

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Brasil, Colômbia, Dominica, Grandes Antilhas, Jamaica, México, Paraguai, Peru, Porto Rico, República Dominicana, Venezuela.

Biologia. Moscas de C. megacephala, também conhecida como "Oriental Latrine Fly", são sinantrópicos, endofílicos, e têm sido registrados em ambientes de caatinga, cerrado, florestas ombrófilas e latifoliadas, restinga, pampas e raramente em áreas costeiras (Moretti et al., 2008; Rosa et al., 2011; Alves et al. 2014; Amat et al. 2016; Cavalcante et al., 2015; Vasconcelos et al., 2015; Oliveira e Vasconcelos, 2017; Luz et al., 2020). Suas fêmeas são predominantemente ativas durante o dia, porém estudos no Brasil demonstraram oviposições noturnas (Carneiro et al. 2021). São atraídos por corpos de animais (coelho, ratos, porco, bovinos, peixe, humanos), lixo urbano, fezes, urina, banana e outros tipos de matéria orgânica em decomposição (D'almeida e Lima, 1994; Guimarães e Papavero, 1999; Souza et al., 2008; Alves et al. 2014; Vasconcelos et al., 2015; Oliveira e Vasconcelos, 2017). Suas larvas se criam em substratos diversos como corpos e vísceras de animais (peixe, humanos, carne bovina, suína, caprina e equina, fígado, vísceras de frango), farelo de arroz e fezes (D'almeida e Salviano, 1996; Aguiar-Coelho e Azevedo, 1998; Guimarães e Papavero, 1999; Gabre et al., 2005; Bharti et al., 2007; Ismail et al., 2007; Moretti et al., 2008; Sousa et al., 2010; Aguirre-Gil et al., 2015; Badenhorst e Villet, 2018). São importantes para a saúde pública e veterinária, devido à transmissão mecânica de patógenos (Maldonado e Centeno, 2003; Oliveira et al., 2006) e por causarem miíases facultativas (Guimarães e Papavero, 1999; Mondal et al., 2016). Também tem sido associadas a cadáveres, para a determinação do IPM em casos forenses (Oliveira e Vasconcelos, 2010; Vasconcelos et al., 2014; Vasconcelos et al., 2017; Thyssen et al., 2018). Em laboratório levam aproximadamente 8-10 dias para se desenvolverem de ovo a adulto entre 25-30 °C (Wells e Kurahashi, 1994; Gabre et al., 2005; Barros-Cordeiro e Pujol-luz, 2010; Gruner et al. 2017).

Chrysomya putoria (Wiedemann) (Figs. 5 A–I; Fig. 15D)

(96 h; N=37)

Pseudocéfalo. Como descrito nos comentários gerais. **Palpo maxilar.** apresenta um conjunto de oito sensilas, sendo três sensilas basicônicas e cinco sensilas celocônicas; duas sensilas basicônicas e quatro celocônicas estão localizadas no centro do palpo maxilar.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Robustos, com dentes longos e semicirculares, com região basal quadrada e protuberância em sua margem dorsal. **Esclerito oral acessório.** Ausente. **Esclerito dental.** Triangular com margem posterior côncava. **Esclerito labial (anterior).** Oval e é duas vezes menor que o esclerito dental; em <u>vista ventral</u>, é um arco estreito que une a base do gancho oral. **Esclerito labial (posterior).** Quando visível é arredondado e

em <u>vista ventral</u>, são retangulares com pontas arredondadas. **Esclerito intermediário.** Estreito e em forma de "T" com pontas arredondadas e processo ventral com ápice fracamente pigmentado e metade do comprimento da região superior. **Barra parastomal.** Com mais da metade do comprimento do esclerito intermediário, tem ápice afilado e curvado para cima.. **Ponte dorsal.** É afilada e fortemente pigmentada. **Placa vertical.** Mais longa do que alta, fortemente pigmentada na região mediana e com margem posterior com concavidade de abertura estreita. **Depressão óptica.** Abertura ampla com projeção marginal fracamente pigmentada. **Corno dorsal.** Alongado, arredondado no ápice que contém uma janela estreita; margem ventral com linha fortemente pigmentada, espessando-se em direção ao ápice. **Corno ventral.** Apresenta metade do comprimento do corno dorsal e dois processos na margem posterior, um superior e um inferior, sendo o superior com curvatura acentuada em relação ao inferior e contendo uma janela estreita; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior. **Hipofaringe.** É estriada e fracamente pigmentada.

Segmentos torácicos. Espiráculo anterior. O número de lobos varia de 7-18, com maioria 9. **Espinhos.** Fracamente pigmentados e pouco evidentes em estereomicroscópio; T1 com espinhos uma, duas ou três pontas e distribuídos em fileiras concêntricas; T2-T3 com espinhos com uma a três pontas e fileiras dispersas. **Área interbandas.** Rugosa, com metade posterior de T3 com numerosas cerdas finas e fracamente pigmentadas, dando aspecto aveludado ao tegumento.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A3 com bandas de espinhos anteriores e completas; A4 pode ser completa ou não, apresentando poucas fileiras dorsais (1-2); A5 raramente é completa, apresentando espinhos dorsais não-pigmentados; A6 com bandas de espinhos restritas ventralmente e látero-ventralmente; em A7 pode apresentar ou não grupos de espinhos posteriores dorsais, com espinhos fracamente pigmentados apicalmente; em todos os segmentos, os espinhos tem uma, duas ou três pontas, são fracamente pigmentados e pouco evidentes; em <u>vista ventral</u>, A2-A7 apresentam fileiras de espinhos anteriores e posteriores. **Área interbandas.** Com cinturão lateral de rastejamento na margem posterior de A1-A4, porém são difíceis de visualizar devido à não-pigmentação ou pigmentação fraca; região dorsal e lateral de A1-A7 com numerosas cerdas finas e fracamente pigmentadas, dando um aspecto aveludado ao tegumento; na região dorsal e lateral, há pares de protuberâncias arredondadas que são melhor visualizadas em A5-A7.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos incompleta, restrita ventralmente e latero-ventralmente. **Espiráculos posteriores.** Peritrema espesso e incompleto; botão

espiracular ausente ou, em sua maioria, incompleto; o tegumento que margeia a placa espiracular é liso. **Papilas espiraculares.** Em sua maioria são cônicas com ápice arredondado, apresentando ranhuras concêntricas; o tegumento que margeia as papilas é liso. **Papilas dorsais.** P2-P3 são mais próximas entre si do que de P1, sendo P2 com metade do tamanho das demais papilas. **Papilas ventrais.** Equidistantes, com P6 três vezes menores e posicionadas externamente em relação às demais papilas. **Almofada anal.** Com espinhos de ponta única fortemente pigmentados; na região dorsal, as fileiras de espinho são dispostas em arco e na região posterior, as fileiras de espinho são restritas acima do ânus; no tegumento entre a almofada anal e placa espiracular, há espinhos delgados, filiformes e não-pigmentados. **Papilas anais.** São cônicas e com ápice arredondado, com ranhuras concêntricas.

Comentários. *C. putoria* se destaca de outras espécies de *Chrysomya* neotropiais principalmente pelas características do tegumento (com cerdas e protuberâncias) e padrão de espinhos da almofada anal (sem pigmentação). Para evitar erros na identificação de *C. putoria,* é necessário levar em consideração variações morfológicas e discrepâncias em relação a outras descrições. Queiroz e Carvalho, 1987 descrevem A4 com bandas de espinhos apenas incompletos e no presente estudo, este segmento apresentou variações (bandas completas ou incompletas), também relatadas por Greenberg e Szyska, 1984. O botão espiracular é uma característica que, majoritariamente, é reportada como ausente (ver Greenberg e Szyska, 1984; Queiroz e Carvalho, 1987; Mendonça et al., 2012) e raramente é relatada como presente (ver Oliveira et al., 2007), mas, neste estudo o botão espiracular de *C. putoria* foi variável (incompleto ou ausente).

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Brasil, Bolívia, Colômbia, Panamá, Paraguai, Peru e Venezuela.

Biologia. Conhecidos como "African Latrine Fly", são sinantrópicos e encontrados em diferentes ambientes como caatinga, cerrado, floresta ombrófila, restinga, pampas e raramente em áreas costeiras (Vianna et al., 2004; Rosa et al., 2009; Alves et al., 2014; Vasconcelos et al., 2015; Oliveira e Vasconcelos, 2017; Luz et al., 2020). São atraídos e se criam em corpos de animais e vísceras (porco, rato, coelho, peixe, humanos, galinha, boi), lixo urbano e eventualmente por frutas fermentadas e fezes humanas (Greenberg, 1971; Baumgartner e Greenberg, 1985; Ferreira e Lacerda, 1993; D'almeida e Lima, 1994; Guimarães e Papavero, 1999; Alves et al., 2014; Vasconcelos et al., 2015; Oliveira e Vasconcelos, 2017). Adultos e larvas de *C. putoria* são encontrados em corpos humanos e são utilizados na determinação do

IPM em casos forenses (Carvalho et al., 2000; Oliveira e Vasconcelos, 2010; Vasconcelos et al., 2014; Thyssen et al., 2018). Também, apresentam importância sanitária, como potenciais vetores mecânicos (Greenberg, 1971; Lindsay et al., 2012) e como causadores de miíases facultativas (Zumpt, 1965; Guimarães e Papavero, 1999). Em laboratório, suas larvas se desenvolvem bem em carne bovina e peixe, levando aproximadamente 7-12 dias para completarem seu ciclo (ovo a pupa) entre 26-27°C (Greenberg e Szyska, 1984; Laurence, 1988; Oliveira et al., 2007).

Cochliomyia Townsend

Este grupo é endêmico do Novo Mundo e é representado por quatro espécies nomeadas, *C. hominivorax* (Coquerel), *C. aldrichi* Del Ponte, *C. macellaria* (Fabricius) e *C. mínima* Shannon (Dear, 1985; Guimarães e Papavero, 1999). Destas, *C. hominivorax* e *C. macellaria* são as mais frequentes, embora, após a introdução de *Chrysomya* no Novo Mundo, a população de *C. macellaria* tenha diminuído substancialmente (Wells e Greenberg, 1992; Guimarães, Prado & Buralli, 1978 apud Guimarães e Papavero, 1999). Apesar da frequência de ambas as espécies, *C. hominivorax* é a que provoca maior prejuízo econômico (Grisi et al., 2014). Ainda que não existam descrições para larvas de *C. aldrichi*, um caracter que tem potencial para definir este grupo é a pigmentação externa ao corno dorsal (Fig. 6 H e 7 F) (= área externa do "esclerito faringeal" pigmentado) em conjunto com A1-A6 com cinturão lateral de rastejamento (ver Laake, 1936; Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009; Yusseff-Vanegas, 2014; presente estudo).

Cochliomyia hominivorax (Coquerel) (Figs. 6 A–I; 15E)

(96 h; N=18)

Diagnose. Pseudocefalo com seis sensilas totais, sendo dois do tipo basicônicas e quatro celocônicas. Cefaloesqueleto com ganchos orais robustos e pigmentação externa ao corno dorsal margeando-o geralmente até a primeira metade. O esclerito intermediário é amplo e triangular. O corno ventral apresenta dois processos arredondados e, em vista ventral, pode apresentar arco pigmentado unindo os cornos ventrais na extremidade posterior. A abertura entre o corno dorsal e ventral é ampla. Hipofaringe lisa e fracamente pigmentada. Número de lobos do espiráculo anterior variando de 5-9, com maioria 8. Os espinhos dos segmentos corporais são fortemente pigmentados, proeminentes e dispersos entre si, com pontas única,

dupla ou raramente tripla. A1-A5 com bandas de espinhos anteriores e completas, A6-A7 anteriores incompletas, sendo A6 interrompida dorsalmente e A7 restritas ventralmente e ventro-lateralmente. Bandas de espinhos posteriores de A6 podem ser completas ou incompletas, interrompidas dorsalmente ou dorso-lateralmente. Bandas de espinhos posteriores de A7 completa. Área interbandas de A1-A6 com cinturão lateral de rastejamento nas margens posteriores, o qual o cinturão de A6 eventualmente se une à banda de espinhos de A6. O par de traqueias respiratórias são fortemente pigmentadas e melhor visíveis em vista dorsal, mas, por meio de um corte sagital na divisão anal, também é possível observar esta pigmentação internamente. Espiráculos posteriores com peritrema delgado, incompleto e sem botão. Papilas dorsais e ventrais rudimentares com ranhuras concêntricas que evidenciam sua localização no tegumento. P2-P3 mais próximas entre si do que de P1 e P4-P6 equidistantes. Almofada anal com grupos de espinhos restritos acima do ânus, na região dorsal e na região posterior.

Comentários. À primeira vista, *C. hominivorax* é muito similar a *C. macellaria*, (Guimarães e Papavero, 1999) o que pode dificultar sua identificação e por esta razão, os caracteres diagnósticos devem ser observados com atenção. Algumas características que diferenciam *C. hominivorax* de *C. macellaria* e *C. mínima*, envolvem: a pigmentação das traquéias (ausente), disposição de espinhos na região dorsal da almofada anal (dispostos em "V"), forma da hipofaringe (estriada), pigmentação externa ao corno dorsal (geralmente do segundo terço em diante), preseça ou não do esclerito oral acessório (presente em *C. mínima*), arranjo da banda de espinhos posteriores em A7 (restritas ventralmente em *C. macellaria*), forma e presença de P6 (desenvolvidos em *C. macellaria* e ausentes em *C. mínima*) (ver Laake, 1936; Greenberg e Szyska, 1984; Wells, 1999; Florez e Wolff, 2009; Yusseff-Vanegas, 2014) e a disposição das fileiras de espinhos na região posterior da almofada anal (comas fileiras superiores unidas às inferiores em *C. macellaria*). Além dos caracteres já citados, Erzinçlioglu (1987) considera o tipo e a separação dos espinhos, que para *C. macellaria*, apresentam pelos menos duas pontas (as vezes mais de 4), são arredondadas e com maior distância entre as pontas quando comparadas à *C. hominivorax*

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Bahamas, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Equador, Grandes Antilhas, Guatemala, Guiana Francesa, México, Nicarágua, Panamá, Peru, Porto Rico, República Dominicana, Jamaica, Trinidad e Tobago, Uruguai e Venezuela. **Biologia.** São sinantrópicos e podem se alimentar de vegetais, excrementos, carne e carcaça (galinha, porco, bovinos) e exsudatos de feridas (Marcondes et al., 2011; Alves et al., 2014).

São encontrados em ambientes de floresta ombrófila e latifoliada, caatinga, regiões áridas, cerrado e savana (Ferraz et al., 2010; Alves et al., 2014; Mastrangelo et al., 2014a; Luz et al., 2020). Suas larvas são parasitas obrigatórias, causando miíases em diversos animais (incluindo humanos), mas principalmente em gado, afetando diretamente a produção de carne, couro e leite e causando graves prejuízos econômicos (Guimarães e Papavero, 1999; Grisi et al., 2014). Também são importantes no âmbito forense, estando associada à casos de negligência de incapazes (Thyssen et al., 2012). Suas fêmeas são atraídas especialmente pelo odor das feridas expostas do hospedeiro e ovipõem nas margens destas feridas (Guimarães e Papavero, 1999; Marcondes et al., 2011), sendo capazes também de ovipor em orifícios corporais naturais (Laake, 1936; Guimarães e Papavero, 1999). No período de 24h, ocorre a eclosão do primeiro estádio e estas larvas migram para dentro da ferida onde permanecem integradas, se alimentando. Durante 4-10 dias se alimentam do tecido e fluidos da ferida e se desenvolvem em segundo e terceiro estádios. Ao alcançarem o terceiro estádio, estas larvas deixam a ferida e caem no solo para empupar. O período de pupa dura aproximadamente 7 dias e após este período ocorre a emergência do adulto (Guimarães e Papavero, 1999; Marcondes et al., 2011). Em laboratório, algumas composições químicas, como o "Swormlure" podem ser produzidas, a fim de atrair e capturar adultos em locais de coleta (Mackley e Brown, 1984). Para a criação, suas larvas podem ser mantidas a 30 °C (± 5 °C) e alimentadas com carne fresca moída suplementada com sangue e água (2:1), enquanto os adultos, podem ser mantidos com uma dieta composta de leite em pó, açúcar e fermento (Cardoso et al., 2014). Dietas alternativas para a sua criação em massa também têm sido testadas (Mastrangelo et al., 2014b).

Cochliomyia macellaria (Fabricius) (Figs. 7 A–H; Fig. 15F)

(96 h; N=50)

Diagnose. Pseudocefalo com sete sensilas no total, das quais duas são basicônicas e cinco são celocônicas. Cefaloesqueleto com pigmentação externa ao corno dorsal margeando-a a partir do segundo terço. Corno ventral apresenta dois processos posteriores arredondados e, em vista ventral, pode apresentar arco fracamente pigmentado na extremidade posterior. A abertura entre o corno dorsal e o corno ventral é estreita. Hipofaringe estriada e fracamente pigmentada. O número de lobos do espiráculo anterior varia de 9-12, com maioria 10. Os espinhos são de pontas única ou dupla. A1-A5 com bandas de espinhos anteriores e completas, A6 podem ser completas ou incompletas com interrupção dorsal e A7 são incompletas, sendo restritas

ventralmente e látero-ventralmente. Área interbandas de A1-A5 com cinturão lateral de rastejamento nas margens posteriores e em A6, o cinturão pode estar presente ou não. Os últimos três segmentos abdominais, podem apresentar ou não pigmentação nos túbulos de Malpighi, sendo melhor visíveis dorsalmente e em larvas frescas. Peritrema delgado, incompleto e sem botão. Papilas dorsais com um terço do tamanho das papilas ventrais. Papilas ventrais são geralmente equidistantes e com P4 com o dobro do tamanho de P5. Na região dorsal, os espinhos da almofada anal são distribuídos em "V" ou em "X" e na região posterior, as fileiras de espinhos superiores se unem às fileiras de espinhos inferiores.

Comentários. *C. macellaria* pode ser distinta de outras espécies de *Cochliomyia* através do esclerito oral acessório (presente em *C. mínima*), da forma da hipofaringe (lisa em *C. hominivorax*), pigmentação do corno dorsal (limitada ao seu primeiro terço em *C. hominivorax*), presença ou não de P6 (ausentes em *C. mínima*) (Laake, 1936; Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009; Yusseff-Vanegas, 2014), a pigmentação das traquéias (presentes em *C. hominivorax*), a distribuição dos espinhos posteriores em A7 (completos em *C. hominivorax*) e disposição dos espinhos na região dorsal da almofada anal (restritas em grupos acima do ânus em *C. hominivorax* e dispostas em arco em *C. mínima*) (Aubertin e Buxton, 1934; Laake, 1936; Knipling, 1939; Guimarães e Papavero, 1999; Florez e Wolff, 2009; Thyssen, 2010). Liu e Greenberg (1989), propõem em sua chave taxonômica a pigmentação dos túbulos de Malpighi como um caracter para diferenciar *C.macellaria* de outras espécies, mas, variações apresentando morfotipos com e sem a pigmentação foram observadas nos exemplares deste estudo e também foram relatadas por Cunha-e-Silva e Azevedo (1992),e, por esta razão este caracter por si só não confiável para a identificação.

Distribuição. NEOTROPICAL. Antígua, Argentina, Bahamas, Barbados, Belize, Brasil, Bolívia, Chile, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Curaçao, Dominica, Equador, Guatemala, Granada, Grandes Antilhas, Guiana, Honduras, Ilhas Cayman, Ilha Martinica, Ilha São Bartolomeu, Ilhas Virgens, Jamaica, México, Montserrat, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Porto Rico, República Dominicana, São Cristóvão e Névis, São Vicente, Trinidad e Tobago, Uruguai, Venezuela.

Biologia. São sinantrópicos e encontrados em diversos ambientes como cerrado, savana, caatinga, florestas ombrófilas, latifoliadas, e em áreas montanhosas e costeira (Centeno et al., 2009; Ferraz et al., 2010; Oliveira e Vasconcelos, 2010; Rosa et al., 2011; Koller et al., 2011; Alves et al., 2014; Barbosa e Vasconcelos, 2015). São atraídas e se criam em diversos tipos de

substrato, como corpos e vísceras de animais (humanos, cão, galinha, porco, rato, bovinos, equinos, peixes, leões-marinhos) e em lixo urbano (Guimarães e Papavero, 1999; Centeno et al., 2009; Boatright e Tomberlin, 2010; Zhu et al., 2013; Alves et al., 2014; Garcia et al., 2017; Oliveira e Vasconcelos, 2017). Também, são atraídas por feridas expostas e causam miíases facultativas (Guimarães e Papavero, 1999). Ao causar a miíase, as larvas de *C. macellaria* se movimentam pela ferida, diferentemente de *C. hominivorax*, que permanece enterrada e com o último segmento voltado para a superfície (Laake, 1936). Sua associação à corpos humanos, pode auxiliar na determinação do IPM em casos forenses (Oliveira-Costa e Mello-Patiu, 2004). Em laboratório, desenvolvem-se bem em carne bovina e o período total de desenvolvimento de ovo a pupa leva aproximadamente 7-10 dias entre 25-28 °C (Byrd e Butler, 1996; Boatright e Tomberlin, 2010).

Lucilia Robineau-Desvoidy

Este grupo de moscas conhecidas como "green bottles" são responsáveis por causarem miíases e sérios prejuízos à criação de ovelhas em muitos países, em particular a Austrália (Zumpt, 1965; Guimarães e Papavero, 1999). É distribuída mundialmente, possivelmente devido a transportes humanos e movimentação de gado para novos habitats (Baumgartner e Greenberg, 1985; Guimarães e Papavero, 1999). Knipling (1936), afirma que espécies de *Lucilia* podem ser diferenciadas de *Phormia, Cochliomyia* e *Chrysomya* por meio do peritrema completo, mas, espécies de *Calliphora* também apresentam peritrema completo (ver Erzinçlioglu, 1985; Liu e Greenberg, 1989; Velásquez et al., 2010; Presente estudo). Por esta razão esta característica deve ser avaliada com cautela para definir este grupo. Outros autores sugerem a ausência do esclerito oral acessório como um caracter que diferencia *Lucilia* de outros grupos, mas Zumpt (1965) ressalta que *L. ampullacea* Villeneuve, uma espécie européia, também apresenta esta estrutura (Knipling, 1936; Zumpt, 1965; Ishijima, 1967; Rognes, 1991).

Lucilia cuprina (Wiedemann) (Figs. 8 A–H; Fig. 16A)

(96 h; N=50)

Diagnose. Cefaloesqueleto com dentes delgados e semicirculares. Corno dorsal com linha fortemente pigmentada e delgada na margem ventral. Corno ventral com margem posterior côncava. Abertura entre os cornos dorsal e ventral ampla. Hipofaringe estriada. O número de lobos do espiráculo anterior varia de 5-10, com maioria 6. Segmentos com espinhos de pontas

única, dupla ou raramente triplas e fracamente pigmentados. A1-A4 com bandas de espinhos anteriores e completas (A4 com poucas fileiras dorsais, 3-4) e A5-A7 com bandas de espinhos anteriores incompletas, restritas ventralmente e látero-ventralmente. A7 com fileiras dorsais de espinhos posteriores diminutos. Área interbandas de A2-A7 com demarcação lateral proeminente. Espiráculos posteriores com peritrema delgado, completo e com botão completo. Tegumento ao redor da placa espiracular com ranhuras. Papilas dorsais em geral equidistantes, mas podem apresentar P1-P2 mais próximas entre si. P1 internalizadas no tegumento em relação à P2 e P3. P2 com metade do tamanho de P1 e P3. Almofada anal com espinhos de ponta única ou dupla pigmentados e com espinhos delgados (lembrando um fio de cabelo) e não pigmentados; na região dorsal e posterior seus espinhos são distribuídos em arco e um grupo está concentrado em um único ponto restrito acima do ânus.

Comentários. L. cuprina pode ser distinta de outras Lucilia neotropicais por características dos cornos dorsal e ventral (ver descrição de L. eximia e ilustrações de Greenberg e Szyska, 1984 e Florez e Wolff, 2009), pelo tipo de espinhos (anastomosados e granulosos em L. sericata (Meigen, 1826) (ver Holloway, 1991), disposição de espinhos em A7 (incompleta em L.eximia (Wiedemann, 1819) e completa em L. purpurascens (Walker, 1836) (= L. peruviana) (ver Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009 e Thyssen, 2010), tipo de espinhos da almofada anal (dispersos e fracamente pigmentados em L. sericata) (ver Erzinçlioglu, 1987 e Thyssen, 2010) e pela presença ou não de microtubérculos na divisão anal (presente em L. sericata) (ver Waterhouse e Paramov, 1950). Também é possível distingui-las pelo tamanho das papilas dorsais (iguais em L. mexicana Macquart, 1843) (ver Szpila e Grzywacz, 2019), pela posição das papilas no tegumento (P1 é mais internalizada em L. eximia) (ver Knipling, 1936; Greenberg e Szyska, 1984 e Velásquez et al., 2010). É importante ressaltar que em espécies de L. cuprina e L. eximia, a distância entre as papilas dorsais é variável, sendo equidistante em alguns espécimes (ver Greenberg e Szyska, 1984 e presente estudo) e deve ser considerada com cautela. Waterhouse e Paramov, 1950 e Zumpt, 1965 apontam o número de lobos do espiráculo anterior como um caracter de diferenciação entre espécies de Lucilia, mas ressaltam que esta estrutura pode variar de acordo com a região de coleta (Waterhouse e Paramov, 1950; Zumpt, 1965), o que a torna pouco confiável sozinha. As amostras de L. cuprina aqui observadas variam entre si e em relação a outros estudos neotropicais. Greenberg e Szyska, 1984 relatam 5-6 lobos em exemplares peruanos e Mendonça et al., 2014 registram 6-7 em exemplares brasileiros.

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Bahamas, Brasil, Colômbia, Cuba, Equador, Haiti, Ilhas Virgens, Jamaica, México, Peru, Porto Rico, Trinidad e Tobago, Uruguai e Venezuela. Biologia. São sinantrópicos e podem ser encontrados em ambientes de cerrado, savana, floresta ombrófila e em ambientes montanhosos (Waterhouse e Paramonov, 1950; Rosa et al., 2011; Alves et al., 2014; Barbosa e Vasconcelos, 2015). Seus adultos se alimentam de frutas em decomposição, néctar de flores, fezes de animais, e podem ser atraídos e se criar em corpos e vísceras de animais (porco, rato, peixe, humanos, bovinos) e lixo urbano (Webber, 1958; Zumpt, 1965; Ferreira e Lacerda, 1993; Baumgartner e Greenberg, 1985; Alves et al., 2014). Há relatos de sua associação a cadáveres e utilização em casos forenses (Sukontason et al., 2007). Além da importância sanitária como vetores mecânicos de diversos microrganismos (Greenberg, 1971), podem causar miíases facultativas em humanos e outros animais (Zumpt, 1965; Greenberg, 1971). Por esta razão, são consideradas pragas em alguns países (*e.g.* Austrália), mas, no Brasil é raramente encontrada em áreas rurais causando miíases (Barbosa e Vasconcelos, 2015). Em laboratório desenvolvem-se bem em carne bovina e levam 14-22 dias para se desenvolverem de ovo a adulto entre 25-30 °C (Kotzé et al., 2015; Bansode et al., 2016).

Lucilia eximia (Wiedemann) (Figs. 9 A–I; Fig. 16B)

(96 h; N=50)

Diagnose. Cefaloesqueleto com dentes delgados e semicirculares. Corno dorsal com linha de pigmentação ventral se espessando em direção apical. Corno ventral com dois processos na margem posterior, dos quais o processo superior apresenta curvatura acentuada. Abertura entre os cornos dorsal e ventral estreita. Hipofaringe estriada. Segmentos com espinhos com pontas única, dupla ou raramente triplas fracamente pigmentadas. O número de lobos do espiráculo anterior varia de 6-10, com maioria de 8. A1-A3 com bandas de espinhos anteriores e completas e A4 anteriores e incompletas, interrompidas dorsalmente. A5-A7 com bandas de espinho anteriores incompletas e restritas ventralmente e látero-ventralmente. Área interbandas de A2-A7 com demarcação lateral lisa e proeminente. Espiráculos posteriores com peritrema delgado, completo e com botão completo. Papilas dorsais variáveis, sendo equidistantes ou com P2-P3 mais próximas entre si. P1 com o dobro do tamanho das demais papilas dorsais. Almofada anal com fileiras de espinhos pigmentados e fileiras de espinhos não pigmentados e delgados (lembrando um fio de cabelo). Região dorsal da almofada anal com fileiras de espinhos

dispostos em arco e região posterior com fileiras de espinhos superiores ao ânus se unindo às fileiras inferiores.

Comentários. As principais diferenças, entre *L. eximia* e outras espécies neotropicais de *Lucilia* estão na abertura e pigmentação dos cornos dorsal e ventral (ver descrições de *L. cuprina* e *L. eximia* do presente estudo), na distribuição de espinhos em A7 (banda de espinhos completa em *L. sericata*, *L. purpurascens* (descritas como *L. peruviana*) (Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009; Szpila et al., 2010; Szpila e Grzywacz, 2019), presença ou não de microtubérculos na divisão anal (presente em *L. sericata*) (ver Waterhouse e Paramov, 1950) e o tamanho das papilas dorsais (P2 igual ou ligeiramente menor que P1 e P3 em *L. mexicana*) (ver Knipling, 1936). Greenberg e Szyska (1984), Queiroz e Carvalho (1987) e Florez e Wolff (2009) relatam em suas descrições ou chaves de identificação a distância entre as papilas dorsais para diferenciar *L. eximia* de outras espécies, mas, como observado neste estudo este caracter é variável e é pouco confiável sozinho.

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Barbados, Belize, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Dominica, El Salvador, Equador, Granada, Guatemala, Honduras, Ilhas Virgens, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Porto Rico, República Dominicana, São Vicente, Suriname, Trinidad e Tobago, Uruguai, Venezuela.

Biologia. São sinantrópicas e encontradas em ambientes de caatinga, cerrado, savana, florestas ombrófila e latifoliada, florestas de altitude, pampas e em áreas litorâneas (Baumgartner e Greenberg, 1985; D'almeida e Lima, 1994; Rosa et al., 2011; Alves et al., 2014; Vasconcelos et al., 2015; Vasconcelos et al., 2016). São atraídos e se criam em corpos e vísceras de animais (humanos, cão, gato, coelho, porco, rato, peixe, galinha), frutas em decomposição, fezes, em lixo urbano e podem ovipositar também em flores de *Stapelia gigantea* L. (Apocynaceae) (Ferreira e Lacerda, 1993; D'almeida e Lima, 1994; Moretti et al., 2008; Alves et al., 2014; Luna et al., 2014; Vasconcelos et al., 2015). Além da importância sanitária, como vetor mecânico de diversos microrganismos (Greenberg, 1971; Guimarães e Papavero, 1999), podem causar miíases em animais (Azeredo-Espin e Madeira, 1996; Moretti e Thyssen, 2006; Muñoz-Garcia et al., 2016). No âmbito forense, estão associadas à determinação do IPM em casos reais (Sanford et al., 2014; Thyssen et al., 2018). Em laboratório, desenvolvem-se bem em carne bovina e demoram aproximadamente 15 dias para se desenvolver de ovo a adulto a $26\pm1^{\circ}C$ (Zampim, *person. comun*).

Hemilucilia Brauer

Este grupo é endêmico da região neotropical e compreende seis espécies – *H. melusina* Dear, *H. towsendi* Shannon, *H. benoisti* Séguy, *H. souzalopesi* Mello, *H. semidiaphana* (Rondani) e *H. segmentaria* (Fabricius) – das quais as quatro últimas podem ser encontradas no Brasil, embora *H. semidiaphana* e *H. segmentaria* sejam as mais comuns (Dear, 1985; Baumgartner e Greenberg, 1985; Kosmann et al., 2013). A maioria das espécies é associada ao ambiente silvestre e a áreas mais baixas, sendo raramente encontradas acima de 1000 m de altitude (Baumgartner e Greenberg, 1985; Amat et al., 2009). Até o momento não é possível determinar caracteres morfológicos larvais exclusivos para definir este grupo. Uma característica potencial que pode ser melhor explorada em outras espécies é o tegumento com estrias paralelas entre si (Fig. 10 D; Fig. 11 D).

Hemilucilia semidiaphana (Rondani) (Figs. 10 A–I; Fig. 16C)

(150-174 h; N=53)

Pseudocéfalo. Como descrito nos comentários gerais. **Palpo maxilar.** apresenta um conjunto de oito sensilas, as quais duas são basicônicas e centrais e seis são celocônicas, sendo quatro centrais e duas laterais.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Dentes robustos e curvados, com região basal quadrada, fortemente pigmentada e margem posterior côncava. **Esclerito oral acessório.** Fortemente pigmentado e em gancho, com ápice curvado para cima; em <u>vista ventral</u> tem forma de "Y" invertido. **Esclerito dental.** Semicircular, com margem ventral côncava. **Esclerito labial (anterior).** oval e dois terços mais curto que o esclerito dental; em <u>vista ventral</u>, é arqueada. **Esclerito labial (posterior).** Quando visível, é em forma de bastão com margem anterior arredondada; em <u>vista ventral</u>, é triangular com pontas arredondadas. **Esclerito intermediário.** Um terço mais longo que a barra parastomal, é robusto, com um processo ventral curto e voltado posteriormente. **Barra parastomal.** Delgada e em forma de bastão. **Ponte dorsal.** Afilada e fortemente pigmentada. **Placa vertical.** Mais longa do que alta, fortemente pigmentada e margem posterior com concavidade de abertura estreita. **Depressão óptica.** Abertura ampla, com projeção marginal fracamente pigmentada. **Corno dorsal.** Curvado em direção ventral, é alongado e apresenta linha de pigmentação forte e espessa; eventualmente pode apresentar janela apical discreta. **Corno ventral.** Com metade do comprimento do corno dorsal, apresenta dois processos: um superior, arredondado e albergando

uma janela oval e um inferior, que é alongado e fracamente pigmentado apicalmente; em <u>vista</u> <u>ventral</u>, o par é unido na extremidade posterior por um arco fracamente pigmentado. **Hipofaringe.** É estriada e fracamente pigmentada.

Segmentos torácicos. Espiráculo anterior. O número de lobos varia de 6-12, com maioria 10. **Espinhos.** Pequenos, retilíneos e fracamente pigmentados; T1 com espinhos de ponta única em sua maioria e com fileiras concêntricas; T2-T3 com espinhos de uma, duas ou três pontas e fileiras posteriores apresentando espinhos mais curtos e de ponta única. **Área interbandas.** Tegumento estriado.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A3 com bandas de espinho anteriores completas; A4 com banda de espinhos anteriores completa ou interrompida dorsalmente; A5 com bandas de espinho anteriores incompletas, interrompidas látero-dorsalmente; A6 com bandas de espinho anteriores incompletas, interrompidas látero-dorsalmente e bandas de espinhos posteriores completas ou incompletas; A7 com bandas de espinhos anteriores completas ou incompletas, interrompidas lateralmente e com bandas de espinhos posteriores completas; em todos os segmentos, os espinhos são retilíneos, fracamente pigmentados, com uma, duas ou três pontas; em vista ventral, as primeiras fileiras de espinhos são proeminentes e maiores em relação às demais fileiras, que diminuem gradualmente de tamanho; A1-A7 apresentam bandas de espinho anteriores e posteriores. Área interbandas. Com tegumento estriado em todos os segmentos. Divisão anal (vista posterior). Banda de espinhos incompleta, restritas ventralmente e láteroventralmente. Espiráculos posteriores. Peritrema espesso, incompleto, com botão completo; o tegumento em que os espiráculos estão inseridos apresenta diversas ranhuras. Papilas espiraculares. São arredondadas, com ranhuras concêntricas ao longo da estrutura; o tegumento que as margeia apresenta ranhuras. Papilas dorsais. P1 aproximadamente um terço maiores que P2-P3; P2-P3 mais próximas entre si do que de P1. Papilas ventrais. Equidistantes, com P6 com metade do tamanho das demais papilas e P5 mais internalizadas no tegumento. Almofada anal. Com espinhos proeminentes, dispersos e fracamente pigmentados, os quais em sua maioria tem pontas duplas ou triplas; na região dorsal, as fileiras de espinhos se dispõem em "V" ou "X"; na região posterior, as fileiras de espinho superiores ao ânus se unem às fileiras de espinhos inferiores. **Papilas anais.** Cônicas e curtas, com ápice arredondado e ranhuras concêntricas.

Comentários. Dentre as espécies de *Hemilucilia* Neotropicais, apenas duas apresentam descrições de suas larvas publicadas. Algumas características de *H. segmentaria* que a diferenciam de *H. semidiaphana* (= *H. flavifacies* (Engel); = *H. hermanlenti* Mello) (ver Dear,

1985, Baumgartner e Greenberg, 1985 e o presente estudo) são através da forma do esclerito oral acessório em vista ventral (forma de "V" ou de "espinho"), forma dos espinhos de T1 (achatado e arredondado), banda de espinhos posteriores em A7 e na divisão anal (incompletas), distância das papilas dorsais (equidistantes), tipo de botões espiraculares (presentes e incompletos) (ver Florez e Wolff, 2009 e presente estudo). Para a identificação de *H. semidiaphana* se deve levar em consideração discrepâncias nas bandas de espinhos dos segmentos abdominais. Em Greenberg e Szyska (1984), a espinulação das bandas anteriores em *H. flavifacies* é completa até A2, diferindo do observado aqui, mas, em *H. hermanlenti* às vezes é completa até A3, similar ao descrito neste estudo.

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guatemala, Guiana, México, Panamá, Paraguai, Peru, Trinidad e Tobago e Tobago, Venezuela. **Biologia.** *H. semidiaphana* são assinantrópicas (Baumgartner e Greenberg, 1985) e podem ser encontradas em ambientes de cerrado, florestas ombrófilas e latifoliadas, pampas e em áreas montanhosas (e.g. Andes) em até 1200 m de altitude (Amat et al., 2009; Alves et al., 2014; Oliveira e Vasconcelos, 2017). São atraídos por fezes humanas, frutas em decomposição, camarão, corpos e vísceras de animais em decomposição (porco, rato, coelho, vísceras de frango, fígado bovino, peixe, humanos) (Baumgartner e Greenberg, 1985; D'almeida e Fraga, 2007; Vasconcelos et al., 2013; Alves et al., 2014; Amat et al., 2016). Seus imaturos e adultos estão associados a casos forenses, para a determinação do IPM (Vairo et al., 2014; Thyssen et al., 2018). Em laboratório se desenvolvem bem em carne bovina e o período de desenvolvimento de ovo a adulto leva 16-18 dias entre 25-30 °C (Thyssen, 2005).

Hemilucilia segmentaria (Fabricius) (Figs. 11 A–I; Fig.16D)

(96 h; N=2)

Pseudocéfalo. Como descrito nos comentários gerais.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Com dentes robustos, fortemente pigmentados e curvados; região basal quadrada, com margem posterior côncava. **Esclerito oral acessório.** Fortemente pigmentado, em forma de gancho e com extremidade anterior direcionada dorsalmente; em <u>vista ventral</u> é em "V" invertido. **Esclerito dental.** Oval e fortemente pigmentado. **Esclerito labial (anterior).** Fortemente pigmentado e em forma de bastão; em <u>vista ventral</u> é esférico. **Esclerito labial (posterior).** Estreito, oval e fortemente pigmentado; em <u>vista ventral</u> é trapezoidal. **Esclerito intermediário.** Fortemente pigmentado, amplo e

trapezoidal, com margens laterais côncavas. **Barra parastomal.** Com o mesmo comprimento da ponte dorsal e em forma de bastão, margeando o esclerito intermediário. **Ponte dorsal.** Afilada, com linha delgada fortemente pigmentada nas margens dorsal e ventral. **Placa vertical.** Mais longa do que alta, fracamente pigmentada na margem dorsal e com margem posterior côncava e de abertura estreita. **Depressão óptica.** Abertura estreita, com projeção marginal curta e fracamente pigmentada. **Corno dorsal.** Curvado em direção ventral e alongado, com linha delgada e fortemente pigmentada na margem ventral; metade dorsal fracamente pigmentada e pode ou não apresentar na extremidade apical uma janela estreita e discreta. **Corno ventral.** Aproximadamente um terço menor que o comprimento do corno dorsal, com margem posterior com dois processos arredondados, albergando uma janela oval e ampla; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior. **Hipofaringe.** É lisa e hialina.

Segmentos torácicos. Espiráculo anterior. O número de lobos varia de 9-11. **Espinhos.** Fortemente pigmentados na metade apical, proeminentes e em sua maioria de ponta única e retilínea; T1 com fileiras horizontais de espinhos com pontas únicas, achatados e arredondados (lembrando escama de peixe); T2-T3 com fileiras de espinhos dispersas, pouco evidentes e com banda de espinhos com largura menor em relação à T1. **Área interbandas.** Tegumento estriado em todos os segmentos.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A3 com bandas de espinho anteriores e completas; A4-A7 anteriores e incompletas, com espinhos restritos ventralmente e látero-ventralmente; em todos os segmentos, os espinhos são pouco visíveis, retilíneos e com pontas únicas ou raramente duplas ou triplas, os quais são fortemente pigmentados na metade apical; em <u>vista ventral</u>, todos os segmentos apresentam espinhos apenas anteriores. **Área interbandas.** Tegumento estriado em todos os segmentos e A2-A7 com demarcação lateral proeminente.

Divisão anal (vista posterior). Banda de espinhos incompleta, interrompidas láteroventralmente. **Espiráculos posteriores.** Peritrema espesso, incompleto e com botão incompleto; o tegumento da placa espiracular apresenta diversas ranhuras. **Papilas espiraculares.** Arredondadas e proeminentes, com ranhuras concêntricas ao longo da estrutura; o tegumento que as margeia apresenta ranhuras. **Papilas dorsais.** Equidistantes e com mesmo tamanho e posição no tegumento. **Papilas ventrais.** Equidistantes, com P4 com o dobro do tamanho das demais papilas ventrais e com P5 mais internalizada no tegumento. **Almofada anal.** Com espinhos fortemente pigmentados na metade apical e com pontas únicas ou duplas em sua maioria; na região dorsal, as fileiras de espinhos são dispostas em arco; na região posterior, as fileiras de espinhos superiores se unem às fileiras de espinhos inferiores. **Papilas anais.** Cônicas e curtas, com ápice arredondado, apresentando ranhuras concêntricas.

Comentários. *H. segmentaria* se assemelha a *H. semidiaphana* em diversos aspectos, exceto, através da forma esclerito oral acessório em vista ventral (em "Y"), forma de espinhos de T1 (cônicos e de pontas únicas), tipo de banda de espinhos posteriores em A7 (completos), posição das papilas na divisão anal (P2-P3 mais próximas entre si) (ver Greenberg e Szyska, 1984, Florez e Wolff, 2009 e presente estudo). Durante a identificação de *H. segmentaria*, alguns caracteres discrepantes devem ser observados com cautela. Diferentemente do observado neste estudo, Thyssen e Linhares (2007) relatam a completude das bandas de espinhos até A4.

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Equador, Guatemala, Guiana, México, Panamá, Paraguai, Peru, Trinidad e Tobago. Biologia. São assinantrópicas e por esta razão também se tornam potenciais indicadores biológicos (Thyssen e Linhares, 2007; Cabrini et al., 2013). Preferem temperatura e umidade mais altas e podem ser encontradas em ambientes de cerrado, caatinga, florestas ombrófila e latifoliada e pampas (Thyssen e Linhares, 2007; Souza et al., 2008; Rosa et al., 2011; Alves et al., 2014; Vasconcelos et al., 2015; Vasconcelos et al., 2016). São atraídas por fezes humanas e bovinas e por corpos de animais em decomposição (humanos, cão, coelho, porco, rato, peixe) os quais também se criam (Baumgartner e Greenberg, 1985; Moretti et al., 2008; Alves et al., 2014; Cruz et al., 2021). São importantes na determinação do IPM em casos forenses (Kosmann et al., 2011; Vasconcelos et al., 2017) e como indicadores de que um corpo foi removido do local do crime (Carvalho et al., 2000). Ocasionalmente podem ser coletadas à noite (Soares e Vasconcelos, 2016), reforçando sua importância no âmbito forense como pioneiras a colonizar um recurso. Em laboratório desenvolvem-se bem em carne bovina e em dietas artificiais, completando o seu desenvolvimento de ovo a adulto em 12-12 dias entre 25-30 °C (Thyssen, 2005).

Paralucilia Brauer & Bergenstamm

Este gênero é endêmico da região Neotropical (Dear, 1985; Mariluis et al., 1994; Kosmann et al., 2013) e até o momento cinco espécies são consideradas válidas, *P. nigrofacialis* (Mello), *P. pseudolyrcea* (Mello), *P. paraensis* (Mello), *P. borgmeieri* (Mello) e *P. fulvinota* (Bigot) (Dear, 1985; Mariluis et al., 1994; Mello, 1996; Madeira-Ott, 2019). Ainda existem discrepâncias morfológicas, até mesmo para adultos, e estudos moleculares e taxonômicos têm

sido realizados para a definição de seu status taxonômico e na determinação de espécies (Madeira-Ott, 2019). Assim como em outros gêneros, ainda não é possível apresentar um caracter exclusivo para definir *Paralucilia*. Embora presente em *H. semidiaphana,* o peritrema incompleto e com botão bem definido é relatado em todas as espécies de *Paralucilia* descritas até o momento (Fig. 12 D) (Greenberg e Szyska, 1984; Sales et al., 2013; Da Silva, 2018; presente estudo).

Paralucilia fulvinota (Bigot) (Figs. 12 A–H; Fig. 16E)

(96 h; N=8)

Pseudocéfalo. Como descrito nos comentários gerais.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Fortemente pigmentados, com dentes delgados e semicirculares; região basal quadrada com margem posterior côncava. Esclerito oral acessório. Oval e fracamente pigmentado e em vista ventral, é pareado e triangular, às vezes em forma de "M". Esclerito dental. Triangular e estreito. Esclerito labial (anterior). Em forma de bastão e fracamente pigmentado; em vista ventral, é fracamente pigmentado e arqueado. Esclerito labial (posterior). Em forma de bastão e fracamente pigmentado; em vista ventral, é estreito com margem anterior arredondada e posterior alongada. Esclerito intermediário. Estreito e em forma de "T" com extremidades arredondadas. Barra parastomal. Alongado, delgado e curvo em direção dorsal. Ponte dorsal. Afilada e fortemente pigmentada. Placa vertical. Tão longa quanto alta, fortemente pigmentada na região mediana e com margem posterior côncava de abertura ampla. **Depressão óptica.** Com abertura ampla e projeção marginal fracamente pigmentada. Corno dorsal. Curvado em direção ventral e alongado, podendo ou não albergar janela; margem ventral com linha fortemente pigmentada e delgada. **Corno ventral.** Com comprimento semelhante ao do corno dorsal, alberga uma janela estreita; margem posterior com dois processos, um superior arredondado e um inferior e afilado e fracamente pigmentado; em vista ventral, o par é unido na extremidade posterior por um arco fracamente pigmentado. Hipofaringe. É estriada e fracamente pigmentada.

Segmentos torácicos. Espiráculo anterior. O número de lobos varia de 7-12, com maioria de 11. **Espinhos.** Fortemente pigmentados, retilíneos em sua maioria e apresentando uma, duas ou três pontas; T1 com fileiras de espinhos concêntricas e espinhos retilíneos de ponta única; T2-T3 possuem espinhos retilíneos, curtos e de pontas duplas ou triplas em sua maioria. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A6 com bandas de espinho anteriores e completas; A7 com banda de espinhos anteriores incompletas, interrompidas dorsalmente; em todos os segmentos, os espinhos são retilíneos, fortemente pigmentados na metade apical e com uma, duas ou em sua maioria três pontas; em <u>vista ventral</u>, apenas A3-A7 apresentam bandas de espinhos anterior e posterior. **Área interbandas.** Cinturão lateral de rastejamento nas margens posteriores de A1-A6, sendo a de A6 com poucos espinhos.

Divisão anal (vista posterior). Banda de espinhos incompleta, restrita ventralmente e láteroventralmente. **Espiráculos posteriores.** Peritrema incompleto, delgado e com botão completo; o tegumento da placa espiracular apresenta diversas ranhuras. **Papilas espiraculares.** Cônicas com ápice arredondado e ranhuras concêntricas ao longo da estrutura; o tegumento que as margeia apresenta espinhos curtos e não pigmentados. **Papilas dorsais.** Equidistantes e de tamanho e posição similares. **Papilas ventrais.** Cada papila apresenta uma cicatriz apical; as ranhuras concêntricas são mais visíveis nas papilas ventrais do que as papilas dorsais; P4-P6 são equidistantes, sendo P5 mais internalizadas no tegumento e P6 com metade do tamanho de P4. **Almofada anal.** Apresenta espinhos não pigmentados delgados (lembrando um fio de cabelo) e espinhos pigmentados dispersos, em gancho e com pontas únicas, duplas ou triplas; na região dorsal, as fileiras de espinhos se dispõem em "V" ou "X"; na região posterior, as fileiras de espinhos superiores ao ânus atingem as fileiras de espinhos inferiores. **Papilas anais.** Cônicas e com ápice arredondado, apresentando ranhuras concêntricas.

Comentários. Outras *Paralucilia*, como *P. pseudolyrcea* e *P. paraensis*, podem diferir de *P. fulvinota* por meio da forma da ponte dorsal (com ponta dupla em *P. pseudolyrcea*), forma do esclerito intermediário (com uma concavidade posterior em *P. pseudolyrcea*), forma do esclerito oral acessório em vista ventral (em vírgula em *P. pseudolyrcea*), presença ou ausência do esclerito oral acessório (presente em *P. paraensis*) e em relação às bandas de espinhos anteriores (completas de A1-A5 em *P. paraensis*) (ver Trigo et al. 2006, Da Silva et al., 2018 e Sales et al., 2013). Apesar do esclerito oral acessório ser uma estrutura diagnóstica aqui observada para *P. fulvinota*, em Greenberg e Szyska (1984) esta estrutura não é mencionada ou ilustrada. Estudos morfológicos futuros com populações de diferentes regiões são interessantes, a fim de comprovar se existem variações intraespecíficas em seus imaturos, tal como ocorrem nos adultos, que já foram relatados como forma "clara" e forma "escura" (Mariluis et al., 1994; Madeira-Ott, 2019).

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Bolívia, Belize, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Panamá, Paraguai, Peru, Venezuela.

Biologia. São assinantrópicas (Amat, 2009) e comumente encontradas em florestas latifoliadas e ombrófilas (Amazônica e Mata Atlântica), também registradas em estepes (Pujol-Luz et al. 2006; Grisales et al. 2010; Batista-da-Silva et al., 2011; Alves et al., 2014; Morrone, 2014; Armani et al., 2015; Sales et al., 2021). Em algumas regiões, como o Peru, podem ser encontradas entre 200 m e 1900 m de altitude (Baumgartner e Greenberg, 1985). Seus adultos são atraídos por fezes humanas, corpos e vísceras de animais (humanos, porco, peixe, porquinho da índia, figado bovino) (Greenberg e Szyska, 1984; Baumgartner e Greenberg, 1985; Pujol-Luz et al. 2006; Grisales et al. 2010; Aguirre e Barragán, 2015). São potenciais indicadores biológicos e de movimentação de corpos do local do crime e também estão associadas à determinação de IPM em casos forenses (Pujol-Luz et al. 2006). Levam entre 10-14 dias para se desenvolver do primeiro estádio a pupa em uma temperatura de 21-26 °C (Sales et al., 2021) e em laboratório entre 12-15 dias para se desenvolverem de ovo a adulto em uma variação de temperatura de 22-26 °C (Greenberg e Szyska, 1984).

Sarconesia Bigot

Espécies deste grupo são restritas à região Neotropical, sendo *S. chlorogaster* (Wiedemann) a única espécie encontrada no Brasil, na região sul (Mello, 1972; Baumgartner e Greenberg, 1985; Kosmann et al., 2013). Existem poucos estudos bionômicos e morfológicos para outros imaturos deste grupo (Greenberg e Szyska, 1984; Baumgartner e Greenberg, 1985; Florez e Wolff, 2009), e grande parte dos estudos existentes avaliam a morfologia (Queiroz e Carvalho, 1987; Bonatto e Carvalho, 1996) e biologia (Queiroz et al., 1985; Bonatto, 1996; Lecheta et al., 2015; Flissak e Moura, 2017; Lecheta e Moura, 2019) de *S. chlorogaster*. Em geral, apresentam características similares às de *Calliphora*, como algumas estruturas do cefaloesqueleto (Greenberg e Szyska, 1984). Um caracter com potencial diagnóstico a ser explorado para definir este grupo é a margem posterior do corno ventral retilínea (Fig. 13 F) (Greenberg e Szyska, 1984; presente estudo).

Sarconesia chlorogaster (Wiedemann) (Figs. 13 A-H; Fig. 16F)

(150 h; N=17)

Pseudocéfalo. Como descrito nos comentários gerais.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Robustos, com dentes longos e semicirculares; região basal fortemente pigmentada e quadrada. **Esclerito oral acessório.** É fracamente pigmentado e em forma de bastão; em <u>vista ventral</u>, é um "Y" invertido. **Esclerito dental.** Em

forma de boomerang e fortemente pigmentado. Esclerito labial (anterior). Não é visível em vista lateral e em <u>vista ventral</u> é um arco. Esclerito labial (posterior). Não é visível em vista lateral e em <u>vista ventral</u> tem metade anterior quadrada com prolongamento estreito na metade posterior. Esclerito intermediário. Fortemente pigmentado é em forma de "T", com extremidades arredondadas e processo ventral curto. Barra parastomal. Com comprimento cerca de um terço menor que o esclerito intermediário e curvado em direção dorsal. Ponte dorsal. Ampla, arredondada e fortemente pigmentada. Placa vertical. Com altura e largura similares, fracamente pigmentada na margem dorsal e com margem posterior côncava de abertura estreita. Depressão óptica. Com abertura ampla e projeção marginal fracamente pigmentada. Corno dorsal. Alongado, com margem dorsal arredondada estreitando-se apicalmente; margem ventral com linha ondulada fortemente pigmentada. Corno ventral. Com metade do comprimento do corno dorsal, tem margem posterior retilínea ou ondulada, albergando uma janela oval; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior. Hipofaringe. É estriada e fracamente pigmentada.

Segmentos torácicos. Espiráculo anterior. O número de lobos varia de 7-11, com maioria de 9. **Espinhos.** Fracamente pigmentados, retilíneos e com uma ponta em sua maioria, raramente apresentando duas ou três pontas; T1 com fileiras de espinho concêntricas e dispersas dorsalmente; T2-T3 com espinhos curtos e fileiras dispersas entre si. **Área interbandas.** Lisa. **Segmentos abdominais. Espinhos.** A1-A4 com bandas de espinho anteriores e completas; A5-A6 com bandas de espinho anteriores e incompletas, restritas ventralmente e láteroventralmente; A7 com fileiras de espinho posteriores completas; em todos os segmentos os espinhos são diminutos, retilíneos, de ponta única, raramente com duas ou três pontas e fracamente pigmentados ou transparentes; em <u>vista ventral</u>, A1-A7 apresentam espinhos anteriores e posteriores. **Área interbandas.** Lisa.

Divisão anal (vista posterior). Banda de espinhos incompleta dorsalmente. **Espiráculos posteriores.** Peritrema delgado, incompleto e sem botão; o tegumento da placa espiracular apresenta diversas ranhuras. **Papilas espiraculares.** Cônicas, com extremidade arredondada e ranhuras concêntricas; o tegumento que as margeiam apresenta espinhos delgados e não-pigmentados. **Papilas dorsais.** Equidistantes ou com P2-P3 mais próximas entre si; P2 mais externalizadas no tegumento em relação às demais papilas. **Papilas ventrais.** Equidistantes, com P6 mais externalizadas no tegumento e P5 eventualmente são mais internalizadas no tegumento. **Almofada anal.** Com espinhos fortemente pigmentados, em gancho e com pontas únicas, duplas ou triplas; na região dorsal, as fileiras de espinhos são dispersas e se dispõem de

61

maneira retilínea; na região posterior, as fileiras de espinho estão restritas acima do ânus. **Papilas anais.** Cônicas com ápice arredondado, apresentando ranhuras concêntricas.

Comentários. *S. chlorogaster* pode ser diferenciada de outras *Sarconesia* neotropicais, como *S. versicolor* Bigot, por meio da forma do esclerito intermediário (estreito), distância das papilas ventrais (equidistantes), tamanho das papilas ventrais (P5 menor que P4) (ver Greenberg e Szyska, 1984). A distância entre as papilas dorsais e o padrão de espinulação para *S. chlorogaster*, devem ser consideradas com cautela durante sua identificação, devido às discrepâncias e variações. As amostras aqui observadas apresentaram variação nas papilas dorsais, ora P2-P3 eram mais próximas entre si, também relatado em Greenberg e Szyska (1984) e ora equidistantes relatado em Bonatto e Carvalho (1996). Em relação à distribuição de espinhos, Bonatto e Carvalho (1996) descrevem a banda de espinhos posteriores de A7 como incompleta, diferente do observado no presente estudo. Descrições das espécies *"Sarconesia" splendida* (Townsend) (Greenberg e Szyska, 1984) e *"Sarconesia" magellanica* (Le Guillou) (Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009) não foram consideradas aqui, devido à nova classificação em que a primeira agora é pertencente a *Chlorobrachycoma* Townsend e a segunda a *Sarconesiopsis* Townsend (Kosmann et al., 2013).

Distribuição. NEOTROPICAL. Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Equador, Paraguai, Peru, Uruguai.

Biologia. São sinantrópicos (Baumgartner e Greenberg, 1985; Greenberg, 1985) e podem ser encontrados em ambientes de floresta ombrófila, pampas e em regiões áridas e montanhosas (*e.g.* Andes), podendo ser coletadas entre 1300 a 4000 m (Greenberg e Szyska, 1984; Baumgartner e Greenberg, 1985; Aballay et al.; 2012; Souza et al., 2008; Alves et al., 2014). Os adultos desta espécie são atraídos por fezes, corpos e vísceras de animais (humanos, porco, coelho, raposa, cão, cavalo, rato, bovinos, galinha, peixe) e eventualmente por lixo urbano (Baumgartner e Greenberg, 1985; Queiroz e Carvalho, 1987; Bonatto, 1996; Moura et al., 1997; Moura et al., 2004; Aballay et al., 2008; Krüger et al., 2010; Battán-Horestein e Salvo, 2012; Alves et al., 2014). Há registros desta espécie em casos forenses, na determinação do IPM (Vairo et al., 2014). Em laboratório, suas larvas desenvolvem-se bem em dietas artificiais, levando entre 14-18 dias para se desenvolverem de ovo a adulto entre 25-30 °C (Lecheta et al., 2015).

4.5. Chave de identificação para larvas de terceiro estádio de espécies de Calliphoridae de importância forense da região Neotropical

2. Margem posterior da área interbandas A1-A4 lisa (Fig. 9 A)	3
2'. Margem posterior da área interbandas A1-A4 com cinturão lateral de rastejamento (Fig	g. 1
A; Fig. 7 A)	. 7

3. Em vista posterior, almofada anal com fileiras de espinhos restritas acima do ânus com espinhos dispersos entre si (Fig. 13 G); botão espiracular ausente (Fig. 13 D); margem posterior do corno ventral retilínea ou ondulada (Fig. 13 F)

5. T1 com espinhos dorsais arredondados e achatados (Fig. 11 B); botão espiracular incompleto (Fig. 11 E); em vista ventral, esclerito oral acessório em forma de "V" (Fig. 11 I)
5'. T1 com espinhos dorsais retilíneos ou em forma de gancho (Fig. 10 B); botão espiracular completo (Fig. 10 E); em vista ventral, esclerito oral acessório em forma de "Y" (Fig. 10 I) *Hemilucilia semidiaphana* (Rondani)

11'. Vista posterior da almofada anal com espinhos atravessando a região entre as papilas anais e atingindo as fileiras de espinhos ventrais (Fig. 4 G); vista dorsal do tegumento rugoso e sem cerdas (Figs. 4 A–C); presença de esclerito oral acessório (Fig. 4 F; 4 H)

4.6. Discussão

A única chave existente para gêneros de larvas de Calliphoridae de importância forense (Smith, 1986) os diferencia utilizando tipo de peritrema, presença ou ausência de botão espiracular, de esclerito oral acessório e espinulação. Atualmente, caracteres exclusivos para estes grupos são difíceis de definir, devido à descoberta de variações intraespecíficas e pela descrição de novas espécies com variações ou caracteres opostos aos definidos para aquele grupo, tornando possível distinguir as espécies ao invés de grupos Lineanos mais amplos, como o gênero.

As chaves dicotômicas existentes para espécies de larvas de terceiro estádio (Knipling, 1936; Queiroz e Carvalho, 1987; Greenberg e Szyska, 1984; Liu e Greenberg, 1989; Holloway, 1991; Wells et al., 1999; Florez e Wolff, 2009; Szpila, 2010; Thyssen, 2010; Szpila e Grzywacz, 2019) utilizam como caracteres principalmente o padrão da espinulação ao longo dos segmentos larvais, presença ou ausência de tubérculos, cerdas ou microtubérculos no tegumento, espinulação da almofada anal, tipo e forma dos espinhos, presença ou ausência de esclerito oral acessório, pigmentação e forma de alguns caracteres do cefaloesqueleto, tipo de peritrema e botão e tamanho e distância entre as papilas dorsais.

É preciso levar em consideração a variação intraespecífica desta distância para algumas espécies (Greenberg e Szyska, 1984) e que em larvas coletadas nas primeiras horas da transição para o terceiro estádio, a pigmentação do peritrema ainda pode ser fraca (Liu e Greenberg, 1989), dificultando a definição de sua completude ou incompletude, sendo necessária a sua observação em conjunto com outros caracteres. Adicionalmente, algumas chaves trazem o número de lobos presentes no espiráculo anterior (Knipling, 1936; Florez e Wolff, 2009), ressaltando que este carácter sozinho não é confiável para definir espécies (Knipling, 1936), visto que existe variação intraespecífica e a faixa de variação no número de lobos, pode se sobrepor entre diferentes espécies.

O estado de preservação também deve ser levado em consideração durante a identificação das espécies larvais, uma vez que o período e armazenamento em diferentes líquidos fixadores podem escurecer a pigmentação do peritrema e espinulação na larva, sendo recomendado, em caso de dúvida, consultar também as descrições e fotodocumentação. Técnicas de clareamento em KOH 10%, de estruturas internas como o do cefaloesqueleto (Sukontason et al., 2004), quando utilizadas, também devem ser levadas em consideração e promovidas com cautela para que o tempo de exposição não seja muito longo e a pigmentação seja perdida.

Antes do clareamento, a dissecção do cefaloesqueleto pode ser necessária para a limpeza inicial do tegumento excessivo. Também é importante lembrar que é imprescindível a utilização de equipamento de aumento até 40 vezes, como o estereomicroscópio, para visualizar as características descritas neste estudo. Assim, para a construção da chave foi levada em consideração a utilização de caracteres visíveis em estereomicroscopia comum e caracteres mais acessíveis ao público com pouca experiência taxonômica.

4.7. Conclusões

Os melhores caracteres para a identificação de espécies envolvem o cefaloesqueleto, o padrão de espinulação dos segmentos abdominais e da almofada anal, características da área interbandas, o tipo de espinhos do primeiro segmento torácico, tamanho das papilas da divisão anal, completude do peritrema e presença ou ausência de botão espiracular. Esperamos que este estudo possa contribuir com o esclarecimento de caracteres e identificação de espécies Neotropicais de importância forense. Ainda assim, estudos mais aprofundados em relação à caracteres variáveis em diferentes populações são necessários, bem como a exploração de posição de sensilas e papilas através de microscopia eletrônica de varredura, a fim de detalhar a descrição de algumas estruturas larvais.

Agradecimentos. À Taís Madeira Ott e André Gardelino Savino pelo apoio na coleta e criação de parte dos imaturos analisados neste estudo. AMP recebeu auxílio do Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) (#133090/2019-1). PJT recebeu bolsa produtividade do CNPq (#308832/2020–5). Acesso de registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) #ACD18F8. Todas as coletas foram autorizadas pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA) por meio do Sistema de Autorização e Informações sobre Biodiversidade (SISBIO), processo nº 65388-3.

4.8. Referências

- Aballay, F.H.; Murua, A.F.; Acosta, J.C.; Centeno, N.D.; Primer registro de artropodofauna cadavérica en sustratos humanos y animales en San Juan, Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent., 67, (3-4),157-163, 2008.
- Aballay, F.H.; Murua, A.F.; Acosta, J.C.; Centeno, N.D.; Succession of carrion fauna in the arid region of San Juan province, Argentina and its forensic relevance. Neotrop. Entomol., 41, (1), 27-31, 2012.

- Adams, Z.J.; Hall, M.J.; Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. Forensic Sci. Int., 138, (1-3),50-61, 2003.
- Aguiar-Coelho, V.M.; Milward-De-Azevedo, E.M.V.; Combined rearing of *Cochliomyia macellaria* (Fabr.), *Chrysomya megacephala* (Fabr.) and *Chrysomya albiceps* (Wied.) (Dipt., Calliphoridae) under laboratory conditions. J. Appl. Entomol., 122, (1-5), 551-554, 1998.
- Aguirre-Gil, O.J.; Valente, F.I.; Santos, L.S.; Viana, D.L.; Bsoli, A.C.; Desarrollo larval de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) en diferentes dietas y densidades larvales. Rev. Colomb. Entomol., 41, (1),48-57, 2015.
- Aguirre, S.; Barragán, A.; Datos preliminares de la entomofauna cadavérica en la provincia de Pichincha, Ecuador. Rev. Ecuat. Med. Cien. Biol., 36, (1), 67-69, 2015.
- Alves, A.C.F.; Santos, W.E.; Creão-Duarte, A.J.; Diptera (Insecta) de importância forense da região Neotrop. Entomol., 29, (2), 77-94, 2014.
- Amat, E.; Contribución al conocimiento de las Chrysomyinae y Toxotarsinae (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. Rev. Mex. Biodivers., 80, (3), 693-708, 2009.
- Amat, E.; Marinho, M.A.T.; Rafael, J.A.; A survey of necrophagous blowflies (Diptera: Oestroidea) in the Amazonas-Negro interfluvial region (Brazilian Amazon). Rev. Bras. Entomol., 60, (1), 57-62, 2016.
- Andrade, H.T.A.; Varela-Freire, A.A.; Batista, M.J.A.; Medeiros, J.F.; Calliphoridae (Diptera) coletados em cadáveres humanos no Rio Grande do Norte. Neotrop. Entomol, 34, (5), 855-856, 2005.
- Armani, A.P.; Centeno, N.D.; Dahinten, S.L.; Primer estudio de artropodofauna cadavérica sobre modelos experimentales porcinos en el noreste de la provincia del Chubut, Argentina. Rev Soc Entomol Argent, 74, (3-4), 123-132, 2015.
- Aubertin, D.; Buxton, P.A.; *Cochliomyia* and myiasis in tropical America. Ann. trop. med. parasitol., 28, (3), 245-254, 1934.
- Azeredo-Espin, A.M.L.; Madeira, N.G.; Primary myiasis in dog caused by *Phaenicia eximia* (Diptera: Calliphoridae) and preliminary mitochondrial DNA analysis of the species in Brazil. J. Med. Entomol., 33, (5), 839-843, 2014.
- Badenhorst, R.; Villet, M.H.; The uses of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) in forensic entomology. J. Forensic Sci., 3, (1), 2-15, 2018.
- Bansode, S.A.; More, V.R.; Zambare, S.P.; Effect of different constant temperature on the life cycle of a fly of forensic importance *Lucilia cuprina*. Entomol Ornithol Herpetol, 5, (3), 2161-0983, 2016.
- Barbosa, T.M.; Vasconcelos, S.D.; An updated checklist of myiasis-inducing Diptera species in livestock in Northeastern Brazil. Arch. de Zootec, 64, (246), 187-190, 2015.
- Barros-Cordeiro, K.B.; Pujol-Luz, J.R.; Morfologia e duração do desenvolvimento pósembrionário de Chrysomya megacephala (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. Pap Avulsos Zool, 50, (47), 709-717, 2010.
- Battán-Horenstein, M.; Salvo, A.; Community dynamics of carrion flies and their parasitoids in experimental carcasses in central Argentina. J. Insect Sci., 12, (1), 1-10, 2012.
- Batista-Da-Silva, J.A.; Moya-Borja, G.E.; Mello, R.P.; Queiroz, M.M.C.; Abundance and richness of Calliphoridae (Diptera) of public health importance in the Tinguá Biological

Reserve, Nova Iguaçu (RJ), Brazil. Entomotrópica: Rev. Int. Estud Entomol Trop, 26, (3), 137-142, 2011.

- Baumgartner, D.L.; Greenberg, B.; Distribution and medical ecology of the blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Peru. Ann. Entomol. Soc. Am, 78, 565-587, 1985.
- Beuter, L.; Mendes, J.; Development of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) in different pig tissues. Neotrop. Entomol., 42, (4), 426-430, 2013.
- Bharti, M., Singh, D.; Sharma, Y.P.; Effect of temperature on the development of forensically important blowfly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). Entomon-Trivandrum-, 32, (2), 149, 2007.
- Blacio, K.; Liria, J.; Soto-Vivas, A.; Diversity and synanthropy of flies (Diptera: Calyptratae) from Ecuador, with new records for the country. J. Threat. Taxa, 12, (8), 15784-15793, 2020.
- Boatright, S.A.; Tomberlin, J.K.; Effects of temperature and tissue type on the development of *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). J. Med. Entomol., 47, (5), 917-923, 2010.
- Bonatto, S.R.; Ciclo de vida de *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae, Toxotarsinae), criada sob condições de laboratório em dieta artificial. Rev. Bras. Zool., 13, (3), 685-706, 1996.
- Bonatto, S.R.; Carvalho, C.J.B.; Análise morfológica das formas imaturas de *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae, Toxotarsinae). Rev. Bras. Zool., 13, (3), 707-726, 1996.
- Byrd, Jason H., and Jerry F. Butler. "Effects of temperature on Cochliomyia macellaria (Diptera: Calliphoridae) development." J. Med. Entomol., 33, (6), p. 901-905, 1996.
- Byrd, J.H.; Tomberlin, J.K.; Insects of forensic importance. In: Byrd, J.H., Tomberlin, J.K. (Ed.), Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. CRC press, p. 225-253, 2020.
- Cabrini, I.; Grella, M.D.; Andrade, C.F.S.; Thyssen, P.J.; Richness and composition of Calliphoridae in an Atlantic Forest fragment: implication for the use of dipteran species as bioindicators. Biodivers. Conserv., 22, (11), 2635-2643, 2013.
- Cardoso, G.A.; Matiolli, C.C.; Azeredo-Espin, A.M.L.; Torres, T.T.; Selection and validation of reference genes for functional studies in the Calliphoridae family. J. Insect Sci., 14, (1), 1-15, 2014.
- Carneiro, L.T.; Azevedo, W.T.A.; Aguiar, V.M.; Couri, M.S.; The Nocturnal Ovipositon Behavior of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in Brazil and Its Forensic Implications. J. Med. Entomol., 58, (2), 558-566, 2021.
- Carvalho, C.J.B.; Mello-Patiu, C.A.; Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. Rev Bras Entomol, 52, (3), 390-406, 2008.
- Cavalcante, A.N.P.; Dal-Bó, D.; Creão-Duarte, A.J.; Farias, R.D.A.P.; Espécies de Calliphoridae (Diptera) associadas a carcaças de Sus scrofa Linnaeus, 1758 em área de restinga na Paraíba, Brasil, e espécies de importância forense para a estimativa do Intervalo Pós-Morte (IPM). Entomotropica, 30, (15), 150-159, 2015.
- Carvalho, C.J.B.; Couri, M.S.; Muscidae, Fanniidae e Calliphoridae (Diptera) do Projeto Maracá, Roraima, Brasil. Acta Amaz., (21), 35-43, 1991.

- Carvalho, L.M.L.; Thyssen, P.J.; Linhares, A.X.; Palhares, F.A.B.; A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., 95, (1), 135-138, 2000.
- Carvalho, L.M.L.; Thyssen, P.J.; Goff, M.L.; Linhares, A.X.; Observations on the succession patterns of necrophagous insects on a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil. Anil Aggrawal's Internet J. Forensic Med. Toxicol., 5, (1), 33-39, 2004.
- Centeno N.; Maldonado M.; Oliva, A.; Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires province (Argentina). Forensic Sci. Int., 126, (1), 63-70, 2002.
- Centeno, N.; Serrán, M.; Otero, J.G.; Weiler, N.; An ancient assemblage of scavenger insects in Patagonia (Argentina). Entomol. Am., 115, (1), 77-80, 2009.
- Cherix, D.; Wyss, C.; Pape, T.; Occurrences of flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) on human cadavers in Switzerland, and their importance as forensic indicators. Forensic Sci. Int., 220, (1-3), 158-163, 2012.
- Cruz, T.M.; Barbosa, T.M.; Thyssen, P.J.; Vasconcelos, S.D.; Diversity of Diptera species associated with pig carcasses in a Brazilian city exposed to high rates of homicide. Pap. Avulsos Zool., 61, e20216101, 2021.
- Cunha-E-Silva, S.L.; Milward-de-Azevedo, E.; Estudo comparado do desenvolvimento de dois morfotipos larvais de Cochliomyia macellaria (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae). Rev. Bras. Zool., 9, (3-4), 181-186, 1992.
- D'Almeida, J.M.; Lima, S.F.; Atratividade de diferentes iscas e sua relação com as fases de desenvolvimento ovariano em Calliphoridae e Sarcophagidae (Insecta, Diptera). Rev. Bras. Zool., 11, (2), 177-186, 1994.
- D'Almeida, J.M.; Salviano, R.J.B.; Feeding preference of the larvae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) and *Ravinia belforti* (Prado e Fonseca) (Diptera: Sarcophagidae) concerning different diets. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., 91, (1), 137-138, 1996.
- D'Almeida, J.M.; Fraga, M.B.; Efeito de diferentes iscas na atração de califorídeos (Diptera) no Campus do Valonguinho, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet, 16, (4), 199-204, 2007.
- Da Silva, S.M.; Vairo, K.P.; Moura, M.O.; Description of larval instars to fill a gap in forensic entomology: the larvae of *Paralucilia pseudolyrcea* (Diptera: Calliphoridae). J. Med. Entomol., 55, (3), 575-586, 2018.
- Day, D.M.; Wallman, J.F.; Effect of preservative solutions on preservation of *Calliphora augur* and *Lucilia cuprina* larvae (Diptera: Calliphoridae) with implications for post-mortem interval estimates. Forensic Sci. Int., 179, (1), 1-10, 2008.
- Dear, J.P.; A revision of the new world Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae). Rev. Bras. Zool., 3, (3), 109-169, 1985.
- Erzinçlioğlu, Y.Z.; Immature stages of British *Calliphora* and *Cynomya*, with a re-evaluation of the taxonomic characters of larval Calliphoridae (Diptera). J. Nat. Hist., 19, (1), 69-96, 1985.
- Erzinçlioğlu, Y.Z.; The larvae of some blowflies of medical and veterinary importance. Med. Vet. Entomol., 1, (2), 121-125, 1987.

- Erzinclioglu, Y.Z.; The larvae of two closely-related blowfly species of the genus *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae). Entomol. Fenn., 1, (3), 151-153, 1990.
- Estrada, D.A.; Grella, M.D.; Thyssen, P.J.; Linhares, A.X.; Taxa de desenvolvimento de Chrysomya albiceps (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em dieta artificial acrescida de tecido animal para uso forense. Neotrop. Entomol., 38, (2), 203-207, 2009.
- Faria, L.B. Orsi, L.; Trinca, L.A.; Godoy, W.A.C.; Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria, Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*. Entomol Exp Appl., 90, (2), 149-155, 1999.
- Faria, L.B.; Godoy, W.A.C.; Prey choice by facultative predator larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz., 96, (6), 875-878, 2001.
- Faria, L.S.; Paseto, M.L.; Franco, F.T.; Perdigão, V.C.; Capel, G.; Mendes, J.; Insects breeding in pig carrion in two environments of a rural area of the state of Minas Gerais, Brazil. Neotrop. Entomol., 42, (2), 216-222, 2013.
- Fernandes, L.F.; Pimenta, F.C.; Fernandes, F.F.; First report of human myiasis in Goiás state, Brazil: frequency of different types of myiasis, their various etiological agents, and associated factors. J. Parasitol., 95, (1), 32-38, 2009.
- Ferreira, M.J.M.; Lacerda, P.V.; Muscóides sinantrópicos associados ao lixo urbano em Goiânia, Goiás. Rev. Bras. Zool., 10, (2), 185-195, 1993.
- Flissak, J.C.; Moura, M.O.; Intrapuparial development of *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae) for postmortem interval estimation (PMI). J. Med. Entomol., 55, (2), 277-284, 2018.
- Florez, E.; Wolff, M.; Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. Neotrop. Entomol., 38, (3), 418-429, 2009.
- Gabre, R.M.; Adham, F.K.; Chi, H.; Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). Acta Oecol, 27, (3), 179-183, 2005.
- Goff, M.L.; Early Postmortem Changes and Stages of Decomposition. In: Amendt, J., Goff, M. L., Campobasso, C. P., Grassberger, M. (Eds.), Current concepts in forensic entomology. London: Springer Netherlands, p. 43-57, 2010.
- Greenberg, B.; Synanthropy. In: Greenberg, B (Ed.), Flies and Disease.Volume 1: Ecology, Classification, and Biotic Associations. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, U.S.A. p.16-56, 1971.
- Greenberg, B.; Szyska, M.L.; Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). Ann. Entomol. Soc. Am., 77, (5), 488-517, 1984.
- Greenberg, B.; The Medical Biology of Brazilian Calliphoridae: Mechanism for Disease Transmission. Illinois University at The Medical Center Chicago Department Of Biological Sciences. p.22, 1985.
- Grisales, D.; Magnolia, R.; Villegas, S.; Insects associated with exposed decomposing bodies in the Colombian Andean Coffee Region. Rev. Bras. Entomol., 54, (4), 637-644, 2010.
- Grisi, L.; Leite, R.C.; Martins, J.R.; Barros, T.M.; Andreotti, R.; Cançado, P.H.D.; Léon, A.A.P.; Pereira, J.B.; Villela, H.S.; Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 23, (2), 150-156, 2014.

- Gruner, S.V.; Slone, D.H.; Capinera, J.L.; Turco, M.P.; Development of the oriental latrine fly, *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), at five constant temperatures. J. Med. Entomol., 54, (2), 290-298, 2017.
- Guimarães, J.H.; Papavero, N.; Myiasis caused by facultative parasites. In: Guimarães, J.H., Papavero, N. (Eds.), Myiasis in man and animals in the Neotropical Region: bibliographic database. Plêiade, São Paulo. p. 35-42, 1999.
- Holloway, B.A.; Identification of third-instar larvae of flystrike and carrion-associated associated blowflies in New Zealand (Diptera: Calliphoridae). New Zealand Entomologist, v.14, n.1, p.24-28, 1991.
- Ishijima, H.; Revision of the third stage larvae of synanthropic flies of Japan (Diptera: Anthomyiidae, Muscidae, Calliphoridae and Sarcophagidae). Appl. Entomol. Zool., 18, (2-3), 47-100, 1967.
- Ismail, M.I.; Osman, K.; King, O.H.; Hassan, N.; Accelerating *Chrysomya megacephala* maggot growth for forensic entomology cases. Jurnal Sains Kesihatan Malaysia (Malaysian Journal of Health Sciences), 5, (1), p.17-26, 2007.
- Knipling, E.F.; Some Specific Taxonomic Characters of common *Lucilia* Larvae-Calliphorinae-Diptera. Iowa State Coll J Sci., 10, (3), 275-294, 1936.
- Knipling, E.F.; A key for blowfly larvae concerned in wound and cutaneous myiasis. Ann. Entomol. Soc. Am., 32, (2), 376-383, 1939.
- Koller, W.W.; Barros, A.T.M.; Corrêa, E.C.; Abundance and seasonality of *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) in Southern Pantanal, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 20, (1), 27-30, 2011.
- Kosmann, C.; Macedo, M.P.; Barbosa, T.A.F.; Pujol-Luz, J.R.; *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) and *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) used to estimate the postmortem interval in a forensic case in Minas Gerais, Brazil. Rev. Bras. Entomol., 55, (4), 621-623, 2011.
- Kosmann, C.; Mello, R.P.; Harterreiten-Souza, E.; Pujol-Luz, J.R.; A list of current valid blow fly names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with key to the Brazilian species. EntomoBrasilis, 6, (1), 74-85, 2013.
- Krüger, R.F.; Kirst, F.D.; Souza, A.S.B.; Rate of development of forensically-important Dipterain southern Brazil. Rev. Bras. Entomol., 54, (4), 624-629, 2010.
- Laake, E.W.; Cushing, E.C.; Parish, H.E.; Biology of the primary screw worm fly, *Cochliomyia americana*, and a comparison of its stages with those of *C. macellaria*. US Department of Agriculture, (500), 1-28, 1936.
- Laurence, B.R.; The tropical African latrine blowfly, *Chrysomya putoria* (Wiedemann). Med. Vet. Entomol., 2, (3), 285-291, 1988.
- Lecheta, M.C.; Thyssen, P.J.; Moura, M.O.; The effect of temperature on development of *Sarconesia chlorogaster*, a blowfly of forensic importance. J. Forensic Sci. Med. Pathol., 11, (4), 538-543, 2015.
- Lecheta, M.C.; Moura, M.O.; Estimating the age of forensically useful blowfly, *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae), using larval length and weight. J. Med. Entomol., 56, (4), 915-920, 2019.

- Lima, M.L.P.S.; Luz, E.; Espécies exóticas de Chrysomya (Diptera, Calliphoridae) como veiculadoras de enterobactérias patogênicas em Curitiba, Paraná, Brasil. Acta Biol. Parana., 20, (1-4), 61-83, 1991.
- Lindsay, S.W.; Lindsay, T.C.; Duprez, J.; Hall, M.J.R.; Kwabana, B.A.; Jawara, M.; Nurudeen, I.U.; Sallah, N.; Wyatt, N.; D'Alessandro, U.; Pinder, M.; Antonio, M.; *Chrysomya putoria*, a putative vector of diarrheal diseases. PLOS Negl. Trop. Dis., 6, (11), e1895, 2012.
- Liu, D.; Greenberg, B.; Immature stages of some flies of forensic importance. Ann. Entomol. Soc. Am., v.82, n.1, p.80-93, 1989.
- Luna, T.C.; Arcaya, E.; Velásquez, Y.; Primer registro de *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819)
 (Diptera: Calliphoridae) asociada con *Stapelia gigantea* L. (Apocynaceae) en Venezuela. Entomotropica, 29, (1), 53-56, 2014.
- Luz, R.T.; Azevedo, W.T.A.; Silva, A.S.; Lessa, C.S.S.; Maia, V.C.; Aguiar, V.M.; Diversity of Calliphoridae and Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea) in a Mangrove, Restinga, and Forest Landscapes From a Lagoon Complex on an Atlantic Forest Coastline (Rio de Janeiro, Brazil). J. Med. Entomol., 57, (6), 1758-1767, 2020.
- Mackley, J.W.; Brown, H.E.; Swormlure-4: a new formulation of the swormlure-2 mixture as an attractant for adult screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). J. Econ. Entomol., 77, (5), 1264-1268, 1984.
- Madeira-Ott, T.; Marinho, M.AT.; Cordeiro, J.; Thyssen, P.J.; First molecular phylogeny of Paralucilia Brauer & Bergenstamm, 1891 (Insecta, Diptera, Calliphoridae): A preliminary approach. Acta Trop., 198, 105096, 2019.
- Maldonado, M.A.; Centeno, N.; Quantifying the potential pathogens transmission of the blowflies (Diptera: Calliphoridae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz., 98, (2), 213-216, 2003.
- Marcondes, C.B.; Moscas. In: Marcondes, C.B. (Ed.), Entomologia médica e veterinária. p.189-281, 2011.
- Mariluis, J.C.; González-Mora, D.; Peris, S.; Considerations on the genus Paralucilia Brauer et Bergenstamm, 1891 (Diptera, Calliphoridae). Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat., Secc. biol., 91, (1-4), 15-18, 1994.
- Mastrangelo, T.; Bezerra, F.; Fernandes, T.; Dietas larvais alternativas para criação massal da mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax*. Cienc. Rural, 44, (4), 672-677, 2014a.
- Mastrangelo, T.; Fresia, P.; Lyra, M.L.; Rodriges, R.A.; Azeredo-Espi, A.L.; Genetic diversity and population structure of the New World screwworm fly from the Amazon region of Brazil. Acta trop., 138, S26-S33, 2014b.
- Mello, R.P.; Contribuição ao estudo do gênero *Sarconesia* Bigot, 1857 (Diptera, Calliphoridae). Rev. Bras. Biol., 32, (4), 533-537, 1972.
- Mello, R.P.; Revisão das espécies sul americanas de *Paralucilia* Brauer & Bergenstamm (Diptera: Calliphoridae). Entomol vectores, 3, (5), 137-143, 1996.
- Mendonça, P.M.; Santos-Mallet, J.R.; Queiroz, M.M.C.; Ultramorphological characteristics of immature stages of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann 1819) (Diptera: Calliphoridae), a fly specie of forensic importance. Microsc. Res. Tech., 73, (8), 779-784, 2010.
- Mendonça, P.M.; Santos-Mallet, J.R.; Queiroz, M.M.C.; Ultrastructure of immature stages of the blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae). Microsc. Res. Tech., 75, (2), 206-211, 2012.

- Mendonça, P.M.; Barbosa, R.R.; Carriço, C.; Cortinhas, L.B.; Santos-Mallet, J.R.; Queiroz, M.M.C.; Ultrastructure of immature stages of *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy. Acta trop., 136, 123-128, 2014.
- Mondal, P.C.; Mahato, S.; Cakraborty, B.; Sinha, S.K.; First report of Oriental latrine flies causing vaginal myiasis in human. J. Parasit. Dis., 40, (4), 1243-1245, 2016.
- Moretti, T.C.; Thyssen, P.J.; Miíase primária em coelho doméstico causada por *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil: relato de caso. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 58, (1), 28-30, 2006.
- Moretti, T.C.; Ribeiro, O.B.; Thyssen, P.J.; Solis, D.R.; Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. European J. Entomol, 105, (4), 691-696, 2008.
- Moretti, T.C.; Thyssen, P.J.; Solis, D.R.; Breeding of the Scuttle Fly *Megaselia scalaris* in fish Carcass and Implications for the use in Forensic Entomology (Diptera: Phoridae). Entomol. Gen. /J. Gen. Appl. Entomol., 31, (4), 349-353, 2009.
- Morrone, J.J.; Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. Zootaxa, 3782, (1), 1-110, 2014.
- Moura, M.O.; Carvalho, C.J.B.; Monteiro-Filho, E.L.A.; A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., 92, (2), 269-274, 1997.
- Moura, M.O.; Variação espacial como mecanismo promotor da coexistência em comunidades de insetos necrófagos. Rev. Bras. Zool., 21, (3), 409-419, 2004.
- Muñoz-García, C.I.; Lorenzo-Burgunder, D.; Gumi-Castillo, G.; Perelló-Undreiner, D.B.; Zenteno-Nava, E.; Orozco-Gregorio, H.; Canine myiasis by *Lucilia eximia* in North America. Trop. Biomed, 33, (3), 494-499, 2016.
- Nuorteva, P.; Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. Forensic medicine: A study in trauma and environmental hazards, p. 1072-1095, 1977.
- Olea, S.M.; Mariluis, J.C.; The genus Calliphora (Diptera: Calliphoridae) in Argentina, with the first records of *C. lopesi* Mello 1962. Rev. Soc. Entomol. Argent., 72, (1-2), 99-104, 2013.
- Oliveira, C.M.B.; *Chrysomya albiceps*, a new agent of secondary skin myiasis in sheep in Brazil [fly]. Pesq. agropec. bras., 20, (4), 497-498, 1985.
- Oliveira-Costa, J.; Mello-Patiu, C.A.; Application of forensic entomology to estimate of the postmortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police
- Department in Brazil. Anil Aggrawals Internet J. Forensic Med. Toxicol. 5, (1), 40-44, 2004.
 Oliveira, V.C.; D'Almeida, J.M.; Abalém de Sá, I.V.; Mandarino, J.R.; Solari, C.A.;
 Enterobactérias associadas a adultos de Musca domestica (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e Chrysomya megacephala (Fabricius, 1754) (Diptera: Calliphoridae) no Jardim Zoológico, Rio de Janeiro. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 58, (4), 556-561, 2006.
- Oliveira, M.S.; Mello, R.P.; Queiroz, M.M.C.; Morfologia e duração dos ínstares larvais de *Chrysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), em laboratório. Rev. Bras. Entomol., 51, (2), 239-245, 2007.
- Oliveira, P.V.; Matos, N.S.; Klippel, A.H.; Oliveira-Costa, J.; Careta, F.P.; Paeto, G.G.; Using DNA barcodes to identify forensically important species of Diptera in Espírito Santo State, Brazil. Braz Arch Biol Technol, 60, e160106, 2017.
- Oliveira, D.L.; Vasconcelos, S.D.; Diversity, daily flight activity and temporal occurrence of necrophagous Diptera associated with decomposing carcasses in a semi-arid environment. Neotrop. Entomol., 47, (4), 470-477, 2017.
- Pujol-Luz, J.R.; Marques, H.; Ururahy-Rodrigues, A.; Rafael, J.A.; Santana, F.H.A.; Arantes, L.C.; Constantino, R.; A forensic entomology case from the Amazon rain forest of Brazil. J. Forensic Sci, 51, (5), 1151-1153, 2006.
- Queiroz, S.M.P.; Bionomia de Sarconesia chlorogaster (Wiedemann, 1830) (Diptera, Calliphoridae) em Curitiba, Paraná, Brasil. An. Soc. Entomol. Bras, 14, (1), 105-10, 1985.
- Queiroz, S.M.P.; Carvalho, C.J.B.; Chave pictórica e descrições de larvas de 3º instar de Diptera (Calliphoridae, Muscidae e Fanniidae) em vazadouros de resíduos sólidos domésticos em Curitiba, Paraná. An. Soc. Entomol. Bras, 16, (2), 265-288, 1987.
- Queiroz, M.M.; Milward-ILWARD-DE-AZEVEDO, Eliane. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de Chrysomya albiceps (Wiedemann)(Diptera, Calliphoridae), em condiçoes de laboraterio. Revista Brasileira de Zoologia, v. 8, p. 75-84, 1991.
- Reed Jr, H. B.; A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. Am. Midl. Nat., 59, (1), 213-245, 1958.
- Rognes, K.; Blowflies (Diptera, Calliphoridae) of Fennoscandia and Denmark. In: Knut Rognes (Ed.), Fauna Entomologica Scandinavica Vol.24. EJ Brill/Scandinavian Science Press Ltd. Leiden. p.32-206, 1991.
- Rosa, T.A.; Babata, M.L.Y.; Souza, C.M.; Sousa, D.; Mello-Patiu, C.A.; Vaz-de-Mello, F.; Mendes, J.; Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil. Rev. Bras. Entomol., 55, (3), 424-434, 2011.
- Sales, T.; Ferreira-Keppler, R.L.; Oliveira-da-Silva, A.; Souza, A.S.B.; Description of immature stages and development time of *Paralucilia paraensis* (Mello) (Diptera: Calliphoridae) associated with the decomposition of a partially submerged swine carcass. Neotrop. Entomol., 42, (2), 211-215, 2013.
- Sales, T.; Ferreira-Keppler, R.L.; Martins, R.T.; Barros, L.M.; Development time, body mass and length of immatures of *Paralucilia fulvinota* (Bigot, 1877) (Diptera: Calliphoridae) reared under natural conditions in a Central Amazon forest. Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Hum., 16, (1), 51-58, 2021.
- Sanford, M.R.; Whitworth, T.L.; Phatak, D.R.; Human wound colonization by *Lucilia eximia* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): myiasis, perimortem, or postmortem colonization? J. Med. Entomol., 51, (3), 716-719, 2014.
- Sanit, S.; Sukontason, K.; Kurahashi, H.; Tomberlin, J.K.; Wannasan, A.; Kraisittipanit, R.; Sukontason, K.L.; Morphology of immature stages of blow fly, *Lucilia sinensis* Aubertin (Diptera: Calliphoridae), a potential species of forensic importance. Acta trop., 176, 395-401, 2017.
- Shuey, J.A.; An optimized portable bait trap for quantitative sampling of butterflies. Trop. Lepid. Res., 8, (1), 1-4, 1997.

- Smith, K.G.V.; Methods and Techniques. In: Kenneth G.V. Smith (Ed.), A manual of forensic entomology. p.37-120, 1986.
- Soares, T.F.; Vasconcelos, S.D.; Diurnal and nocturnal flight activity of blow flies (Diptera: Calliphoridae) in a rainforest fragment in Brazil: implications for the colonization of homicide victims. J. Forensic Sci., 61, (6), 1571-1577, 2016.
- Sousa, A.G.P.; Ferraz, A.C.P.; Nascimento, A.L.O.; Aguiar-Coelho, V.M.; Alternative natural diet for the creation of immature oriental latrine flies under controlled conditions. Rev. Bras. Zoocienc., 12, (2), 133-140, 2010.
- Souza, A.M.; Linhares, A.X.; Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. Med. Vet. Entomol., 11, (1), 8-12, 1997.
- Souza A.S.B.; Kirst, F.D.; Krüger, R.F.; Insects of forensic importance from Rio Grande do Sul state in southern Brazil. Rev. Bras. Entomol., 52, (4), 641-646, 2008.
- Sukontason, K.; Methanitikorn, R.; Sukotason, K.L.; Piangjai, S.; Olson, J.K.; Clearing technique to examine the cephalopharyngeal skeletons of blow fly larvae. J. Vector Ecol., 29, (1), 192-195, 2004.
- Sukontason, K.; Narongchai, P.; Kanchai, C.; Vichairat, K.; Sribanditmongkol, P.; Bhoopat, T.; Kurahashi, H.; Chockjamsai, M.; Piangjai, S.; Bunchu, N.; Vongvivach, S.; Samai, W.; Chaiwong, T.; Methanitikorn, R.; Ngern-Klun, R.; Sripakdee, D.; Boonsriwong, W.; Siriwatanarungsee, S.; Srimuangwong, C.; Hanterdsith, B.; Chaiwan, K.; Srisuwan, C.; Upakut, S.; Moopayak, K.; Vogtsberger, R.C.; Olson, J.K.; Sukontason, K.L.; Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006. Parasitol. Res. 101, (5), 1417-1423, 2007.
- Sukontason, K.; Sribanditmongkol, P.; Ngoen-klan, R.; Klong-klaew, T.; Moophayak, K.; Sukontanson, K.L.; Differentiation between *Lucilia cuprina* and *Hemipyrellia ligurriens* (Diptera: Calliphoridae) larvae for use in forensic entomology applications. Parasitol. Res., 106, (3), 641-646, 2010.
- Sukontason, K.L.; Bhoopat, T.; Wannasan, A.; Sontigun, N.; Sanit, S.; Amendt, J.; Samerjai, C.; Sukontanson, K.; *Chrysomya chani* Kurahashi (Diptera: Calliphoridae), a blow fly species of forensic importance: Morphological characters of the third larval instar and a case report from Thailand. Forensic Sci. Res., 3, (1), 83-93, 2018.
- Szpila, K.; Pape, T.; Rusinek, A.; Morphology of the first instar of *Calliphora vicina*, Phormia regina and Lucilia illustris (Diptera, Calliphoridae). Med. Vet. Entomol., 22, (1), 16-25, 2008.
- Szpila, K.; Key for the Identification of Third Instars of European Blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Forensic Importance. In: Amendt, J., Goff, M. L., Campobasso, C. P., Grassberger, M. (Eds.), Current concepts in forensic entomology. London: Springer Netherlands, p. 43-57, 2010.
- Szpila, K.; Hall, M.J.R.; Pape, T.; Grzywacz, A.; Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part II. Luciliinae. Med. Vet. Entomol., 27, (4), 349-366, 2012.

- Szpila, K.; Grzywacz, A.; Larvae of the north American Calyptratae flies of forensic importance. In: Byrd, J.H., Tomberlin, J.K. (Ed.), Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. CRC press, p.532-544, 2020.
- Tantawi, T.I.; Greenberg, B.; *Chrysomya albiceps* and *C. rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): contribution to an ongoing taxonomic problem. J. Med. Entomol., 30, (3), 646-648, 1993.
- Thyssen, P.J.; Caracterização das formas imaturas e determinação das exigências térmicas de duas espécies de califorídeos (Diptera) de importância forense. 2005. Tese (Doutorado em Parasitologia). Universidade Estadual de Campinas, 2005. p.102.
- Thyssen, P.J.; Linhares, A.X.; First description of the immature stages of *Hemilucilia* segmentaria (Diptera: Calliphoridae). Biol. Res., 40, (3), 271-280, 2007.
- Thyssen, P.J.; Key to Third Instar Larvae of the Most Carrion Breeding and Feeding Dipteran Species from Brazil. In: Amendt, J., Goff, M. L., Campobasso, C. P., Grassberger, M. (Eds.), Current concepts in forensic entomology. London: Springer Netherlands, p. 212-215, 2010.
- Thyssen, P.J.; Nassu, M.P.; Costella, A.M.U.; Costella, M.L.; Record of oral myiasis by Cochliomyia hominivorax (Diptera: Calliphoridae): case evidencing negligence in the treatment of incapable. Parasitol. Res., 111, (2), 957-959, 2012.
- Thyssen, P.J.; Aquino, M.F.K.; Purgato, N.C.S.; Martins, E.; Costa, A.A.; Lima, C.G.P.; Dias, C.R.; Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil. J. Forensic Sci. Res., 2, 001-008, 2018.
- Vairo, K.P.; Corrêa, R.C.; Lecheta, M.C.; Caneparo, M.F.; Mise, K.M.; Preti, D.; Carvalho, C.J.B.; Almeida, L.M.; Moura, M.O.; Forensic use of a subtropical blowfly: the first case indicating minimum postmortem interval (mPMI) in southern Brazil and first record of *Sarconesia chlorogaster* from a human corpse. J. Forensic Sci., 60, S257-S260, 2015.
- Vasconcelos, S.D.; Soares, T.F.; Costa, D.L.; Multiple colonization of a cadaver by insects in an indoor environment: first record of *Fannia trimaculata* (Diptera: Fanniidae) and *Peckia* (*Peckia*) chrysostoma (Sarcophagidae) as colonizers of a human corpse. Int. J. Med. Legal Med., 128, (1), 229-233, 2014.
- Vasconcelos, S.D.; Barbosa, T.M.; Oliveira, T.P.B.; Diversity of forensically-important dipteran species in different environments in northeastern Brazil, with notes on the attractiveness of animal baits. Fla. Entomol., 98, (2), 770-775, 2015.
- Vasconcelos, S.D.; Salgado, R.L.; Barbosa, T.M.; Sousa, R.B.; Diptera of medico-legal importance associated with pig carrion in a tropical dry forest. J. Med. Entomol., 53, (5), 1131-1139, 2016.
- Vasconcelos, S.D.; Costa, D.L.; Oliveira, D.L.; Entomological evidence in a case of a suicide victim by hanging: first collaboration between entomologists and forensic police in northeastern Brazil. Aust J Forensic Sci., 51, (2), 231-239, 2017.
- Velásquez, Y.; Martínez-Sánchez, A.I.; Thomas, A.; Rojo, S.; Checklist and distribution maps of the blow flies of Venezuela (Diptera, Calliphoridae, Mesembrinellidae). ZooKeys, (645), 103-132, 2017.
- Vianna, E.E.S.; Brum, G.W.; Ribeiro, P.B.; Berne, M.E.A.; Silveira Jr. P.; Synanthropy of Calliphoridae (diptera) in Pelotas, Rio Grande do Sul state, brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 7, (2), 141-147, 1998.

- Vianna, É.E.S.; Costa, P.R.P.; Fernandes, A.L.; Ribeiro, P.B.; Abundância e flutuação populacional das espécies de *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia Ser. Zool., 94, (3), 231-234, 2004.
- Wallman, J. F.; Adams, M.; Molecular systematics of Australian carrion-breeding blowflies of the genus Calliphora (Diptera: Calliphoridae). Aust. J. Zool., 45, (4), 337-356, 1997.

Wallman, J. F.; Third-instar larvae of common carrion-breeding blowflies of the genus

Calliphora (Diptera: Calliphoridae) in South Australia. Invertebr. Syst, 15, (1), 37-51, 2001. Waterhouse, D.F.; Paramonovo, S.J.; The Status of the Two Species of *Lucilia* (Diptera,

- Calliphoridae) Attacking Sheep in Austhalia. Aust. J. Biol. Sci., 3, (3), 310-336, 1950.
- Webber, L.G.; Nutrition and reproduction in the Australian Sheep Blowfly *Lucilia cuprina*. Australian journal of zoology, 6, (2), 139-144, 1958.
- Wells, J.D.; Kurahashi, H.; *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development: rate, variation and the implications for forensic entomology. Med. Entomol. Zool., 45, (4), 303-309, 1994.
- Wells, J.D.; Byrd, J.H.; Tantawi, T.I.; Key to third-instar *Chrysomyinae* (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United States. J. Med. Entomol., 36, (5), 638-641, 1999.
- Whitworth, T.; Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of the West Indies and description of a new species of *Lucilia* Robineau-Desvoidy. Zootaxa, 2663, (1), 1-35, 2010.
- Whitworth, T.; Rognes, K.; Identification of Neotropical blow flies of the genus *Calliphora* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae) with the description of a new species. Zootaxa, 3209, (1), 1-27, 2012.
- Whitworth, T.; A revision of the neotropical species of Lucilia Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae). Zootaxa, 3810, (1), 1-76, 2014.
- Yusseff-Vanegas, S.; Description of third instars of *Cochliomyia minima* (Diptera: Calliphoridae) from West Indies, and updated identification key. J. Med. Entomol. 51, (5), 1051-1056, 2014.
- Zhu, J.J.; Chaudhury, M.F.; Tangtrakulwanich, K.; Skoda, S.R.; Identification of oviposition attractants of the secondary screwworm, Cochliomyia macellaria (F.) released from rotten chicken liver. J. Chem. Ecol., 39, (11), 1407-1414, 2013.
- Zumpt, F.; Myiasis in man and animals in the Old World. A textbook for physicians, veterinarians and zoologists. Lodon, Butterworths. p.267, 1965.



Figura 1. Caracteres anatômicos de larvas de terceiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] segmentos corporais, espinulação e o espiráculo respiratório anterior (ampliado no inset), vista lateral; [B] pseudocéfalo, vista ventral; [C] e [E] segmentos corporais e espinulação, vista ventral e dorsal, respectivamente; [D] divisão anal; [F] espiráculos respiratórios posteriores; [G] e [H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1-T3=** segmentos torácicos; **A1-A7=** segmentos abdominais; **DA=** divisão anal; **CLR=** cinturão lateral de rastejamento; **CVR=** cinturão ventral de rastejamento; **BA=** banda de espinhos anterior; **BP=** banda de espinhos posterior; **AI=** área interbandas; **an=** complexo antenal; **pm=** palpo maxilar; **mf=** máscara facial; **co=** cavidade oral; **EP=** espiráculo posterior; **P1-P3=** papilas dorsais; **P4-P7=** papilas ventrais; **AA=** almofada anal; **PA=** papila anal; **pa=** poro anal; **FE=** fenda espiracular; **P=** peritrema; **b=** botão espiracular; **GO=** gancho oral; **ELA=** esclerito labial anterior; **ELP=** esclerito labial posterior; **ED=** esclerito dental; **BP=** barra parastomal; **DO=** depressão óptica; **PD=** ponte dorsal; **PV=** placa vertical; **HP=** hipofaringe; **EI=** esclerito intermediário; **CD=** corno dorsal; **JV=** janela ventral; **CV=** corno ventral.



Figura 2. Larva de terceiro estádio de *Calliphora* sp. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]-[G] almofada anal e microtubérculos, vista posterior, lateral e dorsal, respectivamente; [H]-[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos; **mi=** microtubérculos; **EO=** esclerito oral acessório.



Figura 3. Larva de terceiro estádio de *Chrysomya albiceps*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal e tubérculos duplos laterais nos segmentos abdominais (ampliado no inset); [D] divisão anal; [E] tubérculo e placas do segmento A5; [F]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]-[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos; **Tb=** tubérculos.



Figura 4. Larva de terceiro estádio de *Chrysomya megacephala*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior, respectivamente; [F]-[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente, e variações do esclerito oral acessório (ver no inset). Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos; **EO=** esclerito oral acessório.



Figura 5. Larva de terceiro estádio de *Chrysomya putoria*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E] segmentos A2-A4, vista dorsal, mostrando as diferenças entre cerdas e protuberâncias (com maior aumento no inset); [F]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior, respectivamente; [H]-[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos; **Ce=** cerdas; **Pt=** protuberância.



Figura 6. Larva de terceiro estádio de *Cochliomyia hominivorax*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] A5-A7 e divisão anal com traquéias respiratórias pigmentadas; [E] divisão anal; [F]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]-[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **A5-A7=** quinto ao sétimo segmentos abdominais; **DA=** divisão anal; **esp**, espinhos; **Tr=** traquéias respiratórias; **Pe=** pigmentação externa do corno dorsal.



Figura 7. Larva de terceiro estádio de *Cochliomyia macellaria*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal dos segmentos larvais; [D] divisão anal; [E]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]-[H] cefaloesqueleto, vistal lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp,=** espinhos.



Figura 8. Larva de terceiro estádio de *Lucilia cuprina*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]-[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos.



Figura 9. Larva de terceiro estádio de *Lucilia eximia*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]-[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos.



Figura 10. Larva de terceiro estádio de *Hemilucilia semidiaphana*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista posterior; [C] vista dorsal; [D] estrias do tegumento do A5; [E] divisão anal; [F]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]-[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1= primeiro segmento torácico; esp= espinhos.



Figura 11. Larva de terceiro estádio de *Hemilucilia segmentaria*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] estrias do tegumento do A5; [E] divisão anal; [F]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [H]-[I] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos.



Figura 12. Larva de terceiro estádio de *Paralucilia fulvinota*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]-[H] cefaloesqueleto, vista dorsal e ventral, respectivamente, e variações do esclerito oral acessório (ver no inset). Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos.



Figura 13. Larva de terceiro estádio de *Sarconesia chlorogaster*. Em: [A] vista lateral; [B] pseudocéfalo e espinhos do T1, vista dorsal; [C] vista dorsal; [D] divisão anal; [E]-[G] almofada anal, vista dorsal e posterior; [F]-[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1=** primeiro segmento torácico; **esp=** espinhos.



Figura 14. Região anterior de uma larva de terceiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] pseudocéfalo; [B] lobo do pseudocéfalo e em detalhe o complexo antenal e o palpo maxilar com suas sensilas. Abreviaturas: **an**= complexo antenal; **pm**= palpo maxilar; **co**= cristas orais; **sb**= sensilas basicônicas; **sc**= sensilas celocônicas.



Figura 15. Divisão anal de larvas de terceiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] *Calliphora* sp.; [B] *Chrysomya albiceps*; [C] *Chrysomya megacephala*; [D] *Chrysomya putoria*; [E] *Cochliomyia hominivorax*; [F] *Cochliomyia macellaria*. Abreviaturas: EP, espiráculo posterior; P1-P3, papilas dorsais; P4-P6, papilas ventrais.



Figura 16. Divisão anal de larvas de terceiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] *Lucilia cuprina*; [B] *Lucilia eximia*; [C] *Hemilucilia semidiaphana*; [D] *Hemilucilia segmentaria*; [E] *Paralucilia fulvinota*; [F] *Sarconesia chlorogaster*.

5. CAPÍTULO II

Morfologia e chave de identificação para larvas de primeiro estádio de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) de importância forense da região Neotropical

Morfologia e chave de identificação para larvas de primeiro estádio de Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) de importância forense da região Neotropical

Aline M. Prado¹, Patrícia J. Thyssen¹

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

5.1. Resumo

Os califorídeos estão entre as primeiras famílias de moscas a colonizar um corpo e no âmbito forense são importantes para a determinação mais acurada do tempo de morte. Para esta determinação, a identificação dos imaturos é essencial, porém dificultosa, especialmente no primeiro estádio em que as características morfológicas são pouco evidentes. Os primeiros estádios de dez espécies de Calliphoridae de importância forense registradas para a região Neotropical pertencentes aos grupos, *Calliphora, Chrysomya, Cochliomyia, Hemilucilia, Lucilia* e *Sarconesia* foram observados e documentados através de fotografias e ilustrações. As seguintes estruturas foram observadas: pseudocéfalo, máscara facial, estruturas do cefaloesqueleto, espinulação dos segmentos torácicos e abdominais, campo espiracular e espiráculos posteriores. Descrições anteriores são sumarizadas e discrepâncias em relação ao presente estudo foram discutidas. A partir dos dados morfológicos levantados uma chave dicotômica pictórica foi elaborada. As informações presentes neste estudo podem auxiliar na identificação de espécies de Calliphoridae e esclarecer algumas características morfológicas.

Palavras-chave: Entomologia forense; Intervalo pós-morte; Taxonomia; Morfologia; Larvas.

5.2. Introdução

Um dos primeiros passos para a determinação mais acurada do intervalo pós morte através da entomologia forense é a identificação do espécime coletado na cena do crime (Catts e Goff, 1992). No que diz respeito aos imaturos, mesmo quando a fauna local é conhecida, a identificação acurada pode ser laboriosa especialmente para larvas de primeiro estádio (Catts e Goff, 1992; Thyssen, 2010). Nestes casos a literatura sugere a criação da larva coletada até a fase adulta, porém, esta prática nem sempre é possível na rotina pericial, visto que as larvas podem não sobreviver à coleta ou pela necessidade de tempo e recursos adequados para a criação (Tao, 1927; Thyssen, 2011).

Para os Calliphoridae (Insecta, Diptera), uma das primeiras famílias de moscas a colonizar um cadáver ou uma carcaça (Reed, 1958), a disponibilidade de informações morfológicas para os primeiros estádios é escassa para algumas espécies (Szpila et al., 2012). Outras espécies ainda necessitam de revisão e detalhamento de caracteres (Knipling, 1936; Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009) para tornar a identificação mais acessível (Szpila et al., 2012), visto que ainda existem discrepâncias na determinação de características como o padrão de espinhos ao longo dos segmentos corporais e que ainda existem características que não foram exploradas em algumas descrições, como a vista ventral de estruturas que compõem o cefaloesqueleto (Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2012).

Novas descrições utilizando equipamentos de melhor qualidade e diferentes recursos como a microscopia eletrônica de varredura (MEV) têm surgido para suprir estas necessidades (Szpila et al., 2008; Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2012; 2013; 2014a; 2014b; Szpila e Wallman, 2016), contudo, a disponibilidade de chaves taxonômicas para espécies de imaturos nos primeiros estádios ainda são escassas e incluem espécies não neotropicais (Liu e Greenberg, 1989; Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2012; 2013; Szpila e Wallman, 2016), tornando necessários estudos que possam diminuir as discrepâncias taxonômicas existentes, padronizar as terminologias e para o desenvolvimento de novas chaves taxonômicas. Assim, o objetivo do presente estudo foi descrever e redescrever dez espécies de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae de importância forense registrados na região Neotropical e elaborar uma chave dicotômica pictórica.

5.3. Material e Métodos

Coleta e obtenção de amostras. As larvas avaliadas no presente estudo foram obtidas por meio de: (i) coleta em campo; (ii) criações pré-estabelecidas no Laboratório de Entomologia Integrativa (LEI) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e (iii) através do acesso à coleção de imaturos do LEI. As espécies foram coletadas em Campina Verde, MG (19°32'09"S, 49°29'09"O), Arroio do Padre, RS (31°25'40"S, 52°22'36"W), no Horto Florestal de Capão do Leão, RS (31°45'46"S, 52°29'2"W) e na Universidade Federal de Pelotas – campus Capão do Leão (UFPel), RS (31°48'02.1"S, 52°25'14.0"W).

Excetuando *Cochliomyia hominivorax* que foi coletada diretamente do hospedeiro e posteriormente estabelecida em laboratório de acordo com Cardoso et al. (2014), a coleta das demais espécies foi feita através de coleta ativa e armadilhas (adaptada de Shuey, 1997 e Moretti et al., 2009), ambas contendo fígado bovino com 72h de putrefação. Os adultos e imaturos foram identificados (Guimarães e Papavero, 1999; Carvalho e Ribeiro, 2000; Grella e Thyssen, 2011) e então armazenados em gaiolas plásticas sob condições controladas (27 ± 1 °C, 70 ± 10 %, 12:12 h).

Para a alimentação dos adultos foram fornecidas água e dieta à base de açúcar, leite em pó e levedo (porção de 1:1:1) *ad libitum* e para a oviposição foi oferecida uma porção de 50 g de carne bovina moída crua fresca. Os ovos foram realocados e depositados em frascos plásticos sob as mesmas condições controladas dos adultos, contendo uma proporção de 0,5 g/ovo do mesmo substrato, possibilitando a nutrição das larvas, que foram recolhidas no período entre 6-12 h após a eclosão para os estudos morfológicos.

As larvas recolhidas foram mortas por imersão em água aquecida (70–80 °C) por pelo menos 30 segundos e então armazenadas parte na solução de Kahle (30 mL de álcool etílico 95%, 12 mL de formaldeído, 4 mL de ácido acético glacial e 60 mL de água destilada) e parte em álcool 70% (Adams e Hall, 2003; Borror e Delong, 2010; Szpila et al., 2014). Após as análises morfológicas, todas as amostras foram depositadas na coleção do LEI.

Observação de amostras e elaboração de chaves taxonômicas. As características internas e externas das amostras foram observadas em estereomicroscópio. Para a observação da estrutura interna (cefaloesqueleto), as larvas foram dissecadas e clarificadas utilizando KOH 10% (Sukontason et al., 2004) para a limpeza do tegumento excessivo e então observadas em estereomicroscópio. Os registros fotográficos foram feitos através de uma câmera digital

Samsung WB85OF ® e as ilustrações por meio de câmara clara acoplada ao estereomicroscópio. O conjunto de imagens foi editado utilizando o Adobe PhotoshopTM CS6 Portable 2020. A chave dicotômica pictórica foi elaborada a partir de uma matriz de caracteres, que foi produzida através do editor de dados MesquiteTM v. 3.70.

As fotos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas a partir da lavagem em solução tampão (PBS 10 %) e desidratação em série etanólica crescente (50, 70, 80, 90, 95 e 100 %). Em seguida, as amostras foram secas em temperatura ambiente, imersas em hexametildisilazano (HMDS) e o material seco foi fixado em porta-amostras e colocado em sputter coater SCD-050 para receber a cobertura por uma fina camada de ouro. Os exemplares preparados foram analisados em microscópio eletrônico JEOL® modelo JSM-840-A.

Nomenclatura e terminologia. As terminologias adotadas para as estruturas anatômicas seguem Erzinçlioglu (1985), Shewell et al. (1987), Courtney et al. (2000) e Szpila et al. (2013) e as seguintes abreviaturas foram utilizadas: pseudocéfalo (Pc), segmentos torácicos (T1-T3), segmentos abdominais (A1-A7), divisão anal (DA), papilas dorsais interna, mediana e lateral (P1-P3), papilas ventrais interna, mediana e lateral (P4-P6) e papila interna superior (P7).

5.4. Resultados

Descrição e redescrições de espécies de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae

Aspectos gerais. Corpo cilíndrico e esbranquiçado com número de segmentos similar ao descrito para muitos muscóides, com 12 segmentos divididos em: 1 Pc, 3 torácicos (T1-T3), 7 abdominais (A1-A7) e uma divisão anal (Figs.1 A–E). Larvas de primeiro estádio são reconhecidas pelo par de espiráculos anteriores com uma única fenda ou eventualmente com um par de fendas (pouco visível em microscopia comum, aparentando estar ausente) e pelo par de espiráculos posteriores, com peritremas fracamente pigmentados (Figs. 1 A–D). O Pc é bilobado e contém um complexo antenal, palpo maxilar e máscara facial. O complexo antenal é localizado ântero-dorsalmente e é estruturado por um par de antenas pouco desenvolvidas, alocadas em domos antenais (Fig. 1 B; Fig. 16 A-B). O palpo maxilar é composto por um conjunto de sensilas do tipo basicônicas e celocônicas. A máscara facial está localizada ao redor da cavidade oral e é composta por cristas orais que irradiam ao longo do Pc e também são pouco evidentes em microscopia comum (Fig. 1 B; Fig. 16 A-B). Internalizado nos três primeiros

segmentos larvais, o cefaloesqueleto é composto por diversas estruturas, algumas delas pareadas (ganchos orais, as barras parastomais, placas verticais e cornos dorsais e ventrais) (Figs.1 G–H). Os ganchos orais são simétricos, o labro é presente, e, em vista ventral, o esclerito intermediário tem forma de "H" (Figs.1 G–H). Os escleritos dental, labial e oral acessório não existem neste estádio. Os cirros/dentículos são estruturas denticuladas que estão localizadas no ápice do gancho oral (Figs. 2D–E). Os segmentos T1-T3 apresentam bandas de espinhos sempre anteriores e completas. A divisão anal apresenta abaixo do disco espiracular um par de estruturas circulares, globosas ou achatadas e em geral, as papilas dorsais e ventrais são cônicas ou arredondadas e de difícil visualização e definição em microscopia comum (Fig.1 D).

Calliphora Robineau-Desvoidy

Diante das descrições existentes para primeiro estádio de *Calliphora* (Erzinçlioglu, 1985; Liu e Greenberg, 1984; Szpila et al., 2008; Florez e Wolff, 2009; Szpila et al., 2014b), ainda não há caracteres exclusivos que possam definir este grupo, uma vez que a grande maioria necessita de uma revisão para maior detalhamento e observação de outros caracteres como estruturas do cefaloesqueleto e padrão de espinulação anterior e posterior dos segmentos abdominais. Embora sejam compartilhadas por outros grupos como *Lucilia e Sarconesia* (Greenberg e Szyska, 1984; Bonatto e Carvalho, 1996; Szpila et al., 2012), algumas características potenciais para a definição deste grupo, são a presença de braços laterais no gancho oral, placa vertical estreita em comprimento e ápice do gancho oral angulado em relação à região basal (Figs.2 E–F) (O'Flynn e Moorhouse, 1980; Erzinçlioglu, 1985; Szpila et al., 2008).

Calliphora sp. Mello (Figs. 2 A–F; 12 A–B; 13 A-C; 17 A; 19 A)

(6-12 h; N= 38)

Diagnose. Pseudocéfalo com dois pares de cristas orais interrompidas dorso-lateralmente. Ganchos orais com 5-6 fileiras de dentículos apicais (cirros) e com fraca pigmentação. Região basal do gancho oral estreita com braço lateral delgado e de pigmentação fraca. Labro com margem dorsal côncava e ápice arredondado. Esclerito intermediário, em vista ventral, com braços posteriores robustos e com barra transversal de abertura truncada e estreita. Ponte dorsal presente e fortemente pigmentada. Placa vertical com comprimento duas vezes menor que a altura. Corno dorsal delgado e curvo. Corno ventral, em vista ventral com braços separados um do outro na extremidade posterior. A1-A3 com bandas de espinhos anteriores interrompidas dorso-lateralmente. A4 com bandas de espinhos anteriores e interrompidas dorso-lateralmente. A5-A6 com bandas de espinho anteriores restritas ventralmente e latero-ventralmente. A7 com bandas de espinhos anteriores e completas e apresenta bandas de espinhos posteriores completas. Vista ventral de A2-A7 com lacuna estreita entre o cinturão ventral de rastejamento e a banda ventral de espinhos, apresentando metade ou menos que a metade do comprimento da banda ventral de espinhos. Divisão anal com círculo completo de espinhos, semelhantes a fios de cabelo. Espiráculo posterior com 4 pares de ramificações bifurcadas ou trifurcadas. **Papilas dorsais.** P1 e P3 cônicas, P2 arredondadas, próximas de P3 e com menos da metade do tamanho das demais papilas. **Papilas ventrais.** P4 não são visíveis em microscopia comum; P5 e P6 alongadas e cilíndricas; P7 arredondadas, em forma de sensila e menores em relação às demais papilas.

Comentários. *Calliphora* sp. se difere em relação às outras espécies neotropicais descritas, como *C. nigribasis* e *C. vicina*, pelo padrão de espinulação dos segmentos larvais; (*C. nigribasis* Macquart, 1851, com banda de espinhos de A5-A7 e na divisão anal incompletas e interrompidas até a metade do segmento e *C. vicina* Robineau-Desvoidy, 1830, com bandas de espinhos em A4-A5 completas) (ver Erzinçlioglu, 1985; Szpila et al., 2008; Florez e Wolff, 2009; Szpila et al., 2014b) e pela forma de estruturas do cefaloesqueleto; (arco transversal unindo as extremidades distais dos cornos ventrais em *C. vicina*) (ver Szpila et al., 2008). Além disso, de acordo com Liu e Greenberg (1989) outros caracteres diferenciáveis são os espinhos filiformes na área espiracular (cercada por uma densa quantidade em *C. vicina*). Estes espinhos são melhor detalhados e definidos através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (ver Szpila et al., 2008).

Chrysomya Robineau-Desvoidy

Em geral, as características precisam ser melhor exploradas principalmente em outras espécies que ainda não possuem descrição, mas, algumas características com potencial diagnóstico encontram-se no cefaloesqueleto, como a região basal do gancho oral em barra e sem braços laterais (Figs. 3 E-F; 4 E-F; 5 E-F) e, com exceção de *C. albiceps* (Wiedemann) e *C. nigripes* Aubertin, a presença de estruturas hemisféricas (Figs. 4 D-E; 5 D-E) (Szpila e Villet 2011; Szpila et al., 2013; Szpila et al., 2014a; Szpila e Wallman, 2016).

Chrysomya albiceps (Wiedemann) (Figs. 3 A–F; 12 C–D; 13 D-F; 17 B; 19 B) (6-12 h; N= 50)

Pseudocéfalo. Com dois pares de cristas orais interrompidas dorso-lateralmente.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Dispostos em cacho, com 1-2 fileiras de cirros e 3-4 fileiras irregulares de dentes, dando à estrutura aspecto robusto e curvado; a região basal é ampla, apresentando um processo posterior direcionado dorsalmente (apódema); o braço lateral não é desenvolvido. Labro. Fracamente pigmentado, com ápice estreito, pontiagudo e com incisão ventral apresentando uma curvatura abrupta; em <u>vista dorsal</u>, apresenta forma de "v" invertido. Esclerito intermediário. Clavado; em <u>vista ventral</u>, com margem anterior truncada e posterior robusta, com barra transversal apresentando abertura truncada e estreita. Barra parastomal. Espessa, arqueada e comprida, com três vezes o comprimento da ponte dorsal. Fortemente pigmentada, robusta e com ápice afilado. Placa vertical. Fortemente pigmentada e com altura e largura similares. Depressão óptica. Curvada e com abertura ampla. Corno dorsal. Robusto, com extremidade apical afilada e linha da margem ventral fortemente pigmentada; a abertura entre os cornos dorsal e ventral um terço maior que a abertura da depressão óptica. Corno ventral. Ampla, duas vezes mais alta que o corno dorsal e se estreitando no ápice; margem dorsal fracamente pigmentada, com aspecto membranoso e triangular; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior.

Segmentos torácicos. Espinhos. Fileiras de espinhos horizontais e fortemente pigmentadas; T1 com banda de espinhos mais larga e com maior concentração de fileiras ventrais do que em T2-T3; T1 apresenta 6-8 fileiras dorsais e 11-14 fileiras ventrais. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A2 com bandas de espinho anteriores fortemente pigmentadas e completas, o qual em A2, essa completude é discreta, apresentando poucas fileiras de espinhos dorsais (2-4); A3 são anteriores e incompletas, com fileiras de espinhos interrompidas látero-dorsalmente; A4 são anteriores e incompletas, interrompidas lateralmente; A5-A7 com bandas de espinho anteriores e incompletas, restritas ventralmente e látero-ventralmente; em <u>vista ventral</u>, A2-A7 apresentam lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento, sendo preenchida com pequenos espinhos. **Área interbandas.** Lisa.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos incompleta, restrita ventralmente e látero-ventralmente, com fileiras de espinhos concentradas e com cinturão ventral de rastejamento; presença de círculo de espinhos semelhantes a fios de cabelo ao redor do campo espiracular. Espiráculos posteriores. Com uma única ramificação bifurcada ou trifurcada; peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado. Papilas espiraculares. Diminutas. Papilas dorsais. Com P1 com aspecto de sensila celocônica, P2 arredondadas e P3 cônicas, ambas com diminutas sensilas apicalmente. Papilas ventrais. Equidistantes, com P4 cônicas, P5 arredondadas e P6 arredondadas e pouco menores em altura que as demais papilas; P7 são arredondadas e diminutas. Almofada anal. Arredondada, apresentando algumas fileiras em arco e fileiras com espinhos fortemente pigmentados e concentrados em um único ponto, ambas acima do ânus. Papilas anais. Arredondadas e proeminentes.

Comentários. Esta espécie pode ser identificada principalmente pela forma e tamanho de estruturas do cefaloesqueleto. C. albiceps difere de C. megacephala (Fabricius, 1794) e de C. putoria (Wiedemann, 1830), pela ausência de processo posterior no gancho oral direcionado dorsalmente, pela barra parastomal retilínea, presença de estruturas hemisféricas e região basal do gancho oral e barra transversal do esclerito intermediário estreitas (Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2013). As espécies C. rufifacies (Macquart, 1843) e C. albiceps apresentam morfologia muito similar neste estádio, em particular no padrão de espinhos e no cefaloesqueleto (Liu e Greenberg, 1989; Queiroz et al., 1997). Estas espécies não podem ser distintas utilizando a microscopia de luz, mas, através da MEV podem ser diferenciadas pela alta densidade de espinhos filiformes na divisão anal de C. rufifacies (Liu e Greenberg, 1989). Em relação à espinulação, os espécimes deste estudo, assim como em outras descrições (Zumpt, 1965; Florez e Wolff, 2009; Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2013), se distinguem de C. megacephala e C. putoria através das bandas de espinhos anteriores em A3-A4, que são completas para as duas últimas. Em algumas descrições as fileiras de espinhos são discrepantes das relatadas neste estudo, sendo citadas como completas apenas em A1 (Florez e Wolff, 2009) ou presentes nos limites dos segmentos de C. albiceps não explicitando quanto à completude ou direção dos espinhos (Queiroz et al., 1997; Mendonça et al., 2010).

Chrysomya megacephala (Fabricius) (Figs. 3 A–F; 12 E–F; 13 G-I; 17 C; 19 C) (6-12 h; N=20)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, porém, com 2-4 pares de cristas orais interrompidas dorso-lateralmente.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Fortemente pigmentados, albergando dentes organizados em cacho, com 2-3 fileiras visíveis e cirros com 1-2 fileiras; região basal em barra e arredondada posteriormente; entre os ganchos orais existe um par de estruturas hemisféricas, estreitas e com extremidades pontiagudas, que em vista ventral são delgadas e arqueadas; o braço lateral não é desenvolvido. Labro. Fortemente pigmentado, com região basal ampla e margem dorsal curva; extremidade apical afunilada com uma uma incisão ventral serrilhada; em vista dorsal, apresenta forma de "v" invertido. Esclerito intermediário. Estreito e clavado; em vista ventral, é estreito e apresenta barra transversal estreita e de abertura em semicírculo. **Barra parastomal.** Espessa e comprida, com aproximadamente três vezes o comprimento da ponte dorsal. Ponte dorsal. Estreita, arredondada e curvada em direção dorsal, apresentando forte pigmentação apical. Placa vertical. Fortemente pigmentada e com altura e largura similares. Depressão óptica. Curva e côncava. Corno dorsal. Estreito, curvo em direção ventral e fortemente pigmentado; a abertura entre os cornos dorsal e ventral é um terço maior que a abertura da depressão óptica. Corno ventral. Com comprimento similar ao do corno dorsal, tem aspecto membranoso e apresenta a metade dorsal sinuosa e fracamente pigmentada; em vista ventral, o par é separado na extremidade posterior.

Segmentos torácicos. Espinhos. Fileiras fortemente pigmentadas, horizontais e concentradas; T1 apresenta 5-8 fileiras dorsais e 6-11 fileiras ventrais; em T2 a banda de espinhos é fracamente pigmentada, apresenta poucas fileiras de espinhos e é menos evidente em relação aos demais segmentos. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A5 apresentam bandas de espinho anteriores e completas, com espinhos fortemente pigmentados, em que A5 apresenta poucas fileiras de espinho (2-3) em relação aos demais segmentos; A6-A7 com bandas de espinhos anteriores e incompletas, restritas ventralmente e látero-ventralmente; A7 com banda de espinhos posteriores e completas, com poucas fileiras de espinhos; em <u>vista ventral</u>, A2-A7 apresenta uma única fileira de espinhos posteriores e com exceção de A1, todos os segmentos apresentam uma lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento, sendo preenchida com pequenos espinhos. **Área interbandas.** Lisa.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos anterior e incompleta, restrita ventralmente e látero-ventralmente, apresentando cinturão ventral de rastejamento; presença de círculo completo de espinhos semelhantes a fios de cabelo ao redor do campo espiracular. **Espiráculos posteriores.** Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; apresentam 4-6 ramificações bifurcadas ou trifurcadas; eventualmente é possível visualizar um

par de fendas oblíquas. **Papilas espiraculares.** Diminutas. **Papilas dorsais.** Equidistantes, com P1 e P3 com aspecto de sensilas celocônicas e P2 arredondadas e curtas em relação à P1 e P3. **Papilas ventrais.** P4 arredondadas, P5 diminutas em relação às demais papilas e P6 cônicas; P7 arredondadas e visíveis apenas em MEV. **Almofada anal.** Arredondada, com poucas fileiras de espinhos ventrais e fracamente pigmentadas, com alguns destes espinhos concentrados em um único ponto, acima do ânus. **Papilas anais.** Arredondadas e próximas entre si.

Comentários. A espécie *C. megacephala* pode ser diferenciada de outras *Chrysomya* principalmente por características do cefaloesqueleto e espinulação. Pode ser distinta de C. *albiceps* devido à ausência do par de estruturas hemisféricas nesta espécie, presença de processo posterior no gancho oral direcionado dorsalmente, barra parastomal arqueada e abertura estreita no esclerito intermediário com barra transversal robusta (ver Florez e Wolff, 2009; Szpila et al., 2013). Adicionalmente, diferencia-se de C. albiceps e C. rufifacies através das bandas de espinhos incompletas em A3-A4 (ver Liu e Greenberg, 1984; Florez e Wolff, 2009; Szpila et al., 2013), porém, de acordo com alguns autores (Sukontason et al., 2003), as espécies C. megacephala e C. rufifacies distinguem-se melhor através das ramificações dos tufos espiraculares na divisão anal observadas através de MEV, em que os ramos são relativamente finos em C. megacephala e mais largos em C. rufifacies. Diferencia-se de C. putoria através do labro relativamente homogêneo, estreitos anteriormente e posteriormente e pela área interbandas com cinturão lateral de rastejamento de A1-A4 (ver Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2013). Embora uma das maneiras de identificar o estádio larval seja através do número de fendas respiratórias presentes no espiráculo anterior, e que para a maioria das espécies apenas uma abertura esteja presente em larvas de primeiro estádio, eventualmente, é possível observar duas fendas em microscopia comum, como é o caso de C. megacephala e de espécies de outros gêneros. O par de fendas nesta espécie também estão presentes nas imagens em MEV do presente estudo e são relatadas por Szpila et al. (2013) e Sukontanson et al. (2003), que descrevem que o par se aglutina ventralmente.

Chrysomya putoria (Wiedemann) (Figs. 5 A–F; 12 G–H; 13 J-L; 17 D; 19 D) (6-12 h; N=18)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, porém, com dois pares de cristas orais interrompidas dorso-lateralmente.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Fortemente pigmentados, albergando dentes dispostos em cacho, com 2-4 fileiras e 1-3 fileiras de cirros, que dão um aspecto curvo e robusto à estrutura; região basal estreita e em forma de barra; entre os ganchos orais existe um par de estruturas hemisféricas, estreita e com as extremidades pontiagudas sendo delgadas, arqueadas e mais evidentes, em vista ventral; braço lateral não desenvolvido. Labro. Com região basal arredondada, margem dorsal retilínea e ápice arredondado com incisão ventral côncava e pouco evidente; em vista dorsal, apresenta forma de "v" invertido. Esclerito intermediário. Clavado; em vista ventral, é robusta, apresentando margem posterior côncava, com barra transversal estreita e abertura truncada e estreita. Barra parastomal. Retilínea, mais espessa na região mediana e com aproximadamente três vezes o comprimento da ponte dorsal. Ponte dorsal. Afilada e fracamente pigmentada. Placa vertical. Fortemente pigmentada na região mediana e com altura e largura similares. Depressão óptica. Curva e côncava. Corno dorsal. Afilado, curvo em direção ventral e fracamente pigmentado; a abertura entre os cornos dorsal e ventral é dois terços maior que a abertura da depressão óptica. Corno ventral. Com comprimento similar ao do corno dorsal, apresenta o terço inicial fortemente pigmentado; a metade dorsal é ondulada e membranosa; em vista ventral, o par é separado na extremidade posterior.

Segmentos torácicos. Espinhos. Fileiras horizontais de espinhos, fortemente pigmentadas e dispersas; T1 com 5-8 fileiras dorsais e 7-11 fileiras ventrais, apresentando banda de espinhos mais largas e com fileiras mais concentradas em relação à T2-T3. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. As bandas de espinhos de A1-A5 são anteriores e completas, com espinhos fortemente pigmentados nos quatro primeiros e fracamente pigmentados em A5, apresentando poucas fileiras dorsais (1-2); A6 com bandas de espinho anteriores e incompletas, com fileiras restritas ventralmente e latero-ventralmente; A7 apresenta banda de espinhos anteriores e incompletas, restritas ventralmente e latero-ventralmente; A7 apresenta banda de espinhos posteriores e completas; em <u>vista ventral</u>, os espinhos centrais são fortemente pigmentados e A2-A7 apresentam uma única fileira de espinhos posteriores e uma lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento, sendo preenchida gradualmente com espinhos diminutos. **Área interbandas.** As margens posteriores dos segmentos A1-A5 apresentam cinturão lateral de rastejamento, sendo os conjuntos de espinhos pouco evidentes em A4-A5.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. A banda de espinhos é anterior e incompleta, restrita ventralmente e latero-ventralmente, com cinturão ventral de rastejamento; presença de círculo completo de espinhos semelhantes a fios de cabelo ao redor do campo espiracular. **Espiráculos**

posteriores. Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; apresentam 1-3 ramificações bifurcadas ou trifurcadas. **Papilas espiraculares.** Diminutas. **Papilas dorsais.** Equidistantes, com P1 cônicas e maiores em relação às demais papilas; P3 cônicas e P2 diminutas e arredondadas. **Papilas ventrais.** P4 arredondadas, mais curtas que as demais papilas e próximas de P5; P5-P6 com aspecto de sensilas celocônicas; P7 arredondadas e diminutas. **Almofada anal.** Arredondada, com fileira de espinhos fracamente pigmentadas distribuídas em arco e com espinhos concentrados em um único ponto acima do ânus. **Papilas anais.** Arredondadas.

Comentários. *C. putoria* pode ser distinta de outras espécies de *Chrysomya* neotropicais de importância forense, principalmente por características do cefaloesqueleto e área interbandas. Esta espécie difere de *C. megacephala*, devido ao labro estreito anteriormente e amplo posteriormente e de *C. albiceps* por apresentar região basal do gancho oral e barra transversal do esclerito intermediário robustas, além do processo posterior no gancho oral direcionado dorsalmente. Adicionalmente, *C. putoria* pode ser distinta pela área interbandas nos segmentos A1-A4 lisas em *C. megacephala e C. albiceps* e pela incompletude das bandas de espinho em A3-A4 em *C. albiceps* e em *C. rufifacies* (ver Florez e Wolff, 2009; Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2013). A espinulação em alguns dos segmentos abdominais em *C. putoria* ainda é um caracter controverso e com descrições variáveis no que diz respeito à sua completude e à direção de suas fileiras de espinhos. Similar à outras descrições (ver Erzinçlioglu, 1984; Szpila e Villet, 2011), os espécimes deste estudo apresentam banda de espinhos completas em A5, enquanto que em outros estudos elas são incompletas (ver Greenberg e Szyska, 1984, descritas a partir de *C. chloropyga putoria*) ou sem definição explícita (Mendonça et al., 2012).

Cochliomyia Townsend

As descrições existentes para este grupo contempla duas das quatro espécies pertencentes a ele e, até o momento, não foram encontradas características exclusivas que pudessem defini-lo. Embora Mendonça et al. (2014) tenha sugerido que um par de fendas presentes nos espiráculos posteriores pudesse ser um carácter exclusivo deste grupo, visto que estão presentes nas espécies *C. macellaria* (Fabricius) (Mendonça et al., 2014) e *C. hominivorax* (Coquerel) (Leite e Guevara, 1993; Szpila et al., 2014), o presente estudo e outras descrições relatam ou fotodocumentam estas fendas em espécies de outros gêneros como *Chrysomya* (ver

Sukontanson et al., 2003) e *Lucilia* Robineau-Desvoidy (ver Tao, 1927; Knipling, 1936; Szpila et al., 2012).

Cochliomyia hominivorax (Coquerel) (Figs. 6 A–F; 12 I–J; 13 M-O; 17 E; 19 E) (6-12 h; N=10)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, mas, com um par de cristas orais terminando na metade lateral.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Robustos, fortemente pigmentados, curvados e dispostos em cacho, albergando 3-4 fileiras de dentes robustos e 1-2 fileiras de cirros; região basal robusta e em barra, de onde parte um braço lateral filiforme. **Labro.** Triangular e fracamente pigmentado, com margem dorsal retilínea e ápice afilado e sem incisão ventral; é aproximadamente um terço mais curto em comprimento do que o gancho oral e em <u>vista dorsal</u> tem forma de "v" invertido. **Esclerito intermediário.** Robusto, fortemente pigmentado e clavado; em <u>vista ventral</u>, é fracamente pigmentado com margem posterior côncava e com barra transversal robusta e de abertura truncada e estreita. **Barra parastomal.** Retilínea, espessa e aproximadamente três vezes mais longa que o esclerito intermediário. **Ponte dorsal.** Não pigmentada. **Placa vertical.** Fortemente pigmentada e com altura e largura similares. **Depressão óptica.** Curva e côncava. **Corno dorsal.** Afilado, com margem ventral fortemente pigmentada; a abertura entre os cornos dorsal e ventral é côncava e estreita em relação à forma da depressão óptica. **Corno ventral.** Com comprimento similar ao do corno dorsal, apresenta metade dorsal ampla e membranosa, com pigmentação fraca; em <u>vista ventral</u>, há uma estrutura em forma de arco fracamente pigmentada, unindo as duas extremidades do corno ventral.

Segmentos torácicos. Espinhos. Evidentes, fortemente pigmentados, de pontas únicas e em forma de gancho; T1 com 4-6 fileiras dorsais e 7-11 fileiras ventrais, apresentando uma banda de espinhos mais larga e com fileiras mais concentradas em relação à T2-T3. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A5 com bandas de espinho fortemente pigmentados, anteriores e completas; A6 com banda de espinhos anterior e incompleta, interrompidas dorsalmente; A7 anterior e incompleta, restritas ventralmente e latero-ventralmente; em <u>vista ventral</u>, A1-A7 apresentam uma única fileira de espinhos diminutos e posteriores; todos os segmentos, exceto A1, apresentam lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de

rastejamento e lisa. **Área interbandas.** A1-A6 apresentam cinturão lateral de rastejamento nas margens posteriores, com conjuntos de espinhos concentrados e diminutos.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos anterior e incompleta, restrita ventralmente e látero-ventralmente; apresenta cinturão ventral de rastejamento. **Espiráculos posteriores.** Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; apresenta um par de ramificações bifurcadas e trifurcadas e, eventualmente, é possível observar um par de fendas. **Papilas espiraculares.** Rudimentares. **Papilas dorsais.** Equidistantes, com P1-P3 diminutas e arredondadas. **Papilas ventrais.** Equidistantes, com P4-P6 arredondadas, em que P6 na maioria das vezes não são visíveis em microscopia comum; P7 não são visíveis. **Almofada anal.** Arredondada, proeminente e com fileiras de espinhos fortemente pigmentadas, os quais alguns espinhos são concentrados em um único ponto, acima do ânus. **Papilas anais.** Longas, globosas e proeminentes.

Comentários. Esta espécie pode ser identificada especialmente por estruturas do cefaloesqueleto como o labro, arco do corno ventral, ponte dorsal e pela espinulação. É similar à C. macellaria à primeira vista, mas, C. macellaria apresenta ponte dorsal pigmentada, cornos ventrais separados em vista ventral e apresenta labro com cerca de metade do comprimento do gancho oral e incisão ventral aparente, diferente do descrito em C. hominivorax (ver Laake et al., 1936; Greenberg e Szyska, 1984). A caracterização da ponte dorsal em C. hominivorax como não pigmentada ou se ela é efetivamente ausente ainda está em discussão (ver Szpila et al., 2014a), porém os autores deste estudo acreditam que a estrutura está presente e é transparente, uma vez que a presença dela é notável nas dissecções. O arco unindo os cornos ventrais em C. hominivorax também foram relatadas e ilustradas por Laake et al. (1936). Em relação à espinulação, em C. macellaria, a área interbandas em A6 é lisa e as bandas de espinhos apresentam espinhos menores, mais delgados e fracamente pigmentados em relação aos de C. hominivorax (Tao, 1927; Laake et al., 1936; Liu e Greenberg, 1984; Florez e Wolff, 2009; Mendonça et al., 2014). Ainda sobre a espinulação, o preenchimento ou não da lacuna entre o cinturão lateral de rastejamento e as bandas ventrais nos segmentos abdominais de C. *hominivorax*, parece variar em diferentes estudos. No presente estudo e em Szpila et al. (2014a) estas lacunas são lisas, mas, nas MEV em Leite e Guevara (1993) elas são claramente preenchidas por espinhos diminutos, tornando necessários estudos que explorem melhor esta característica em outras populações.

Cochliomyia macellaria (Fabricius) (Figs. 7 A–F; 14 A–B; 15 A-C; 17 F; 19 F) (6-12 h; N=35)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, porém, com dois pares de cristas orais terminando dorso-lateralmente.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Robustos, fortemente pigmentados, dispostos em cacho e albergando 2-4 fileiras de dentes e 1-2 fileiras de cirros; região basal em forma de barra e arredondada posteriormente, de onde parte um braço lateral delgado. **Labro.** Fracamente pigmentado, com ápice arredondado e incisão ventral côncava; apresenta cerca de metade do comprimento do gancho oral; em <u>vista dorsal</u>, tem forma de "Y" invertido. **Esclerito intermediário.** Estreito e clavado; em <u>vista ventral</u> apresenta margem posterior côncava com barra transversal estreita e abertura curva. **Barra parastomal.** Espessa, retilínea e fortemente pigmentada, com duas vezes o comprimento da ponte dorsal. **Ponte dorsal.** Robusta, afilada apicalmente e fracamente pigmentada. **Placa vertical.** Fortemente pigmentada e com altura e largura similares. **Depressão óptica.** Curva e côncava. **Corno dorsal.** Amplo, se estreitando no ápice e curvo em direção ventral; a abertura entre os cornos dorsal e ventral é aproximadamente o dobro do tamanho da abertura da depressão óptica. **Corno ventral.** Com comprimento similar ao do corno dorsal, apresenta metade dorsal membranosa e fracamente pigmentada; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior.

Segmentos torácicos. Espinhos. Dispersos, de pontas únicas e em forma de gancho; T1 apresenta 4-7 fileiras dorsais e 9-12 fileiras ventrais com banda de espinhos mais larga e fortemente pigmentada em relação à T2-T3; T2 com poucas fileiras de espinho (2-3) e fracamente pigmentadas. Área interbandas. Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A5 com bandas de espinho anteriores e completas, em que A5 apresenta fileiras de espinhos fracamente pigmentadas; A6 com bandas de espinho anteriores e incompletas, interrompidas dorsalmente; A7 com bandas de espinho anteriores e incompletas, restritas ventralmente e latero-ventralmente; em <u>vista ventral</u>, A1-A7 apresentam uma única fileira de espinhos diminutos e posteriores e todos os segmentos, exceto A1, apresentam lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento e lisa. **Área interbandas.** Margens posteriores de A1-A4 com cinturão lateral de rastejamento apresentando conjuntos de espinhos diminutos; os espinhos em A5 podem apresentar ou não cinturão lateral de rastejamento.
Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos anterior e incompleta, restrita ventralmente e látero-ventralmente, com poucas fileiras de espinhos diminutos; apresenta espinhos semelhantes a fios de cabelo na região ventral do campo espiracular e cinturão ventral de rastejamento. Espiráculos posteriores. Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; apresenta 2-4 ramificações bifurcadas ou trifurcadas e um par de fendas internas. **Papilas espiraculares.** Diminutas. **Papilas dorsais.** P1 e P3 arredondadas, com aspecto de sensilas celocônicas e P2 não desenvolvidas. **Papilas ventrais.** P4 e P5 arredondadas e maiores que as demais papilas, P6 não desenvolvidas e P7 arredondadas e muito menores em relação às demais papilas. **Almofada anal.** É arredondada, proeminente e com depressão ventral; apresentam fileiras de espinhos fortemente pigmentados, concentrados e limitando-se em um único ponto acima do ânus. **Papilas anais.** Arredondadas e proeminentes.

Comentários. Esta espécie é muito similar à *C. hominivorax*, mas pode ser identificada através de estruturas do cefaloesqueleto e pela espinulação. Diferente de *C. macellaria*, a espécie *C. hominivorax*, não apresenta ponte dorsal pigmentada, em vista ventral possui arco posterior que une os cornos ventrais e o labro é triangular e afilado anteriormente, com comprimento cerca de um terço menor que o gancho oral (ver Laake et al., 1936; Szpila et al., 2014a). Adicionalmente, a interrupção das cristas orais, embora de difícil visualização, pode ser um caracter útil para distinguir ambas as espécies uma vez que as cristas são interrompidas na metade lateral de *C. hominivorax*, também descrito por Szpila et al., 2014a. Em relação à espinulação, *C. hominivorax* apresenta cinturão lateral de rastejamento em A6 e bandas de espinhos com espinhos dispersos, robustos e evidentes, características que são opostas em *C. macellaria* (ver Laake et al., 1936; Leite e Guevara, 1993; Szpila et al., 2014a). Em *C. macellaria*, ocorre uma discrepância em relação à completude da banda de espinhos em A6, que é descrita como completa em alguns espécimes em Liu e Greenberg (1984), mas nos espécimes avaliados neste estudo ela sempre esteve incompleta, como em Florez e Wolff, (2009).

Lucilia Robineau-Desvoidy

Uma característica que aparenta estar presente em todas as *Lucilia* é a extensão posterior no labro em forma de corcova, localizada no cefaloesqueleto (Fig. 8 E, 9 E). Apesar de grande parte das descrições existentes para larvas de primeiro estádio deste grupo não relate a presença desta estrutura, com exceção de Szpila et al. (2012) e do presente estudo, ela aparece em algumas das ilustrações e em esquemas (Knipling, 1936; Zumpt, 1965; Greenberg e Szyska, 1984; Liu e Greenberg, 1989; Szpila et al., 2008). Embora Szpila et al. (2012) tenha ressaltado esta estrutura como caracter potencialmente exclusivo neste grupo, ela deve ser melhor revisada em espécies de outros grupos como *Hemilucilia*, visto que nas ilustrações do cefaloesqueleto de *H. segmentaria* em Florez e Wolff (2009) é possível visualizar uma estrutura similar, mas, ela não foi relatada em suas descrições.

Lucilia cuprina (Wiedemann) (Figs. 8 A–F; 14 C–D; 15 D-F; 18 A; 20 A) (6-12 h; N=40)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, porém com dois pares de cristas orais terminando dorso-lateralmente.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Delgados e fracamente pigmentados com 2-3 fileiras de dentes e 1-2 fileiras de cirros, que dão à estrutura aspecto curvado; região basal em barra e estreita, de onde parte um braço lateral robusto. **Labro.** Amplo, com metade anterior arredondada e metade posterior ligeiramente afunilada, apresentando uma extensão em corcova que se une à barra parastomal; em <u>vista dorsal</u>, é em forma de "v" invertido. **Esclerito intermediário.** Clavado e curvo; em <u>vista ventral</u>, apresenta margem posterior côncava e com barra transversal robusta de abertura truncada e estreita. **Barra parastomal.** Delgada, voltada dorsalmente, fracamente pigmentada e duas vezes mais longa que a ponte dorsal. **Ponte dorsal.** Direcionada dorsalmente, é estreita e com ápice afilado. **Placa vertical.** Duas vezes mais alta do que larga e fortemente pigmentada. **Depressão óptica.** Curva, mas em alguns espécimes pode apresentar margens retilíneas. **Corno dorsal.** Com ápice alargado e arredondado e com abertura entre os cornos dorsal e ventral dois terços maior que o tamanho da abertura da depressão óptica. **Corno ventral.** Com comprimento pouco maior que o do corno dorsal, é fortemente pigmentada e robusta, estreitando-se apicalmente; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior.

Segmentos torácicos. Espinhos. Fileiras de espinhos horizontais e fracamente pigmentadas; T1 apresenta 4-5 fileiras dorsais e 7-10 fileiras ventrais, com banda de espinhos mais larga e com mais fileiras ventrais do que T2-T3; T2 apresenta fileiras com fraca pigmentação e poucas fileiras visíveis (2-3). **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A3 com bandas de espinho anteriores e completas e com espinhos fracamente pigmentados; A4 com banda de espinhos anteriores interrompidas

dorsalmente e A5-A6 anteriores e incompletas, sendo restritas ventralmente e lateralmente; A7 com bandas de espinhos anteriores restritas ventralmente e látero-ventralmente e com banda de espinhos posteriores e completas; as fileiras de espinhos dos segmentos A5-A7 são pouco evidentes devido à fraca pigmentação e ao número de fileiras reduzidos lateralmente e dorsalmente (2-3); em <u>vista ventral</u>, A3-A7 apresenta uma única fileira de espinhos posteriores e todos os segmentos, exceto A1, apresentam lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento e preenchida com espinhos diminutos. **Área interbandas.** Lisa.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos anterior e incompleta, restrita ventralmente e latero-ventralmente, com fileiras de espinhos fracamente pigmentadas e concentradas ventralmente, apresentando cinturão ventral de rastejamento; apresenta círculo completo de espinhos semelhantes a fios de cabelo, ao redor do campo espiracular. **Espiráculos posteriores.** Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; apresentam 3-4 ramificações bifurcadas ou trifurcadas. **Papilas espiraculares.** Diminutas. **Papilas dorsais.** Com P2 diminutas e arredondadas, e P1 e P3 cônicas, similares a sensilas celocônicas. **Papilas ventrais.** Com P4 e P6 diminutas e arredondadas, P5 cônicas e P7 cônicas e diminutas em relação às demais papilas. **Almofada anal.** É arredondada, com espinhos fracamente pigmentados concentrados em um único ponto central, acima do ânus. **Papilas anais.** Globosas.

Comentários. *L. cuprina* é morfologicamente muito similar a outras espécies neotropicais descritas, mas, pode ser distinta delas principalmente por características do cefaloesqueleto, como o labro e o corno dorsal e pelo padrão de espinhos dos segmentos abdominais. Em *L. sericata* (Meigen) (ver ilustrações de Tao, 1927 e Liu e Greenberg, 1989; Szpila et al., 2012), *L. eximia* (Wiedemann) (ver ilustrações de Greenberg e Szyska, 1984 e Florez e Wolff, 2009), *L. mexicana* Macquart (ilustrações de Knipling, 1936) e *L. ibis* Shannon (ver ilustrações de Greenberg e Szyska, 1984) o ápice do labro é afilado e geralmente apresenta incisão ventral abrupta, muito distinto da porção basal, diferindo do descrito para *L. cuprina*. Adicionalmente, todas as espécies citadas apresentam extremidade apical do corno dorsal afilada diferindo de *L. cuprina* (ver Knipling, 1936; Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009; Szpila et al., 2012). Em relação à espinulação, *L. sericata* apresenta banda posterior de espinhos em A7 interrompida na superfície dorsal (ver Szpila et al., 2012), enquanto em *L. eximia* esta banda é presente dorsalmente e lateralmente, sendo interrompida lateralmente (Greeberg e Szyska, 1984), ambas distintas de *L. cuprina*. As espécies *L. ibis* e *L. mexicana*, apresentam bandas de

espinho anteriores e completas no segmento A4, e *L. mexicana* e *L. eximia* tem espinhos dorsais em A6-A7 (ver Knipling, 1936; Greeberg e Szyska, 1984), espinhos que são respectivamente incompletos e ausentes em *L. cuprina*. Algumas discrepâncias, em particular na espinulação dos espécimes de *L. cuprina*, merecem destaque. Nos espécimes avaliados neste estudo, as bandas de espinho são descritas como completas em T1-A3, correspondendo à algumas descrições (ver Knipling, 1936; Szpila et al., 2012), porém difere do descrito em Greeberg e Szyska (1984) em que as bandas de espinho são completas de T1-A4. A banda posterior de espinhos em A7 também apresenta discrepâncias, sendo descrita como completa em Zumpt (1965), Szpila et al. (2012) e no presente estudo, mas, incompletas em Tao (1927), limitadas dorsalmente em Knipling (1936) ou presentes ao longo da margem posterior em Greenberg e Szyska (1984). A presença de grupos de espinhos posteriores dorsais adicionais relatada para esta espécie por Szpila et al. (2012), não foi visualizada nos espécimes do presente estudo.

Lucilia eximia (Wiedemann) (Figs. 9 A–F; 14 E–F; 15 G-I; 18 B; 20 B)

(6-12 h; N=30)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, porém, com dois pares de cristas orais terminando dorso-lateralmente.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Delgados, fracamente pigmentados e albergando 1-2 fileiras de dentes e 2-3 fileiras de cirros; região basal delgada, de onde parte um braço lateral filiforme. **Labro.** Fracamente pigmentado e ápice com incisão ventral côncava; região posterior afunilada e apresentando uma extensão em corcova que se une à barra parastomal; em <u>vista dorsal</u>, é em forma de "v" invertido. **Esclerito intermediário.** Fortemente pigmentado e clavado com região anterior voltada para baixo; em <u>vista ventral</u>, apresenta braços laterais robustos e margem posterior côncava com barra transversal robusta e abertura truncada e estreita. **Barra parastomal.** Fortemente pigmentada, delgada e cerca de três vezes maior que a ponte dorsal. **Ponte dorsal.** Robusta, com ápice afilado e fortemente pigmentado. **Placa vertical.** Duas vezes mais alta do que comprida e fortemente pigmentada na região mediana. **Depressão óptica.** Curva e côncava. **Corno dorsal.** Curvo, com margem dorsal fracamente pigmentada e ápice afilado; a abertura entre os cornos dorsal e ventral tem tamanho similar à abertura da depressão óptica. **Corno ventral.** Com comprimento similar ao do corno dorsal, é robusto e se estreita em direção apical; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior.

Segmentos torácicos. Espinhos. Fracamente pigmentados e T1 apresentando 4-7 fileiras dorsais e 8-12 fileiras ventrais, com banda de espinhos mais largas e com mais fileiras ventrais de espinhos que em T2-T3; T2-T3 com espinhos concentrados dorsalmente. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A3 com bandas de espinho anteriores e completas; A4 com bandas de espinhos anteriores e incompletas, com poucas fileiras (1-2) e interrompidas látero-dorsalmente; A5 com bandas de espinhos anteriores e posteriores incompletas, com fileiras pigmentadas interrompidas dorsalmente e látero-dorsalmente respectivamente; as fileiras posteriores são de difícil visualização devido à fraca pigmentação dos espinhos; A6 anteriores e completas, raramente são incompletas, sendo restritas ventralmente e látero-ventralmente; A5-A6 podem apresentar fileiras de espinhos dorsais não pigmentadas; A7 com banda de espinhos anteriores e posteriores completas; em <u>vista ventral</u>, A3-A7 apresentam uma única fileira de espinhos posteriores e todos os segmentos, exceto A1, possuem cinturão ventral de rastejamento, com lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento e preenchida com espinhos diminutos. **Área interbandas.** Lisa.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos anteriores e incompletas, restrita ventralmente e látero-ventralmente com fileiras de espinhos fracamente pigmentadas, concentradas e com cinturão ventral de rastejamento; presença de círculo completo de espinhos semelhantes a fios de cabelo, ao redor do campo espiracular. **Espiráculos posteriores.** Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; apresenta 1-2 ramificações bifurcadas ou trifurcadas; **Papilas espiraculares.** Diminutas. **Papilas dorsais.** Com P1 com aspecto de sensilas celocônicas e diminutas e P2-P3 arredondadas. **Papilas ventrais.** P4 curtas e arredondadas, P5 com aspecto de sensilas celocônicas, P6 e P7 arredondadas e não evidentes. **Almofada anal.** É arredondada, com fileiras de espinhos fracamente pigmentados e curvadas para baixo.

Comentários. A espécie *L. eximia* é muito similar a outras espécies de *Lucilia*, mas, pode ser distinta através de características do cefaloesqueleto, como o labro e a espinulação dos segmentos abdominais. Pode ser distinta de *L. cuprina* através do labro, cujo ápice é arredondado e homogêneo em relação à região basal (ver Greenberg e Szyska, 1984; Szpila et al., 2012) e também devido à extremidade apical do corno dorsal alargada, e da banda de espinhos em A7 que é completa em *L. cuprina* (ver Greenberg e Szyska, 1984; Szpila et al.,

2012). Em *L. sericata* a diferença está no esclerito intermediário estreito anterior e posteriormente e pela banda de espinhos posterior de A7 interrompida dorsalmente (Szpila et al., 2012). Entre *L. mexicana* e de *L. ibis* é distinta especialmente pela espinulação em A4, que é completa para ambas, mas incompleta em *L. eximia* (ver Knipling, 1936; Greenberg e Szyska, 1984). Das descrições existentes para o primeiro estádio de *L. eximia* (ver Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009) caracteres como a espinulação dos segmentos abdominais podem variar. Greenberg e Szyska (1984) destacam que às vezes as bandas de espinho em A3 são incompletas, enquanto que em Florez e Wolff (2009) e no presente estudo elas foram sempre completas. Adicionalmente, algumas fileiras fracas de espinhos dorsais os segmentos A4-A7 foram relatadas no presente estudo (fileiras transparentes) e em Greenberg e Szyska (1984), porém não foram mencionadas nas descrições de Florez e Wolff (2009).

Hemilucilia Brauer

Existem poucas descrições para primeiro estádio de espécies pertencentes a este grupo e dentre estas descrições as espécies *H. semidiaphana* (Rondani) e *H. segmentaria* (Fabricius) são contempladas (Greenberg e Szyska, 1984; Thyssen e Linhares, 2007; Florez e Wolff, 2009). Até o momento não há caracteres exclusivos para este grupo, porém, apresentam bandas de espinhos de A3-A7 sempre incompletas (Fig 10 A-B), e embora este caracter seja compartilhado por outras espécies como *C. albiceps* (Fig. 3 A-B), é um caracter em comum para as *Hemilucilia*.

Hemilucilia semidiaphana (Rondani) (Figs. 10 A–F; 14 G–H; 15 J-L; 18 C; 20 C) (6-12 h; N=30)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, porém, com dois pares de cristas orais terminando dorso-lateralmente.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Fortemente pigmentados, curvados e com 1-2 fileiras de dentes e 3-4 fileiras de cirros, robustos e em forma de gancho; região basal em barra, de onde parte um braço lateral robusto, longo e afilado. **Labro.** Fracamente pigmentado, estreito e ápice com incisão ventral acentuada e dentada; margem posterior com uma extensão retilínea; em <u>vista dorsal</u>, é em forma de "Y" invertido. **Esclerito intermediário.** Fortemente pigmentado, clavado e curvo para baixo; em <u>vista ventral</u>, apresenta margem posterior côncava e com barra transversal robusta e abertura truncada e estreita. **Barra parastomal.** Retilínea,

fortemente pigmentada, com duas vezes o tamanho da ponte dorsal e região mediana espessa. **Ponte dorsal.** Fracamente pigmentada, estreita e afilada apicalmente. **Placa vertical.** Com altura duas vezes maior que a largura e fracamente pigmentada. **Depressão óptica.** Curva e côncava. **Corno dorsal.** Fracamente pigmentado e se estreitando em direção apical, o tamanho da abertura entre os cornos dorsal e ventral é similar ao tamanho da abertura da depressão óptica. Com otral. Com comprimento pouco maior que o corno dorsal, é fracamente pigmentada e pode apresentar ou não margem dorsal com aspecto membranoso; em <u>vista ventral</u>, o par é separado na extremidade posterior.

Segmentos torácicos. Espinhos. Fileiras de espinhos horizontais e fortemente pigmentadas; T1 com 4-7 fileiras dorsais e 8-12 fileiras ventrais apresentando banda de espinhos mais larga e fortemente pigmentada em relação à T2-T3. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1 com bandas de espinho anteriores e completas; A2 com bandas anteriores e incompletas, interrompidas dorsalmente, com espinhos fracamente pigmentados dorsalmente; A3-A7 com bandas de espinho anteriores restritas ventralmente e latero-ventralmente; A7 apresenta banda de espinhos posteriores completas, com 2-3 fileiras circundantes com fraca pigmentação lateral; em <u>vista ventral</u>, A2-A7 apresentam uma única fileira de espinhos possivelmente posteriores e apresentam cinturão ventral de rastejamento, com lacuna larga em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento e preenchida com espinhos diminutos. **Área interbandas.** Lisa.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinhos anterior e incompleta, restrita ventralmente e látero-ventralmente, com fileiras de espinhos fortemente pigmentadas e concentradas, apresentando cinturão ventral de rastejamento; círculo de espinhos semelhantes a fios de cabelo ao redor do campo espiracular. **Espiráculos posteriores.** Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; com 3 ramificações bifurcadas ou trifurcadas e um par de fendas cada. **Papilas espiraculares.** Diminutas. **Papilas dorsais.** Com P1 e P3 diminutas e arredondadas, P2 com aspecto de sensilas celocônicas. **Papilas ventrais.** Com P4-P6 curtas e arredondadas, P7 diminutas e arredondadas. **Almofada anal.** É arredondada e apresenta fileiras de espinhos ventrais fracamente pigmentadas distribuídos em "v", além de espinhos concentrados centralmente, restritos acima do ânus. **Papilas anais.** Proeminentes e com ápice arredondado.

Comentários. Esta espécie pode ser diferenciada de espécies de outros gêneros por características do cefaloesqueleto e pelo padrão das bandas de espinhos. Ambas as espécies são

distintas através da mandíbula do gancho oral pouco evidente em *H. segmentaria* e labro estreito com margem anterior sem incisão ventral abrupta, diferindo do descrito para *H. semidiaphana* (Greenberg e Szyska, 1984). Em relação ao padrão de espinulação, as descrições variam em alguns segmentos para *H. segmentaria*, sendo interrompida dorsalmente em A2 (Thyssen e Linhares, 2007), completa em A2 (Greenberg e Szyska, 1984) ou pode ser completa ou incompleta (Florez e Wolff, 2009), caracter que não a torna distinguível de *H. semidiaphana* em que este segmento é sempre incompleto (ver Greenberg e Szyska, 1984; Florez e Wolff, 2009). Adicionalmente, as descrições existentes não mencionam a banda de espinhos posterior em A7, porém, os espécimes de *H. semidiaphana* avaliados no presente estudo, apresentam esta banda completa. É possível presumir que a banda de espinhos posterior em A7 para *H. semidiaphana* tenha sido associada à divisão anal (segmento 12), mas ainda assim, as descrições as definem como restritas latero dorsalmente (Greenberg e Szyska, 1984) ou incompletas (Florez e Wolff, 2009), diferindo do relatado no presente estudo.

Sarconesia Bigot

Existem descrições de larvas de primeiro estádio para poucas espécies de *Sarconesia* (Greenberg e Szyska, 1984; Bonatto e Carvalho, 1996) e até o momento não existem caracteres exclusivos para determinar este grupo. Apesar disso, caracteres como a extremidade apical do corno ventral estreita lembrando um fio (ilustrações de Greenberg e Szyska, 1984; Bonatto e Carvalho, 1996) são potenciais e necessitam melhor avaliação.

Sarconesia chlorogaster (Wiedemann) (Figs. 11 A–F; 14 I–J; 15 M-O; 18 D; 20 D) (6-12 h; N=10)

Pseudocéfalo. Como descrito nos aspectos gerais, porém, com dois pares de cristas orais terminando em na metade lateral.

Cefaloesqueleto (vista lateral). Ganchos orais. Fortemente pigmentados, delgados e com ápice curvo, albergando 3-4 fileiras de dentes e 1-2 fileiras de cirros; região basal estreita e em barra, de onde parte um braço lateral delgado e com ápice arredondado. **Labro.** Estreito, apresenta comprimento similar ao do gancho oral e ápice apresentando incisão ventral; em <u>vista dorsal</u>, é em forma de "v" invertido. **Esclerito intermediário.** Fortemente pigmentado, estreito e clavado; em <u>vista ventral</u>, com margem posterior côncava e barra transversal robusta com abertura semicircular. **Barra parastomal.** Fortemente pigmentada, retilínea e

aproximadamente três vezes maior que a ponte dorsal. **Ponte dorsal.** Estreita, com ápice afilado e fortemente pigmentado. **Placa vertical.** Estreita, fortemente pigmentada e duas vezes mais alta do que longa. **Depressão óptica.** Com margens retilíneas ou curvilíneas. **Corno dorsal.** Fortemente pigmentado, estreito, longo e com ápice afilado; a abertura entre os cornos dorsal e ventral é similar ao tamanho da abertura da depressão óptica. **Corno ventral.** Com comprimento similar ou pouco maior que a do corno dorsal, é fortemente pigmentada e curvada para cima; a extremidade apical é estreita e similar a um fio; em <u>vista ventral</u>, o par é unido na extremidade posterior por uma estrutura em arco e com fraca pigmentação.

Segmentos torácicos. Espinhos. Fileiras de espinhos horizontais e fortemente pigmentados; T1 com 5-7 fileiras dorsais e 8-12 fileiras ventrais apresentando espinhos diminutos, agrupados e banda de espinhos mais larga em relação à T2-T3. **Área interbandas.** Lisa.

Segmentos abdominais. Espinhos. A1-A4 com bandas de espinho anteriores e completas, em alguns espécimes A4 é interrompida dorsalmente; A5 com bandas de espinho anteriores e incompletas, interrompidas dorsalmente; A6 anteriores e incompletas, interrompidas dorso-lateralmente; em A4-A6 as fileiras dorsais são fracamente pigmentadas; A7 com bandas de espinho anteriores e completas e bandas de espinhos posteriores e completas;

em <u>vista ventral</u>, há uma única fileira de espinhos posteriores em todos os segmentos e com exceção de A1, os segmentos apresentam cinturão ventral de rastejamento, com uma lacuna curta em relação ao tamanho do cinturão ventral de rastejamento, sendo preenchido com minúsculos espinhos. **Área interbandas.** Lisa.

Divisão anal (vista posterior). Espinhos. Banda de espinho anterior e incompleta, restrita ventralmente e látero-ventralmente com fileiras de espinhos dispersas e fracamente pigmentadas e cinturão ventral de rastejamento com espinhos mais concentrados; presença de círculo completo espinhos semelhantes a fios de cabelo, ao redor do campo espiracular. **Espiráculos posteriores.** Peritrema em forma de "m", incompleto e fracamente pigmentado; cada espiráculo apresenta 3 ramificações bifurcadas ou trifurcadas. **Papilas espiraculares.** Diminutas. **Papilas dorsais.** Com P1 e P3 com aspecto de sensilas celocônicas e P2 arredondadas. **Papilas ventrais.** P4 e P6 arredondadas e P5 cônicas e longas em relação às demais papilas; P7 arredondadas e diminutas. **Almofada anal.** Arredondada, com fileiras de espinhos fracamente pigmentados e concentrados centralmente, acima do ânus. **Papila anal.** Arredondadas e proeminentes.

Comentários. Caracteres que diferem esta espécie de outras *Sarconesia* concentram-se especialmente em estruturas do cefaloesqueleto. Dentre as descrições existentes apenas *S. chlorogaster* e *S. versicolor* Bigot, 1857 podem ser comparadas. *S. versicolor* apresenta a altura desde a ponte dorsal até a barra parastomal um terço maior que a da *S. chlorogaster* (ver Greenberg e Szyska, 1984), além disso, a ponte dorsal é estreita e afilada e o labro apresenta região anterior distinta da posterior, com uma incisão ventral abrupta, (Greenberg e Szyska, 1984) estruturas que diferem das descritas aqui e em outros estudos (ver Bonatto e Carvalho, 1996) para *S. chlorogaster*. Em relação à banda de espinhos de *S. chlorogaster*, ela é similar à outras descrições (ver Greenberg e Szyska, 1984; Bonatto e Carvalho, 1996), mas difere no segmento A7, em que os espécimes avaliados são completos, mas é descrita em outros estudos como incompleta, com fileiras restritas no dorso e na região ventral (ver Greenberg e Szyska, 1984; Bonatto e Carvalho, 1996).

5.5. Chave de identificação para larvas de primeiro estádio de espécies de Calliphoridae de importância forense da região Neotropical

4. A2 incompleta	interrompida dorsalmente e A3	3 com banda de e	espinhos incomp	oleta,
interrompida	látero-dorsalmente	(Fig.	10	A-B)
		Hemilucilia	semidiaphana ((Rondani)
4'. A2 e A3 com ba	andas de espinhos completas (F	Fig. 4 A-B)	-	5

5. Porção posterior do labro com expansão em corcunda (Fig. 8 E); placa vertical com altura maior que a largura (comprimento curto) (Fig. 8 E)**6**

8. Labro com metade anterior afilada e parte basal ampla e arredondada (Fig. 4E); área interbandas sem cinturão lateral de rastejamento 4A) (Fig. 8'. Labro com metade anterior arredondada e com parte basal com inclinação retilínea (Fig. lateral rastejamento 5E); interbandas com cinturão de (Fig. 5A) área

9. Área interbandas A6 com cinturão lateral de rastejamento nas margens posteriores (Fig 6 A– B); ponte dorsal não pigmentada (Fig. 6E); gancho oral robusto (Fig. 6E); labro longo e afilado apicalmente, com margem dorsal inclinada (Fig. 6E); em vista ventral, presença de arco unindo de cornos ventrais na extremidade apical 0 par (Fig. 6F) 9'. Área interbandas A6 lisa nas margens posteriores (Fig 7A); ponte dorsal pigmentada (Fig. 7E); gancho oral estreito (Fig. 7E); labro estreito e pontiagudo apicalmente, curto e com incisão ventral côncava (Fig. 7E); em vista ventral, o par de cornos ventrais é separado (Fig. 7F)

5.6. Discussão

Em geral, as chaves taxonômicas existentes para larvas de primeiro estádio utilizam caracteres relacionados à espinulação e principalmente caracteres do cefaloesqueleto (Szpila et al., 2013). Para a observação de tais caracteres são necessárias técnicas de clareamento (em particular para estruturas internas) e é imprescindível o uso de estereomicroscópio com aumento de no mínimo 40 vezes ou microscópio comum com aumento entre 40–1000 vezes. A pigmentação do cefaloesqueleto (Szpila e Villet, 2011; Szpila et al., 2012) deve ser considerada

em conjunto de outros caracteres ao identificar uma espécie, visto que a técnica de clareamento, pode modificar a taxa de pigmentação das estruturas se não for feita com cautela (Sukontason et al., 2004).

Caracteres larvais exclusivos que definam os gêneros de Calliphoridae são raros, embora Tao (1927) tenha produzido uma chave dicotômica para separar alguns destes grupos em Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae. Características da divisão anal são em geral homogêneas e difíceis de definir em microscopia comum (Szpila e Villet, 2011), por esta razão elas não são inclusas em chaves taxonômicas. Mesmo que não influenciem na chave taxonômica, a exploração de caracteres utilizando microscopia eletrônica de varredura é recomendada para estudos futuros, para que haja um maior detalhamento da descrição de estruturas larvais que não são facilmente observáveis em microscopia comum, como o conjunto de sensilas no pseudocéfalo e na divisão anal, estruturas dos espiráculos posteriores e a presença e forma de papilas e sensilas.

5.7. Conclusões

Os principais caracteres para identificação de espécies de Calliphoridae Neotropicais de importância forense são encontrados na completude ou incompletude das bandas de espinhos dos segmentos abdominais e principalmente na presença e forma de estruturas que compõem o cefaloesqueleto como o gancho oral, braço lateral, labro, tamanho da placa vertical, abertura e forma do esclerito intermediário em vista ventral, forma dos cornos dorsal e ventral e arco ventral unindo ou não os cornos ventrais e pigmentação da ponte dorsal. Esperamos que este estudo possa contribuir com a identificação de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae e no conhecimento de suas características morfológicas.

Agradecimentos. À Elyara O. Safra pelo auxílio nas ilustrações de caracteres de parte dos imaturos analisados neste estudo. AMP recebeu auxílio do Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) (#133090/2019-1). PJT recebeu bolsa produtividade do CNPq (#308832/2020–5). Acesso de registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) #ACD18F8. Todas as coletas foram autorizadas pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA) por meio do Sistema de Autorização e Informações sobre Biodiversidade (SISBIO), processo nº 65388-3.

5.8. Referências

- Adams, Z.J.; Hall, M.J.; Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. Forensic Sci. Int., 138, (1-3), 50-61, 2003.
 - Bonatto, S. R.; Carvalho, C.J.B.; Análise morfológica das formas imaturas de *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae, Toxotarsinae). Rev. bras. zool., 13, (3), 707-726, 1996.
 - Borror, D.J.; Triplehorn, C.A.; Johnson, N.F.; Diptera. In: An introduction to the study of insects. 7^a Edição. Saunders college publishing. p.365, 2010.
 - Carvalho, C.J.B.; Ribeiro, P.B.; Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do Sul do Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 9, (2), 169-173, 2000.
 - Catts, E.P.; Goff, M.L.; Forensic entomology in criminal investigations. Annu. Rev. Entomol., 37, (1), 253-272, 1992.
 - Courtney, G.W.; Sinclair, B.J.; Meier, R.; Morphology and terminology of Diptera larvae. In: Papp, L., Darvas, B. (Eds). Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera (with Special Reference to Flies of Economic Importance). Science Herald Press, Boston. p. 85–161, 2000.
 - Erzinclioglu, Y.Z.; Studies on the morphology and taxonomy of the immature stages of Calliphoridae, with analysis of phylogenetic relationships within the family, and between it and other groups in the Cyclorrhapha (Diptera) (Tese de doutorado, Durham University), p. 443, 1984.
 - Erzinçlioğlu, Y.Z.; Immature stages of British *Calliphora* and *Cynomya*, with a re-evaluation of the taxonomic characters of larval Calliphoridae (Diptera). J. Nat. Hist., 19, (1), 69-96, 1985.
 - Da Silva, S.M.; Vairo, K.P.; Moura, M.O.; Description of larval instars to fill a gap in forensic entomology: the larvae of *Paralucilia pseudolyrcea* (Diptera: Calliphoridae). J. Med. Entomol., 55, (3), 575-586, 2018.
 - Florez, E.; Wolff, M.; Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. Neotrop. Entomol., 38, (3), 418-429, 2009.
 - Greenberg, B.; Szyska, M.L.; Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). Ann. Entomol. Soc. Am., 77, (5), 488-517, 1984.
 - Grella, M.D.; Thyssen, P.J.; 2011. Chave taxonômica interativa para espécies de dípteros califorídeos (Infraordem: Muscomorpha) do Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, Brasil. Disponível em: Último acesso em 18 de maio de 2021.">http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/calliphoridae_brazil>Último acesso em 18 de maio de 2021.
 - Knipling, E.F.; Some Specific Taxonomic Characters of common *Lucilia* Larvae-Calliphorinae-Diptera. Iowa State Coll J Sci., 10, (3), 275-294, 1936.
 - Laake, E.W.; Cushing, E.C.; Parish, H.E.; Biology of the primary screw worm fly, *Cochliomyia americana*, and a comparison of its stages with those of *C. macellaria* (No. 476-500). Technical bulletin, US Department of Agriculture, (476-500). 1-24, 1936.

- Leite, A.C.R.; Guevara, J.D.E.; Scanning electron microscopy of the larval instars of *Cochliomyia hominivorax*. Med. Vet. Entomol., 7, (3), 263-270, 1993.
- Liu, D.; Greenberg, B.; Immature stages of some flies of forensic importance. Ann. Entomol. Soc. Am., 82, (1), 80-93, 1989.
- Mendonça, P.M.; Santos-Mallet, J.R.; Queiroz, M.M.C.; Ultramorphological characteristics of immature stages of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann 1819) (Diptera: Calliphoridae), a fly specie of forensic importance. Microsc Res Tech, 73, (8), 779-784, 2010.
- Mendonça, P.M.; Santos-Mallet, J.R.; Queiroz, M.M.C.; Ultrastructure of immature stages of the blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae). Microsc Res Tech, 75, (2), 206-211, 2012.
- Mendonça, P.M.; Barbosa, R.R.; Cortinhas, L.B.; Santos-Mallet, J.R.; Queiroz, M.M.C.; Ultrastructure of immature stages of *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae), a fly of medical and veterinary importance. Parasitol. Res., 113, (10), 3675-3683, 2014.
- Moretti, T.C.; Thyssen, P.J.; Solis, D.R.; Breeding of the Scuttle Fly *Megaselia scalaris* in fish Carcass and Implications for the use in Forensic Entomology (Diptera: Phoridae). Entomol. Gen. /J. Gen. Appl. Entomol., 31, (4), 349-353, 2009.
- O'flynn, M.A.; Moorhouse, D.E.; Identification of early immature stages of some common Queensland carrion flies. Aust. J. Entomol., 19, (1), 53-61, 1980.
- Queiroz, M.M.C.; Mello, R.P.; Lima, M.M.; Morphological aspects of the larval instars of *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) reared in the laboratory. Mem I Oswaldo Cruz., 92, (2), 187-196, 1997.
- Reed Jr, H. B.; A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. Am. Midl. Nat., 59, (1), 213-245, 1958.
- Shewell, G.E.; Calliphoridae. In: McAlpine, J.F.; Peterson, B.V.; Shewell, G.E.; Teskey, H.J.; Vockeroth, J.R.; Wood, D.M.; (eds). Manual of Neartic Diptera. Ottawa: Research Branch Agriculture Canada, vol. 2, pp. 1133-1146, 1986.
- Shuey, J.A.; An optimized portable bait trap for quantitative sampling of butterflies. Trop. Lepid. Res., 8, (1), 1-4, 1997.
- Sukontason, K.L.; Sukontason, K.; Piangjai, S.; Boonchu, N.; Chaiwong, T.; Vogtsberger, R. C.; Kuntalue, B.; Thijuk, N.; Olson, J.K.; Larval morphology of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy. J. Vector Ecol: J. Soc. Vect. Ecol., 28, (1), 47-52, 2003.
- Sukontason, K.; Methanitikorn, R.; Sukontason, K.L.; Piangjai, S.; Olson, J.K.; Clearing technique to examine the cephalopharyngeal skeletons of blow fly larvae. J. Vector Ecol: J. Soc. Vect. Ecol., 29, (1), 192-195, 2004.
- Szpila, K.; Pape, T.; Rusinek, A.; Morphology of the first instar of *Calliphora vicina*, *Phormia regina* and *Lucilia illustris* (Diptera, Calliphoridae). Med. Vet. Entomol., 22, (1), 16-25, 2008.
- Szpila, K.; Villet, M.H.; Morphology and identification of first instars of African blow flies (Diptera: Calliphoridae) commonly of forensic importance. J. Med. Entomol., 48, (4), 738-752, 2011.

- Szpila, K.; Hall, M.J. R.; Pape, T.; Grzywacz, A.; Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part II. Luciliinae. Med. Vet. Entomol., 27, (4), 349-366, 2012.
- Szpila, K.; Hall, M.J.R.; Sukontason, K.L.; Tantawi, T.I.; Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part I: Chrysomyinae. Med. Vet. Entomol., 27, (2), 181-193, 2013.
- Szpila, K.; Hall, M.J.R.; Wardhana, A.H.; Pape, T.; Morphology of the first instar larva of obligatory traumatic myiasis agents (Diptera: Calliphoridae, Sarcophagidae). Parasitol. Res., 113, (5), 1629-1640, 2014a.
- Szpila, K.; Pape, T.; Hall, M.J.R.; Mądra, A.; Morphology and identification of first instars of European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part III: Calliphorinae. Med. Vet. Entomol., 28, (2), 133-142, 2014b.
- Szpila, K.; Wallman, J.F.; Morphology and identification of first instar larvae of Australian blowflies of the genus *Chrysomya* of forensic importance. Acta Trop., (162), 146-154, 2016.
- Tao, S.M.; A comparative study of the early larval stages of some common flies. Am. J. Trop. Med. Hyg., 7, (6), 735-761, 1927.
- Thyssen, P.J.; Linhares, A.X.; First description of the immature stages of *Hemilucilia segmentaria* (Diptera: Calliphoridae). Biol. Res., 40, (3), 271-280, 2007.
- Thyssen, P.J.; Key to Third Instar Larvae of the Most Carrion Breeding and Feeding Dipteran Species from Brazil. In: Amendt, J.; Goff, M.L.; Campobasso, C.P.; Grassberger, M.; (Eds.), Current concepts in forensic entomology. London: Springer Netherlands, p. 212-215, 2010.
- Thyssen, P.J.; Entomologia Forense. In: Marcondes CB (org.) Entomologia Médica e Veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu. pp. 129-137, 2011.
- Zumpt, F.; Myiasis in man and animals in the Old World. A textbook for physicians, veterinarians and zoologists. Lodon, Butterworths. p.267, 1965.



Figura 1. Caracteres anatômicos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] segmentos corporais e espinulação; [B] pseudocéfalo, vista ventral; [C]–[E] segmentos corporais e espinulação, vista ventral e dorsal, respectivamente; [D] detalhes da divisão anal; [F] almofada anal, vista ventral; [G]–[H] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: Pc= pseudocéfalo; T1– T3= segmentos torácicos; A1–A7= segmentos abdominais; DA= divisão anal; AI= área interbandas; CVR= cinturão ventral de rastejamento; BA= banda de espinhos anterior; BP= banda de espinhos posterior; an= complexo antenal; pm= palpo maxilar; mf= máscara facial; co= cavidade oral; EP= espiráculo posterior; P1–P3= papilas dorsais; P4–P7= papilas ventrais; AA= almofada anal; PA= papila anal; pa= poro anal; GO= gancho oral; BL= braço lateral; Lb= labro; BP= barra parastomal; DO= depressão óptica; PD= ponte dorsal; PV= placa vertical; EI= esclerito intermediário; CD= corno dorsal; CV= corno ventral.



Figura 2. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Calliphora* sp. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **Pc=** pseudocéfalo; **T1–T3=** segmentos torácicos; **A1–A7=** segmentos abdominais; **DA=** divisão anal; **CVR=** cinturão ventral de rastejamento; **EP=** espiráculo posterior; **P1–P3=** papilas dorsais; **P4–P7=** papilas ventrais; **AA=** almofada anal; **GO=** gancho oral; **BL=** braço lateral; **Cr=** cirros/dentículos; **Lb=** labro; **BP=** barra parastomal; **DO=** depressão óptica; **PD=** ponte dorsal; **PV=** placa vertical; **EI=** esclerito intermediário; **CD=** corno dorsal; **CV=** corno ventral.



Figura 3. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Chrysomya albiceps*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **P1–P3=** papilas dorsais; **P4–P6=** papilas ventrais; **A3–A5=** segmentos abdominais; **ppd=** processo postero-dorsal.



Figura 4. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Chrysomya megacephala*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]-[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais; **EH=** estrutura hemisférica.



Figura 5. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Chrysomya putoria*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista lateral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais; **CLR=** cinturão lateral de rastejamento; **EH=** estrutura hemisférica.



Figura 6. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Cochliomyia hominivorax*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais; **CLR=** cinturão lateral de rastejamento; **Arc=** arco ventral.



Figura 7. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Cochliomyia macellaria*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivemente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais; **CLR=** cinturão lateral de rastejamento.



Figura 8. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Lucilia cuprina*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]-[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais.



Figura 9. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Lucilia eximia*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais.



Figura 10. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Hemilucilia semidiaphana*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]– [F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais.



Figura 11. Ilustração dos caracteres anatômicos da larva de primeiro estádio de *Sarconesia chlorogaster*. Em: [A] vista lateral; [B] vista dorsal; [C] divisão anal; [D] A3–A5, vista ventral; [E]–[F] cefaloesqueleto, vista lateral e ventral, respectivamente. Abreviaturas: **A3–A5=** segmentos abdominais; **Arc=** arco ventral.



Figura 12. Vistas lateral e ventral dos cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A]–[B] *Calliphora* sp; [C]–[D] *Chrysomya albiceps;* [E]–[F] *Chrysomya megacephala*; [G]–[H] *Chrysomya putoria*; [I]–[J] *Cochliomyia hominivorax*



Figura 13. Cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] *Calliphora* sp., vista lateral; [B]–[C] *Calliphora* sp., porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente; [D] *Chrysomya albiceps*, vista lateral; [E]–[F] *Chrysomya albiceps*, porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente; [G] *Chrysomya megacephala*, vista lateral; [H]–[I] *Chrysomya megacephala*, porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente; [J] *Chrysomya putoria*, vista lateral; [K]–[L] *Chrysomya putoria*, porção anterior, vistas lateral; [M]–[O] *Cochliomyia hominivorax*, porção anterior, vistas lateral; [N]–[O] *Cochliomyia hominivorax*, porção anterior, vistas lateral e ventral, respectivamente.



Figura 14. Vistas lateral e ventral de cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A]–[B] *Cochliomyia macellaria*; [C]–[D] *Lucilia cuprina*; [E]–[F] *Lucilia eximia*; [G]–[H] *Hemilucilia semidiaphana*; [I]–[J] *Sarconesia chlorogaster*.



Figura 15. Cefaloesqueletos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae. Em: [A] *Cochliomyia macellaria*, vista lateral; [B]–[C] *Cochliomyia macellaria*, porção anterior, vistas lateral e ventral; [D] *Lucilia cuprina*, vista lateral; [E]–[F] *Lucilia cuprina*, porção anterior, vistas lateral e ventral; [G] *Lucilia eximia*, vista lateral; [H]–[I] *Lucilia eximia*, porção anterior, vistas lateral e ventral; [J] *Hemilucilia semidiaphana*, vista lateral; [K]–[L] *Hemilucilia semidiaphana*, porção anterior, vistas lateral e ventral; [J] *Hemilucilia semidiaphana*, vista lateral; [K]–[L] *Hemilucilia semidiaphana*, porção anterior, vistas lateral e ventral; [J] *Hemilucilia semidiaphana*, vista lateral; [K]–[L] *Hemilucilia semidiaphana*, porção anterior, vistas lateral e ventral; [M] *Sarconesia chlorogaster*, vista lateral; [N]–[O] *Sarconesia chlorogaster*, porção anterior, vistas lateral e ventral.



Figura 16. Região anterior e posterior de uma larva de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Em: [A] pseudocefalo, em detalhe o complexo antenal, palpo maxilar, cristas orais, cirros e lábios; [B] divisão anal. Abreviaturas: **ci=** cirros/dentículos; **an=** complexo antenal; **pm=** palpo maxilar; **co,** cristas orais; **ls=** lábio superior; **li=** lábios inferiores; **EP=** espiráculo posterior.



Figura 17. Pseudocefalos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] *Calliphora* sp; [B] *Chrysomya albiceps*; [C] *Chrysomya megacephala*; [D] *Chrysomya putoria*; [E] *Cochliomyia hominivorax*; [F] *Cochliomyia macellaria*. Abreviaturas: **ci**= cirros/dentículos.



Figura 18. Pseudocefalos de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] *Lucilia cuprina*; [B] *Lucilia eximia*; [C] *Hemilucilia semidiaphana*; [D] *Sarconesia chlorogaster*.



Figura 19. Espiráculos respiratórios posteriores de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] *Calliphora* sp; [B] *Chrysomya albiceps*; [C] *Chrysomya megacephala*; [D] *Chrysomya putoria*; [E] *Cochliomyia hominivorax*; [F] *Cochliomyia macellaria*. Abreviaturas: **r**= ramificações; **fe**= fendas espiraculares.



Figura 20. Espiráculos respiratórios posteriores de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae por Microscopia Eletrônica de Varredura. Em: [A] *Lucilia cuprina*; [B] *Lucilia eximia*; [C] *Hemilucilia semidiaphana*; [D] *Sarconesia chlorogaster*.

6. CAPÍTULO III

Chave interativa para larvas de terceiro ínstar de moscas varejeiras neotropicais (Insecta, Diptera, Calliphoridae): a contribuição de ferramentas computacionais para auxiliar na identificação de espécies¹

¹Reproduzida com a permissão da Springer Nature (Para maiores esclarecimentos, favor consultar seção de Anexo).
Interactive Key for Third Instar Larvae of Neotropical Blow Flies (Insecta, Diptera, Calliphoridae): the Contribution of Computational Tools to Assist in Species Identification*²

Aline M. Prado¹, André G. Savino, Patrícia J. Thyssen¹

¹ Laboratory of Integrative Entomology, Department of Animal Biology, IB, University of Campinas (UNICAMP), 13083-862, Campinas, São Paulo State, Brazil

² Forensic Police of São Paulo State, Technical-Scientific Police Superintendence, CP 13208-100, Jundiaí, São Paulo State, Brazil.

6.1. Abstract

Calliphoridae (Insecta, Diptera), popularly known as blow flies or carrion flies, as most are necrophagous comprises one of the most relevant families of insects on forensics. Currently, more than 1.500 blow fly species are known, the majority of which can be found in the Old world. In the Neotropics, it is estimated that there are approximately 20 species of forensic importance. In view of the taxonomic impediment associated with the identification of immatures, in this study we present an interactive identification key for third instar larvae of necrophagous Calliphoridae species. This key includes 12 Neotropical blow fly species of forensic importance, more than 70 pictures, schemes, definitions glossary and is free to access.

Keywords: immature; necrophagous species; taxonomic impediment; diagnostic; forensic entomology.

² Reproduced with permission from Springer Nature (see "Anexo" section).

6.2. Introduction

The use of biological, ecological and distribution information provided by insects has become increasingly frequent and relevant in forensics (Thyssen 2011). With regard to criminal investigations, forensic entomology can be useful to estimate the postmortem interval (PMI), investigate the cause of death (especially in those cases where the victim consumed toxic substances), and provide evidence of negligence or mistreatment, among others (e.g. Pujol-Luz et al. 2006; Kosmann et al. 2011; Thyssen et al. 2012; Souza et al. 2013; Sanford et al. 2014; Thyssen et al. 2018).

Insects of the family Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea), also called blow flies, have quite diverse eating and behavioral habits, including necrophagy (Ferrar 1987). Consequently, many blow fly species are commonly reported in decomposing corpses using this resource as a food source or for the development of their immature stages and can be found in all stages of decomposition (Greenberg and Kunich 2002; Carvalho et al. 2004; Thyssen et al. 2018). In addition, adult blow flies are the first insects to discover and colonize vertebrate remains (Carvalho et al. 2004). The estimate of the time elapsed since a blow fly larva, collected on a cadaver, hatched from its egg can be done in two ways: by phenological information such as weight or length (Staerkeby 2001) or by calculating the number of degree-hours (or degree-days) that would be required to complete development and subtracting this from the known total number of days required for complete larval development (Greenberg and Kunich 2002). However, species identification is essential for any of the chosen ways to know larval age (Thyssen 2010).

Currently, more than 1.500 species of Calliphoridae are known (Courtney et al. 2017), most of which are restricted to the Old World (Shewell 1987). The Neotropical region has approximately 70 registered species, of which approximately 20 can be found in Brazil (Kosmann et al. 2013), excluding those that were recently allocated to Mesembrinellidae (Marinho et al. 2017). For the Neotropics, there is a considerable supply of taxonomic keys available for the identification of adult calliphorids (Dear 1985; Carvalho and Ribeiro 2000; Mello 2003; Carvalho and Mello-Patiu 2008; Kosmann et al. 2013; Whitworth 2010, 2012, 2014; González et al. 2017), but those intended for immature diagnosis are scarce (Greenberg and Szyska 1984; Florez and Wolff 2009; Thyssen 2010). This can represent an obstacle for forensic work, since most of the criminal traces of entomological origin received for analysis are larvae (e.g. Thyssen et al. 2018). Another fact that contributes to increasing the taxonomic impediment within Calliphoridae, with negative consequences for forensics, is that the immature forms for some species are not even known or described (e.g. Thyssen and Linhares 2007).

Multi-access or interactive keys have emerged to make the taxonomy more accessible to the less experienced public so that they can successfully identify species (Edwards and Morse 1995; Dallwitz et al. 2000). In addition to allowing users to identify a specimen from any characteristic they deem most convenient, without the need to follow a fixed sequence of predetermined steps, it has an interface with an easy-to-navigate language on electronic devices (Dallwitz et al. 2000). The possibility for the user to access a glossary definitions and a vast bank of images that illustrate from structures to the species to be identified also make interactive keys more attractive than traditional ones (e.g. Grella and Thyssen 2011).

The aim of this study, therefore, is to present the first interactive identification key to third instar blow fly larvae of species belonging to the genera *Calliphora*, *Chrysomya*, *Cochliomyia*, *Lucilia*, *Hemilucilia*, *Paralucilia*, and *Sarconesia* reported to be of forensic importance for the Neotropical region. In addition, perspectives are presented to update and/or expand the number of taxa contained in this key as the gaps in knowledge of immature insects are resolved.

6.3. Material and Methods

Taxonomic coverage

This key included 12 Calliphoridae species, which were in the last larval instar and reported as necrophagous or myiasis-causing flies, considering that these biological aspects make them relevant to the forensic field. Three criteria were adopted to classify Calliphoridae species as being of forensic importance to the Neotropical region: (i) that their immature forms (eggs, larvae or pupae) had been reported developing in human or animal decaying corpses, (ii) that their immature forms had been used to evidence neglect or mistreatment and (iii) that the species have a Neotropical distribution. From this and based on studies by Carvalho et al. (2000, 2004), Pujol-Luz et al. (2006), Kosmann et al. (2011), Sanford et al. (2014), Vairo et al. (2015), Ramos-Pastrana and Wolff (2017), Thyssen et al. (2012, 2018) and Vasconcelos et al. (2019) the list of taxa included in this key was produced.

Other blow fly species previously reported in this region as of forensic importance (e.g. Centeno et al. 2002; Martinez et al. 2007; Battán-Horenstein et al. 2010; Segura et al. 2011; Sánchez-Restrepo and Fagua 2014; Corrêa et al. 2019) such as *Calliphora nigribasis* Macquart, *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, *Chrysomya rufifacies* (Macquart), *Lucilia cluvia*

(Walker), *Lucilia sericata* (Meigen), *Paralucilia pseudolyrcea* (Mello) and *Sarconesiopsis magellanica* (Le Guillou) were not included in this version of the key because immature forms are currently unknown, those available in scientific collections were in poor condition to be evaluated, or new specimens were not collected.

Obtaining and preparing samples

Adult individuals were collected in the field (the collecting localities are mapped at tinyurl.com/interactiveKeyLarva) using an entomological net and attractive baits, such as rotten chicken liver and gizzard, exposed at least 48 h before collection under environmental conditions. The adults, temporarily housed in plastic cages, were taken to the laboratory, identified (Carvalho and Ribeiro 2000; Grella and Thyssen 2011), and transferred, by species, to plastic cages, which were then kept under controlled conditions ($27\pm1^{\circ}$ C, $70\pm10^{\circ}$ RH, 12 h of photoperiod). Water and sugar were provided to adults *ad libitum*. To stimulate egg laying, a 50 g portion of fresh ground beef was offered to adult females. After 3 h of exposure, the eggs obtained were removed from the meat and deposited in plastic vials, which contained the same substrate, and then kept under the same environmental conditions described for adults. Approximately between 90 and 96 h after hatching, third instar larvae of each species were collected, killed by immersion in water at 70-80°C (Adams and Hall 2003), and deposited in vials containing 70% ethyl alcohol for further analysis. Exceptionally, samples of *Calliphora* and *Hemilucilia* were collected approximately 190 h after hatching because they have a longer life cycle.

Anatomical character analysis and key elaboration

Internal and external anatomical characters were examined, listed in a data matrix using the MesquiteTM editor v. 3.70 and photographed using a Carl ZeissTM Discovery V. 12 stereomicroscope with an Axiocam MRc5 image capture system and Zen Pro 2012TM software with depth focus. The cephaloskeleton, an internal structure, was accessed by dissection and clarification in a 10% potassium hydroxide (KOH) solution, as proposed by Sukontason et al. (2004).

The interactive key was built using the software LUCID[™] builder v. 3.6. The nomenclature used to describe the anatomical characters followed Erzinçlioglu (1985), Shewell et al. (1987), Courtney et al. (2000) and Szpila et al. (2013). Scale bars in millimeters were

included in the images. Adobe Photoshop[™] v. CS6 (Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA) was used to improve the quality of some images.

6.4. Results

List of the terminal taxa included in this key

Chrysomya albiceps (Wiedemann), Chrysomya megacephala (Fabricius), Chrysomya putoria (Wiedemann), Cochliomyia hominivorax (Coquerel), Cochliomyia macellaria (Fabricius), Hemilucilia segmentaria (Fabricius), Hemilucilia semidiaphana (Rondani), Lucilia cuprina (Wiedemann), Lucilia eximia (Wiedemann), Paralucilia fulvinota (Bigot), Sarconesia chlorogaster (Wiedemann) and Calliphora sp.

Taxonomic key and how it works

A Portuguese or English version of the key can be accessed at <u>https://keys.lucidcentral.org/keys/v4/chave-larva-calliphoridae/</u>.

Since Calliphoridae and other families of Diptera belonging to the Muscomorpha Infraorder live in sympatry in various localities of the Neotropics, the key begins with the characters that separate this family from other families, whose larval forms resemble each other, to avoid misidentification (Fig. 1). In this stage called "Initial Step", the user is also asked to confirm if the larva under examination is in the third instar; if the corresponding characteristics are selected, finally, the user will have access to the identification key, aimed exclusively at third instar larvae, in Step 3 (Fig. 1). In addition, the LucidTM offers a number of features to help the user with the identification process, available in the toolbar located at the top of the key window; instructions on how to access these resources and some important tips for overcoming problems with sample identification were included in the key (Supplementary Material A).

Characters and their states

A total of 19 external and 7 internal morphological characters were included in the key. A total of 70 character states are available to be selected by users, with a distribution ranging from two to five states per character according to the degree of variability of the anatomical structure observed in different species. The key was divided into two major sections: (i) External Morphology, subdivided into (i.i) Larval body: thoracic and abdominal segments and (i.ii) Larval body: anal division and (ii) Internal Morphology, containing the Cephaloskeleton subsection (Table 1). A definitions glossary (Supplementary Material B) and high-resolution photographs of the morphological characters and states (many of them with addition of arrows and/or annotations) were also included in order to aid in the correct identification of different species (Fig. 2).

6.5. Discussion

The most common way to assign a scientific name to an organism has been through the use of dichotomous keys (Dallwitz et al. 2000), which present a series of choices that must be followed in order (e.g. Souza et al. 2020). However, if the dichotomous branch characters are ambiguous, are missed due to damage or poor conservation, or are polymorphic as noted by Grella et al. (2015), for example within adults of *C. albiceps*, it may be difficult to correctly identify a species using this type of key. Morphological taxonomy has advanced substantially through computational-based resources (Godfray 2002). In this way, the interactive key, for example, assists a reliable identification by allowing users to choose the characters in any order and use only the characters available on the specimen.

Due to their digital nature, it is possible to include an unlimited number of characters and information in the interactive keys, which can bring other advantages. It is difficult for anyone who elaborates a dichotomous key to define which characters and states are the most suitable for accurately identifying a taxon, particularly when taxa are not sufficiently distinct from each other (Goharimanesh et al. 2021). High-resolution images of diagnostic morphological characters and proposition of new characters for examination, although it can greatly enhance the identification, as well as the recognition of cryptic species, have been little explored in previous traditional keys for larvae of Calliphoridae species (Greenberg and Szyska 1984; Greenberg and Kunich 2002; Florez and Wolff 2009). Keys that cover a restricted amount of characters may also be limited, in terms of use, for non-specialists.

In the interactive key, both the free choice of characters/states by the user who will observe a specimen, i.e., not limited by a particular order of decisions as in traditional dichotomous keys, and the redundancy in the number of paths that will allow her/him to arrive at a diagnosis, work in favor of facilitating identification. However, as observed by Bittrich et al. (2012), so many options can also generate some hesitation, such as, for example, when choosing which character to start using the key with. In Lucid software, these problems can be overcome by using the options "Find best feature" and "Prune redundant features e states" as detailed and made available in the initial stage of this key (see Supplementary Material A).

Recent molecular biology has introduced changes in the delimitation of orders, families and genera of many organisms, and this has not excluded the Calliphoridae (Marinho et al. 2017; Madeira-Ott et al. 2019; Yan et al. 2021). In addition to new descriptions, corrected descriptions or proposed nomenclatural changes cannot be included in printed keys. Interactive identification keys are useful tools in this regard because they operate independently of hierarchical classification (Schneider et al. 2019). Online keys can be easily edited and continued by other users, thus providing the possibility for constant improvement and reduce time invested in producing and publishing updated dichotomous keys, although this type of publication is still undervalued by the scientific community (Bittrich et al. 2012; Schneider et al. 2019). The interactive key presented here contains a species whose immature forms had not been described until then, for this reason the taxon was designated only with the genus followed by sp. It is important to clarify that as soon as the data for this species are updated, and even for other cases that may occur in the future, the link to access this key will not change.

In our experience, when receiving samples of forensic cases in the laboratory for identification, it became clear that many forensic officers had difficulty identifying the diversity of blow flies present in their samples, many did not know where to find the appropriate keys or lacked taxonomy skill. Thus, we think that the freely shared e-taxonomy knowledge can be an important tool to minimize the current taxonomic impediment to progress in solving issues in forensics.

Unfortunately, the lack of familiarity with the morphology of the group to which the taxon to be identified belongs and the consequent difficulty in locating the structures to be observed constitute a major obstacle to the use of both traditional dichotomous and interactive keys. Although the key presented here offers a large number of images, guidelines and annotations, the interpretation about the description and quality of characters and their states can be more difficult for non-specialist users and, in certain cases, also for those who do not have equipment suitable for examining very minute structures. On the other hand, it is important to note that in recent decades, the decline of entomological taxonomic specialization has become a growing concern worldwide (Mathieu et al. 2012). In this way, the interactive keys, in addition to being useful for the diagnosis of species and providing assistance to users in their most diverse laboratory or field work, since it expand the available alternatives for the species identification, as observed by Rocha et al. (2019), may still represent a powerful taxonomic training tool to be explored (e.g. Jacquemart et al. 2016).

Acknowledgments. This study was financed in part by the Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq) to the first author (AMP), grant #133090/2019-1, and by The São Paulo Research Foundation (FAPESP) to the second author (AGS), grant #2012/24539-3. PJT would like to thank the CNPq for research productivity grant #308832/2020-5. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. Access register at Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) #ACD18F8. All collections were authorized by the Brazilian Ministry of the Environment (MMA) through the Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO), processes #65388-3.

6.6. References

- Adams ZJ, Hall MJ (2003) Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. Forensic Sci Int 138(1-3):50-61. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2003.08.010
 - Battán-Horenstein M, Linhares AX, Ferradas BR, García DD (2010) Decomposition and dipteran succession in pig carrion in central Argentina: ecological aspects and their importance in forensic science. Med Vet Entomol 24(1):16-25. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2009.00854.x
 - Bittrich V, Souza CSD, Coelho RL, Martins MV, Hopkins MJ, Amaral MC (2012) An interactive key (Lucid) for the identifying of the genera of seed plants from the Ducke Reserve, Manaus, AM, Brazil. Rodriguésia 63(1):055-064. https://doi.org/10.1590/S2175-78602012000100005
 - Carvalho CJB, Ribeiro PB (2000) Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do Sul do Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 9(2):169-173
 - Carvalho CJB, Mello-Patiu CAD (2008) Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. Rev Bras Entomol 52(3):390-406. https://doi.org/10.1590/S0085-56262008000300012
 - Carvalho LML, Thyssen PJ, Linhares AX, Palhares FAB (2000) A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 95(1):135-138. https://doi.org/10.1590/S0074-02762000000100023
 - Carvalho LML, Thyssen PJ, Goff ML, Linhares AX (2004) Observations on the succession patterns of necrophagous insects onto a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil. Aggrawal's Int J For Med Toxicol 5(1):33-39
 - Centeno N, Maldonado M, Oliva A (2002) Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). Forensic Sci Int 126(1):63-70. https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00037-3
 - Corrêa RC, Caneparo MF, Vairo KP, Lara AGD, Moura MO (2019) What have we learned from the dead? A compilation of three years of cooperation between entomologists and crime scene investigators in Southern Brazil. Rev Bras Entomol 63:224-231. https://doi.org/10.1016/j.rbe.2019.05.009

- Courtney GW, Sinclair BJ, Meier R (2000) Morphology and terminology of Diptera larvaeIn: Papp L, Darvas B (eds) Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera (with Special Reference to Flies of Economic Importance), 1st edn.Science Herald Press, Boston, pp 85–161
- Courtney GW, Pape T, Skevington JH, Sinclair BJ (2017) Biodiversity of Diptera. In: Foottit RG, Adler PH (eds) Insect Biodiversity: Science and Society, 2nd edn. John Wiley & Sons Ltd., New Jersey, pp 229-278
- Dallwitz MJ, Paine TA, Zurcher EJ (2000) Principles of interactive keys, p. 1-20, https://www.delta-intkey.com/www/interactivekeys.pdf. accessed 30 Mar 2022
- Dear JP (1985) A revision of the new world Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae). Rev Bras Zool 3:109-169. https://doi.org/10.1590/S0101-81751985000300001
- Edwards M, Morse DR (1995) The potential for computer-aided identification in biodiversity research. Trends Ecol Evol 10(4):153-158. https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)89026-6
- Erzinçlioğlu YZ (1985) Immature stages of British *Calliphora* and *Cynomya*, with a reevaluation of the taxonomic characters of larval Calliphoridae (Diptera). J Nat Hist 19(1):69-96. https://doi.org/10.1080/00222938500770041
- Ferrar P (1987) Calliphoridae. In: Ferrar, P (ed) A guide to the breeding habits and immature stages of Diptera Cyclorrhapha,3rd edn. Escandinavian Science Press Brill, Copenhagen, p. 217-225
- Florez E, Wolff M (2009) Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. Neotrop Entomol 38(3):418-429. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2009000300019
- Godfray HC (2002) Challenges for taxonomy. Nature 417:17-19. https://doi.org/10.1038/417017a
- Goharimanesh M, Stohr S, Mirshamsi O, Ghassemzadeh F, Adriaens D (2021) Interactive identification key to all brittle star families (Echinodermata; Ophiuroidea) leads to revised morphological descriptions. Eur J Taxon 766:1-63. https://doi.org/10.5852/ejt.2021.766.1483
- González CR, Llanos L, Oses C, Elgueta M (2017) Calliphoridae de Chile: clave para los géneros y especies (Diptera: Oestroidea). An Inst Patagon 45(3):19-27. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-686X2017000300019
- Greenberg B, Kunich JC, (2002) Problems in estimating the time of death. In: Greenberg B, Kunich JC (eds) Entomology and the law: flies as forensic indicators,1st edn. Cambridge University Press, New York, pp 154-167
- Greenberg B, Szyska ML (1984) Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). Ann Entomol Soc Am 77(5):488-517. https://doi.org/10.1093/aesa/77.5.488
- Grella MD, Thyssen PJ (2011) Chave taxonômica interativa para espécies de dípteros califorídeos (Infraordem: Muscomorpha) do Brasil. Version 1.0. http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/calliphoridae_brazil. accessed 20 April 2022
- Grella MD, Savino AG, Paulo DF, Mendes FM, Azeredo-Espin AM, Queiroz MM, Thyssen PJ, Linhares AX (2015) Phenotypic polymorphism of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann)

(Diptera: Calliphoridae) may lead to species misidentification. Acta Tropica 141:60-72. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.09.011

- Jacquemart AL, Lhoir P, Binard F, Descamps C (2016) An interactive multimedia dichotomous key for teaching plant identification. J Biol Educ 50(4):442-451. https://doi.org/10.1080/00219266.2016.1150870
- Kosmann C, Macedo MP, Barbosa TAF, Pujol-Luz JR (2011) *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) and *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) used to estimate the postmortem interval in a forensic case in Minas Gerais, Brazil. Rev Bras Entomol 55:621-623. https://doi.org/10.1590/S0085-56262011000400022
- Kosmann C, Mello RP, Harterreiten-Souza E, Pujol-Luz JR (2013) A list of current valid blow fly names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with key to the Brazilian species. EntomoBrasilis 6(1):74-85. doi:10.12741/ebrasilis.v6i1.266
- Madeira-Ott T, Marinho MA, Cordeiro J, Thyssen PJ (2019) First molecular phylogeny of *Paralucilia* Brauer & Bergenstamm, 1891 (Insecta, Diptera, Calliphoridae): A preliminary approach. Acta tropica 198:105096. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105096
- Marinho MAT, Wolff M, Ramos-Pastrana Y, Azeredo-Espin AML, Amorim DDS (2017) The first phylogenetic study of Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea) based on molecular data: clades and congruence with morphological characters. Cladistics 33(2):134-152. https://doi.org/10.1111/cla.12157
- Martinez E, Duque P, Wolff M (2007) Succession pattern of carrion-feeding insects in Paramo, Colombia. Forensic Sci Int 166(2-3):182-189. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.027
- Mathieu B, Cêtre-Sossah C, Garros C, Chavernac D, Balenghien T, Carpenter S, Setier-Rio ML, Vignes-Lebbe R, Ung V, Cando E, Delécolle JC (2012) Development and validation of IIKC: an interactive identification key for *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) females from the Western Palaearctic region. Parasit vectors 5(1):1-11. https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-137
- Mello RP (2003) Chave para a identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. Entomol Vectores 10:255-268
- Pujol-Luz JR, Marques H, Ururahy-Rodrigues A, Rafael JA, Santana FHA, Arantes LC, Constantino R (2006) A forensic entomology case from the Amazon rain forest of Brazil. J For Sci 51(5):1151-1153. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00217.x
- Ramos-Pastrana Y, Wolff M (2017) Postmortem interval estimation based on *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) in a forensic case in the Andean Amazon, Caquetá, Colombia. Acta Amazon 47:369-374. https://doi.org/10.1590/1809-4392201700392
- Rocha DDA, Almeida MR, Batista JDS, Andrade AJ (2019) LutzoDex[™] A digital key for Brazilian sand flies (Diptera, Phlebotominae) within an Android app. Zootaxa 4688(3): 382-388. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4688.3.4
- Sánchez-Restrepo AF, Fagua G (2014) Análisis sucesional de Calliphoridae (Diptera) en cerdo doméstico en pastizales (Cogua, Cundinamarca, Colombia). Rev Col Entomol 40(2):190-197

- Sanford MR, Whitworth TL, Phatak DR (2014) Human wound colonization by *Lucilia eximia* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): myiasis, perimortem, or postmortem colonization? J Med Entomol 51(3):716-719. https://doi.org/10.1603/ME13229
- Schneider SA, Fizdale MA, Normark BB (2019) An online interactive identification key to common pest species of *Aspidiotini* (Hemiptera, Coccomorpha, Diaspididae), version 1.0. ZooKeys 867:87. 10.3897/zookeys.867.34937
- Segura NA, Bonilla MA, Usaquén W, Bello F (2011) Entomofauna resource distribution associated with pig cadavers in Bogotá DC. Med Vet Entomol 25(1):46-52. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2010.00933.x
- Shewell GE (1987) Calliphoridae, In: McAlpine JF, Peterson BV, Shewell GE, Teskey HJ, Vockeroth JR, Wood DM (eds) Manual of Nearctic Diptera, vol 2, 1st edn. Ottawa: Research Branch Agriculture Canada, Canada, pp 1133-1146
- Staerkeby M (2001) Dead larvae of *Cynomya mortuorum* (L.) (Diptera, Calliphoridae) as indicators of the post-mortem interval – a case history from Norway. Forensic Sci Int 120:77-78. https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00430-3
- Souza CM, Lima CG, Alves-Jr MJ, Arrais-Silva WW, Giorgio S, Linhares AX, Thyssen PJ (2013) Standardization of histological procedures for the detection of toxic substances by immunohistochemistry in dipteran larvae of forensic importance. J Forensic Sci 58(4):1015-1021. https://doi.org/10.1111/1556-4029.12140
- Souza CM, Pape T, Thyssen PJ (2020) *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 (Diptera: Sarcophagidae) a centennial conspectus. Zootaxa 4841(1):1-126. 10.11646/ZOOTAXA.4841.1.1
- Sukontason K, Methanitikorn R, Sukotason KL, Piangjai S, Olson JK (2004) Clearing technique to examine the cephalopharyngeal skeletons of blow fly larvae. J Vector Ecol 29(1):192-195
- Szpila K, Hall MJR, Pape T, Grzywacz A (2013) Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part II. Luciliinae. Med Vet Entomol 27(4):349-366. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01059.x
- Thyssen PJ (2010) Keys for identification of immature insects. In: Amendt J, Goff ML, Campobasso CP, Grassberger M (eds) 1st edn. Current concepts in forensic entomology, London: Springer Netherlands, New York, pp 25-42
- Thyssen PJ (2011) Entomologia Forense. In: Marcondes CB (ed.) Entomologia Médica e Veterinária, 2nd edn. Rio de Janeiro: Atheneu, Brazil, pp 129-137
- Thyssen PJ, Nassu MP, Costella AMU, Costella ML (2012) Record of oral myiasis by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): case evidencing negligence in the treatment of incapable. Parasitol Res 111(2):957-959. 10.1007/s00436-012-2856-3
- Thyssen PJ, Linhares AX (2007) First description of the immature stages of *Hemilucilia segmentaria* (Diptera: Calliphoridae). Biol Res 40(3):271-280. http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602007000400001
- Thyssen PJ, Aquino MFK, Purgato NCS, Martins E, Costa AA, Lima CGP, Dias CR (2018) Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent

death in Southern Brazil. J Forensic Sci Res 2:1-8. https://doi.org/10.29328/journal.jfsr.1001013

- Vairo KP, Corrêa RC, Lecheta MC, Caneparo MF, Mise KM, Preti D, Carvalho CJB, Almeida LM, Moura MO (2015) Forensic use of a subtropical blowfly: the first case indicating minimum postmortem interval (mPMI) in southern Brazil and first record of *Sarconesia chlorogaster* from a human corpse. J Forensic Sci 60:S257-S260. https://doi.org/10.1111/1556-4029.12596
- Vasconcelos SD, Costa DL, Oliveira DL (2019) Entomological evidence in a case of a suicide victim by hanging: first collaboration between entomologists and forensic police in north-eastern Brazil. Aust J Forensic Sci 51(2):231-239. https://doi.org/10.1080/00450618.2017.1356870
- Whitworth T (2010) Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of the West Indies and description of a new species of *Lucilia* Robineau-Desvoidy. Zootaxa 2663(1):1-35. 10.11646/ZOOTAXA.2663.1.1
- Whitworth T, Rognes K (2012) Identification of Neotropical blow flies of the genus *Calliphora* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae) with the description of a new species. Zootaxa, 3209(1):1-27. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3209.1.1
- Whitworth T (2014) A revision of the neotropical species of *Lucilia* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae). Zootaxa 3810(1):1-76. 10.11646/ZOOTAXA.3810.1.1
- Yan L, Pape T, Meusemann K, Kutty SN, Meier R, Bayless KM, Zhang D (2021) Monophyletic blowflies revealed by phylogenomics. BMC Biol 19(1):1-14. https://doi.org/10.1186/s12915-021-01156-4

Table 1. Organization and summary of the characters and character states used for the key elaboration.

	Characters (character states)	
Initial step		
Confirm that the larva is from Calliphoridae and is in the third instar	posterior spiracles (inside or outside of a cavity), respiratory slits (shape, number, angulation), anterior spiracles (presence, shape), labrum (presence), peritreme (shape, color), mouthhook (shape)	
External morphology		
Larva body: thoracic and abdominal segments	respiratory tracheas (aspect), anterior spinose bands on each abdominal segment (aspects), posterior spinose bands on each abdominal segment (aspects), integument (variations), spines of the first thoracic segment (type)	
Larva body: anal division	spines (type), spines (arrangement), microtubercles (presence), peritreme (shape), peritreme button (presence), dorsal papillae (length) and ventral papillae (length)	
Internal morphology		
Cephaloskeleton	accessory oral sclerite (presence), accessory oral sclerite (shape), intermediate sclerite (shape), dorsal cornu (pigmentation), ventral cornu (shape), dorsal+ventral cornua (distance), hypopharynx (aspect)	



Fig. 1. LucidTM interface and, highlighted, the initial steps for users to access forensically important Neotropical Calliphoridae third instar larvae identification key.



Fig. 2. Some of the images available in the key to illustrate external and internal morphological characters of a third instar Calliphoridae larva. In: (A) habitus, (B) posterior spiracles, (C) cephaloskeleton in lateral view and (D) anal division. Pc= pseudocephalon, T1–T3= thoracic segments, A1–A7= abdominal segments, AD= anal division, LCW= lateral creeping welt, asb= anterior spinose bands, psb= posterior spinose bands, IA= interbands area, mh= mouthhook, aos= accessory oral sclerite, ds= dental sclerite, als= anterior labial sclerite, pls= posterior labial sclerite, ie= intermediate sclerite, vp= vertical plate, pb= parastomal bar, db= dorsal bridge, dc= dorsal cornu, vc= ventral cornu. Scale bars: A= 2 mm and B–D= 0.5 mm.

7. CAPÍTULO IV

Interatividade e taxonomia: uso da computação para o diagnóstico de larvas de primeiro estádio de moscas varejeiras (Insecta, Diptera, Calliphoridae) do Brasil

Interatividade e taxonomia: uso da computação para o diagnóstico de larvas de primeiro estádio de moscas varejeiras (Insecta, Diptera, Calliphoridae) do Brasil

A. M. Prado¹*, P. J. Thyssen¹

¹ Laboratório de Entomologia Integrativa, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas (SP), Brasil

7.1. Resumo

Moscas necrófagas da família Calliphoridae (Insecta, Diptera) ganham destaque no âmbito forense, ao utilizarem os corpos em decomposição para o desenvolvimento de seus imaturos. Tendo em vista a baixa variabilidade morfológica de imaturos de Calliphoridae, a diminuição de especialistas e que as chaves de identificação para larvas de primeiro estádio são escassas, estudos detalhados, boas descrições e novas ferramentas de identificação tornam-se necessárias. Com o objetivo de facilitar e tornar acessível o processo de identificação de imaturos foi elaborada uma chave interativa para espécies necrófagas de larvas de primeiro estádio de Calliphoridae neotropicais, que é de acesso gratuito e inclui 10 espécies de importância forense, além de glossário, e mais de 100 fotos e dicas de inicialização da chave.

Palavras-chaves: imaturos; chave taxonômica; entomologia forense; identificação; perícia criminal.

7.2. Introdução

O uso de informações biológicas, ecológicas e de distribuição fornecidas pelos insetos tem se tornado cada vez mais frequente e relevante no campo da perícia (Thyssen, 2011). No âmbito médico-legal, em particular, a entomologia forense pode contribuir com a estimativa do intervalo pós-morte (IPM), a investigação da causa da morte (em casos onde há envolvimento de consumo ou intoxicação por substâncias tóxicas, por exemplo), evidenciar situações de negligência, imperícia ou maus tratos, entre outros (Thyssen et al., 2011; Souza et al., 2013; Thyssen et al., 2018).

Insetos da família Calliphoridae (Insecta, Diptera), conhecidos popularmente como moscas varejeiras, apresentam hábitos alimentares e comportamentais bastante diversificados, dentre os quais destacam-se a necrofagia e a sinantropia (Ferrar, 1987). Dadas tais características, muitas espécies de califorídeos são comumente reportadas em corpos em decomposição usando este substrato para alimentação ou para o desenvolvimento de seus imaturos, inclusive estando associadas a todos os estágios da decomposição (Greenberg e Kunich, 2002; Carvalho et al., 2004; Thyssen et al., 2018).

Até o presente são conhecidas mais de 20 espécies válidas de Calliphoridae no Brasil, excluindo aquelas que há pouco tempo foram alocadas para a família Mesembrinellidae (Kosmann et al., 2013; Marinho et al., 2017). Para a obtenção de uma estimativa acurada do IPM com base em dados entomológicos é primordial a identificação dos espécimes coletados em cadáveres até o nível específico, visto que apenas a partir do diagnóstico da espécie é possível acessar seus dados biológicos para posteriores análises que se façam necessárias (Thyssen, 2010, 2011). Há chaves taxonômicas disponíveis para a identificação dos califorídeos adultos registrados em território brasileiro (e.g. Carvalho e Ribeiro, 2000; Grella e Thyssen, 2011), mas não para as formas imaturas. Em geral, larvas e pupas têm sido diagnosticadas a partir de comparação direta da morfologia de certas estruturas de amostras que necessitam ser dissecadas com desenhos esquemáticos e pranchas dispostas aleatoriamente em uma ou diversas publicações (e.g. Greenberg e Kunich, 2002; Thyssen, 2010). Outro fato que contribui para ampliar o impedimento taxonômico entre as formas imaturas é que para algumas espécies sequer existem descrições (Thyssen e Linhares, 2007).

Com o intuito de tornar a taxonomia mais difundida e acessível para o público que necessita alcançar o diagnóstico de espécies, emergem as chaves interativas (Edwards e Morse, 1995; Dallwitz et al., 2000; Grella e Thyssen, 2011). Estas chaves além de permitir a inserção de recursos importantes tais como glossário de termos técnicos, dicas de inicialização da chave

e vasto banco de imagens (e.g. Grella e Thyssen, 2011), sua interface intuitiva permite que o usuário identifique um espécime a partir de qualquer caractere, sem uma ordenação em particular, elegendo a característica que lhe parecer mais facilmente visível em seu exemplar (Edwards e Morse, 1995; Dallwitz et al., 2000).

Considerando o exposto acima, o objetivo deste estudo foi minimizar o impedimento taxonômico associado às larvas de primeiro estádio de espécies de moscas pertencentes aos gêneros *Calliphora*, *Chrysomya*, *Cochliomyia*, *Lucilia*, *Hemilucilia* e *Sarconesia* (Calliphoridae) registradas para o território brasileiro (Tabela 1), a partir da elaboração de uma chave interativa. Espera-se que o uso desta ferramenta alternativa possa auxiliar a perícia em casos cuja única evidência são larvas de primeiro estádio.

7.3. Material e Métodos

Obtenção e preparo das amostras

Indivíduos adultos foram coletados ativamente em campo utilizando como iscas, fígado e moela de frango putrefeitos após serem expostos 48 h sob condições ambientais. Os adultos, temporariamente acondicionados em gaiolas plásticas, foram levados ao laboratório, identificados (Carvalho e Ribeiro, 2000; Grella e Thyssen, 2011) e transferidos, por espécie, para gaiolas plásticas, as quais foram mantidas sob condições controladas (27±1°C, 70±10% UR, 12 h de fotoperíodo). Em seguida, a postura de ovos foi estimulada oferecendo uma porção de 50 g de carne bovina moída fresca para as fêmeas. Os ovos obtidos foram removidos da carne e depositados em frascos plásticos, contendo o mesmo substrato e mantidos sob as mesmas condições ambientais dos adultos. Aproximadamente entre 6 e 8 h após a eclosão, larvas de primeiro estádio de cada espécie foram recolhidas, mortas por imersão em água entre 70–80°C, e depositadas em frascos contendo álcool 70% (Adams e Hall, 2003) para posterior análise.

Levantamento de caracteres e elaboração da chave

Caracteres anatômicos internos e externos foram examinados, listados (em uma matriz de dados usando o editor Mesquite® v. 3.70) e fotografados com auxílio de um estereomicroscópio Discovery V. 12 Carl Zeiss® com sistema de captura de imagem Axiocam MRc5 e software Zen Pro 2012® com profundidade de foco. O cefaloesqueleto, uma estrutura interna, foi acessado por meio de dissecção e clarificação em solução de KOH 10% (Adams e Hall, 2003). As ilustrações foram produzidas por meio de câmara clara acoplada ao

estereomicroscópio. A chave interativa foi construída com auxílio do software LUCID® Builder v.3.6 e depositada na plataforma LUCID® Player.

7.4. Resultados

As larvas de primeiro estádio são caracterizadas por apresentarem espiráculo respiratório anterior sem lobos, enquanto o espiráculo posterior, com peritrema fracamente pigmentado, geralmente contém apenas uma fenda (Fig. 1). Para a elaboração da chave foram considerados caracteres com valor diagnóstico: (i) internos: presença, forma, pigmentação e tamanho das estruturas que compõem o cefaloesqueleto tais como o gancho oral, labro, braço lateral, ponte dorsal, fragma tentorial, cornos dorsal e ventral e esclerito intermediário (Fig. 1); (ii) externos: cristas orais do pseudocéfalo e padrão de distribuição de espinhos ao longo dos segmentos do corpo larval (Fig. 1).

A chave interativa produzida neste estudo para as dez espécies de larvas de primeiro estádio (Tabela 1), disponível em português e em inglês, pode ser acessada através da URL: https://keys.lucidcentral.org/keys/v4/chave-primeiro-larva-calliphoridae/. O software oferece diversos recursos interativos como o relato das diferenças entre cada espécie para cada caractere escolhido pelo usuário, amplo banco de imagens, e apontamento das características mais críticas para diagnóstico (Fig. 2A-E). Além disso, optamos incluir como recursos extras um glossário de termos técnicos, anotações para evidenciar mais facilmente uma dada estrutura nas imagens contidas no banco de dados da chave e dicas para iniciar o uso da chave.

7.5. Discussão

Chaves de identificação para larvas de primeiro estádio de muscóides são escassas e não exclusivas para Calliphoridae, e também não contemplam espécies brasileiras ou de relevância forense em sua maioria (Szpila et al., 2008, 2011, 2012, 2014a; 2014b, Szpila e Wallman, 2016). Além disso, todas as chaves taxonômicas disponíveis são do tipo convencional, isto é, dicotômica, a qual obriga o usuário a seguir passos unidirecionais sem chance de escolher o caractere anatômico que lhe é mais facilmente perceptível. Nesse sentido, chaves tradicionais podem ser um fator limitante para alcançar o diagnóstico de uma espécie cuja amostra possa estar minimamente danificada e venha a perder uma estrutura que será abordada para continuar o trajeto da chave.

O surgimento de novas tecnologias e a necessidade de minimizar o tempo gasto em identificações contribuíram para promover a criação de chaves automatizadas ou interativas (Dallwitz, 2000), com o objetivo de complementar o método de identificação convencional por meio da chave interativa ou de múltiplo acesso como ferramenta alternativa. Embora necessite de uma base computacional, este tipo de chave possibilita uma abordagem mais intuitiva para a prática da identificação, devido aos seus inúmeros recursos disponíveis para auxílio na identificação. A eliminação de espécies cujos atributos não condizem com as características escolhidas até que o usuário chegue à identificação final também oferece certa segurança ao processo.

Agradecimentos. Este estudo foi financiado em parte pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) à primeira autora (AMP), processo nº 133090/2019-1. PJT agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa nº 308832/2020-5. Cadastro de acesso no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) #ACD18F8. Todas as coletas foram autorizadas pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA) por meio do Sistema de Autorização e Informação sobre Biodiversidade (SISBIO), processo nº 65388-3.

7.6. Referências

- Adams, Z.J., Hall, M.J. Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. Forensic Sci. Int., 138, (1-3), 50-61, (2003).
- Carvalho, C.J.B., Ribeiro, P.B., Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do Sul do Brasil, Rev. Bras. Parasitol. Vet. 9, (2), 169-173, (2000).
- Carvalho, L.M.L., Thyssen, P.J., Goff, M.L., Linhares, A.X. Observations on the succession patterns of necrophagous insects on a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil. Anil Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology, 5 (1): 33-39, (2004).
- Dallwitz, M.J. A comparison of interactive identification programs. (2000) <http://deltaintkey. com>. Acesso em: 30 mar. 2022.
- Dallwitz, M.J., Paine, T.A., Zurcher, E.J. Principles of interactive keys. 1-20, (2000) <delta-intkey.com/>. Acesso em: 30 mar.2022.
 - Edwards, M., Morse, D.R. The potential for computer-aided identification in biodiversity research. Trends Ecol. Evol., 10 (4): 153-158, (1995).
 - Ferrar, P. Calliphoridae. In: Ferrar, P. 1987. A guide to the breeding habits and immature stages of Diptera Cyclorrhapha. 1: 217-225, (1987). pp.83-98.
 - Greenberg, B., Kunich, J.C. Entomology and the law: flies as forensic indicators. Cambridge University Press (2002) pp. 154-167.

- 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: 31 março de 2022.
- Kosmann, C., Mello, R.P., Souza, E.S.H., Luz, J.R.P. A list of current valid blow fly names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with key to the Brazilian species. EntomoBrasilis, 6 (1): 74-85, (2013).
- Marinho, M.A.T., Wolff, M., Ramos-Pastrana, Y., Azeredo-Espin, A.M.L., Amorim, D.D.S. The first phylogenetic study of Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea) based on molecular data: clades and congruence with morphological characters. Cladistics, 33(2): 134-152, (2017).
- Thyssen, P.J., Linhares, A.X. First description of the immature stages of *Hemilucilia segmentaria* (Diptera: Calliphoridae). Biological Research, 40(3): 271-280, (2007).
- Thyssen, P.J. Keys for identification of immature insects. In: Amendt, J., Goff, M.L., Campobasso, C.P. & Grassberger, M. Current concepts in forensic entomology. Netherlands: Springer (2010) pp. 25-42.
- Thyssen P.J. (2011) Entomologia Forense. In: C.B. Marcondes Entomologia Médica e Veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu. (2011) pp. 129-137.
- Thyssen, P.J., Nassu, M.P., Costella, A.M.U., Costella, M.L. Record of oral myiasis by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): case evidencing negligence in the treatment of incapable. Parasitology Research, 111 (2): 957-959, (2012).
- Thyssen, P.J., Aquino, M.F.K., Purgato, N.C.S., Martins, E., Costa A.A., Lima, C.G.P., Dias, C.R. Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil. J. Forensic Sci. Res., 2: 1–8 (2018).
- Souza C.M., Lima, C.G., Alves-Jr, M. J., Arrais-Silva, W.W., Giorgio, S., Linhares, A.X., Thyssen, P. J. Standardization of histological procedures for the detection of toxic substances by immunohistochemistry in dipteran larvae of forensic importance. J. For. Sci., 58 (4): 1015-1021, (2013).
- Szpila, K., Pape, T., Rusinek, A. Morphology of the first instar of Calliphora vicina, Phormia regina and Lucilia illustris (Diptera, Calliphoridae). Med. Vet. Entomol., 22, (1), 16-25, (2008).
- Szpila, K., Villet, M.H. Morphology and identification of first instars of African blow flies (Diptera: Calliphoridae) commonly of forensic importance. J. Med. Entomol., 48, (4), 738-752, (2011).
- Szpila, K., Hall, M.J.R., Pape, T., Grzywacz, A. Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part II. Luciliinae. Med. Vet. Entomol., 27, (4), 349-366, (2012).
- Szpila, K., Hall, M.J.R., Sukontason, K.L., Tantawi, T.I. Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part I: Chrysomyinae. Med. Vet. Entomol., 27, (2), 181-193, (2013).
- Szpila, K., Hall, M.J.R., Wardhana, A.H., Pape, T. Morphology of the first instar larva of obligatory traumatic myiasis agents (Diptera: Calliphoridae, Sarcophagidae). Parasitol. Res., 113, (5), 1629-1640, (2014a).

- Szpila, K., Pape, T., Hall, M.J.R., Mądra, A. Morphology and identification of first instars of European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part III: Calliphorinae. Med. Vet. Entomol., 28, (2), 133-142, (2014b).
- Szpila, K., Wallman, J.F., Morphology and identification of first instar larvae of Australian blowflies of the genus Chrysomya of forensic importance. Acta Trop., (162), 146-154, (2016).

Taxa			
Calliphora sp. Mello	Cochliomyia macellaria (Fabricius)		
Chrysomya albiceps (Wiedemann)	Lucilia cuprina (Wiedemann)		
Chrysomya megacephala (Fabricius)	Lucilia eximia (Wiedemann)		
Chrysomya putoria (Wiedemann)	Hemilucilia semidiaphana (Rondani)		
Cochliomyia hominivorax (Coquerel)	Sarconesia chlorogaster (Wiedemann)		

Tabela 1. Lista de espécies de Calliphoridae de importância forense registradas para o Brasilque estão contempladas na chave interativa.



Figura 1. À título de exemplo, larva de primeiro estádio de Calliphoridae, em vista lateral [A] e em detalhe os espinhos (esp), último segmento abdominal, em vista posterior [B] exibindo os espiráculos respiratórios (ep), cefaloesqueleto em vista lateral [C] e pseudocéfalo em vista ventral [D]. Em: **go**= gancho oral; **bl**= braço lateral; **Lb**= labro; **ei**= esclerito intermediário; **pd**= ponte dorsal, **ft**= fragma tentorial; **cd**= corno dorsal; **cv**= corno ventral.



Figura 2. Interface da chave interativa para larvas de primeiro estádio de Calliphoridae de importância forense do Brasil. Em: [A] janelas e barra de recursos do software, [B] lista de caracteres e estados disponíveis para o usuário, [C] janela que exibe os caracteres que foram selecionados pelo usuário, [D] lista de espécies disponíveis na chave e [E] espécies eliminadas no decorrer do uso da chave.

8. Conclusões gerais

Neste estudo estão sendo fornecidas descrições morfológicas detalhadas, incluindo imagens e ilustrações, para larvas de primeiro e terceiro estádio de espécies de Calliphoridae de importância forense para o Brasil e para a região Neotropical. Para ao menos uma das espécies endêmicas a descrição das formas imaturas está sendo feita pela primeira vez.

Como observado entre outros taxa de Diptera da Infraordem Muscomorpha, as características anatômicas das larvas de ambos estádios têm alguma variação intraespecífica e pouca interespecífica. No segundo caso, resulta que restam poucos caracteres diagnósticos, o que pode tornar o processo de identificação mais trabalhoso. Dentre as características com maior valor diagnóstico se destacaram o cefaloesqueleto (forma, tamanho e pigmentação), espinhos (forma e pigmentação), tubérculos (presença ou ausência) e papilas (distribuição). Quanto às chaves para identificação, estão sendo apresentadas pela primeira vez chaves para larvas de primeiro estádio. Também é a primeira vez que se propõe uma chave de múltiplo acesso e interativa para larvas de primeiro e terceiro estádios.

Nas chaves dicotômica e interativa/múltiplo acesso para larvas de primeiro estádio foram listados 13/36 e 18/44 caracteres/estados de caracteres, respectivamente, enquanto que para as de terceiro estádio foram listados 27/55 e 26/70 caracteres/estados de caracteres, respectivamente. Em suma, é possível observar que não há uma diferença muito relevante em termos de números de caracteres/estados entre os dois tipos de chaves aqui elaborados, apenas na forma de apresentação ao usuário final. Levando em conta o número de recursos e ferramentas extras disponíveis nas chaves interativas é possível deduzir que este instrumento possa contribuir mais assertivamente para a diminuição do impedimento taxonômico do que os instrumentos tradicionais, embora nenhum teste para avaliar a percepção de usuários tenha sido conduzido neste estudo.

9. Referências

Aballay, F.H., Murua, A.F., Acosta, J.C., Centeno, N.D. (2008) Primer registro de artropodofauna cadavérica en sustratos humanos y animales en San Juan, Argentina. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 67(3-4):157-163.

Aballay, F.H., Murua, A.F., Acosta, J.C., Centeno, N.D. (2012) Succession of carrion fauna in the arid region of San Juan province, Argentina and its forensic relevance. Neotropical Entomology, 41(1):27-31.

Adams, Z.J., Hall, M.J. (2003) Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. Forensic Science International, 138(1-3):50-61.

Aguiar-Coelho, V.M., Milward-De-Azevedo, E.M.V. (1998) Combined rearing of *Cochliomyia macellaria* (Fabr.), *Chrysomya megacephala* (Fabr.) and *Chrysomya albiceps* (Wied.) (Dipt., Calliphoridae) under laboratory conditions. Journal of Applied Entomology, 122(1-5):551-554.

Aguirre-Gil, O.J., Valente, F.I., Santos, L.S., Viana, D.L., Bsoli, A.C. (2015) Desarrollo larval de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) en diferentes dietas y densidades larvales. Revista Colombiana de Entomología, 41(1):48-57.

Aguirre, S., Barragán, A. (2015) Datos preliminares de la entomofauna cadavérica en la provincia de Pichincha, Ecuador. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas, 36(1):67-69.

Alves, A.C.F., Santos, W.E., Creão-Duarte, A.J. (2014) Diptera (Insecta) de importância forense da região Neotropical Entomology, 29(2):77-94.

Amat, E. (2009) Contribución al conocimiento de las Chrysomyinae y Toxotarsinae (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. Revista Mexicana de Biodiversidad, 80(3):693-708.

Amat, E., Marinho, M.A.T., Rafael, J.A. (2016) A survey of necrophagous blowflies (Diptera: Oestroidea) in the Amazonas-Negro interfluvial region (Brazilian Amazon). Revista Brasileira de Entomologia, 60(1):57-62.

Andrade, H.T.A., Varela-Freire, A.A., Batista, M.J.A., Medeiros, J.F. (2005) Calliphoridae (Diptera) coletados em cadáveres humanos no Rio Grande do Norte. Neotropical Entomology, 34(5):855-856.

Armani, A.P., Centeno, N.D., Dahinten, S.L. (2015) Primer estudio de artropodofauna cadavérica sobre modelos experimentales porcinos en el noreste de la provincia del Chubut, Argentina. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 74(3-4):123-132.

Aubertin, D., Buxton, P.A. (1934) *Cochliomyia* and myiasis in tropical America. Annals of tropical medicine and parasitology, 28(3):245-254.

Azeredo-Espin, A.M.L., Madeira, N.G. (2014) Primary myiasis in dog caused by *Phaenicia eximia* (Diptera: Calliphoridae) and preliminary mitochondrial DNA analysis of the species in Brazil. Journal of Medical Entomology, 33(5):839-843.

Badenhorst, R. (2018) Villet, M.H.; The uses of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) in forensic entomology. Journal of Forensic Sciences, 3(1):2-15.

Bansode, S.A., More, V.R. (2016) Zambare, S.P.; Effect of different constant temperature on the life cycle of a fly of forensic importance *Lucilia cuprina*Entomology, Ornithology & Herpetology, 5(3):2161-0983.

Barbosa, T.M., Vasconcelos, S.D. (2015) An updated checklist of myiasis-inducing Diptera species in livestock in Northeastern Brazil. Archivos de zootecnia, 64(246):187-190.

Barros-Cordeiro, K.B., Pujol-Luz, J.R. (2010) Morfologia e duração do desenvolvimento pósembrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. Papéis Avulsos de Zoologia, 50(47):709-717.

Battán-Horenstein, M., Salvo, A. (2012) Community dynamics of carrion flies and their parasitoids in experimental carcasses in central ArgentinaJournal of Insect Science, 12(1):1-10.

Battán-Horenstein M., Linhares, A.X., Ferradas, B.R., García, D.D. (2010) Decomposition and dipteran succession in pig carrion in central Argentina: ecological aspects and their importance in forensic science. Medical and Veterinary Entomology, 24(1):16-25.

Batista-Da-Silva, J.A., Moya-Borja, G.E., Mello, R.P., Queiroz, M.M.C. (2011) Abundance and richness of Calliphoridae (Diptera) of public health importance in the Tinguá Biological Reserve, Nova Iguaçu (RJ), Brazil. Entomotrópica: International Journal of Tropical Insect Science, 26(3):137-142. Baumgartner, D.L., Greenberg, B. (1985) Distribution and medical ecology of the blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Peru. Annals of the Entomological Society of America, 78, 565-587.

Beuter, L. (2013) Mendes, J.; Development of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) in different pig tissues. Neotropical Entomology, 42(4):426-430.

Bharti, M., Singh, D., Sharma, Y.P. (2007) Effect of temperature on the development of forensically important blowfly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). Entomon-Trivandrum, 32(2):149.

Blacio, K., Liria, J., Soto-Vivas, A. (2020) Diversity and synanthropy of flies (Diptera: Calyptratae) from Ecuador, with new records for the country. Journal of Threatened Taxa, 12(8):15784-15793.

Bittrich, V., Souza, C.S.D., Coelho, R.L., Martins, M.V., Hopkins, M.J., Amaral, M.C. (2012) An interactive key (Lucid) for the identifying of the genera of seed plants from the Ducke Reserve, Manaus, AM, Brazil. Rodriguésia 63(1):055-064.

Boatright, S.A., Tomberlin, J.K. (2010) Effects of temperature and tissue type on the development of *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). Journal of Medical Entomology, 47(5):917-923.

Bonatto, S.R. (1996) Ciclo de vida de *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae, Toxotarsinae), criada sob condições de laboratório em dieta artificial. Revista Brasileira de Zoologia, 13(3):685-706.

Bonatto, S.R., Carvalho, C.J.B. (1996) Análise morfológica das formas imaturas de *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae, Toxotarsinae). Revista Brasileira de Zoologia, 13(3):707-726.

Borror, D.J., Triplehorn, C.A., Johnson, N.F. (2010) Diptera. In: An introduction to the study of insects. 7^a Edição. Saunders college publishing. p.365.

Byrd, J.H., Butler, J.F. (1996) "Effects of temperature on *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) development." Journal of Medical Entomology, 33(6):901-905.

Byrd, J.H., Tomberlin, J.K. (2020) Introduction: current perceptions and status of forensic entomology. In: Byrd, J.H.; Tomberlin, J.K. (Eds.) Forensic Entomology – The utility of arthropods in legal investigations. 3° ed. CRC Press, USA, pp. 23-24.

Cabrini, I., Grella, M.D., Andrade, C.F.S., Thyssen, P.J. (2013) Richness and composition of Calliphoridae in an Atlantic Forest fragment: implication for the use of dipteran species as bioindicators. Biodiversity and Conservation, 22(11):2635-2643.

Campobasso, C.P., Introna, F. (2001) The forensic entomologist in the context of the forensic pathologist's roleForensic Science International, 120: 132-139.

Cardoso, G.A., Matiolli, C.C., Azeredo-Espin, A.M.L., Torres, T.T. (2014) Selection and validation of reference genes for functional studies in the Calliphoridae family. Journal of Insect Science, 14(1):1-15.

Carneiro, L.T., Azevedo, W.T.A., Aguiar, V.M., Couri, M.S. (2021) The Nocturnal Ovipositon Behavior of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in Brazil and Its Forensic Implications. Journal of Medical Entomology, 58(2):558-566.

Carvalho, C.J.B., Ribeiro, P.B. (2000) Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do Sul do Brasil, Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 9(2):169-173.

Carvalho, L.M.L., Thyssen ,P.J., Linhares, A.X., Palhares, F.A.B. (2000) A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 95(1):135-138.

Carvalho, L.M.L., Linhares, A.X. (2001) Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. Journal of Forensic Sciences, 46(1):604-608.

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. Anil Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology, 5(1):33-39.

Carvalho, C.J.B., Mello-Patiu, C.A. (2008) Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. Revista Brasileira de Entomologia, 52(3):390-406.

Catts, E.P. (1992) Problems in estimating the PMI in death investigationsJournal of Agricultural Entomology, 9(1):245-255.

Catts, E.P., Goff, M.L. (1992) Forensic entomology in criminal investigations. Annual Review of Entomology, 37(1):253-272.

Cavalcante, A.N.P., Dal-Bó, D., Creão-Duarte, A.J., Farias, R.D.A.P. (2015) Espécies de Calliphoridae (Diptera) associadas a carcaças de Sus scrofa Linnaeus, 1758 em área de restinga na Paraíba, Brasil, e espécies de importância forense para a estimativa do Intervalo Pós-Morte (IPM). Entomotropica, 30(15):150-159.

CBIT. Centre for Biological Information Technology, University of Queensland. LUCIDO version 3.6. 2019. Disponível em http://lucidcentral.org>. Acesso em: novembro de 2020.

Centeno N., Maldonado M., Oliva, A. (2002) Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires province (Argentina). Forensic Science International, 126(1):63-70.

Centeno, N., Serrán, M., Otero, J.G., Weiler, N. (2009) An ancient assemblage of scavenger insects in Patagonia (Argentina). Entomologica America, 115(1):77-80.

Cherix, D., Wyss, C.; Pape, T. (2012) Occurrences of flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) on human cadavers in Switzerland, and their importance as forensic indicators. Forensic Sci. Int., 220(1-3):158-163.

Corrêa, R.C., Caneparo, M.F., Vairo, K.P., Lara, A.G.D., Moura, M.O. (2019) What have we learned from the dead? A compilation of three years of cooperation between entomologists and crime scene investigators in Southern Brazil. Revista Brasileira de Entomologia,63:224-231.

Courtney, G.W., Sinclair, B.J., Meier, R. (2000) Morphology and terminology of Diptera larvae. In: Papp, L., Darvas, B. (Eds). Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera (with Special Reference to Flies of Economic Importance). Science Herald Press, Boston. p. 85–161.

Courtney, G.W., Pape, T., Skevington, J.H., Sinclair, B.J. (2017) Biodiversity of Diptera. In: Foottit RG, Adler PH (eds) Insect Biodiversity: Science and Society, 2nd edn. John Wiley & Sons Ltd., New Jersey, pp 229-278.

Cruz, T.M., Barbosa, T.M., Thyssen, P.J. (2021) Vasconcelos, S.D.; Diversity of Diptera species associated with pig carcasses in a Brazilian city exposed to high rates of homicide. Papéis Avulsos de Zoologia., 61, e20216101.

Cunha-E-Silva, S.L., Milward-de-Azevedo, E. (1992) Estudo comparado do desenvolvimento de dois morfotipos larvais de Cochliomyia macellaria (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae). Revista Brasileira de Zoologia, 9(3-4):181-186.

D'Almeida, J.M., Lima, S.F. (1994) Atratividade de diferentes iscas e sua relação com as fases de desenvolvimento ovariano em Calliphoridae e Sarcophagidae (Insecta, Diptera). Revista Brasileira de Zoologia, 11(2):177-186.

D'Almeida, J.M., Salviano, R.J.B. (1996) Feeding preference of the larvae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) and *Ravinia belforti* (Prado e Fonseca) (Diptera: Sarcophagidae) concerning different diets. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 91(1):137-138.

D'Almeida, J.M., Fraga, M.B. (2007) Efeito de diferentes iscas na atração de califorídeos (Diptera) no Campus do Valonguinho, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 16(4):199-204.

Dallwitz, M.J., Paine, T.A., Zurcher, E.J. (2000) Principles of interactive keys, p. 1-20, https://www.delta-intkey.com/www/interactivekeys.pdf. accessed 30 Mar 2022

Da Silva, S.M., Vairo, K.P., Moura, M.O. (2018) Description of larval instars to fill a gap in forensic entomology: the larvae of *Paralucilia pseudolyrcea* (Diptera: Calliphoridae). Journal of Medical Entomology, 55(3):575-586.

Day, D.M., Wallman, J.F. (2008) Effect of preservative solutions on preservation of *Calliphora augur* and *Lucilia cuprina* larvae (Diptera: Calliphoridae) with implications for post-mortem interval estimates. Forensic Science International, 179(1):1-10.

Dear, J.P. (1985) A revision of the new world Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae). Revista Brasileira de Zoologia, 3:109-169.

Edwards, M., Morse, D.R. (1995) The potential for computer-aided identification in biodiversity research. Trends in Ecology & Evolution, 10(4):153-158.

Erzinclioglu, Y.Z. (1984) Studies on the morphology and taxonomy of the immature stages of Calliphoridae, with analysis of phylogenetic relationships within the family, and between it and other groups in the Cyclorrhapha (Diptera) (Tese de doutorado, Durham University), p. 443.

Erzinçlioğlu, Y.Z. (1985) Immature stages of British *Calliphora* and *Cynomya*, with a reevaluation of the taxonomic characters of larval Calliphoridae (Diptera). Journal of Natural History, 19(1):69-96.

Erzinçlioğlu, Y.Z. (1987) The larvae of some blowflies of medical and veterinary importance. Medical and Veterinary Entomology, 1(2):121-125.

Erzinclioglu, Y.Z. (1990) The larvae of two closely-related blowfly species of the genus *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae). Entomologica Fennica, 1(3):151-153.

Estrada, D.A., Grella, M.D., Thyssen, P.J., Linhares, A.X. (2009) Taxa de desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em dieta artificial acrescida de tecido animal para uso forense. Neotropical Entomology, 38(2):203-207.

Faria, L.B., Orsi, L., Trinca, L.A., Godoy, W.A.C. (1999) Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria, Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 90(2):149-155.

Faria, L.B., Godoy, W.A.C. (2001) Prey choice by facultative predator larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 96(6):875-878.

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(2):216-222.

Fernandes, L.F., Pimenta, F.C., Fernandes, F.F. (2009) First report of human myiasis in Goiás state, Brazil: frequency of different types of myiasis, their various etiological agents, and associated factors. Journal of Parasitology, 95(1):32-38.

Ferrar P. (1987) Calliphoridae. In: Ferrar, P (ed) A guide to the breeding habits and immature stages of Diptera Cyclorrhapha,3rd edn. Escandinavian Science Press Brill, Copenhagen, p. 217-225

Ferreira, M.J.M., Lacerda, P.V. (1993) Muscóides sinantrópicos associados ao lixo urbano em Goiânia, Goiás. Revista Brasileira de Zoologia, 10(2):185-195.

Flissak, J.C., Moura, M.O. (2018) Intrapuparial development of *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae) for postmortem interval estimation (PMI). Journal of Medical Entomology, 55(2):277-284.

Florez, E., Wolff, M. (2009) Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. Neotropical Entomology 38(3):418-429.

Gabre, R.M., Adham, F.K., Chi, H. (2005) Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). Acta Oecologica, 27(3):179-183.

Godfray, H.C. (2002) Challenges for taxonomy. Nature 417:17-19.

Goharimanesh, M., Stohr, S., Mirshamsi, O., Ghassemzadeh, F., Adriaens, D. (2021) Interactive identification key to all brittle star families (Echinodermata; Ophiuroidea) leads to revised morphological descriptions. European Journal of Taxonomy, 766:1-63.

González, C.R., Llanos, L., Oses, C., Elgueta, M. (2017) Calliphoridae de Chile: clave para los géneros y especies (Diptera: Oestroidea). Anales del Instituto de la Patagonia, 45(3):19-27.

Graczyk, T.K., Grimes, B.H., Knight, R., Da Silva, A.J., Pieniazek, N.J., Veal, D.A. (2003) Detection of Cryptosporidium parvum and Giardia lamblia carried by synanthropic flies by combined fluorescent in situ hybridization and a monoclonal antibody. American journal of tropical medicine and hygiene, 68(1):228-32.

Greenberg, B. (1971) Flies and Disease. Vol. 1. Ecology, Classification and Biotic Associations. Princeton University Press, Princeton, N.J. 856 pp.

Greenberg, B. (1971) Synanthropy. In: Greenberg, B (Ed.), Flies and Disease.Volume 1: Ecology, Classification, and Biotic Associations. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, U.S.A. p.16-56.

Greenberg, B., Szyska, M.L. (1984) Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). Annals of the Entomological Society of America, 77(5):488-517.

Greenberg, B. (1985) The Medical Biology of Brazilian Calliphoridae: Mechanism for Disease Transmission. Illinois University at The Medical Center Chicago Department Of Biological Sciences. p.22.

Greenberg, B. (1991) Flies as forensic indicators. Journal of medical entomology, 28(5):565-577. Greenberg, B., Kunich, J.C. (2002) Problems in estimating the time of death. In: Greenberg B, Kunich JC (eds) Entomology and the law: flies as forensic indicators,1st edn. Cambridge University Press, New York, pp 154-167.

Grella, M.D., Thyssen, P.J. (2011) Chave taxonômica interativa para espécies de dípteros califorídeos (Infraordem: Muscomorpha) do Brasil. Version 1.0. http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/calliphoridae_brazil. accessed 20 April 2022

Grella, M.D., Savino, A.G., Paulo, D.F., Mendes, F.M., Azeredo-Espin, A.M., Queiroz, M.M., Thyssen, P.J., Linhares, A.X. (2015) Phenotypic polymorphism of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) may lead to species misidentification. Acta Tropica 141:60-72.

Goff, M.L. (2010) Early Postmortem Changes and Stages of Decomposition. In: Amendt, J., Goff, M.L., Campobasso, C.P., Grassberger, M. (Eds.) Current Concepts in Forensic Entomology. Springer. New York. NY. pp.1-25.

Grisales, D., Magnolia, R., Villegas, S. (2010) Insects associated with exposed decomposing bodies in the Colombian Andean Coffee Region. Revista Brasileira de Entomologia, 54(4):637-644.

Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R., Barros, T.M., Andreotti, R., Cançado, P.H.D., Léon, A.A.P., Pereira, J.B., Villela, H.S. (2014) Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 23(2):150-156.

Gruner, S.V., Slone, D.H., Capinera, J.L., Turco, M.P. (2017) Development of the oriental latrine fly, *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), at five constant temperaturesJournal of Medical Entomology, 54(2):290-298.

Guimarães, J.H., Papavero, N. (1999) Myiasis caused by facultative parasites. In: Guimarães, J.H., Papavero, N. (Eds.), Myiasis in man and animals in the Neotropical Region: bibliographic database. Plêiade, São Paulo. p. 35-42.

Holloway, B.A. (1991) Identification of third-instar larvae of flystrike and carrion-associated associated blowflies in New Zealand (Diptera: Calliphoridae). New Zealand Entomologist, 14(1):24-28.
Ishijima, H. (1967) Revision of the third stage larvae of synanthropic flies of Japan (Diptera: Anthomyiidae, Muscidae, Calliphoridae and Sarcophagidae). Applied Entomology Zoology, 18(2-3):47-100.

Ismail, M.I., Osman, K., King, O.H., Hassan, N. (2007) Accelerating *Chrysomya megacephala* maggot growth for forensic entomology cases. Jurnal Sains Kesihatan Malaysia (Malaysian Journal of Health Sciences), 5(1):17-26.

Jacquemart, A.L., Lhoir, P., Binard, F., Descamps, C. (2016) An interactive multimedia dichotomous key for teaching plant identification. Journal of Biological Education, 50(4):442-451.

Jaume-Schinkel, S., Ibáñez-Bernal, S. (2020) Catalog of the family Calliphoridae (Diptera: Oestroidea) of Mexico. Acta Zoologica Mexicana, (36):1-25.

Kashyap, V.K., Pillai, V.V. (1989) Efficacy of entomological method in estimation of postmortem interval: a comparative analysis. Forensic Science International, 40(1):245-250.

Knipling, E.F. (1936) Some Specific Taxonomic Characters of common *Lucilia* Larvae-Calliphorinae-Diptera. Iowa State College Journal of Science, 10(3):275-294.

Knipling, E.F. (1939) A key for blowfly larvae concerned in wound and cutaneous myiasis. Annals of the Entomological Society America, 32(2):376-383.

Koller, W.W., Barros, A.T.M., Corrêa, E.C. (2011) Abundance and seasonality of *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) in Southern Pantanal, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 20(1):27-30.

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, 55:621-623.

Kosmann, C., Mello, R.P., Harterreiten-Souza, E., Pujol-Luz, J.R. (2013) A list of current valid blow fly names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with key to the Brazilian species. EntomoBrasilis 6(1):74-85.

Krüger, R.F., Kirst, F.D., Souza, A.S.B. (2010) Rate of development of forensically-important Dipterain southern Brazil. Revista Brasileira de Entomologia, 54(4):624-629.

Laake, E.W., Cushing, E.C., Parish, H.E. (1936) Biology of the primary screw worm fly, *Cochliomyia americana*, and a comparison of its stages with those of *C. macellaria*. US Department of Agriculture, (500):1-28.

Laurence, B.R. (1988) The tropical African latrine blowfly, *Chrysomya putoria* (Wiedemann). Medical and Veterinary Entomology, 2(3):285-291.

LéBlanc, H.N., Logan, J.G. (2010) Early Postmortem Changes and Stages of Decomposition. In: Amendt, J., Goff, M.L., Campobasso, C.P., Grassberger, M. (Eds.) Current Concepts in Forensic Entomology. Springer. New York. NY. pp.1-25.

Lecheta, M.C., Thyssen, P.J., Moura, M.O. (2015) The effect of temperature on development of *Sarconesia chlorogaster*, a blowfly of forensic importance. Forensic Science, Medicine and Pathology, 11(4):538-543.

Lecheta, M.C., Moura, M.O. (2019) Estimating the age of forensically useful blowfly, *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: Calliphoridae), using larval length and weight. Journal of Medical Entomology, 56(4):915-920.

Leite, A.C.R., Guevara, J.D.E. (1993) Scanning electron microscopy of the larval instars of *Cochliomyia hominivorax*. Medical and Veterinary Entomology, 7(3):263-270.

Lindsay, S.W., Lindsay, T.C., Duprez, J., Hall, M.J.R., Kwabana, B.A., Jawara, M., Nurudeen, I.U., Sallah, N., Wyatt, N., D'Alessandro, U., Pinder, M., Antonio, M. (2012) *Chrysomya putoria*, a putative vector of diarrheal diseases. PLOS Neglected Tropical Diseases, 6(11):e1895.

Liu, D., Greenberg, B. (1989) Immature stages of some flies of forensic importance. Annals of the Entomological Society of America, 82(1):80-93.

Lord, W.D., Stevenson, J.R. (1986) Directory of forensic entomologists, 2nd. Center, Walter Reed Army Medical Center, Washington, DC.

Luna, T.C., Arcaya, E., Velásquez, Y. (2014) Primer registro de *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) asociada con *Stapelia gigantea* L. (Apocynaceae) en Venezuela. Entomotropica, 29(1):53-56.

Luz, R.T., Azevedo, W.T.A., Silva, A.S., Lessa, C.S.S., Maia, V.C., Aguiar, V.M. (2020) Diversity of Calliphoridae and Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea) in a Mangrove, Restinga, and Forest Landscapes From a Lagoon Complex on an Atlantic Forest Coastline (Rio de Janeiro, Brazil). Journal of Medical Entomology, 57(6):1758-1767.

Mackley, J.W., Brown, H.E. (1984) Swormlure-4: a new formulation of the swormlure-2 mixture as an attractant for adult screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). Journal of Economic Entomology, 77(5):1264-1268.

Madeira-Ott, T., Marinho, M.A., Cordeiro, J., Thyssen, P.J. (2019) First molecular phylogeny of *Paralucilia* Brauer & Bergenstamm, 1891 (Insecta, Diptera, Calliphoridae): A preliminary approach. Acta tropica 198:105096.

Maldonado, M.A., Centeno, N. (2003) Quantifying the potential pathogens transmission of the blowflies (Diptera: Calliphoridae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98(2):213-216.

Marcondes, C.B. (2011) Moscas. In: Marcondes, C.B. (Ed.), Entomologia médica e veterinária. p.189-281.

Marcondes, C.B., Thyssen, P.J. (2017) Flies. In: Marcondes, C.B. (Ed.), Arthropod Borne Diseases. Springer Int. Publish., Switzerland, pp. 475–502.

Mariluis, J.C., González-Mora, D., Peris, S. (1994) Considerations on the genus Paralucilia Brauer et Bergenstamm, 1891 (Diptera, Calliphoridae). Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Sección biológica, 91(1-4):15-18.

Marinho, M.A.T., Wolff, M., Ramos-Pastrana, Y., Azeredo-Espin, A.M.L., Amorim, D.D.S. (2017) The first phylogenetic study of Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea) based on molecular data: clades and congruence with morphological characters. Cladistics 33(2):134-152.

Martinez, E., Duque, P., Wolff, M. (2007) Succession pattern of carrion-feeding insects in Paramo, Colombia. Forensic Science International 166(2-3):182-189.

Mathieu, B., Cêtre-Sossah, C., Garros, C., Chavernac, D., Balenghien, T., Carpenter, S., Setier-Rio, M.L., Vignes-Lebbe, R., Ung, V., Cando, E., Delécolle, J.C. (2012) Development and validation of IIKC: an interactive identification key for *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) females from the Western Palaearctic region. Parasites & Vectors, 5(1):1-11. Matuszewski, S. (2017) A general approach for postmortem interval based on uniformly distributed and interconnected qualitative indicators. International Journal of Legal Medicine, 131(3):877-884.

Matuszewski, S. (2021) Post-mortem interval estimation based on insect evidence: current challenges. Insects, 12(4):314.

Mastrangelo, T., Bezerra, F., Fernandes, T. (2014 a) Dietas larvais alternativas para criação massal da mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax*. Ciência Rural, 44(4):672-677.

Mastrangelo, T., Fresia, P., Lyra, M.L., Rodriges, R.A., Azeredo-Espi, A.L. (2014b) Genetic diversity and population structure of the New World screwworm fly from the Amazon region of Brazil. Acta tropica, 138:S26-S33.

Megnin, J.P. (1894) (La faune des cadavres: Application de l'entomologie a la médecinelégale. Encyclopédie Scientifique des Aide-Mémoires, Masson et Gauthier-Villaars, Paris, France.

Mello, R.P. (1972) Contribuição ao estudo do gênero *Sarconesia* Bigot, 1857 (Diptera, Calliphoridae). Revista Brasileira de Biologia, 32(4):533-537.

Mello, R.P. (1996) Revisão das espécies sul americanas de *Paralucilia* Brauer & Bergenstamm (Diptera: Calliphoridae). Entomology vectores, 3(5):137-143.

Mello, R.P. (2003) Chave para a identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. Entomology Vectores 10:255-268.

Mendonça, P.M., Santos-Mallet, J.R., Queiroz, M.M.C. (2010) Ultramorphological characteristics of immature stages of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann 1819) (Diptera: Calliphoridae), a fly specie of forensic importance. Microscopy Research and Technique, 73(8):779-784.

Mendonça, P.M., Santos-Mallet, J.R., Queiroz, M.M.C. (2012) Ultrastructure of immature stages of the blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Calliphoridae). Microscopy Research and Technique, 75(2):206-211.

Mendonça, P.M., Barbosa, R.R., Carriço, C., Cortinhas, L.B., Santos-Mallet, J.R., Queiroz, M.M.C. (2014) Ultrastructure of immature stages of *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy. Acta tropica, 136:123-128.

Mondal, P.C., Mahato, S., Cakraborty, B., Sinha, S.K. (2016) First report of Oriental latrine flies causing vaginal myiasis in human. Journal of Parasitic Diseases, 40(4):1243-1245.

Moretti, T.C., Thyssen, P.J. (2006) Miíase primária em coelho doméstico causada por *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil: relato de caso. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(1):28-30.

Moretti, T.C., Ribeiro, O.B., Thyssen, P.J. (2008) Solis, D.R.; Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. European Journal of Entomology, 105(4):691-696.

Moretti, T.C., Thyssen, P.J. (2009) Solis, D.R.; Breeding of the Scuttle Fly *Megaselia scalaris* in fish Carcass and Implications for the use in Forensic Entomology (Diptera: Phoridae). Entomologia Generalis/Journal of General and Applied Entomology, 31(4):349-353.

Morrone, J.J. (2014) Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. Zootaxa, 3782(1):1-110.

Moura, M.O., Carvalho, C.J.B., Monteiro-Filho, E.L.A. (1997) A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 92(2):269-274.

Moura, M.O. (2004) Variação espacial como mecanismo promotor da coexistência em comunidades de insetos necrófagos. Revista Brasileira de Zoologia, 21(3):409-419.

Muñoz-García, C.I., Lorenzo-Burgunder, D., Gumi-Castillo, G., Perelló-Undreiner, D.B., Zenteno-Nava, E., Orozco-Gregorio, H. (2016) Canine myiasis by *Lucilia eximia* in North America. Tropical Biomedicine, 33(3):494-499.

Nuorteva, P. (1977) Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. In: Forensic medicine: a study in trauma and environmental hazards. vol. 2. W.B. Saunders Company, pp. 1072-1095.

O'flynn, M.A., Moorhouse, D.E. (1980) Identification of early immature stages of some common Queensland carrion flies. Australian Journal of Entomology, 19(1):53-61.

Olea, S.M., Mariluis, J.C. (2013) The genus Calliphora (Diptera: Calliphoridae) in Argentina, with the first records of *C. lopesi* Mello 1962. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 72(1-2):99-104.

Oliveira, C.M.B. (1985) *Chrysomya albiceps*, a new agent of secondary skin myiasis in sheep in Brazil [fly]. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 20(4):497-498.

Oliveira, V.C.D., Mello, R.P.D., D'Almeida, J.M. (2002) Dípteros muscóides como vetores mecânicos de ovos de helmintos em jardim zoológico, Brasil. Revista de Saúde Pública, 36(5):614-620.

Oliveira-Costa, J., Mello-Patiu, C.A.D. (2004) Application of forensic entomology to estimate of the postmortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police Department in Brazil. Anil Aggrawals InternetJournal of Forensic Medicine and Toxicology, 5(1):40-44.

Oliveira, V.C., D'Almeida, J.M., Abalém de Sá, I.V., Mandarino, J.R., Solari, C.A. (2006) Enterobactérias associadas a adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e Chrysomya megacephala (Fabricius, 1754) (Diptera: Calliphoridae) no Jardim Zoológico, Rio de Janeiro. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(4):556-561.

Oliveira, M.S., Mello, R.P., Queiroz, M.M.C. (2007) Morfologia e duração dos ínstares larvais de *Chrysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), em laboratório. Revista Brasileira de Entomologia, 51(2):239-245.

Oliveira, H.G., Gomes, G., Morlin Jr, J.J., Von Zuben, C. J., Linhares, A.X. (2009) The effect of Buscopan[®] on the development of the blow fly *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae). Journal of Forensic Sciences, 54(1):202-206.

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

Oliveira, P.V., Matos, N.S., Klippel, A.H., Oliveira-Costa, J., Careta, F.P., Paeto, G.G. (2017) Using DNA barcodes to identify forensically important species of Diptera in Espírito Santo State, Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology, 60, e160106.

Oliveira, D.L., Vasconcelos, S.D. (2017) Diversity, daily flight activity and temporal occurrence of necrophagous Diptera associated with decomposing carcasses in a semi-arid environment. Neotropical Entomology, 47(4):470-477.

Pujol-Luz, J.R., Marques, H., Ururahy-Rodrigues, A., Rafael, J.A., Santana, F.H.A., 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, S.M.P. (1985) Bionomia de Sarconesia chlorogaster (Wiedemann, 1830) (Diptera, Calliphoridae) em Curitiba, Paraná, Brasil. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 14(1):105-10.

Queiroz, S.M.P., Carvalho, C.J.B. (1987) Chave pictórica e descrições de larvas de 3º instar de Diptera (Calliphoridae, Muscidae e Fanniidae) em vazadouros de resíduos sólidos domésticos em Curitiba, Paraná. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 16(2):265-288.

Queiroz, M.M., Milward-Ilward-de-Azevedo, E. (1991) Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), em condições de laboratório. Revista Brasileira de Zoologia, (8):75-84.

Queiroz, M.M.C., Mello, R.P., Lima, M.M. (1997) Morphological aspects of the larval instars of *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) reared in the laboratory. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 92(2):187-196.

Ramos-Pastrana, Y., Wolff, M. (2017) Postmortem interval estimation based on *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) in a forensic case in the Andean Amazon, Caquetá, Colombia. Acta Amazonica, 47:369-374.

Reed Jr, H.B. (1958) A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. The American Midland Naturalist Journal, 213-245.

Rocha, D.D.A., Almeida, M.R., Batista, J.D.S., Andrade, A.J. (2019) LutzoDex[™] – A digital key for Brazilian sand flies (Diptera, Phlebotominae) within an Android app. Zootaxa 4688(3):382-388.

Rognes, K. (1991) Blowflies (Diptera, Calliphoridae) of Fennoscandia and Denmark. In: Knut Rognes (Ed.), Fauna Entomologica Scandinavica Vol.24. EJ Brill/Scandinavian Science Press Ltd. Leiden. p.32-206.

Rosa, T.A., Babata, M.L.Y., Souza, C.M., Sousa, D., Mello-Patiu, C.A., Vaz-de-Mello, F., Mendes, J. (2011) Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil. Revista Brasileira de Entomologia, 55(3):424-434.

Sales, T., Ferreira-Keppler, R.L., Oliveira-da-Silva, A., Souza, A.S.B. (2013) Description of immature stages and development time of *Paralucilia paraensis* (Mello) (Diptera: Calliphoridae) associated with the decomposition of a partially submerged swine carcass. Neotropical Entomology, 42(2):211-215.

Sales, T., Ferreira-Keppler, R.L., Martins, R.T., Barros, L.M. (2021) Development time, body mass and length of immatures of *Paralucilia fulvinota* (Bigot, 1877) (Diptera: Calliphoridae) reared under natural conditions in a Central Amazon forest. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Humanas, 16(1):51-58.

Sánchez-Restrepo, A.F., Fagua, G. (2014) Análisis sucesional de Calliphoridae (Diptera) en cerdo doméstico en pastizales (Cogua, Cundinamarca, Colombia). Revista Colombiana de Entomología, 40(2):190-197

Sanford, M.R., Whitworth, T.L., Phatak, D.R. (2014) Human wound colonization by *Lucilia eximia* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): myiasis, perimortem, or postmortem colonization? Journal of Medical Entomology, 51(3):716-719.

Samuel, W.M. (1988) The use of age classes of winter ticks on moose to determine time of death. Canadian Society of Forensic Science Journal, 21(1-2):54-59.

Sanford, M.R., Whitworth, T.L., Phatak, D.R. (2014) Human wound colonization by *Lucilia eximia* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): myiasis, perimortem, or postmortem colonization? Journal of Medical Entomology, 51(3):716-719.

Sanit, S., Sukontason, K., Kurahashi, H., Tomberlin, J.K., Wannasan, A., Kraisittipanit, R., Sukontason, K.L.(2017) Morphology of immature stages of blow fly, *Lucilia sinensis* Aubertin (Diptera: Calliphoridae), a potential species of forensic importance. Acta Tropica, 176, 395-401.

Schneider, S.A., Fizdale, M.A., Normark, B.B. (2019) An online interactive identification key to common pest species of *Aspidiotini* (Hemiptera, Coccomorpha, Diaspididae), version 1.0. ZooKeys 867:87.

Segura, N.A., Bonilla, M.A., Usaquén, W., Bello, F. (2011) Entomofauna resource distribuition associated with pig cadavers in Bogotá DC. Medical and Veterinary Entomology, 25(1):46-52.

Shewell, G.E. (1987) Calliphoridae, In: McAlpine JF, Peterson BV, Shewell GE, Teskey HJ, Vockeroth JR, Wood DM (eds) Manual of Nearctic Diptera, vol 2, 1st edn. Ottawa: Research Branch Agriculture Canada, pp. 1133-1146.

Shuey, J.A. (1997) An optimized portable bait trap for quantitative sampling of butterflies. Tropical Lepidoptera Research, 8(1):1-4.

Smith, K.G.V. (1986) The faunal succession on cadavers. In: Smith, K.G.V (Ed.) A manual of forensic entomology. London: British Museum. 13-37.

Soares, T.F., Vasconcelos, S.D. (2016) Diurnal and nocturnal flight activity of blow flies (Diptera: Calliphoridae) in a rainforest fragment in Brazil: implications for the colonization of homicide victims. Journal of Forensic Sciences, 61(6):1571-1577.

Sousa, A.G.P., Ferraz, A.C.P., Nascimento, A.L.O., Aguiar-Coelho, V.M. (2010) Alternative natural diet for the creation of immature oriental latrine flies under controlled conditions. Revista Brasileira de Biociências, 12(2):133-140.

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(1):8-12.

Souza A.S.B.; Kirst, F.D.; Krüger, R.F.; Insects of forensic importance from Rio Grande do Sul state in southern Brazil. Rev. Bras. Entomol., 52, (4), 641-646, 2008.

Souza, C.M., Lima, C.G., Alves-Jr, M.J., Arrais-Silva, W.W., Giorgio, S., Linhares, A.X., Thyssen, P.J. (2013) Standardization of histological procedures for the detection of toxic substances by immunohistochemistry in dipteran larvae of forensic importance. Journal of Forensic Sciences, 58(4):1015-1021.

Souza, C.M., Pape, T., Thyssen, P.J. (2020) *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 (Diptera: Sarcophagidae) — a centennial conspectus. Zootaxa 4841(1):1-126.

Sperling, F.A., Anderson, G.S., Hickey, D.A. (1994) A DNA-based approach to the identification of insect species used for postmortem interval estimation. Journal of Forensic Sciences, 39(2):418-27. PMID: 8195754

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

Sukontason, K.L., Sukontason, K., Piangjai, S., Boonchu, N., Chaiwong, T., Vogtsberger, R. C., Kuntalue, B., Thijuk, N., Olson, J.K. (2003) Larval morphology of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy. J. Vector Ecol: Journal of Vector Ecology, 28(1):47-52.

Sukontason, K., Methanitikorn, R., Sukotason, K.L., Piangjai, S., Olson, J.K. (2004) Clearing technique to examine the cephalopharyngeal skeletons of blow fly larvae. Journal of Vector Ecology, 29(1):192-195.

Sukontason, K., Narongchai, P., Kanchai, C., Vichairat, K., Sribanditmongkol, P., Bhoopat, T., Kurahashi, H., Chockjamsai, M., Piangjai, S., Bunchu, N., Vongvivach, S., Samai, W., Chaiwong, T., Methanitikorn, R., Ngern-Klun, R., Sripakdee, D., Boonsriwong, W., Siriwatanarungsee, S., Srimuangwong, C., Hanterdsith, B., Chaiwan, K., Srisuwan, C., Upakut, S., Moopayak, K., Vogtsberger, R.C., Olson, J.K., Sukontason, K.L. (2007) Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006. Parasitology Research, 101(5):1417-1423.

Sukontason, K., Sribanditmongkol, P., Ngoen-klan, R., Klong-klaew, T., Moophayak, K., Sukontanson, K.L. (2010) Differentiation between *Lucilia cuprina* and *Hemipyrellia ligurriens* (Diptera: Calliphoridae) larvae for use in forensic entomology applications. Parasitology Research, 106(3):641-646.

Sukontason, K.L., Bhoopat, T., Wannasan, A., Sontigun, N., Sanit, S., Amendt, J., Samerjai, C., Sukontanson, K. (2018) *Chrysomya chani* Kurahashi (Diptera: Calliphoridae), a blow fly species of forensic importance: Morphological characters of the third larval instar and a case report from Thailand. Forensic Sciences Research, 3(1):83-93.

Szpila, K., Pape, T., Rusinek, A. (2008) Morphology of the first instar of *Calliphora vicina*, Phormia regina and Lucilia illustris (Diptera, Calliphoridae). Medical and Veterinary Entomology, 22(1):16-25.

Szpila, K. (2010) Key for the Identification of Third Instars of European Blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Forensic Importance. In: Amendt, J., Goff, M. L., Campobasso, C. P.,

Grassberger, M. (Eds.), Current concepts in forensic entomology. London: Springer Netherlands, p. 43-57.

Szpila, K., Voss, J.G., Pape, T. (2010) A new dipteran forensic indicator in buried bodies. Medical and Veterinary Entomology, 24(3):278-283.

Szpila, K., Villet, M.H. (2011) Morphology and identification of first instars of African blow flies (Diptera: Calliphoridae) commonly of forensic importance. Journal of Medical Entomology, 48(4):738-752.

Szpila, K., Hall, M.J.R., Pape, T., Grzywacz, A. (2013) Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part II. Luciliinae. Medical and Veterinary Entomology, 27(4):349-366.

Szpila, K., Hall, M.J.R., Sukontason, K.L., Tantawi, T.I. (2013) Morphology and identification of first instars of the European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part I: Chrysomyinae. Medical and Veterinary Entomology, 27(2):181-193.

Szpila, K., Hall, M.J.R., Wardhana, A.H., Pape, T. (2014a) Morphology of the first instar larva of obligatory traumatic myiasis agents (Diptera: Calliphoridae, Sarcophagidae). Parasitology Research, 113(5):1629-1640.

Szpila, K., Pape, T., Hall, M.J.R., Mądra, A. (2014b) Morphology and identification of first instars of European and Mediterranean blowflies of forensic importance. Part III: Calliphorinae. Medical and Veterinary Entomology, 28(2):133-142.

Szpila, K., Wallman, J.F. (2016) Morphology and identification of first instar larvae of Australian blowflies of the genus *Chrysomya* of forensic importance. Acta Tropica, (162):146-154.

Szpila, K., Grzywacz, A. (2020) Larvae of the north American Calyptratae flies of forensic importance. In: Byrd, J.H., Tomberlin, J.K. (Ed.), Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. CRC press, p.532-544.

Tantawi, T.I., Greenberg, B. (1993) *Chrysomya albiceps* and *C. rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): contribution to an ongoing taxonomic problem. Journal of Medical Entomology, 30(3):646-648.

Tao, S.M. (1927) A comparative study of the early larval stages of some common flies. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 7(6):735-761.

Thyssen, P.J., Moretti, T.D.C., Ueta, M.T., Ribeiro, O.B. (2004) O papel de insetos (Blattodea, Diptera e Hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos em ambiente domiciliar e peridomiciliar. Cadernos de Saúde Pública, (20):1096-1102.

Thyssen, P.J., Lessinger, A.C., Azeredo-Espin, A.M.L., Linhares, A.X. (2005) The value of PCR-RFLP molecular markers for the differentiation of immature stages of two necrophagous flies (Diptera: Calliphoridae) of potential forensic importance. Neotropical Entomology, (34):777-784.

Thyssen, P.J. (2005) Caracterização das formas imaturas e determinação das exigências térmicas de duas espécies de califorídeos (Diptera) de importância forense. 2005. Tese (Doutorado em Parasitologia). Universidade Estadual de Campinas, p.102.

Thyssen, P.J., Linhares, A.X. (2007) First description of the immature stages of *Hemilucilia segmentaria* (Diptera: Calliphoridae). Biological Research, 40(3):271-280.

Thyssen P.J. (2010) Keys for identification of immature insects. In: Amendt, J., Campobasso, C.P., Goff, M.L., Grassberger, M. (eds.). Current concepts in Forensic Entomology. Springer, London, pp. 25-42.

Thyssen, P.J. (2010) Keys for identification of immature insects. In: Amendt, J., Goff, M.L., Campobasso, C.P., Grassberger, M. (eds) 1st edn. Current concepts in forensic entomology, London: Springer Netherlands, New York, pp 25-42.

Thyssen, P.J., Grella, M.D. (2011) Efeito da escopolamina sobre o desenvolvimento de Chrysomya putoria (Diptera: Calliphoridae) e sua importância para a estimativa do intervalo pós-morte. Revista Brasileira de Ciências Criminais, 1(1):39-42.

Thyssen, P.J. (2011) Entomologia Forense. In: Marcondes, C.B. (ed.) Entomologia Médica e Veterinária, 2nd edn. Rio de Janeiro: Atheneu, Brazil, pp 129-137.

Thyssen, P.J., Nassu, M.P., Costella, A.M.U., Costella, M.L. (2012) Record of oral myiasis by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): case evidencing negligence in the treatment of incapable. Parasitology Research, 111(2):957-959.

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

Tomberlin, J.K., Crippen, T.L., Tarone, A.M., Chaudhury, M.F., Singh, B., Cammack, J.A., Meisel, R.P. (2017) A review of bacterial interactions with blow flies (Diptera: Calliphoridae) of medical, veterinary, and forensic importance. Annals of the Entomological Society of America, 110(1):19-36.

violent death in Southern Brazil. Journal of Forensic Science and Research, (2):1-8.

Vairo, K.P., Corrêa, R.C., Lecheta, M.C., Caneparo, M.F., Mise, K.M., Preti, D., Carvalho, C.J.B., Almeida, L.M., Moura, M.O. (2015) Forensic use of a subtropical blowfly: the first case indicating minimum postmortem interval (mPMI) in southern Brazil and first record of *Sarconesia chlorogaster* from a human corpse. Journal of Forensic Sciences, 60:S257-S260.

Vasconcelos, S.D., Soares, T.F., Costa, D.L. (2014) Multiple colonization of a cadaver by insects in an indoor environment: first record of *Fannia trimaculata* (Diptera: Fanniidae) and *Peckia (Peckia) chrysostoma* (Sarcophagidae) as colonizers of a human corpse. Int. Journal of Legal Medicine, 128(1):229-233.

Vasconcelos, S.D., Barbosa, T.M., Oliveira, T.P.B. (2015) Diversity of forensically-important dipteran species in different environments in northeastern Brazil, with notes on the attractiveness of animal baits. Florida entomologista, 98(2):70-775.

Vasconcelos, S.D., Salgado, R.L., Barbosa, T.M., Sousa, R.B. (2016) Diptera of medico-legal importance associated with pig carrion in a tropical dry forest. Journal of Medical Entomology, 53(5):1131-1139.

Vasconcelos, S.D., Costa, D.L., Oliveira, D.L. (2017) Entomological evidence in a case of a suicide victim by hanging: first collaboration between entomologists and forensic police in north-eastern Brazil. Australian Journal of Forensic Sciences, 51(2):231-239.

Vasconcelos, S.D., Costa, D.L., Oliveira, D.L. (2019) Entomological evidence in a case of a suicide victim by hanging: first collaboration between entomologists and forensic police in north-eastern Brazil. Australian Journal of Forensic Sciences, 51(2):231-239.

Velásquez, Y., Martínez-Sánchez, A.I., Thomas, A., Rojo, S. (2017) Checklist and distribution maps of the blow flies of Venezuela (Diptera, Calliphoridae, Mesembrinellidae). ZooKeys, (645):103-132.

Vianna, E.E.S., Brum, G.W., Ribeiro, P.B., Berne, M.E.A., Silveira Jr. P. (1998) Synanthropy of Calliphoridae (diptera) in Pelotas, Rio Grande do Sul state, brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 7(2):141-147.

Vianna, É.E.S., Costa, P.R.P., Fernandes, A.L., Ribeiro, P.B. (2004) Abundância e flutuação populacional das espécies de *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia. Série Zoologia, 94(3):231-234.

Villet, M.H., Richards, C.S., Midgley, J.M. (2010) Contemporary precision, bias and accuracy of minimum post-mortem intervals estimated using development of carrion-feeding insects. In: Amendt, J., Goff, M.L., Campobasso, C.P., Grassberger, M. (Eds.) Current Concepts in Forensic Entomology. Springer. New York. NY. pp.1-25.

Wallman, J. F., Adams, M. (1997) Molecular systematics of Australian carrion-breeding blowflies of the genus Calliphora (Diptera: Calliphoridae). Australian Journal of Zoology, 45(4):337-356.

Wallman, J.F. (2001) Third-instar larvae of common carrion-breeding blowflies of the genus Calliphora (Diptera: Calliphoridae) in South Australia. Invertebrate Systematics, 15(1):37-51.

Waterhouse, D.F., Paramonovo, S.J. (1950) The Status of the Two Species of *Lucilia* (Diptera, Calliphoridae) Attacking Sheep in Austhalia. Australian Journal of Biological Sciences, 3(3):310-336.

Webber, L.G. (1958) Nutrition and reproduction in the Australian Sheep Blowfly *Lucilia cuprina*. Australian Journal of Zoology, 6(2):139-144.

Wells, J.D., Kurahashi, H. (1994) *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development: rate, variation and the implications for forensic entomology. Medical Entomology and Zoology, 45(4):303-309.

Wells, J.D., Byrd, J.H., Tantawi, T.I. (1999) Key to third-instar *Chrysomyinae* (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United States. Journal of Medical Entomology, 36(5):638-641.

Wells, J., Lamotte, L. (2017) The role of a PMI-prediction model in evaluating forensic entomology experimental design, the importance of covariates, and the utility of response variables for estimating time since death. Insects, 8(2):47.

Whitworth, T. (2010) Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of the West Indies and description of a new species of *Lucilia* Robineau-Desvoidy. Zootaxa 2663(1):1-35.

Whitworth, T., Rognes, K. (2012) Identification of Neotropical blow flies of the genus *Calliphora* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae) with the description of a new species. Zootaxa, 3209(1):1-27.

Whitworth, T. (2014) A revision of the neotropical species of *Lucilia* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae). Zootaxa 3810(1):1-76.

Wolff, M.I., Kosmann, C. (2016) Families Calliphoridae and Mesembrinellidae. In: Wolff, M.I., Nihei, S.S., Carvalho, C.J.B. (eds.) Catalogue of Diptera of Colombia. Zootaxa 4122, 856–875.

Yan, L., Pape, T., Meusemann, K., Kutty, S.N., Meier, R., Bayless, K.M., Zhang, D. (2021) Monophyletic blowflies revealed by phylogenomics. BMC Biology, 19(1):1-14.

Yusseff-Vanegas, S. (2014) Description of third instars of *Cochliomyia minima* (Diptera: Calliphoridae) from West Indies, and updated identification key. Journal of Medical Entomology, 51(5):1051-1056.

Zhu, J.J., Chaudhury, M.F. (2013) Tangtrakulwanich, K.; Skoda, S.R.; Identification of oviposition attractants of the secondary screwworm, Cochliomyia macellaria (F.) released from rotten chicken liver. Journal of Chemical Ecology, 39(11):1407-1414.

Zumpt, F. (1965) Myiasis in man and animals in the Old World. A Textbook For physicians, Veterinarians and Zoologists. Butterworths, London, pp. 267.

10. Material Suplementar

Material Suplementar [1]

Espécies	Hábito alimentar/comportament 0	Condições ambientais em que os corpos estavam expostos	Distribuição	Referências
<i>Calliphora latifrons</i> Hough	necrófago	Outdoor: floresta	ME	Malainey e Anderson, 2020
Calliphora lopesi Mello	necrófago	Indoor: urbano	BR, AR, EC, UR	Gaedke e Mouga, 2017
<i>Calliphora nigribasis</i> Macquart	necrófago	Outdoor: floresta, ecótono	AR, BO, CO, EC, PE, VE	Centeno et al. 2002; Martinez et al. 2007
<i>Calliphora vicina</i> Robineau-Desvoidy	necrófago	Outdoor: floresta, estepe, ecótono	BR, AR, CO, CH, CU, PN, UK, UR, VE	Introna e Campobasso, 1998; Centeno et al. 2002; Armani et al., 2015
Chlorobrachycoma splendida Townsend, 1918	necrófago	Outdoor: urbano	BO, CO, EC, PE	Budai e Canepa, 2018
Chloroprocta idioidea (Robineau-Desvoidy)	necrófago	Outdoor: floresta, restinga, caatinga, rural	BR, AR, BA, CO, CR, CU, EC, ES, GU, FG, GT, ME, NI, PN, PG, PE, TT, VE, DR	Cavalcante et al. 2015; Amat et al. 2016; Vasconcelos et al. 2016; Ramos-Pastrana et al. 2018

<i>Chrysomya albiceps</i> (Wiedemann)	necrófago; predador	Outdoor: caatinga, cerrado, floresta, restinga, estepe, rural, ecótono, campos; Indoor: urbano	BR, AR, BO, CO, EC, DO, GT, NI, PG, PE, PR, UR, VE	Introna e Campobasso, 1998; Faria e Godoy, 2001; Centeno et al. 2002; Carvalho et al., 2004; Rosa et al. 2009; Grisales et al. 2010; Oliveira e Vasconcelos, 2010; Kosmann et al.2011; Faria et al., 2013; Vasconcelos et al., 2014; 2016;2017; Armani et al., 2015; Cavalcante et al., 2015; Amat et al. 2016; Gaedke e Mouga, 2017; Ramos-Pastrana et al. 2018; Thyssen et al. 2018; Corrêa et al. 2019
<i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius)	necrófago	Outdoor: caatinga, floresta, restinga, pampa, rural, ecótono; Indoor: urbano	BR, AR, CO, DO, DR, GAT, JA, ME, NI, PR, PE, VE,	Centeno et al. 2002; Carvalho et al., 2004; Grisales et al. 2010; Oliveira e Vasconcelos, 2010; Vasconcelos et al., 2014; 2017; Cavalcante et al., 2015; Amat et al. 2016; Gaedke e Mouga, 2017; Thyssen et al. 2018
Chrysomya putoria (Wiedemann)	necrófago	Outdoor: caatinga, cerrado, floresta, restinga, rural; Indoor: urbano	BR, AR, BO, CO, PN, PG, PE, VE	Carvalho et al., 2004; Rosa et al., 2009; Faria et al., 2013; Vasconcelos et al., 2014; 2016; Cavalcante et al. 2015; Amat et al. 2016; Thyssen et al. 2018; Corrêa et al. 2019
Chrysomya rufifacies (Macquart)	necrófago; parasita	Outdoor: urbano	AR, CO, CU, DO, GT, JA, ME, PR	Sukontason et al. 2008; Sanford et al. 2014
Cochliomyia hominivorax (Coquerel)	parasita	Outdoor: floresta, cerrado; Indoor: urbano	BR, AR, BA, CH, CO, CR, CU, DR, EC, FG, GAT, GT, JA, ME, NI, PN, PE, PR	Thyssen et al. 2012; Mastrangelo et al., 2014

<i>Cochliomyia macellaria</i> (Fabricius)	necrófago	Outdoor: caatinga, floresta, rural, ecótono	BR, AR, BA, BEL, BER, BO, CA, CH, CO, CR, CU, DR, EC, GAT, GT, GU, HO, JA, ME, NI, PN, PG, PE, TT, UR, VE	Centeno et al.2002; Oliveira-Costa e Mello-Patiu, 2004; Grisales et al. 2010; Oliveira e Vasconcelos, 2010; Amat et al. 2016; Vasconcelos et al. 2016; Ramos- Pastrana et al. 2018
<i>Cochliomyia minima</i> Del Ponte	necrófago	Outdoor: rural	CU, DR, JA, IV, PR	Yusseff-Vanegas, 2014
<i>Compsomyiops</i> arequipensis (Mello, 1968)	necrófago	Outdoor: floresta	BO, CO, EC, PR	Martinez et al. 2007
Compsomyiops callipes Bigot	necrófago	Outdoor: rural	BO, ME	Honda et al. 2008
Compsomyiops fulvicrura (Robineau-Desvoidy)	necrófago	Outdoor: estepes, ecótono	BR, AR, BO, CH, GU, ME, UR	Trigo, 2006; Armani et al., 2015
Compsomyiops verena Walker	necrófago	Outdoor: floresta, rural	AR, CO, CR, PE, VE	Martinez et al. 2007; Grisales et al. 2010
<i>Hemilucilia segmentaria</i> (Fabricius)	necrófago	Outdoor: cerrado, floresta, ecótono, campos, rural; Indoor: urbano	BR, AR, BO, CH, CO, CR, EC, ES, GT, GU, ME, PN, PG, PE, TT, VE	Rosa et al. 2009; Kosmann et al.2011; Faria et al., 2013; Vasconcelos et al. 2013; 2017; Amat et al. 2016; Gaedke e Mouga, 2017
<i>Hemilucilia semidiaphana</i> (Rondani)	necrófago	Outdoor: floresta, rural; Indoor: urbano	BR, AR, BO, CO, CR, EC, GT, GU, ME, PN, PG, PE, TT, VE	Grisales et al. 2010; Vasconcelos et al. 2013; Amat et al. 2016; Gaedke e Mouga, 2017; Ramos-Pastrana et al. 2018; Thyssen et al. 2018; Corrêa et al. 2019

Lucilia cluvia (Walker)	necrófago	Outdoor: ecótono	BA, CR, CU, GT, GAT, HO, MA, ME, NI, PR, VE	Centeno et al. 2002
Lucilia cuprina (Wiedemann)	necrófago; parasita	Outdoor: floresta; campos; Indoor: urbano	AR, BA, BER, BR, CO, CU, EC, HA, IV, JA, ME, PE, PR, TT, UR, PG, VE	Sukontason et al. 2007; Ahadizadeh et al. 2015; Gaedke e Mouga, 2017
<i>Lucilia eximia</i> (Wiedemann)	necrófago; parasita	Outdoor: caatinga, cerrado, floresta, restinga, rural; Indoor: urbano	BR, AR, BAR, BEL, BO, CH, CO, CR, DO, DR, EC, ES, FG, GT, GU, HO, IV, ME, NI, PE, PN, PG, PR, SVG, SU, TT, UR, VE	Carvalho et al., 2004; Rosa et al. 2009; Grisales et al. 2010; Sanford et al. 2014; Cavalcante et al. 2015; Amat et al. 2016; Vasconcelos et al. 2016; Gaedke e Mouga, 2017; Ramos-Pastrana et al. 2018; Thyssen et al. 2018; Corrêa et al. 2019
Lucilia mexicana (Macquart)	necrófago	Outdoor: floresta; Indoor: urbano	ME, GT, HO	Cano e Barillas, 2021
Lucilia purpurascens (Walker)	necrófago	Outdoor: urbano	BR, AR, BO, CO, CR, EC, GT, ME, PE, PN, VE	Garcia-Ruilova et al.,2020
Lucilia sericata (Walker)	necrófago	Outdoor: ecótono; Indoor: urbano	BR, AR, BER, CH, CO, EC, PE, VE	Centeno et al. 2002, Corrêa et al. 2019
Paralucilia fulvinota (Bigot)	necrófago	Outdoor: floresta	AR, BO, BEL, BR, CH, CO, CR, EC, GT, GU, HO, ME, PN, PE, VE	Pujol-Luz et al. 2006; Sales et al., 2021
Paralucilia paraensis (Mello)	necrófago	Outdoor: floresta, rural, ecótono	BR, CO, CR, GT, GU, PN, PG, PE, SU, VE	Centeno et al. 2002; Amat et al. 2016; Ramos-Pastrana et al. 2018

Paralucilia pseudolyrcea (Mello)	necrófago	Outdoor: ecótono, estepes, rural	BR, AR, BO, CO, PG	Centeno et al. 2002; Armani et al., 2015; Corrêa et al. 2019
Phormia regina (Meignen)	necrófago	Outdoor: floresta, rural, urbano	BA, ME	Vanin et al. 2008; 2009; Honda et al. 2008; Malainey e Anderson, 2020
Protophormia terraenovae (Robineau-Desvoidy)	necrófago	Outdoor: floresta, urbano	AR	Benecke, 1998; Introna e Campobasso, 1998; Grassberger e Reiter, 2002; Patitucci et al. 2011*; Moffat et al. 2016; Malainey e Anderson, 2020
Sarconesia chlorogaster (Wiedemann)	necrófago	Outdoor: rural, ecótono, estepes; Indoor: urbano	BR, AR, BO, CH, EC, PG, PE, UR	Centeno et al. 2002; Armani et al., 2015; Corrêa et al. 2019
Sarconesiopsis magellanica (Le Guillou)	necrófago	Outdoor: floresta	AR, BO, CH, CO, EC, PE	Martinez et al. 2007

Note: AR= Argentina, BA= Bahamas, BAR= Barbados, BER= Bermudas, BEL= Belize; BO= Bolivia, BR= Brasil, CA= Caribe, CH= Chile, CO= Co lombia, CR= Costa Rica, CU= Cuba, DR= Dominican Republic, DO= Dominica, EC= Ecuador, ES= El Salvador, FG= French Guy ana, GAT= Great Antilles, GT= Guatemala, GU= Guyana, HÁ= Haiti, HO= Honduras, IV= Ilhas Virgens, JA= Jamaica, MA= Martinica, ME= Mexico, NI= Nicaragua, PE= Peru, PG= Paraguai, PN= Panama, PR= Puerto Rico, SU= Suriname, SVG= São Vicente e Granadinas, TT= Trinidad and Tobago, UK= United Kingdon (Falkland islands), UR= Uruguai, VE= Venezuela

*Este é o único estudo para a espécie na região Neotropical e foi conduzido utilizando iscas atrativas.

Instructions on how to access some Lucid[™] features and important tips to overcome problems with sample identification, both included in the key in the Portuguese and English versions.

Portuguese version: CONHEÇA ESTA CHAVE

I. Finalidade e modo de apresentação da chave interativa

Esta chave foi elaborada para permitir a identificação de larvas de terceiro estádio de 12 espécies de Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea) de importância forense que podem ser encontradas no Brasil e na região Neotropical. Ela foi desenvolvida através do Lucid[™] (www.lucidcentral.com) objetivando auxiliar peritos, estudantes e diversos profissionais com, ou pouca, familiaridade com a taxonomia, na obtenção de um diagnóstico seguro e confiável. Adicionalmente, imagens e um glossário para termos técnicos foram incluídos ao longo de toda a chave para oferecer mais suporte aos usuários na interpretação e visualização dos caracteres anatômicos.

Figura 1. Janela inicial da chave interativa para larvas de terceiro estádio de Calliphoridae. As setas mostram: o ícone por onde o usuário poderá acessar, se desejar, o glossário, a partir de um clique do mouse, para ver os termos técnicos relativos às características que serão vistas a seguir; e as imagens dos caracteres anatômicos disponíveis naquele passo.



Antes de iniciar o processo de identificação, recomendamos que explore a chave de múltiplo acesso e seus variados recursos. Por exemplo, a interface do programa é composta por quatro

janelas: na primeira, na parte superior e à esquerda (= *Feature available*), estão listados os caracteres anatômicos e seus diversos estados, disponíveis para serem selecionados pelo usuário a qualquer momento em que deseje iniciar o exame do espécime a ser identificado; na segunda, na parte inferior e à esquerda (= *Feature chosen*), aparecerão aqueles caracteres e estados que foram selecionados pelo usuário na primeira janela, mas somente após ter completado ou confirmado a seleção da característica escolhida; na terceira, na parte superior e à direita (= *Entities remaining*) é apresentada a lista de espécies registradas na chave; e na quarta, na parte inferior e à direita (= *Entities Discarded*), aparecerá aquela espécie (ou espécies, após múltiplas seleções) que não contém o caractere selecionado pelo usuário na primeira janela. O processo de seleção e eliminação é dinâmico até que reste apenas uma espécie na terceira janela, a qual representará a "espécie identificada".

II. Como usar a chave interativa?

Você deve iniciar pela primeira janela, onde encontrará um passo para confirmar se a larva a ser identificada, de fato, é de um táxon da família Calliphoridae. O usuário somente terá acesso aos passos seguintes da chave se selecionar o item que contém caracteres morfológicos que distinguem larvas de Calliphoridae de larvas de outros dípteros ou outros insetos holometábolos com morfologia similar.

Como a chave é direcionada para a identificação de larvas de terceiro estádio, subsequente à confirmação de Calliphoridae, o usuário deverá confirmar em que estádio se encontra a larva que está examinando.

Finalmente, passadas as duas primeiras etapas você poderá escolher qualquer caractere anatômico, sem uma ordenação pré-definida. Recomendamos eleger primariamente os caracteres mais acessíveis, isto é, aqueles que podem ser visualizados sem a necessidade de dissecção. Entre esses estão os: espiráculos posteriores, papilas da divisão anal, e bandas de espinhos nos segmentos abdominais. Em certos casos esses caracteres podem não ser suficientes para determinar a espécie. Então por onde recomeçar a examinar seu espécime? Consulte a barra de ferramentas na parte superior da chave, nela você encontrará muitos outros recursos e dicas úteis que interagem com o usuário.

III. Outros recursos disponíveis na chave

Um resumo para cada uma das funções disponíveis na barra de ferramentas (Fig. 2) desta chave de múltiplo acesso pode ser visto abaixo.

Figura 2. Barra de ferramentas da chave Lucid[™] versão 4.0 (imagem original e mais informações disponíveis em <u>https://help.lucidcentral.org/lucid/lucid-player-toolbar/</u>).



→ **Restart key:** usado para retornar à tela inicial e reiniciar a chave; limpa as opções selecionadas e as espécies eliminadas, no caso da chave já ter sido usada uma vez.

→ Collapse tree: diminui a visualização da lista de caracteres anatômicos disponíveis e de seus respectivos estados.

→ Expand tree: expande a visualização da lista de caracteres anatômicos disponíveis e de seus respectivos estados.

→ Search: localiza um caractere, estado ou espécie disponível na chave.

→ **Toggle feature thumbnails:** mostra ou oculta imagens porventura disponíveis na seção de caracteres e/ou estados.

→ **Toggle entity thumbnails:** mostra ou oculta imagens porventura disponíveis na seção de espécies.

 \rightarrow Subsets: "filtra" a chave criando "subgrupos", a partir das informações fornecidas pelo(a/s) autor(a/es) da chave; os subgrupos podem ser constituídos por caracteres ou por espécies, de acordo com a escolha do usuário.

 \rightarrow Find best feature: mostra qual é o melhor caractere a ser observado, após ter sido feita a seleção de qualquer caractere observado anteriormente, visando reduzir o caminho para a identificação da espécie.

→ Prune redundant features & states: remove quaisquer caracteres/estados que não tenham mais relação com o conjunto de espécies que ainda seguem listadas na terceira janela.

→ Differences between entities: lista as diferenças entre os caracteres de cada espécie.

→ Shortcuts: cria atalhos para alcançar a identificação da espécie, ao disponibilizar uma lista de caracteres exclusivos para determinadas espécies.

→ Why discarded: mostra porque uma dada espécie, durante a tentativa de identificação, foi eliminada da terceira janela (neste caso, listando os caracteres que não estão associados à espécie em questão).

IV. Confirmando a identificação da espécie

Ao finalizar a identificação, isto é, quando restar apenas uma espécie na terceira janela, recomendamos que revise os caracteres/estados anatômicos avaliados em seu exemplar e verifique se os mesmos são idênticos às imagens disponíveis na chave.

V. E se eu não conseguir identificar a espécie?

Se não restar qualquer espécie listada na terceira janela, isto significa que nenhuma das espécies contém os caracteres selecionados por você durante o processo de identificação. Uma das razões para isso pode estar associada à seleção equivocada de um caractere ou estado. Procure revisar cada um dos caracteres selecionados previamente e, se for o caso, simplesmente desmarque a seleção equivocada. Outra alternativa pode ser reiniciar a chave para começar seu processo de identificação novamente. Não se esqueça também de explorar recursos disponíveis na barra de ferramentas para guiá-lo em algumas de suas decisões.

Se após revisar os caracteres e reiniciar a chave o problema persistir, é possível que o exemplar examinado pertença a um táxon não contido na chave por se tratar de uma espécie nova, uma espécie recém introduzida e não documentada nesta região geográfica, ou então porque as formas imaturas de uma espécie, cujo o adulto é conhecido, ainda não foram descritas. Em qualquer uma dessas situações, recomendamos procurar um especialista.

Definitions glossary for each character and/or character state for the Portuguese and English versions of the interactive key.

Portuguese version:

Abertura entre os cornos dorsal [CD] e ventral [CV]: distância vertical entre as duas estruturas presentes na região posterior do cefaloesqueleto.

Almofada anal [AA]: localizada na divisão anal, é caracterizada pela presença de dois lobos laterais, um poro anal e um ânus; espinhos distribuídos por todo seu tegumento, quando observada ventral e posteriormente, podem ter valor diagnóstico.

Área interbandas (= intersegmento) [AI]: espaço entre as bandas ou fileiras de espinhos presentes em todos os segmentos corporais da larva.

Bandas (= fileiras) de espinhos: conjunto de espinhos dispostos em linhas horizontais (ou concêntricos, exclusivamente no primeiro segmento torácico **[T1]** de larvas de terceiro estádio). As bandas podem ser classificadas em completas (quando os espinhos circundam o corpo por inteiro) ou incompletas. Em relação à posição dos espinhos dentro de cada banda, as fileiras podem ser classificadas em anteriores (quando os espinhos estão direcionados/voltados para a região posterior da larva) ou posteriores (quando os espinhos estão direcionados/voltados para a região anterior da larva).

Barra parastomal (= barra paraclipeal) [BP]: estrutura, em geral, bem alongada localizada na parte mais central do cefaloesqueleto e que se encontra fixada à placa vertical.

Botão espiracular (= cicatriz ecdisial): localizado na margem ventral ou ventromediana do peritrema do espiráculo respiratório posterior; a forma dessa estrutura entre as distintas espécies pode variar de completo a incompleto (ou vestigial), ou até mesmo estar ausente.

Cefaloesqueleto: estrutura interna, composta por vários escleritos (gancho oral, esclerito intermediário, esclerito oral acessório, entre outros), presente nos segmentos anteriores da larva; somente pode ser visualizado após dissecção ou quando utilizada alguma técnica de clareamento do tegumento.

Cinturão lateral de rastejamento (= área fusiforme lateral) [CLR]: conjunto de espinhos muito próximos e concentrados (parecendo manchas) na lateral de alguns dos segmentos abdominais; pode não estar presente em algumas espécies.

Corno dorsal [CD]: extremidade posterior e dorsal (= superior) do cefaloesqueleto, quando visto lateralmente e com o gancho oral **[GO]** orientado para a esquerda.

Corno ventral [CV]: extremidade posterior e ventral (= inferior) do cefaloesqueleto, quando visto lateralmente e com o gancho oral **[GO]** orientado para a esquerda.

Corpo da larva: composto por 12 segmentos, dos quais: 1 é chamado de pseudocéfalo (= 1° segmento [**Pc**]), 3 são denominados como segmentos torácicos (do 2° ao 4° segmento [**T1–T3**]), 7 são denominados como segmentos abdominais (do 5° ao 11° segmento [**A1–A7**]), e o último corresponde ao segmento denominado como divisão anal (12° segmento [**DA**]). O início e o fim de cada segmento são delimitados por evaginações proeminentes do tegumento.

Esclerito intermediário (= esclerito hipostomal) [EI]: estrutura que liga os ganchos orais e a placa vertical; este esclerito tem a forma da letra "H" quando o cefaloesqueleto é observado ventralmente.

Esclerito oral acessório (= esclerito oral) [EO]: localizado na parte anterior do cefaloesqueleto e entre os ganchos orais.

Espinhos do primeiro segmento torácico [T1]: são aqueles localizados no segundo segmento do corpo da larva; a variação de formas dos espinhos, principalmente na região mediana da banda em que estão localizados, tem valor diagnóstico.

Espiráculo respiratório anterior [EA]: presente no segundo segmento do corpo da larva (também denominado como primeiro segmento torácico ou T1). No primeiro estádio larval tem uma única abertura, por isso, frequentemente, a estrutura parece ausente sob microscopia comum. Nos segundo e terceiro estádios larvais apresenta lobos (= projeções digitiformes) bem desenvolvidos e, em geral, sua forma lembra um leque. Cada larva contém um par de EA, presente nas regiões laterais do corpo.

Espiráculo respiratório posterior [EP]: presente na divisão anal, é uma estrutura composta por fenda ou fendas (o número varia entre 1–3 dependendo do estádio em que a larva se encontra) ligadas às traquéias respiratórias **[Tr]**, mais uma membrana que as circundam, denominada como peritrema (cuja forma lembra um anel, especialmente nos segundo e terceiro estádios). Cada larva contém um par de EP.

Gancho oral [GO]: par de estruturas apicais do cefaloesqueleto; sua extremidade anterior se assemelha a dentes com graus de curvatura menos ou mais acentuadas (no segundo caso, lembrando um semicírculo) que variam de acordo com a idade da larva, assim como com a espécie.

Hipofaringe [**HI**]: é a entrada para o sistema digestório da larva; está localizada entre os cornos dorsal [**CD**] e ventral [**CV**] e somente pode ser examinada quando o cefaloesqueleto está posicionado ventralmente.

Labro [Lb]: presente acima do gancho oral [GO] e observado exclusivamente em larvas de primeiro estádio.

Papilas dorsais [P1–P3]: estruturas cônicas, ou arredondas, localizadas na porção dorsal da divisão anal **[DA]**, arranjadas em pares, três de cada lado do corpo da larva.

Papilas ventrais [P4–P7]: estruturas cônicas, ou arredondas, localizadas na porção ventral da divisão anal **[DA]**, arranjadas em pares, quatro de cada lado do corpo da larva, das quais três são bem desenvolvidas e facilmente visíveis, e uma diminuta.

Peritrema: membrana que envolve a(s) fenda(s) respiratória(s) do espiráculo respiratório posterior **[EP]**; dependendo da espécie, ou do estádio larval, pode variar em forma e pigmentação, por isso esta estrutura tem valor diagnóstico (para conhecer outros detalhes consultar a descrição de "espiráculo respiratório posterior").

Traqueias respiratórias [Tr]: em forma de tubo, percorrem internamente o corpo da larva, conectando-se ao meio externo através das fendas dos espiráculos respiratórios posteriores. Somente podem ser visualizadas quando a larva é examinada dorsalmente e seu tegumento não se encontra opaco; em condição contrária, a dissecção é recomendada. Pigmentação total ou parcial associada a esta estrutura pode ter valor diagnóstico.

Pigmentação externa ao corno dorsal: pigmentação que se projeta acima do corno dorsal **[CD]**, comumente associada ao grau de esclerotização e à idade larval.

Tegumento: é o tecido que reveste externamente a larva e assegura proteção aos seus órgãos e estruturas internas. Variações de textura e algumas de suas estruturas anexas podem ter valor diagnóstico.

Anexo 1 – Direitos de publicação Springer Nature

SPRINGER NATURE LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Oct 13, 2022

-

This Agreement between Ms. Aline Prado ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	5407230744587
License date	Oct 13, 2022
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Neotropical Entomology
Licensed Content Title	Interactive Key for Third Instar Larvae of Neotropical Blow Flies (Insecta, Diptera, Calliphoridae): the Contribution of Computational Tools to Assist in Species Identification
Licensed Content Author	Aline Marrara Prado Andre Gardelino Savino Patricia Jacqueline Thyssen
Licensed Content Date	Jul 20, 2022
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	electronic
Portion	full article/chapter
Will you be translating?	по
Circulation/distribution	11 - 29
Author of this Springer Nature content	yes
Title	Master in Animal Biology/PhD in Animal Biology
Institution name	University of Campinas
Expected presentation date	Dec 2022
Requestor Location	Ms. Aline Prado Avenida Antonio Carlos do Amaral 473
	Campinas, São Paulo 13059-107 Brazil Atm: Ms. Aline Prado
Total	0.00 USD

Anexo 2 – 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 §5° do Artigo 1° da Informação CCPG-UNICAMP/001/15, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Dissertação de Mestrado, intitulada "Caracterização morfológica e chaves dicotômica e interativa para larvas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea) de importância forense", 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: _

Nome do(a) aluno(a): Aline Marrara do Prado

Assinatura: ________ Nome do(a) orientador(a): Patrícia Jacqueline Thyssen

Data: 21/12/2022

Anexo 3. 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 Caracterização morfológica e chaves dicotômica e interativa para larvas de primeiro e terceiro estádios de espécies de Calliphoridae (Insecta, Diptera, Oestroidea) de importância forense, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 21/12/2022

Nome do(a) autor(a): Aline Marrara do Prado RG n.º 46.876.839-7

Assinatura : _

Assinatura :

Nome do(a) orientador(a): Patrícia Jacqueline Thyssen RG n.º 22.771.091-5