

Thiago de Carvalho Moretti

Dinâmica e modelagem ecológica de dípteros de importância forense

Prof. Dr. Wesley Augusto Conde Godoy

Orientador

Profa. Dra. Patricia Jacqueline Thyssen

Co-Orientadora

Tese apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas, na Área de Concentração de Zoologia.

Botucatu – São Paulo

2011

Moretti, Thiago de Carvalho.

Dinâmica e modelagem ecológica de dípteros de importância forense /
Thiago de Carvalho Moretti. - Botucatu, 2011

Tese (doutorado) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade
Estadual Paulista, 2011

Orientador: Wesley Augusto Conde Godoy

Co-orientador: Patricia Jacqueline Thyssen

Capes: 21303002

1. Mosca-varejeira. 2. Entomologia forense. 3. Inseto – População.

Palavras-chave: Calliphoridae; Dinâmica populacional; Entomologia forense;
Estação de morte; Modelagem ecológica; Vespidae.

Agradecimentos

Aos meus pais e ao meu irmão, pelo amor, carinho, incentivo, paciência e respeito incondicional por minha educação;

A Wesley Godoy, meu eterno orientador, pela amizade, orientação, exemplo de como ser excelente profissional sem abrir mão dos valores humanos;

A Patricia Thyssen, pela co-orientação;

A Arício Linhares, por permitir a utilização de toda infra-estrutura de seu laboratório, e pela ajuda em várias etapas da realização desta tese;

A FAPESP, pela concessão da minha bolsa (2006/60504-9);

A Lúcia O'Dwyer e Tatiane Mariguela, pelas valiosas contribuições no Exame de Qualificação;

Aos amigos de laboratório, tanto em Botucatu quanto em Campinas, pelos momentos de alegria e companheirismo;

A Reinaldo Silva, pela preciosa supervisão de meu estágio docente;

Aos funcionários da seção de pós-graduação do IBB, o Fausto Foresti e Maria Lúcia Fransozo, pela paciência e compreensão.

Sumário

Seção	Página
1. Introdução Geral	04
2. Dinâmica e modelagem matemática espaço temporal aplicada a espécies abundantes no cenário forense nacional	09
3. Ações específicas para a ênfase em grupos taxonômicos ainda negligenciados no contexto forense	52
4. Necrophagy by the social wasp <i>Agelaia pallipes</i> (Hymenoptera: Vespidae, Epiponini): possible forensic implications	54
5. Bait, habitat preferences, and temporal variability of social wasps (Vespidae) attracted to vertebrate carrion	61
6. Modelagem estatística com base na determinação de estações de morte	68
7. Determining the season of death from the family composition of the insects infesting carrion	70

Introdução Geral

Após a morte, os tecidos de animais, inclusive de humanos, atraem uma grande variedade de invertebrados. Portanto, a decomposição de vertebrados terrestres é dominada não só pela ação de organismos como fungos e bactérias, mas também pelos artrópodes, especialmente por insetos sarcossaprófagos (Nuorteva, 1977). Por esta razão, os insetos têm contribuído em investigações legais, sendo esta área conhecida como **entomologia forense**, que pode ser definida como a aplicação do estudo de insetos e outros artrópodes que, em associação com procedimentos criminalísticos, tem o propósito de obter informações úteis para uma investigação criminal (Nuorteva, 1977; Erzinçlioglu, 1983; Keh, 1985; Smith, 1986; Catts & Goff, 1992; Hall, 2001).

Várias aplicações nesta área, ou mais especificamente na **entomologia médico-legal** (subclassificação da entomologia forense), já foram enumeradas por Nuorteva (1977), Keh (1985), Smith (1986), Catts & Haskell (1990), Catts & Goff (1992), Oliva et al. (1995) e Byrd & Castner (2001), tais como: determinação do tempo ou intervalo pós-morte (IPM); local, modo ou causa da morte; movimentação do cadáver; associação dos suspeitos com a cena do crime; investigação de substâncias tóxicas e casos envolvendo possível morte súbita.

Catts (1992) discriminou duas maneiras de determinação do IPM utilizando dados entomológicos: uma dada pela oviposição e/ou larviposição de dípteros no substrato poucas horas depois da morte, com conseqüente determinação da idade da prole; e outra, com a previsão da seqüência e sucessão da fauna de artrópodes. Portanto, o limite mínimo de tempo é estabelecido pela idade dos espécimes imaturos coletados no corpo e o limite máximo é estabelecido pela coleta dos espécimes e a análise do seu padrão de sucessão nos corpos (Oliveira-Costa, 2003).

A importância dos insetos para a Entomologia Forense vem de sua diversidade e presença em quase todos os tipos de habitat (Catts & Goff, 1992). Dentre eles, os dípteros

ganham maior destaque por serem os primeiros a chegar à cena do crime, já que possuem órgãos sensitivos altamente especializados para a detecção de odores e podem ovipor e/ou larvipor aproximadamente 10 minutos após a morte (Campobasso et al., 2001). Além da estimativa do IPM, os insetos ou parte de seus corpos, juntamente com o conhecimento de sua distribuição geográfica, podem ser úteis para determinar se houve deslocamento do corpo depois que a morte ocorreu, já que o transporte do corpo do local onde ocorreu o óbito freqüentemente pode resultar na condução da fauna adquirida no mesmo local. Assim, a discrepância entre a composição de insetos presentes no corpo e a composição de espécies situadas na região geográfica onde o corpo foi descoberto pode fornecer evidências de que a vítima foi deslocada (Hall, 1990).

No Brasil, diversos grupos de pesquisa na área de entomologia aplicada tem se voltado para a criação de um banco de dados de entomologia forense em nível nacional, visando à construção de bases biológicas e ecológicas para a implementação definitiva desta área no país (e.g. Souza & Linhares, 1997; Carvalho et al., 2000; Moretti et al., 2008; Biavati et al., 2010; Oliveira & Vasconcelos, 2010). A complexidade da área demanda esforços voltados para o aprofundamento dos estudos realizados até o momento. Isto implica em dar ênfase para ferramentas analíticas capazes de evidenciar aspectos importantes no contexto de ações forenses nacionais, adequadas à realidade brasileira, visto que os modelos até então implementados tem forte fundamentação em ações de grupos de pesquisa já bem estabelecidos, porém na maioria de origem Européia ou Americana.

No presente estudo, procuramos abordar aspectos básicos da ecologia de insetos de importância forense, com o intuito de incentivar o foco dos especialistas também para as lacunas que não têm sido sistematicamente observadas ao longo do processo de implantação da área no país. Ações desta natureza são importantes para a sustentação e consolidação da entomologia forense no Brasil. Esta tese é subdividida em três capítulos que abordam de

forma combinada três aspectos, que consideramos essenciais para a área: (1) Dinâmica e modelagem matemática espaço-temporal aplicada a espécies abundantes no cenário forense nacional, (2) Ações específicas para a ênfase em grupos taxonômicos ainda negligenciados no contexto forense e (3) Modelagem estatística com base na determinação de estações de morte.

Referências

Biavati G.M., Santana F.H.A. & Pujol-Luz J.R. 2010: A Checklist of Calliphoridae blowflies (Insecta, Diptera) associated with a pig carrion in Central Brazil. *J. Forensic Sci.* **55**: 1603-1606.

Byrd J.H. & Castner J.L. 2001: Insects of Forensic Importance. In: *Forensic Entomology – The utility of arthropods in legal investigations*. CRC Press, USA, pp. 43-80.

Campobasso C.P., Di Vella G. & Introna F. 2001: Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Sci. Int.* **120**: 18-27.

Carvalho L.M.L., Thyssen P.J., Linhares A.X. & Palhares F.B. 2000: A checklist of arthropods associated with carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **95**: 135-138.

Catts E.P. 1992: Problems in estimating the PMI in death investigations. *J. Agric. Entomol.* **9**: 245-255.

Catts E.P. & Haskell N.H. 1990: *Entomology & Death: a procedural guide*. Joyce's Print Shop, USA. 182 p.

Catts E.P. & Goff M.L. 1992: Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.* **37**: 253-272.

Erzinçlioglu Y.Z. 1983: The application of entomology to Forensic Medicine. *Med. Sci. Law* **23**: 57-63.

Hall R.D. 1990: Medico criminal entomology. *In: Catts E.P. & Haskell N.H. Entomology & Death: a procedural guide.* Joyce's Print Shop, USA. pp. 1-8.

Hall R.D. 2001: Introduction: perceptions and status of Forensic Entomology. *In: Byrd J.H. & Castner J.L. Forensic Entomology – The utility of arthropods in legal investigations.* CRC Press, USA. pp.1-16.

Keh B. 1985: Scope and applications of forensic entomology. *Ann. Rev. Entomol.* **30**: 137-154.

Moretti T.C., Ribeiro O.B., Thyssen P.J. & Solis D.R. 2008: Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. *Eur. J. Entomol.* **105**: 691–696.

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

Oliva A., Ravioli J., Trezza F. & Navarri C. 1995: Entomología forense. *Pren. Méd. Argent.* **82**: 229-234.

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

Oliveira-Costa J. 2003: *Entomologia Forense: quando os insetos são vestígios.* Campinas: Ed. Millennium, 257p.

Smith K.G.V. 1986: *A manual of Forensic Entomology.* Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, 205 p.

Souza A.M. & Linhares A.X. 1997: Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in Southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med. Vet. Entomol.* **11**: 8-12.

**Dinâmica e modelagem matemática espaço-temporal aplicada a
espécies abundantes no cenário forense nacional**

Dinâmica e modelagem matemática espaço-temporal aplicada a espécies abundantes no cenário forense nacional

Abstract

Blowflies are complex organisms, and can be used as model in ecological studies, mainly those that involve processes that can be mathematically modelled. In the present study, we carried out an extensive survey of necrophagous insects and selected three blowfly species to estimate demographic parameters using time series models, and to study their dynamic behavior. We believe that the proposed approach will be valuable in the field of forensic entomology, mainly in São Paulo state, where the rising rates of homicides are cause of great concern, and lead to the need of prompt utilization of novel tools to resolve crimes.

Resumo

Moscas-varejeiras apresentam características biológicas complexas, e constituem excelentes modelos de organismos em estudos ecológicos, principalmente aqueles que envolvem processos matematicamente modeláveis. No presente estudo, foram coletados insetos necrófagos e selecionadas três espécies de Calliphoridae com o objetivo de estimar parâmetros demográficos de séries temporais, e estudar o comportamento dinâmico destas espécies. A abordagem proposta é de grande utilidade para a entomologia forense, principalmente no estado de São Paulo, onde há necessidade de utilização de novas ferramentas para a resolução de crimes, tendo em vista a crescente taxa de homicídios.

Introdução

A entomologia forense é usada em investigações criminais com a principal finalidade de determinar o IPM (intervalo pós-morte) e possíveis informações sobre o cadáver (local, modo ou causa da morte) (Keh, 1985). Para isso, aspectos da dinâmica populacional das espécies de insetos de importância forense são usados na construção de modelos analíticos que devem considerar peculiaridades dos ecossistemas locais.

Os insetos compreendem um grupo taxonômico com características bastante interessantes e adequadas para a modelagem ecológica com modelos de dinâmica populacional, sobretudo aqueles que se reproduzem em tempo discreto (Costa & Godoy, 2010). Em modelos de crescimento populacional, os parâmetros demográficos exercem papel preponderante na determinação dos comportamentos dinâmicos. A magnitude dos parâmetros pode determinar que padrões ecológicos da trajetória populacional são capazes de reger o sistema biológico. Além disso, a taxa de crescimento e a estrutura etária são índices frequentemente utilizados na análise do crescimento populacional, sobretudo em populações de insetos (Levin et al., 1997; Cushing et al., 2003). A fecundidade e a sobrevivência são também parâmetros intimamente relacionados à taxa de crescimento, indispensáveis aos modelos matemáticos que exploram o comportamento dinâmico em estudos demográficos (Caswell, 1989; Tuljapurkar & Caswell, 1997; Godoy, 2007).

Há, todavia, outros fatores essenciais para a compreensão dos mecanismos responsáveis pelo comportamento dinâmico de populações naturais, dentre eles a complexidade introduzida pela migração entre populações locais (Vance, 1984; Hastings, 1993; Ruxton, 1995; Hanski & Gilpin, 1997; Hanski, 1999; Serra et al., 2007). A conexão entre populações locais pode esclarecer possíveis relações entre o nível de dispersão, a dependência da densidade e o papel estabilizador da dispersão em modelos potencialmente

caóticos, com repercussão para a probabilidade de extinção local e global (Vance, 1984; Hastings, 1993; Bascombe & Solé, 1994; Hanski & Gilpin, 1997).

O estudo quantitativo dos efeitos resultantes da distribuição espaço-temporal de espécies em seus habitats, tem se tornado foco de interesse de diversos autores (Durrett, 1988; Hastings, 1990; Kareiva, 1994; Durrett & Levin, 1994; Tilman & Kareiva, 1996; Diekmann et al., 1999; Keeling, 1999; Kot, 2001). A modelagem, considerando a dimensão espaço-temporal, é, portanto, a descrição de um sistema que considera a posição e distribuição dos diversos componentes populacionais, quantificados ao longo do tempo (Keeling, 1999).

Assim, ao invés de uma análise que considera apenas as densidades populacionais em função do tempo, a estrutura espacial também é levada em conta. O conceito de estrutura espacial em modelos populacionais é relativamente recente, já que somente após o acesso a uma tecnologia computacional adequada, foi possível quantificar sistematicamente os efeitos gerados pela dimensão espacial sobre as populações (Huston et al., 1988; McGlade, 1993; Levin et al., 1997; Gurney & Nisbet, 1998).

A estrutura espacial tem importantes implicações para a coexistência competitiva (Levin, 1974; Iwasa & Roughgarden, 1986; Kishimoto, 1990; Nee & May, 1992), a persistência de interações hospedeiro-parasitóide e predador-presa (Huffaker, 1958; Allen, 1975; Hilborn, 1975; Gurney & Nisbet, 1978; Nachman, 1981; Fujita, 1983; Reeve, 1988; Sabelis & Diekmann, 1988; Comins et al., 1992) e a persistência regional de pequenas populações sujeitas à extinção local (Den Boer, 1981; Day & Possingham, 1995). Portanto, a estrutura espacial é a característica dominante de modelos de metapopulações espacialmente explícitos (Gilpin & Hanski, 1991; Hanski & Gilpin, 1997; Hanski, 1999; Taneyhill, 2000).

Em populações locais isoladas, a dinâmica de persistência é completamente diferente da dinâmica encontrada em populações acopladas (Kareiva, 1991; Hastings, 1993; Ray et al., 1998). A migração de indivíduos entre populações pode favorecer a persistência de cada

população local ou ainda permitir a recolonização de habitats onde tenha ocorrido extinções locais (Vance, 1984; Fahrig & Paloheimo, 1988; Godoy et al., 1997). Ray et al. (1998) observaram que baixas taxas de migração entre ambientes iguais possibilitam um retardo no tempo de extinção de populações experimentais de *Tribolium*. Dessa forma, populações acopladas por migração entre ambientes homogêneos podem persistir por mais tempo que populações isoladas.

Os modelos matemáticos utilizados até hoje para analisar o equilíbrio populacional de insetos necrófagos, apesar de já incorporarem a estrutura espacial investigada através de mapas acoplados em reticulados, têm analisado os sistemas apenas com dimensão determinística. A exceção pode ser atribuída ao estudo desenvolvido por Serra et al. (2007), no qual populações acopladas por migração local entre dois fragmentos foram analiticamente investigadas. Contudo, o estudo realizado por Serra et al. (2007) não especificou localizações geográficas como é proposto no presente trabalho. Nesse tipo de abordagem, o exato tamanho populacional na geração futura pode ser predito a partir do tamanho populacional da geração atual (Gotelli, 1995; Hastings, 1997). A aleatoriedade é importante para sistemas dinâmicos em ecologia por duas razões. Primeira, não há ambientes naturais absolutamente previsíveis no que diz respeito aos recursos disponíveis para seus habitantes; segunda, os organismos provavelmente não respondem aos estímulos ambientais de forma homogênea (Gurney & Nisbet, 1998).

Dessa forma, a introdução da dimensão probabilística em modelos determinísticos pode representar importante ferramenta para avaliar a probabilidade de extinção populacional em nível local e global, além de obter informações sobre o tamanho mínimo viável para a persistência de uma população sujeita à estocasticidade ambiental e/ou demográfica (Renshaw, 1991). Há parâmetros demográficos que podem exibir variações em seus valores, em função de influências ambientais ou de natureza intra e interespecífica (Gotelli, 1995;

Gurney & Nisbet, 1998). Dentre eles, destacam-se a taxa de sobrevivência e a fecundidade, parâmetros essenciais para análise do crescimento populacional (Prout & McChesney, 1985; Hastings, 1997). Entretanto, a taxa de migração pode não ser constante e flutuar de acordo com a diferença de disponibilidade de recursos entre os habitats (Turchin, 1998).

Insetos necrófagos incluem grupos taxonômicos com características biológicas complexas, constituindo modelos de organismos com alto potencial para investigações ecológicas, sobretudo as que envolvem processos matematicamente modeláveis (Godoy, 2007). Dentre os insetos incluídos nestes grupos destacam-se as moscas-varejeiras (Diptera: Calliphoridae), organismos que vem recebendo atenção de ecólogos por seus atributos biológicos facilmente analisáveis em estudos experimentais, através da conexão entre experimentação laboratorial e/ou campo e a modelagem ecológica (Godoy, 2007).

Levantamentos faunísticos estabelecidos em tempo e espaço definidos possibilitam investigações ecológicas em nível populacional e de comunidade valendo-se de informações da diversidade e abundância populacional (Gotelli, 1995; Godoy, 2007). Quando existem dados obtidos a partir de levantamentos estruturados para avaliar a dinâmica populacional considerando ao mesmo tempo passos sucessivos de tempo em diferentes pontos do espaço, as informações reunidas permitem projetar tendências ecológicas por sucessivas gerações, levando em conta peculiaridades do tempo e do espaço. A combinação entre dados obtidos em levantamentos populacionais e o ferramental matemático usualmente empregado em simulações ecológicas permite a produção e análise de séries temporais exibindo flutuações fortemente associadas à magnitude de parâmetros demográficos, usualmente componentes de modelos matemáticos de crescimento populacional.

No presente estudo procurou-se analisar dados obtidos no tempo e no espaço envolvendo levantamentos faunísticos de insetos necrófagos, selecionando grupos taxonômicos e estimando parâmetros demográficos de séries temporais de espécies

freqüentes e abundantes de insetos importantes no contexto forense, com vistas à modelagem ecológica.

Objetivos

1. Fazer o levantamento faunístico, ao longo de 14 meses, das principais famílias de insetos de importância forense em três ambientes (urbano, rural e silvestre) e seis municípios do estado de São Paulo;
2. Analisar a abundância, ocorrência por município, ambiente e isca de três espécies de moscas-varejeiras de grande abundância e importância forense no Brasil: *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala* e *Lucilia eximia*;
3. Estudar, com o uso de modelos matemáticos e simulações computacionais, a ocorrência de migrações entre essas diferentes localidades, para investigar o comportamento dinâmico destas três espécies, e deste modo, verificar se modelos podem projetar padrões de flutuação compatíveis com a abundância e frequência das principais espécies coletadas.

Material e métodos

Locais de Estudo

As coletas foram realizadas em três ambientes (urbano, rural e silvestre), nos seguintes municípios do estado de São Paulo (Sudeste brasileiro): Artur Nogueira (22°34'22''S, 47°10'22''W), Campinas (22°53'20''S, 47°04'40''W), Cosmópolis (22°38'45''S, 47°11'46''W), Jundiaí (23°11'11''S, 46°53'03''W), Mogi Guaçu (22°22'20''S, 46°56'32''W) e Paulínia (22°45'40''S, 47°09'15''W) (ver mapa dos pontos de coleta no artigo "Bait, habitat preferences, and temporal variability of social wasps (Vespidae) attracted to vertebrate carrion"). Tomando como ponto central o município de Campinas, Artur Nogueira

encontra-se a uma distância de 36 km, Cosmópolis a 27 km, Jundiaí a 60 km, Mogi Guaçu a 85 km e Paulínia a 12 km.

Todas estas cidades têm o mesmo tipo de clima, de acordo com a classificação de Köppen: Cwa – clima subtropical, com invernos secos (temperaturas abaixo de 18°C) e verões quentes e úmidos (temperatura média do mês mais quente superior a 22°C). Este tipo de clima ocorre na maior parte do estado de São Paulo, principalmente nas regiões central e leste, com altitude entre 500 e 700 metros (Setzer, 1966). Caracterização mais detalhada dos locais de estudo pode ser encontrada no artigo: “Bait, habitat preferences, and temporal variability of social wasps (Vespidae) attracted to vertebrate carrion”.

Procedimentos em campo e laboratório

As coletas foram realizadas mensalmente entre setembro 2006 e outubro de 2007. Três tipos de iscas foram utilizados (pedaços de aprox. 12g): sardinha, fígado bovino e vísceras de frango (moela), todas mantidas por 48 h em temperatura ambiente para apodrecerem e se tornarem mais atrativas pelos odores exalados. Armadilhas similares às empregadas para a coleta de dípteros muscóides por vários autores (Ferreira, 1978; Linhares, 1981) foram colocadas aleatoriamente nos locais de estudo. Cada armadilha foi confeccionada com duas garrafas “pet” de 2 litros – aproximadamente 35 cm (altura) e 8 cm (diâmetro) cada uma (ver figura na seção 5). Os fundos das duas garrafas foram removidos para permitir que a garrafa inferior pudesse ser inserida na superior e para permitir a entrada dos insetos pela abertura inferior da garrafa inferior, pintada de preto. A tampa da garrafa inferior foi também removida. Cada um dos ambientes em cada cidade recebeu seis armadilhas por mês, duas para cada tipo de isca, totalizando 18 armadilhas por cidade/mês e 1.512 unidades de amostra durante todo o estudo.

A cada 24 h de exposição, as iscas, que eram inseridas nas armadilhas através de um gancho de ferro, eram repostas. As armadilhas permaneciam fixas em galhos de árvores a uma distância aproximada de 180 cm do solo. As armadilhas permaneciam expostas por um período total de 72 h, após o qual todos os artrópodes encontrados nas armadilhas eram coletados, levados ao laboratório, e mortos por congelamento a -20°C para posterior triagem e identificação. Detalhes sobre os procedimentos em campo e laboratório podem ser encontrados no artigo: “Bait, habitat preferences, and temporal variability of social wasps (Vespidae) attracted to vertebrate carrion”.

Obtenção de dados meteorológicos

Temperatura (em $^{\circ}\text{C}$) e precipitação (em mm) foram obtidas para as cidades e meses de coleta junto ao Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO).

Análise Estatística

a. Análise de Variância

Análise de variância foi utilizada para comparar as abundâncias médias para as três espécies de Calliphoridae (*C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia*) entre os seis municípios, após verificação da normalidade (Beiguelman, 2002).

b. Teste de qui-quadrado

Para verificar a possível preferência de *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia* por tipo de ambiente (urbano, rural e silvestre) e de isca (sardinha, fígado bovino e moela), usou-se o teste de qui-quadrado com base nas frequências de áreas ou iscas preferidas ou não preferidas para as três espécies (Beiguelman, 2002).

c. Coeficiente de Pearson (r)

O Coeficiente de Pearson (r) foi calculado para verificar a correlação entre a abundância de indivíduos coletados das espécies *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia*, e as variáveis ambientais (temperatura média, em °C, e precipitação, em mm).

Estimativa dos parâmetros para a modelagem ecológica

Os parâmetros utilizados para a modelagem ecológica neste estudo foram os convencionalmente usados em modelos de crescimento populacional (Costa & Godoy, 2010), tais como crescimento populacional (r) e capacidade suporte (K). Modelos gerais como o logístico ou a equação de Ricker (1952) são capazes de facilmente descrever trajetórias temporais em populações biológicas, a partir de estimativas de crescimento populacional obtidas com estes parâmetros. A taxa de crescimento foi estimada a partir dos sucessivos valores de abundância encontrados para cada espécie.

Para as simulações foram utilizados os valores médios da taxa de crescimento obtidos ao longo das séries temporais. A estimativa da capacidade suporte foi feita pela utilização dos valores de maior magnitude da série temporal. Para a introdução da dimensão probabilística na simulação os valores da capacidade suporte foram variados aleatoriamente entre máximos e mínimos de acordo com a distribuição uniforme. Os valores para a migração local foram arbitrariamente atribuídos ao termo m , no intuito de obter a homogeneidade na flutuação das três populações, no que diz respeito ao espectro oscilatório.

Modelo de populações acopladas

O modelo de populações acopladas aplicado foi estruturado para investigar a migração entre três populações locais. O propósito de modelar apenas três populações acopladas foi facilitar a compreensão dos processos reguladores da dinâmica populacional,

visando uma análise de sensibilidade paramétrica com interpretação mais detalhada dos fatores que regulam a dinâmica da migração.

Um modelo geral de metapopulações já foi proposto para duas populações conectadas por migração (Hanski, 1999) podendo ser escrito como:

$$\begin{aligned}\frac{dN_1}{dt} &= g(N_1)N_1 - \gamma_{12}(N_1)N_1 + \gamma_{21}(N_2)(1 - \delta_1)N_2 \\ \frac{dN_2}{dt} &= g(N_2)N_2 - \gamma_{21}(N_2)N_2 + \gamma_{12}(N_1)(1 - \delta_2)N_1\end{aligned}\quad (1)$$

onde $g(N_i)$ representa a taxa per capita de variação da população i em função dos nascimentos e mortes, $\gamma_{ij}(N_i)$ é a taxa per capita de emigração da população i para a população j e δ_i é a fração de migrantes que morrem durante a migração. Pressupondo que a dinâmica local de cada população é governada pelo modelo logístico e que a emigração é independente da densidade, as equações acima poderiam ser escritas como:

$$\begin{aligned}\frac{dN_1}{dt} &= r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1}{K_1}\right) - m N_1 + m(1 - \delta) N_2 \\ \frac{dN_2}{dt} &= r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{K_2}\right) - m N_2 + m(1 - \delta) N_1\end{aligned}\quad (2)$$

onde r_i e K_i são respectivamente a taxa intrínseca de crescimento e a capacidade suporte da população i e m a taxa constante de emigração.

Em tempo discreto, o modelo dependente da densidade que poderia ser incorporado às equações de migração pode ser escrito conforme a proposição de Ricker (1952):

$$N_{t+1} = N_t \exp \left[r \left(1 - \frac{N(t)}{K}\right) \right], \quad (3)$$

onde r e K são respectivamente a taxa de crescimento e o tamanho populacional em equilíbrio. Note que a equação (3) não apresenta acoplamento por migração; ela descreve apenas o modelo de Ricker para uma população isolada. No presente estudo, o modelo em

tempo discreto é o mais adequado já que as populações de moscas procriam-se em tempo discreto, situação em que não há sobreposição de gerações.

Roughgarden (1998) propôs um modelo para populações acopladas em tempo discreto mais flexível que o logístico ou o de Ricker (1952), por não ter ainda incorporada a dependência da densidade. O modelo é escrito como:

$$\begin{aligned} N_{1,t+1} &= r_{1,t} [(1-m)N_{1,t} + mN_{2,t}] \\ N_{2,t+1} &= r_{2,t} [mN_{1,t} + (1-m)N_{2,t}] \end{aligned} \quad (4)$$

onde m é a probabilidade de migração de indivíduos da população 1 para a população 2 e vice-versa. Assim, $(1-m)$ é a probabilidade de permanência dos indivíduos no seu ambiente. $N_{x,t}$ é o número de indivíduos no tempo t da população na localização x , onde x é 1 ou 2. A taxa de crescimento geométrico é representada por r na localização x , no tempo t . Se m é zero, as equações descrevem duas populações não-acopladas e se m é $\frac{1}{2}$, as duas populações estão completamente conectadas por migração (Roughgarden, 1998).

O acoplamento das equações da dinâmica envolvendo migração espacial para três sítios populacionais ao modelo dependente da densidade segundo a teoria de Ricker resulta em:

$$\begin{aligned} N_{1,t+1} &= (1 - m_{12} - m_{13}) \left(N_{1,t} \exp \left(r_1 \left(1 - \frac{N_{1,t}}{K_{1al}} \right) \right) \right) + m_{21} \left(N_{2,t} \exp \left(r_2 \left(1 - \frac{N_{2,t}}{K_{2al}} \right) \right) \right) \\ &\quad + m_{31} \left(N_{3,t} \exp \left(r_3 \left(1 - \frac{N_{3,t}}{K_{3al}} \right) \right) \right) \end{aligned} \quad (5a)$$

$$\begin{aligned} N_{2,t+1} &= (1 - m_{21} - m_{23}) \left(N_{2,t} \exp \left(r_2 \left(1 - \frac{N_{2,t}}{K_{2al}} \right) \right) \right) + m_{12} \left(N_{1,t} \exp \left(r_1 \left(1 - \frac{N_{1,t}}{K_{1al}} \right) \right) \right) \\ &\quad + m_{32} \left(N_{3,t} \exp \left(r_3 \left(1 - \frac{N_{3,t}}{K_{3al}} \right) \right) \right) \end{aligned} \quad (5b)$$

$$N_{3,t+1} = (1 - m_{31} - m_{32}) \left(N_{3,t} \exp \left(r_3 \left(1 - \frac{N_{3,t}}{K_{3al}} \right) \right) \right) + m_{13} \left(N_{1,t} \exp \left(r_1 \left(1 - \frac{N_{1,t}}{K_{1al}} \right) \right) \right) \\ + m_{23} \left(N_{2,t} \exp \left(r_2 \left(1 - \frac{N_{2,t}}{K_{2al}} \right) \right) \right) \quad (5c)$$

Nas equações acima, as gerações $N_{1,t+1}$, $N_{2,t+1}$ e $N_{3,t+1}$ descrevem três subpopulações de *C.albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia* dependentes das respectivas populações no tempo anterior (N_t) e governadas pela função exponencial com taxa de crescimento (r) e capacidade suporte (K). O termo m representa a migração local entre os sítios populacionais 1, 2 e 3. Assim, por exemplo, m_{12} descreve a migração do sítio 1 para o 2 e $(1 - m_{12})$ descreve a fração de não migrantes do sítio 1 para o sítio 2.

O termo subscripto *al* que aparece em K descreve a natureza estocástica do termo nas equações. Apesar de tratar-se de um modelo determinístico a estocasticidade foi introduzida em K para dar a dimensão probabilística, de forma que os valores da capacidade suporte podem oscilar entre os valores máximos e mínimos de abundância obtidos para cada espécie de mosca nas coletas realizadas nos municípios. As simulações foram realizadas seguindo a distribuição uniforme, onde os valores foram sorteados por gerador de número aleatório, com probabilidade de ocorrência igual para todos.

Resultados e Discussão

Dados meteorológicos

Temperatura (em °C) e precipitação (em mm) mensais foram obtidas para as cidades de Artur Nogueira (tabela 1), Campinas (tabela 2), Cosmópolis (tabela 3) Jundiaí (tabela 4), Mogi Guaçu (tabela 5) e Paulínia (tabela 6) entre setembro 2006 e outubro de 2007.

Tabela 1. Temperatura (em °C) e precipitação (em mm) mensais para Artur Nogueira

Artur Nogueira		
mês	T (°C)	P(mm)
set.06	21	64,1
out.06	23,6	69,1
nov.06	23,8	171,6
dez.06	25,3	152,2
jan.07	24,5	386,4
fev.07	25,5	130,5
mar.07	25,4	166
abr.07	23,9	52
mai.07	18,7	81,8
jun.07	18,3	32,7
jul.07	17	198
ago.07	19,6	0
set.07	22,8	0
out.07	24,8	59,3
média	22,4	111,7

Tabela 2. Temperatura (em °C) e precipitação (em mm) mensais para Campinas

Campinas		
mês	T (°C)	P(mm)
set.06	21	67,6
out.06	23,4	56,5
nov.06	23,7	184,7
dez.06	25	229,2
jan.07	24,1	404,1
fev.07	25,4	86
mar.07	25,5	192,1
abr.07	24	97
mai.07	19,4	63,5
jun.07	19,7	34,7
jul.07	18	176,4
ago.07	20,8	0
set.07	23,5	7,5
out.07	24,9	100,4
média	22,7	121,4

Tabela 3. Temperatura (em °C) e precipitação (em mm) mensais para Cosmópolis

Cosmópolis		
mês	T (°C)	P(mm)
set.06	21	64,1
out.06	23,6	69,1
nov.06	23,8	171,6
dez.06	25,3	152,2
jan.07	24,5	386,4
fev.07	25,5	130,5
mar.07	25,4	166
abr.07	23,9	52
mai.07	18,7	81,8
jun.07	18,3	32,7
jul.07	17	198
ago.07	19,6	0
set.07	22,8	0
out.07	24,8	59,3
média	22,4	111,7

Tabela 5. Temperatura (em °C) e precipitação (em mm) mensais para Mogi Guaçu

Mogi Guaçu		
mês	T (°C)	P(mm)
set.06	20,9	56,1
out.06	22,1	177,6
nov.06	22,2	188,6
dez.06	23,3	208,4
jan.07	23,2	431,8
fev.07	24,3	92,2
mar.07	24,2	188,8
abr.07	22,9	102
mai.07	18,6	67,1
jun.07	19	26,7
jul.07	18,4	146,2
ago.07	20,6	0
set.07	23,1	0,4
out.07	24,3	92,7
média	21,9	127

Tabela 4. Temperatura (em °C) e precipitação (em mm) mensais para Jundiaí

Jundiaí		
mês	T (°C)	P(mm)
set.06	20,1	52
out.06	22,3	80,7
nov.06	22,6	128,4
dez.06	24,1	275,1
jan.07	23,4	387,6
fev.07	24,4	100
mar.07	24,8	154,3
abr.07	23,4	56,2
mai.07	20,5	51,7
jun.07	18,7	8
jul.07	17,5	202,7
ago.07	19,2	0
set.07	21,4	17,4
out.07	23,2	67,1
média	21,8	112,9

Tabela 6. Temperatura (em °C) e precipitação (em mm) mensais para Paulínia

Paulínia		
mês	T (°C)	P(mm)
set.06	21,3	57,8
out.06	23,7	58,8
nov.06	24,1	171,8
dez.06	25,3	238,2
jan.07	24,7	438
fev.07	25,6	118,6
mar.07	25,8	151,1
abr.07	24,3	42,5
mai.07	19,3	71,1
jun.07	19,3	26,8
jul.07	18,9	199,2
ago.07	20,5	0
set.07	23,5	6,7
out.07	24,8	91,2
média	22,9	119,4

Levantamento faunístico geral

Na figura 1, a abundância das principais famílias de insetos coletados é apresentada. Nota-se predomínio dos dípteros das famílias Calliphoridae, Muscidae, Fanniidae e Sarcophagidae, o que corrobora dados de levantamentos realizados no Brasil (e.g. Souza & Linhares, 1997; Carvalho et al., 2000; Carvalho & Linhares, 2001; Carvalho et al., 2004; Moretti et al., 2008; Oliveira & Vasconcelos, 2010). Entretanto, foram coletados também exemplares das famílias Drosophilidae, Phoridae, Piophilidae, Ulidiidae, Anthomyiidae e Formicidae. Considerando as 10 famílias mais abundantes, foram coletados 21.005 espécimes de insetos. Quanto à preferência por tipo de ambiente (Fig.2), houve preferência pelo ambiente rural, seguido pelo silvestre e, por último, o urbano. A figura 3 mostra a preferência por tipo de isca. Considerando as 10 famílias mais abundantes, houve preferência por frango, seguido por peixe, e, por último, fígado.

A família Calliphoridae (Fig.4) destacou-se em abundância e em riqueza de espécies (nove no total): *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria*, *Cochliomyia macellaria*, *Hemilucilia semidiaphana*, *Hemilucilia segmentaria*, *Lucilia cuprina*, *Lucilia eximia* e *Mesembrinella bellardiana*. Todos os espécimes de *M. bellardiana*, *H. semidiaphana* e *H. segmentaria* foram capturados nas áreas silvestres das cidades, o que pode ser importante para análise de possíveis indicadores forenses para este ambiente específico. *Chrysomya albiceps*, *C. megacephala* e *Lucilia eximia* foram os califorídeos mais abundantes, o que também ocorreu em inúmeros levantamentos de fauna necrófaga no Brasil (e.g. Carvalho & Linhares, 2001). A espécie nativa *Cochliomyia macellaria* apareceu com menor abundância, visto que é competitivamente mais fraca que as espécies de moscas-varejeiras introduzidas, principalmente *Chrysomya albiceps* e *C. megacephala* (Serra et al., 2007).

Com relação à família Muscidae, foram coletados exemplares de *Atherigona orientalis*, *Musca domestica*, *Ophyra* sp. e *Ophyra chalcogaster*. Dentre os forídeos, coletamos exclusivamente *Megaselia scalaris* e, na família Piophilidae, exclusivamente *Piophila casei*. Em relação à família Ulidiidae, coletamos exemplares do gênero *Euxesta*. A família Ulidiidae é primordialmente saprófaga, embora o hábito fitófago tenha se desenvolvido em poucas espécies, incluindo algumas de importância econômica. Larvas e adultos podem alimentar-se de uma grande variedade de culturas vegetais, incluindo batata, tomate, sorgo, cana-de-açúcar, banana, goiaba e laranja. Entretanto, milho e milho doce são as preferencialmente atacadas (Link et al., 1984). Algumas espécies são conhecidas por criar-se em esterco e outros excrementos. Todavia, relatos de ocorrência de Ulidiidae em carcaças de animais, e, portanto de potencial importância forense, são extremamente raros na literatura. No geral, pode-se dizer que pouco se conhece sobre a biologia destas moscas.

A presença deste Ulidiidae em carcaças animais poderia indicar tentativa de oviposição, já que os exudatos oriundos das iscas em decomposição poderiam servir de substrato para desenvolvimento das larvas, as quais normalmente são encontradas em material vegetal em decomposição. A possível oviposição por exemplares adultos do gênero *Euxesta* no exudato pode afetar o microhabitat da carcaça e conseqüentemente interferir na chegada das ondas de colonização seguintes. O consumo dos próprios recursos da carcaça, como fonte protéica adicional, também poderia ser um dos objetivos deste Ulidiidae. Assinala-se, portanto, o possível uso de *Euxesta* em Entomologia Forense, muito embora a família Ulidiidae não faça parte das mais tradicionalmente utilizadas em investigações forenses.

A família Formicidae foi representada por *Azteca* sp., *Cephalotes* sp., *Cephalotes clypeatus*, *Crematogaster* sp., *Dolichoderus* sp., *Pheidole* sp., *Solenopsis* sp. e cinco morfoespécies do gênero *Camponotus*. Deve-se ressaltar que o objetivo principal do presente

estudo não foi a coleta de formigas, o que explica a aparente inadequação das armadilhas, que foram originalmente designadas para a coleta de insetos alados (essencialmente dípteros muscóides). No entanto, este fato não impediu que as formigas se deslocassem dos galhos das árvores para o interior das armadilhas, por meio do cordão usado para fixação. As formigas desempenharam importante papel predatório sobre dípteros retidos nas armadilhas, o que pode gerar conclusões errôneas acerca de censos populacionais em uma dada localidade. As variações na distribuição dos formicídeos entre as diferentes cidades e ambientes estudados não são ocasionadas pela diversidade das condições climáticas, já que as seis cidades apresentam o mesmo tipo de clima (Cwa). Provavelmente, tais variações são causadas por outros fatores, como o tipo de ambiente de exposição das armadilhas (rural, urbano e silvestre) ou o grau relativo de distúrbio das áreas florestais das diferentes cidades consideradas. Por exemplo, a área silvestre de Artur Nogueira (uma das mais preservadas entre todas as cidades) é a que apresentou maior número de exemplares de *Dolichoderus* sp., o que está de acordo com o relato de Shattuck (1992), que apontou os ambientes florestais preservados como os sítios preferenciais para a ocorrência de espécies deste gênero; tal associação também pode explicar a baixíssima quantidade de exemplares de *Dolichoderus* sp. na área urbana das cidades estudadas.

Foram coletados também alguns poucos exemplares de lepidópteros: Nymphalidae: *Paryphthimoides poltys*, *Paryphthimoides phronius*, *Fountainea ryphea* e *Hermeuptychia hermes*; Riodinidae: *Cremna thasus*. Todos os lepidópteros foram coletados nas áreas silvestres das cidades consideradas, o que pode ser importante para análise de possíveis indicadores forenses para este ambiente específico. Representantes de Acrididae, Anthomyiidae, Apidae, Gryllidae, Micropezidae, Neriidae e Tettigoniidae também foram coletados, mas em baixa abundância.

Conclui-se que informações quanto à presença de artrópodes que são negligenciados como fauna cadavérica, associadas ao conhecimento de sua biologia e ecologia, podem constituir-se em importantes ferramentas para aumentar a confiabilidade da estimativa do intervalo pós-morte, quando esta é baseada nos padrões de sucessão ou na composição faunística.

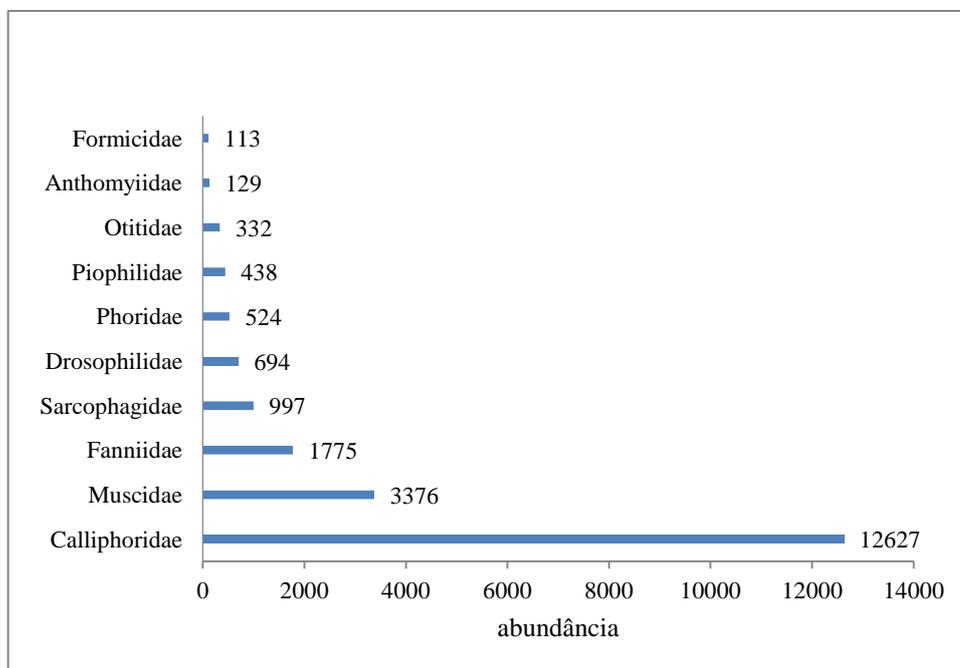


Figura 1. Abundância das principais famílias de insetos coletados

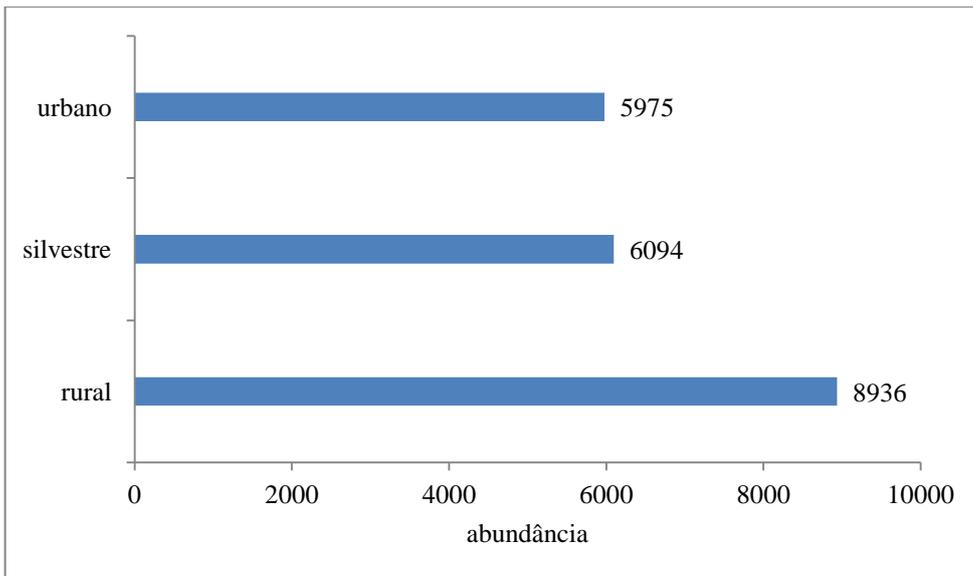


Figura 2. Número de espécimes de insetos por ambiente de coleta

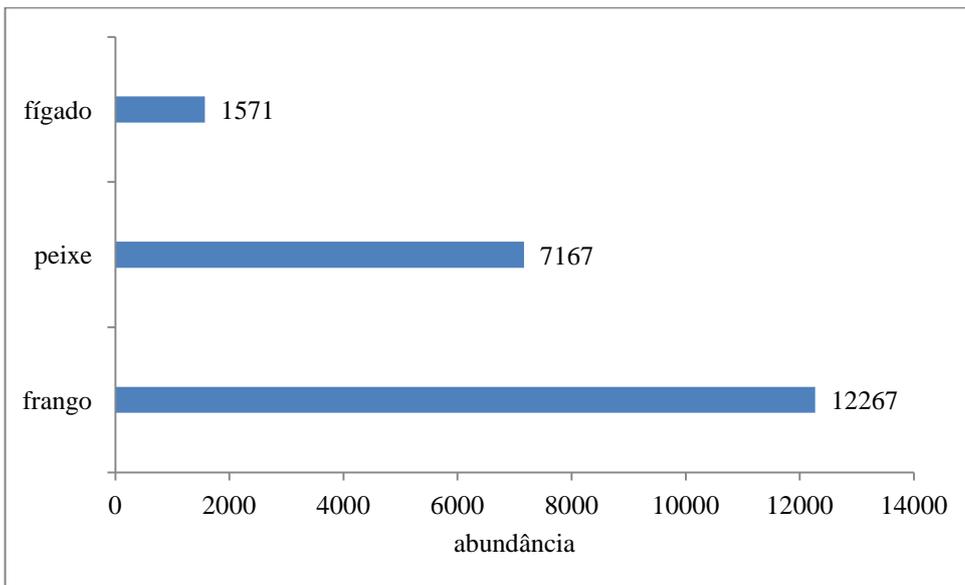


Figura 3. Número de espécimes de insetos por tipo de isca

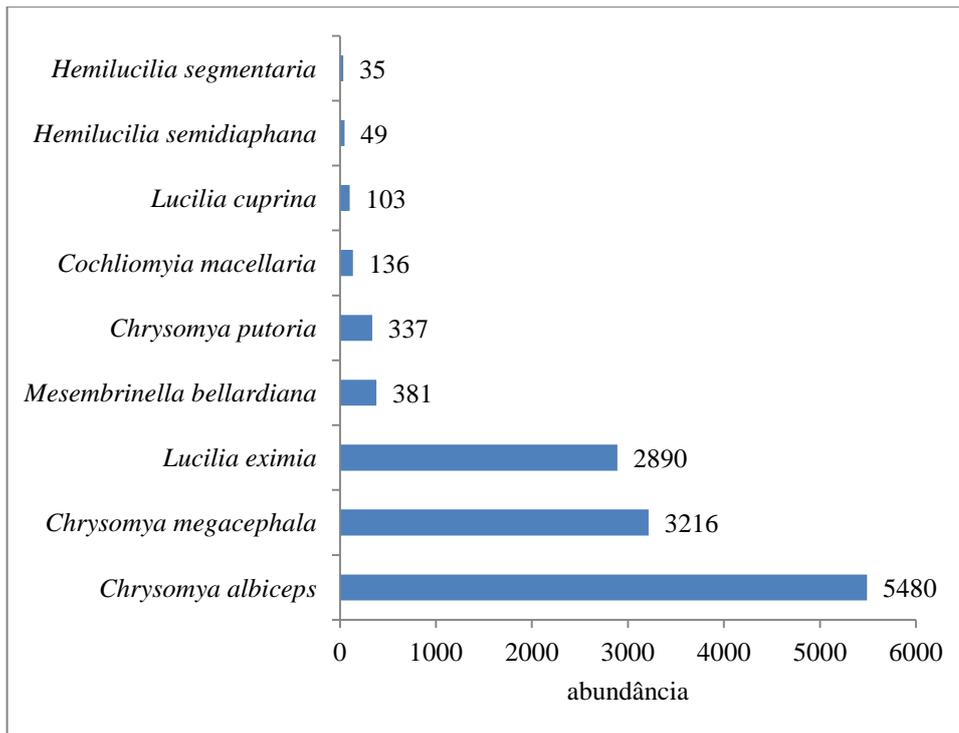


Figura 4. Espécies de Calliphoridae coletadas e sua abundância

Abundância, ocorrência por cidade, ambiente e isca para *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala* e *Lucilia eximia*.

Chrysomya albiceps, *C. megacephala* e *L. eximia* são califorídeos de grande importância forense no Brasil e abundantemente coletados no presente estudo. Portanto, estas três espécies foram estudadas em maior profundidade e foram utilizadas nas simulações. Nas tabelas 7,8 e 9, são mostradas as abundâncias, por mês (entre setembro de 2006 e outubro de 2007) e por cidade de coleta - Artur Nogueira (A.N), Campinas (CAM), Cosmópolis (COS), Jundiaí (JUN), Mogi Guaçu (M.G) e Paulínia (PAUL) - das espécies *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia*, respectivamente. Observa-se na tabela 7 que o mês que apresentou maior abundância de *C. albiceps* foi novembro de 2006, enquanto que o mês que apresentou menor abundância foi maio de 2007. A cidade que apresentou maior número de espécimes de

C. albiceps ao longo do estudo foi Campinas, enquanto que em Jundiaí foi coletado o menor número de exemplares para esta espécie. Na tabela 8 nota-se que o mês que apresentou maior abundância de *C. megacephala* foi também novembro de 2006, enquanto que o mês que apresentou menor abundância foi setembro de 2007. A cidade que apresentou maior número de espécimes de *C. megacephala* ao longo do estudo foi Cosmópolis, enquanto que em Jundiaí foi coletado o menor número de exemplares para esta espécie. Por fim, a tabela 9 mostra que a maior abundância de *L. eximia* ocorreu em abril de 2007, enquanto que a menor, em janeiro de 2007. Artur Nogueira foi a cidade na qual se registrou o maior número de espécimes de *L. eximia* durante o estudo, enquanto que em Paulínia foi coletado o menor número de espécimes de *L. eximia*.

Tabela 7. Abundância de *C. albiceps*, por mês e cidade, durante período de coleta.

MÊS	A.N	CAM	COS	JUN	M.G	PAUL	Σ
set./06	134	167	223	20	87	114	745
out/06	177	110	301	46	20	4	658
nov/06	109	449	39	9	78	124	808
dez/06	97	99	34	7	43	23	303
jan/07	11	127	97	23	9	39	306
fev/07	30	38	64	70	69	29	300
mar/07	30	45	19	19	10	21	144
abr/07	122	34	41	120	24	20	361
mai/07	39	2	18	0	39	29	127
jun/07	43	67	50	0	11	18	189
jul/07	49	120	0	0	12	7	188
ago/07	0	27	20	34	100	0	181
set/07	129	298	87	12	12	57	595
out/07	320	198	29	8	17	3	575
Σ	1.290	1781	1.022	368	531	488	5.480

Tabela 8. Abundância de *C. megacephala*, por mês e cidade, durante período de coleta.

MÊS	A.N	CAM	COS	JUN	M.G	PAUL	Σ
set./06	20	61	138	10	26	8	263
out/06	1	14	68	7	7	0	97
nov/06	107	279	181	66	95	65	793
dez/06	61	55	139	0	18	3	276
jan/07	23	10	78	43	44	81	279
fev/07	78	40	12	24	24	65	243
mar/07	66	21	44	56	120	77	384
abr/07	23	11	134	90	7	0	265
mai/07	50	22	17	0	56	28	173
jun/07	2	21	14	0	0	8	45
jul/07	33	100	2	27	4	48	214
ago/07	8	0	45	0	0	0	53
set/07	0	9	0	0	0	12	21
out/07	46	44	0	1	10	9	110
Σ	518	687	872	324	411	404	3.216

Tabela 9. Abundância de *L. eximia*, por mês e cidade, durante período de coleta.

MÊS	A.N	CAM	COS	JUN	M.G	PAUL	Σ
set./06	92	73	29	21	34	0	249
out/06	1	2	35	20	2	36	96
nov/06	209	11	14	2	1	9	246
dez/06	40	33	14	17	0	0	104
jan/07	0	0	0	0	1	4	5
fev/07	6	3	12	11	39	11	82
mar/07	9	20	11	22	56	90	208
abr/07	227	202	99	234	50	47	859
mai/07	0	12	7	84	0	59	162
jun/07	45	9	2	0	2	0	58
jul/07	32	107	51	9	6	0	205
ago/07	0	2	2	61	88	0	153
set/07	114	12	100	0	55	69	350
out/07	6	0	61	40	6	0	113
Σ	781	486	437	521	340	325	2.890

A análise de variância mostrou que, para *C. megacephala* (F=1.383, p=0.239) e *Lucilia eximia* (F=0.735, p=0.599), a abundância não difere significativamente entre os municípios, mas para *C. albiceps* (F=3.969, p=0.002), existe diferença significativa. O fato de esta espécie ser predadora na fase larval (Faria et al., 1999) pode ser uma explicação para esta variação, afinal as condições que governam as taxas de predação são várias, dentre as de natureza ambiental, demográfica e interativa, e certamente influenciam as populações de forma diferente entre as localidades.

Tabela 10. Preferências por tipo de ambiente e de isca para *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia*.

<i>C. albiceps</i> (n=5480)			<i>C. megacephala</i> (n=3216)			<i>L. eximia</i> (n=2890)		
ambiente	%	n	ambiente	%	n	ambiente	%	n
urbano	46.69	2559	urbano	39.95	1284	urbano	60.31	1743
rural	33.71	1847	rural	41.64	1339	rural	24.36	704
silvestre	19.60	1074	silvestre	18.41	593	silvestre	15.33	443
isca	%	n	isca	%	n	isca	%	n
frango	58.08	3182	frango	53.83	1731	frango	73.93	2137
peixe	40.47	2217	peixe	38.81	1248	peixe	18.34	530
fígado	01.45	81	fígado	7.36	237	fígado	7.73	223

O teste de Teste de qui-quadrado mostrou que, para *C. albiceps*, a diferença entre os percentuais de preferência sobre as três áreas foi estatisticamente significativa, sugerindo que esta espécie tem preferência por área urbana, seguida da rural ($\chi^2 = 905.9$, g.l. =2, $p < 0.01$). No que diz respeito à comparação entre iscas, *C. albiceps* preferiu frango, seguido de peixe ($\chi^2 = 4135.9$, g.l. =2, $p < 0.01$) (tabela 10). Para *C. megacephala*, a preferência foi para a área rural, seguida da área urbana ($\chi^2 = 483,6$, g.l. =2, $p < 0.01$). Porém, entre as áreas rural e urbana a diferença não foi significativa ($\chi^2 = 1,87$ g.l. =1, $p = 0.17$). No caso da preferência por iscas, *C. megacephala* preferiu frango, seguido de peixe ($\chi^2 = 1626,6$, g.l. =2, $p < 0.01$) (tabela 10).

Finalmente, para *L. eximia* a área preferida foi a urbana, seguida da rural ($\chi^2 = 1472,8$, g.l. =2, $p < 0.01$). No caso das iscas, *L. eximia* preferiu frango, seguido de peixe ($\chi^2 = 3290.7$ g.l. =2, $p < 0.01$). Para as três espécies, maior quantidade de espécimes foi coletada com a utilização de moela de frango com isca. Uma possível explicação para este fato é que a moela exalava um cheiro muito mais acentuado durante a exposição das iscas, o que pode ter atraído maior número de insetos.

Coefficiente de Pearson (r)

Como pode ser observado na tabela 11, as correlações são fracas (apesar de significativas $p < 0.05$), algumas positivas, outras negativas. A espécie cuja abundância menos se relaciona com as variáveis ambientais (temperatura média e precipitação) foi *C. albiceps*, e a que mais exibiu coeficientes de maior magnitude foi *C. megacephala*.

Taxa de crescimento

As taxas de crescimento das espécies *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia* nas seis cidades de estudo apresentaram valores próximos a 1 (tabela 12). Sendo assim, o modelo determinístico não evidenciaria variedade de comportamentos cíclicos (Gotelli, 1995). Neste caso, simulações com o emprego de estocasticidade poderiam revelar padrões de flutuação outrora não revelados por populações exibindo equilíbrio estável. Assim, a estocasticidade foi introduzida para que os modelos produzissem variação aleatória em sucessivos passos de tempo.

Tabela 11. Correlação entre as espécies *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia* e variáveis ambientais

	<i>C. albiceps</i>	<i>C. megacephala</i>	<i>L. eximia</i>
A.N/T (°C)	0,32	0,42	0,11
A.N/P(mm)	-0,33	0,37	-0,17
CAM/T (°C)	0,18	-0,01	-0,16
CAM/P(mm)	0,11	0,22	-0,01
COS/T (°C)	0,14	0,33	0,10
COS/P(mm)	-0,09	0,20	-0,38
JUN/T (°C)	0,39	0,41	0,10
JUN/P(mm)	-0,15	0,26	-0,28
M.G/T (°C)	-0,08	0,23	0,21
M.G/P(mm)	-0,30	0,40	-0,46
PAUL/T (°C)	0,07	0,30	0,22
PAUL/P(mm)	0,08	0,66	-0,25

A.N: Artur Nogueira; **CAM:** Campinas; **COS:** Cosmópolis; **JUN:** Jundiá; **M.G:** Mogi Guaçu; **PAUL:** Paulínia;

T: temperatura; **P:** precipitação ($p < 0.05$).

Tabela 12. Taxas de crescimento de *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia* nas seis cidades de estudo.

	<i>Chrysomya albiceps</i>	<i>Chrysomya megacephala</i>	<i>Lucilia eximia</i>
Artur Nogueira	1,07	1,06	0,81
Campinas	1,01	0,97	0,5
Cosmópolis	0,85	0,48	1,05
Jundiá	0,93	0,84	1,05
Mogi Guaçu	0,88	0,93	0,87
Paulínia	0,75	1	1

Modelo de populações acopladas e simulações computacionais

A vantagem das simulações estocásticas mostradas a seguir é que a partir de um pequeno conjunto de dados pode-se simular a dinâmica das espécies considerando as variações em abundância, e assim conhecer melhor os potenciais de cada espécie frente ao ambiente a que estão sujeitas.

As simulações com o modelo dependente da densidade estruturado para migrações locais entre três sítios populacionais indicam série temporal com maior abundância para *C. albiceps* no município de Campinas, se comparada aos outros dois municípios, Artur Nogueira e Cosmópolis (Fig. 5A). Para que as três populações obtenham espectros de oscilação similares foi necessária a atribuição de 0.1 para m (migração local), nos sentidos Campinas para Artur Nogueira e Campinas para Cosmópolis (Fig. 5B).

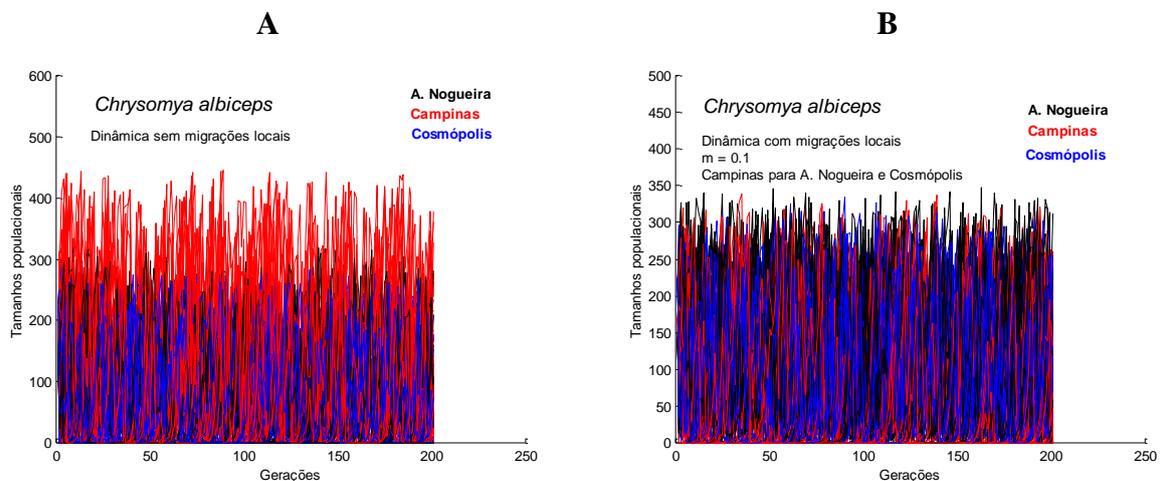


Fig. 5. Simulações da recorrência no tempo para populações de *C. albiceps* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

As simulações com o modelo dependente da densidade estruturado para migrações locais entre os três mesmos sítios populacionais (Artur Nogueira, Campinas e Cosmópolis) da figura 6 indicam série temporal com maior abundância para *C. megacephala* no município de

Cosmópolis, se comparada aos outros dois municípios, Artur Nogueira e Campinas (Fig. 6A). Para que as três populações obtenham espectros de oscilação similares foi necessária a atribuição de 0.15 para m , no sentido Cosmópolis para Artur Nogueira (Fig. 6B).

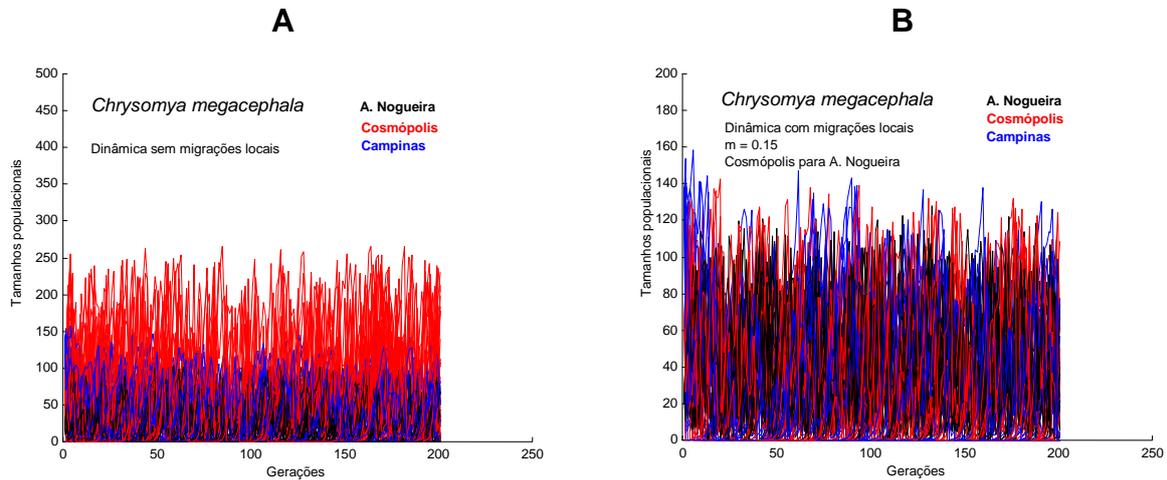


Fig. 6. Simulações da recorrência no tempo para populações de *C. megacephala* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Para o caso da espécie *L. eximia*, a maior abundância ocorreu em Artur Nogueira, diferindo das espécies de *Chrysomya* (*C. albiceps* e *C. megacephala*) (Fig. 7A). Outro aspecto interessante é que houve necessidade de atribuir $m=0.2$ (diferindo também das taxas de migração atribuídas para as duas espécies anteriores) nos sentidos A. Nogueira para Cosmópolis e Campinas para Cosmópolis para a obtenção de espectros de oscilação similares (Fig. 7B).

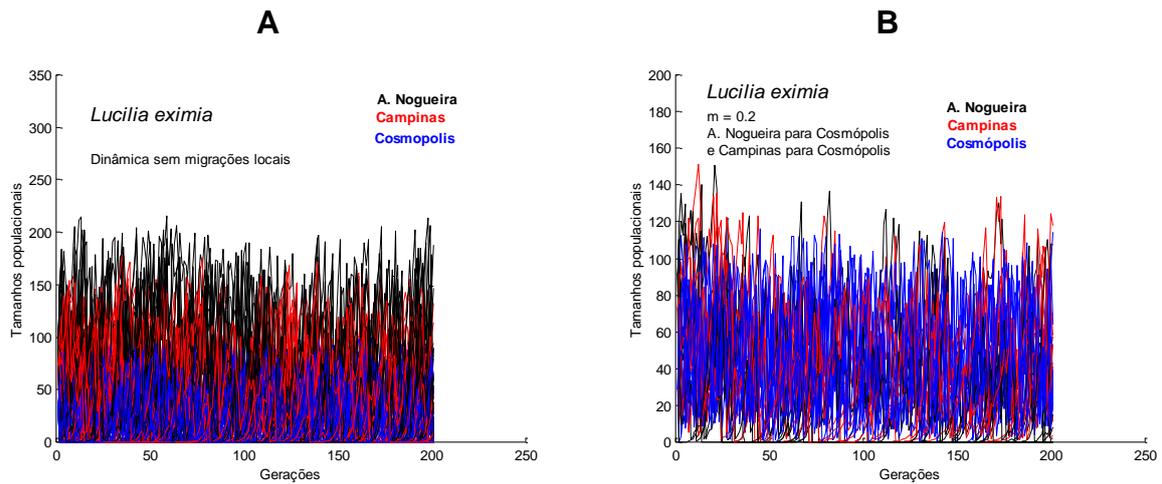


Fig. 7. Simulações da recorrência no tempo para populações de *L. eximia* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Observa-se claramente (Fig. 8A) a diferença entre a abundância de *C. albiceps* em Campinas e nos outros dois municípios analisados (Jundiaí e Paulínia). Para populações isoladas, Campinas possui quatro vezes a população deste califorídeo em relação às duas outras cidades. Além disso, para a obtenção de espectros de oscilação similares, houve necessidade de utilizar uma taxa de migração $m=0.2$ nos sentidos Campinas para Jundiaí e Campinas para Paulínia (Fig. 8B). Jundiaí, mesmo sendo uma cidade de alta densidade demográfica, apresentou baixa abundância de *C. albiceps*. Poderíamos deduzir que a diferença na abundância para esta espécie entre estas duas cidades estaria relacionada a fatores climáticos, já que Campinas apresenta temperaturas médias mais elevadas que Jundiaí. No entanto, *C. albiceps* foi a espécie cuja abundância menos se relaciona às variáveis climáticas, de acordo com os cálculos dos coeficientes de Pearson (Tabela 11).

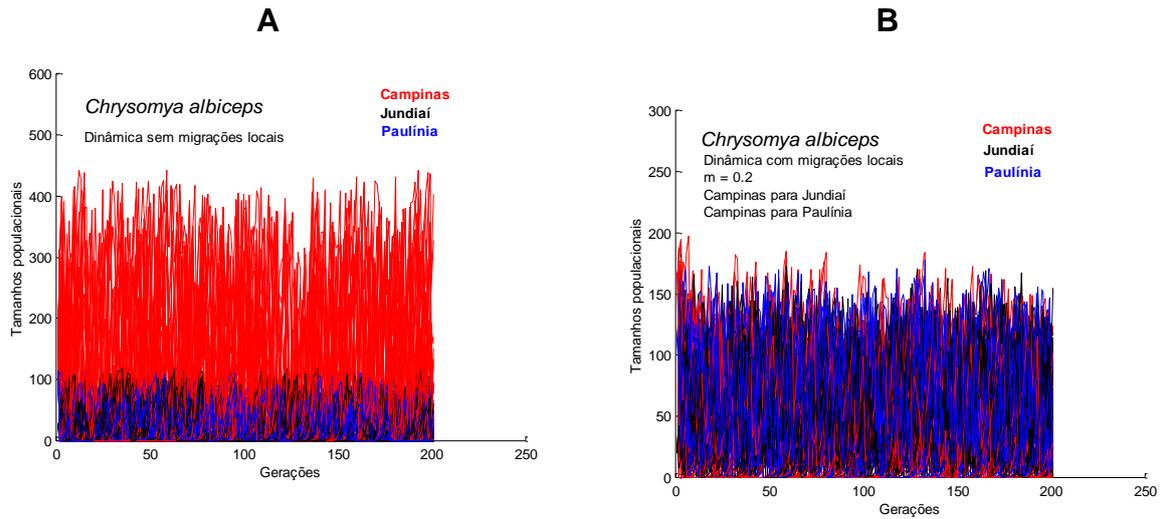


Fig. 8. Simulações da recorrência no tempo para populações de *C. albiceps* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Em relação à figura 9, observa-se também maior abundância de *C. megacephala* na cidade de Campinas, em relação à Jundiaí e Paulínia (Fig. 9A). Para que as três populações obtenham espectros de oscilação similares, foi necessária a atribuição de 0.2 para m (migração local), nos sentidos Campinas para Jundiaí e Campinas para Paulínia (Fig. 9B).

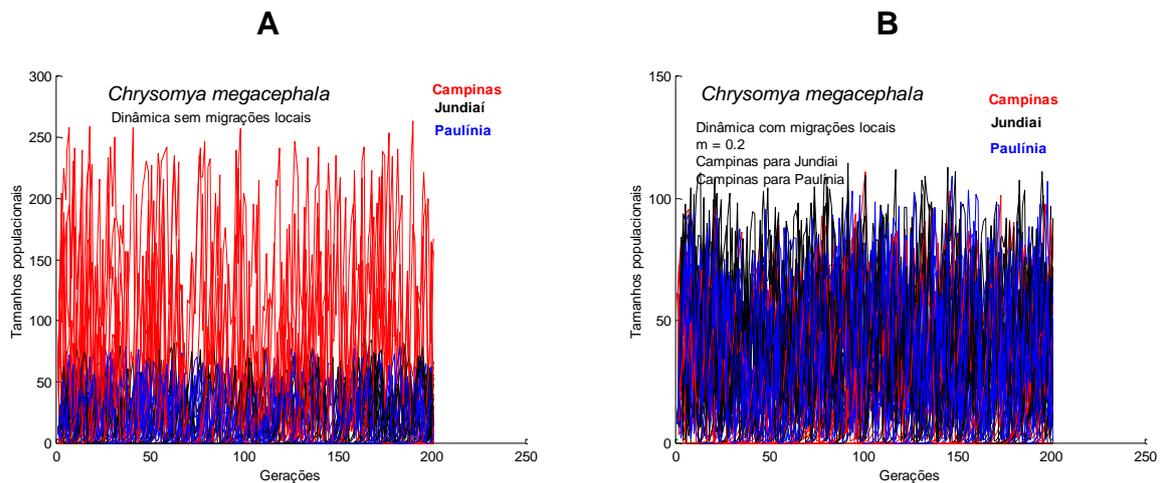


Fig. 9. Simulações da recorrência no tempo para populações de *C. megacephala* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Na figura 10A, observa-se maior abundância inicial de *L. eximia* em Jundiaí. Para que as três populações obtenham espectros de oscilação similares, foi necessária a atribuição de 0.1 para m (migração local), no sentido Jundiaí para Paulínia (Fig. 10B).

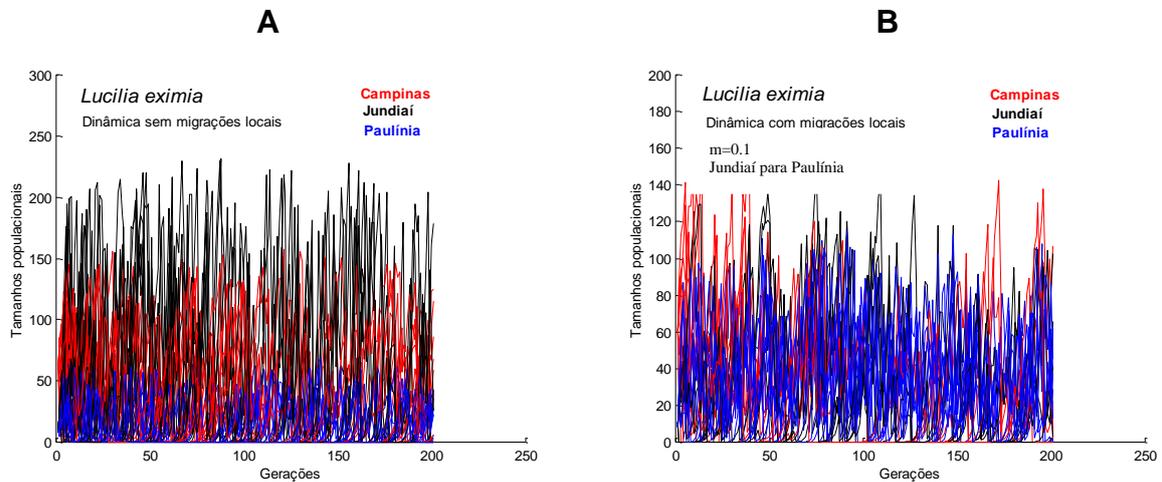


Fig. 10. Simulações da recorrência no tempo para populações de *L. eximia* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Nas simulações mostradas na figura 11 com o modelo dependente da densidade estruturado para migrações locais entre Jundiaí, Mogi Guaçu e Paulínia, observa-se série temporal com maior abundância para *C. albiceps* na cidade de Mogi Guaçu (Fig. 11A). Para que as três populações obtenham espectros de oscilação similares foi necessária a atribuição de 0.1 para m , no sentido Mogi Guaçu para Paulínia (Fig. 11B).

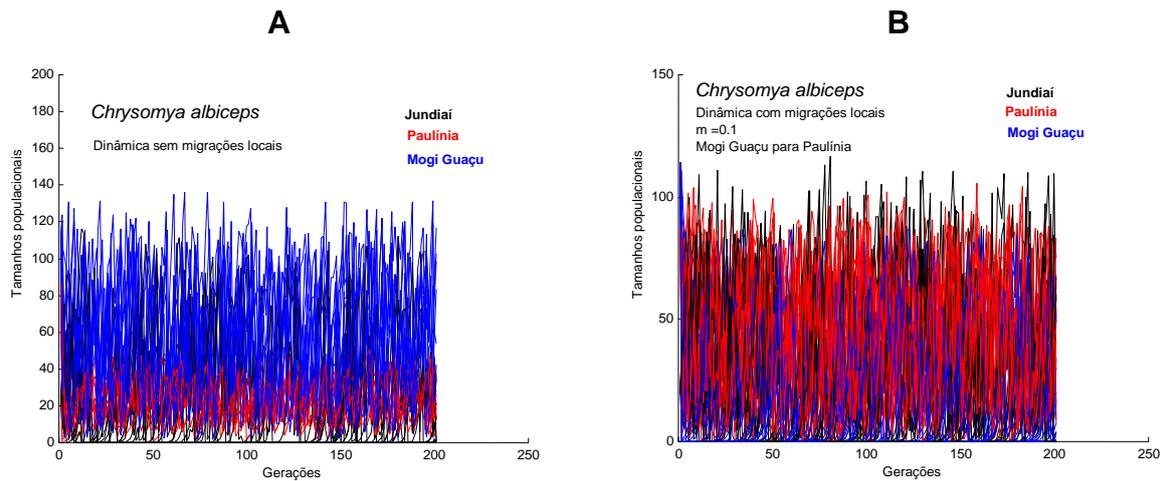


Fig. 11. Simulações da recorrência no tempo para populações de *C. albiceps* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Para *C. megacephala*, considerando os mesmos três sítios populacionais (Jundiá, Mogi Guaçu e Paulínia), temos uma abundância inicial maior em Mogi Guaçu (Fig. 12A). Para que as três populações obtenham espectros de oscilação similares foi necessária a atribuição de 0.15 para m (migração local), no sentido de Mogi Guaçu para Paulínia (Fig. 12B).

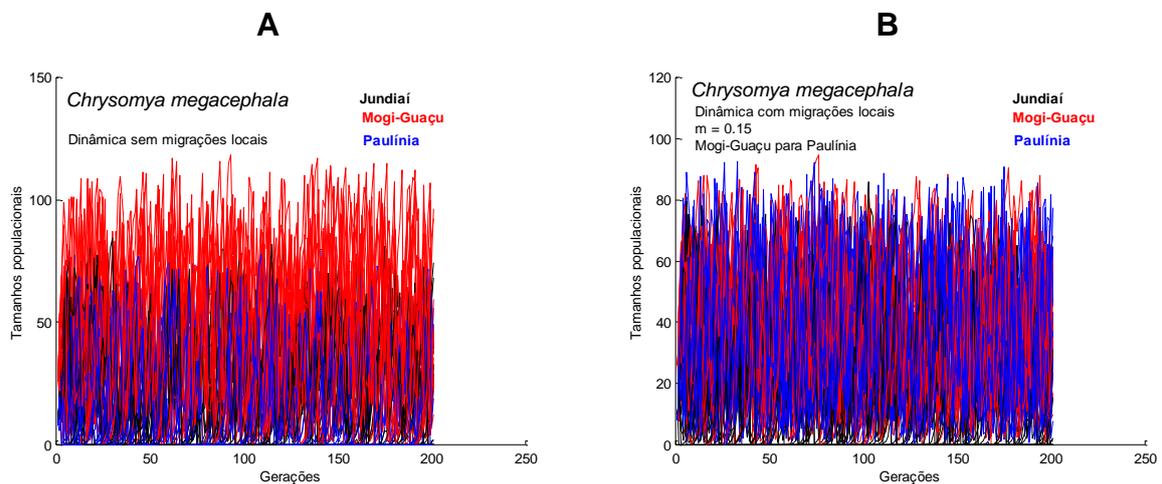


Fig. 12. Simulações da recorrência no tempo para populações de *C. megacephala* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Para *L. eximia*, envolvendo as cidades de Jundiaí, Mogi Guaçu e Paulínia, a maior abundância inicial ocorre em Jundiaí (Fig. 13A). Para a obtenção de espectros de oscilação similares entre as três populações, um valor de $m=0.17$ (migração local) foi necessário, no sentido de Jundiaí para Mogi Guaçu e Paulínia (Fig. 13B).

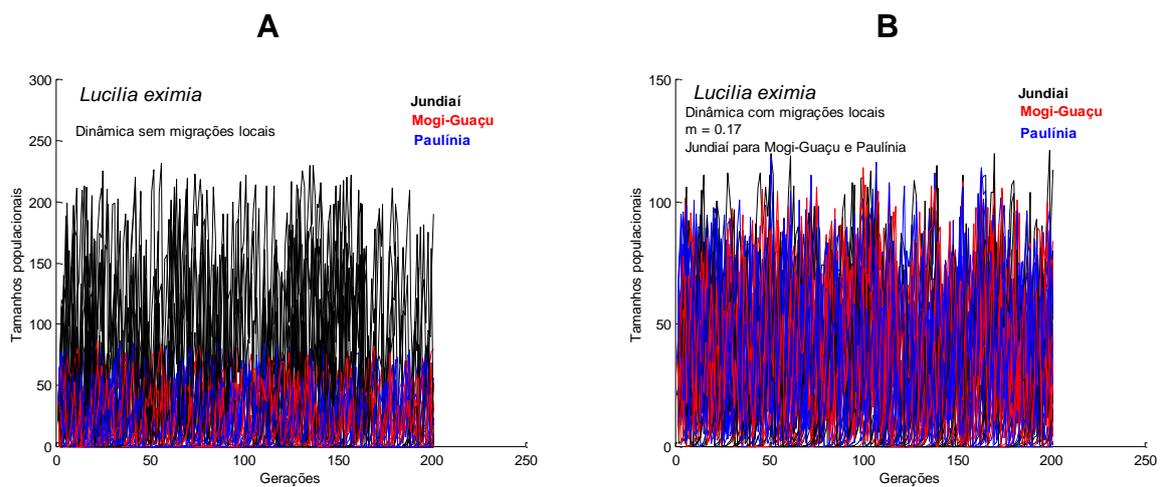


Fig. 13. Simulações da recorrência no tempo para populações de *L. eximia* isoladas (A) e sujeitas à migração local entre municípios (B).

Finalmente, na figura 14, há simulações estocásticas permitindo que a migração aconteça aleatoriamente entre 0 e 0.2, entre todos os sentidos possíveis. As oscilações entre as três cidades são aproximadamente sincrônicas neste caso. As migrações estocásticas em todos os sentidos geraram sincronia entre as populações das três cidades, o que também foi observado por Serra et al. (2007), com a utilização do modelo de Prout & McChesney (1985).

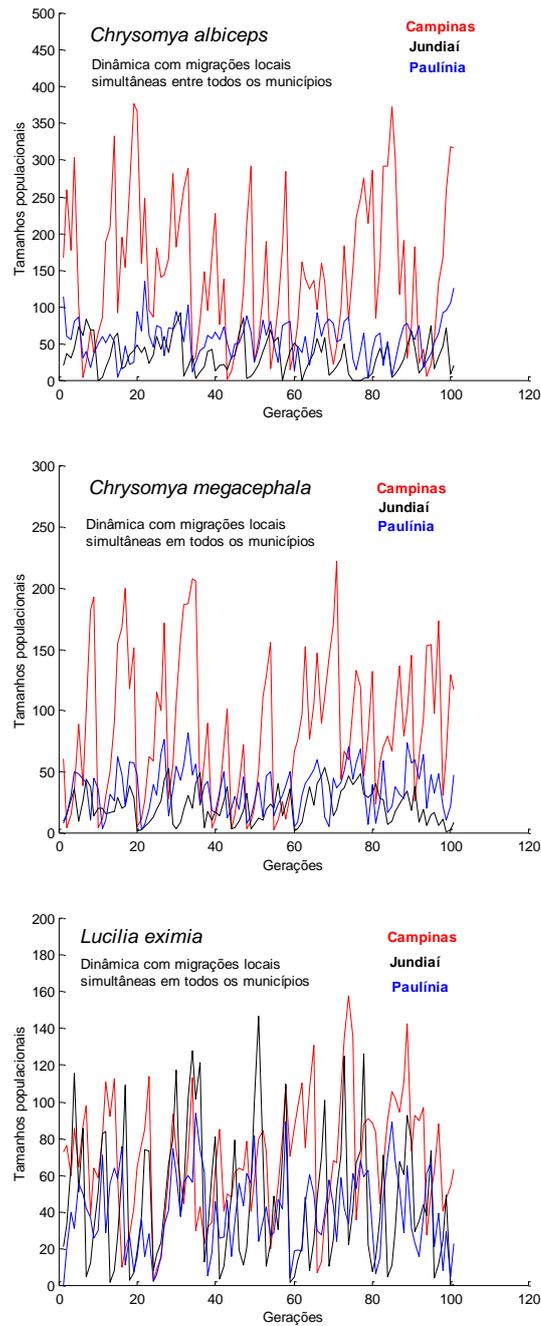


Fig. 14. Simulações da recorrência no tempo para populações de *C. albiceps*, *C. megacephala* e *L. eximia* sujeitas à migração local entre três municípios, com sorteios aleatórios de m entre 0 e 0.2.

Os resultados obtidos com as simulações para *C. albiceps* com populações isoladas e acopladas por migração entre os municípios de Artur Nogueira, Campinas e Cosmópolis (Fig. 5) descrevem os sistemas de acordo com os dados obtidos nas coletas. Para as populações isoladas, Campinas aparece como o município com maior abundância de espécimes, se comparado aos outros municípios, que apresentaram abundâncias similares entre si. No tocante à probabilidade de extinção local pode-se concluir que as três populações têm a mesma chance, já que os valores oscilam da mesma forma entre todas, tanto nas simulações para populações isoladas quanto nas simulações com migração local.

A maior abundância observada para o município de Campinas já era esperada em função dos resultados obtidos, bem como por ser um município muito maior que os outros e, portanto, com produção muito superior de matéria orgânica em decomposição para a subsistência da espécie e também maior oferta de nichos.

Por outro lado, a estrutura populacional simulada sugere que os parâmetros demográficos r e K , respectivamente taxa de crescimento e capacidade suporte, não foram influenciados pelo tamanho dos municípios no tocante à probabilidade de extinção populacional. Este resultado reporta-se ao padrão ecológico convencionalmente descrito por modelos populacionais (Hanski, 1999), em que uma fonte produtora de recursos provê a sustentação de sub-populações acopladas por migração, seja recolonizando sítios já extintos ou prevenindo a extinção local. Há certamente outros fatores geográficos e ambientais e de natureza demográfica, como por exemplo, a estrutura etária, que não estão incorporados nos modelos utilizados e que certamente poderiam também influenciar os resultados. Contudo, as análises realizadas dão uma percepção inicial de como os mecanismos ecológicos podem influenciar populações de insetos no tocante à dinâmica no tempo e no espaço.

O papel de *C. albiceps* no contexto forense, atuando como espécie reguladora da densidade de outras, tem sido evidenciado em estudos focados em dinâmica populacional,

sucessão faunística e outros aspectos ecológicos importantes para a área médico-legal (Grassberger et al., 2003; Serbino & Godoy, 2007). *Chrysomya albiceps* é predadora intraguilda na fase larval e este comportamento pode alterar a interpretação sobre o registro de fauna encontrado na cena do crime, visto que outras espécies que poderiam ser encontradas no local, caso tenham larvas depositadas no cadáver simultaneamente à presença de *C. albiceps*, poderão ser predadas e, portanto, a fauna cadavérica, sobretudo de dípteros muscóides, torna-se bastante restrita.

Os resultados apresentados na figura 5A e 5B tornam-se bastante relevantes se considerado este aspecto. No exemplo simulado, a migração entre populações locais, no sentido Campinas para outros municípios poderia equilibrar a fauna pela diminuição dos espécimes de *C. albiceps*. Estudos pormenorizados considerando a estrutura de metacomunidades poderiam ser úteis na melhor compreensão da dinâmica de migração considerando interações tróficas, como a predação intraguilda (Amarasekare, 2006).

Os Gráficos sem migração (Figs. A) são importantes porque mostram a dinâmica individual de cada espécie influenciada somente pela taxa de crescimento (r) e capacidade suporte (K) de cada município. No geral, nas simulações verificou-se que a dinâmica de cada espécie não mostra maior ou menor susceptibilidade a extinção. O que se percebe são espectros de oscilação maiores ou menores.

As espécies que possuem menor espectro de oscilações são as que tenderiam à estabilidade. Por outro lado, as espécies que tem maior espectro atingem valores mais altos, garantindo maior probabilidade de colonização de novas áreas (Hanski, 1999). Estas últimas podem ser relevantes no contexto forense, já que elas serão mais abundantes em uma dada área e provavelmente terão mais chance que colonizar cadáveres. Um aspecto que merece atenção é que a dinâmica populacional de *Lucilia eximia* no presente estudo foi diferente das

duas espécies de *Chrysomya*. Observa-se na figura 10A que *L. eximia* em Jundiá alcança valores mais altos de abundância, o que também tem importância forense.

Os Gráficos com migração (Figs. B) mostram qual(s) a(s) taxa(s) necessária(s) para que a abundância de determinada espécie se torne homogênea entre os municípios considerados. A abundância de cada espécie varia nos municípios em função dos fatores ambientais e também da predação exercida por *C. albiceps*. Contudo, os modelos empregados neste estudo não contêm o componente de interações para investigar a dimensão da predação intraguilda. Os fatores que governam essas variações em abundância são importantes para a ciência forense, pois através deles pode-se saber que sob determinadas condições a fauna pode ser mais ou menos restrita. Municípios mais distantes entre si certamente tem menor taxa de migração que os mais próximos e isto pode definir padrões faunísticos. Estes padrões são fundamentais para o mapeamento faunístico de espécies de interesse forense para determinada região.

Referências

- Allen J. C. 1975: Mathematical models of species interactions in time and space. *Am. Nat.* **109**: 319-342.
- Amarasekare P. 2006: Productivity, dispersal and the spatial coexistence of intraguild predators and prey. *J. Theor. Biol.* **243**: 121-133.
- Bascompte J. & Solé R.V. 1994: Spatially induced bifurcations in single-species population dynamics. *J. Anim. Ecol.* **63**: 256-264.
- Beiguelman B. 2002: Curso prático de Bioestatística. Editora FUNPEC, São Paulo.
- Carvalho L.M.L. & Linhares A.X. 2001: Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. *J. For. Sci.* **46**: 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. *Aggrawal's Int. J. For. Med. Toxicol.* **5**: 33-39.

Carvalho L.M.L., Thyssen P.J., Linhares A.X. & Palhares F.B. 2000: A checklist of arthropods associated with carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **95**: 135-138.

Caswell H. 1989: Matrix population models. Sinauer, Sunderland.

Comins H.N., Hassell M.P. & May R.M. 1992: The spatial dynamics of host-parasitoid systems. *J. Anim. Ecol.* **61**:735-748.

Costa M.I.S. & Godoy W.A.C. 2010: Fundamentos da ecologia teórica. Manole, São Paulo.

Cushing J.M., Costantino R.F., Dennis B., Desharnais R. & Henson, S. M. 2003: Chaos in ecology: Experimental nonlinear dynamics. Academic Press, New York.

Day J.R. & Possingham H.P. 1995: A stochastic metapopulation model with variability in a patch size and position. *Theor. Popul. Biol.* **48**: 333-360.

Den Boer P.J. 1981: On the survival of populations in a heterogeneous and variable environment. *Oecologia* **50**: 39-53.

Diekmann U., Law R. & Metz J.A.J. 1999: The geometry of ecological interactions: simplifying spatial complexity. Cambridge University Press, Cambridge.

Durrett R. 1988: Crabgrass, measles and gypsy moths; an introduction to interacting particle systems. *The Math. Intellig.* **10**: 37-47.

Durrett R. & Levin S.A. 1994: Stochastic spatial models: a user's guide to ecological applications. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.* **343**: 329-350.

Fahrig L. & Paloheimo J. 1988: Effect of spatial arrangement of habitat patches on local population size. *Ecology* **69**: 468-475.

Faria L.D.B., Orsi L., Trinca L.A. & Godoy W.A.C. 1999: Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*. *Entomol. Exp. Appl.* **90**: 149-155.

Fujita K. 1983: Systems analysis of an acarine predator-prey system. II: Interactions in discontinuous environment. *Res. Pop. Ecol.* **25**: 387-399.

Gilpin M. & Hanski I. 1991: Metapopulation dynamics: empirical and theoretical investigations. Academic Press, London.

Godoy W.A.C. 2007: Dynamics of blowflies. *Functional Ecosystems and Communities* **1**: 129-139.

Godoy W.A.C., Von Zuben C.J., Reis S.F. & Von Zuben F.J. 1997: The spatial dynamics of native and introduced blowflies (Dip., Calliphoridae). *J. App. Ent.* **121**: 305-309.

Gotelli, N. J. 1995: A primer of ecology. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

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

Gurney W.S.C. & Nisbet R.M. 1978: Predator-prey fluctuations in patchy environments. *J. Anim. Ecol.* **47**: 85-102.

Gurney W.S.C. & Nisbet R.M. 1998: Ecological dynamics. Oxford University Press, New York.

Hanski I. 1999: Metapopulation ecology. Oxford University Press, Oxford.

Hanski I. & Gilpin M.E. 1997: Metapopulation biology, ecology genetics and evolution. Academic Press, San Diego.

Hastings A. 1990: Spatial heterogeneity and ecological models. *Ecology* **71**: 426-428.

Hastings A. 1993: Complex interactions between dispersal and dynamics: lessons from coupled logistic equations. *Ecology* **74**: 1362-1372.

Hastings A. 1997: Population biology. Springer, New York.

Hilborn R. 1975: The effect of spatial heterogeneity on the persistence of predator-prey interactions. *Theor. Pop. Biol.* **8**: 346-355.

Huffaker C.B. 1958: Experimental studies on predation: dispersion factors and predator-prey oscillations. *Hilgardia* **27**: 343-383.

Huston M., De Angelis D. & Post W. 1988: New computer models unify ecological theory. *Bioscience* **38**: 682-691.

Iwasa Y. & Roughgarden J. 1986: Interspecific competition among metapopulations with space-limited subpopulations. *Theor. Pop. Biol.* **30**: 194-214.

Kareiva, P. 1991: Population dynamics in spatially complex environments: theory and data. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **330**: 175-190.

Kareiva P. 1994: Space: the final frontier for ecological theory. *Ecology* **75**: 1-1.

Keeling, M. 1999: Spatial models of interacting populations. *In: Advanced Ecological Theory* (ed. McGlade). Blackwell Science, New York.

Keh B. 1985: Scope and applications of forensic entomology. *Ann. Rev. Entomol.* **30**: 137-154.

Kishimoto K. 1990: Coexistence of any number of species in the Lotka-Volterra competitive system over two patches. *Theor. Pop. Biol.* **38**: 149-158.

Kot M. 2001: Elements of mathematical ecology. Cambridge University Press, Cambridge.

Levin S.A. 1974: Dispersion and population interactions. *Am. Nat.* **108**: 207-228.

Levin S.A., Grenfell B., Hastings A. & Perelson A.S. 1997: Mathematical and computational challenges in population biology and ecosystems science. *Science* **275**: 334-343.

Link D., Storck L., Cervi J.A., Padoin A.J. & Giuliani D. 1984: Occurrence of the fly *Euxesta* sp. on sweet corn at Santa Maria, RS. *Cienc. Rural* **14**: 93-99.

McGlade J.M. 1993: Alternative ecologies. *New Scientist*, **Supplement 137**: 14-16.

Moretti T.C., Ribeiro O.B., Thyssen P.J. & Solis D.R. 2008: Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. *Eur. J. Entomol.* **105**: 691–696.

Nachman G. 1981: Temporal and spatial dynamics of an acarine predator-prey system. *J. Anim. Ecol.* **50**: 435-451.

Nee S. & May R.M. 1992: Dynamics of metapopulations: habitat destruction and competitive coexistence. *J. Anim. Ecol.* **61**: 37-40.

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 Sci. Int.* **198**: 97–102.

Prout T. & McChesney F. 1985: Competition among immatures affects their adult fertility: population dynamics. *Am. Nat.* **126**: 521-558.

Ray C., Hastings A. & Costantino R.A. 1998: Dynamics and persistence of coupled populations: a test of corridor function. *In: Dynamics and persistence of spatially structured populations: theoretical and empirical studies*. Unpublished Ph. D. thesis. UC Davis, CA.

Reeve J.D. 1988: Environmental variability, migration and persistence in host-parasitoid systems. *Am. Nat.* **132**: 810-836.

Renshaw E. 1991: Modelling biological populations in space and time. Cambridge University Press, Cambridge.

Ricker E.L. 1952: Stock and recruitment. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **11**: 559-623.

Roughgarden J. 1998: Primer of ecological theory. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

Ruxton G. D. 1995: Temporal scales and the occurrence of chaos in coupled populations. *TREE* **10**: 141-142.

Sabelis M.W. & Diekmann O. 1988: Overall population stability despite local extinction; the stabilizing influence of prey dispersal from predator-invaded patches. *Theor. Pop. Biol.* **34**: 169-176.

Serbino N.M.B. & Godoy W.A.C. 2007: Seasonal Abundance and Distribution of Necrophagous Diptera in Western São Paulo State, Brazil. *Functional Ecosystems and Communities* **1**: 145-149.

Serra H. et al. 2007: Stochastic dynamics in exotic and native blowflies: an analysis combining laboratory experiments and a two-patch metapopulation model. *Ecol. Res.* **22**: 686-695.

Setzer J. 1966: Atlas climatológico e ecológico do Estado de São Paulo. Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguai. Centrais Elétricas do Estado de São Paulo, São Paulo.

Shattuck S.O. 1992: Generic revision of the ant subfamily Dolichoderinae Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiol.* **21**: 1-181.

Souza A.M. & Linhares A.X. 1997: Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in Southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med. Vet. Entomol.* **11**: 8-12.

Taneyhill D.E. 2000: Metapopulation dynamics of multiple species: the geometry of competition in a fragmented habitat. *Ecol. Monog.* **70**: 495-516.

Tilman D. & Kareiva P. 1996: Spatial ecology: the role of space in population dynamics and interspecific interactions. Princeton University Press, Princeton.

Tuljapurkar S. & Caswell H. 1997: Structured population models in marine, terrestrial and freshwater systems. Chapman & Hall, New York.

Turchin P. 1998: Quantitative analysis of movement. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.

Vance R.R. 1984: The effect of dispersal on population stability in one-species, discrete-space population growth models. *Am. Nat.* **123**: 230-254.

Ações específicas para a ênfase em grupos taxonômicos ainda negligenciados no contexto forense

Moretti TC, Thyssen PJ, Godoy WAC, Solis DR. Necrophagy by the social wasp *Agelaia pallipes* (Hymenoptera: Vespidae: Epiponini): possible forensic implications. **Sociobiology** 51: 393-398, 2008.

Necrophagy by the Social Wasp *Agelaia pallipes* (Hymenoptera: Vespidae, Epiponini): Possible Forensic Implications

by

T. C. Moretti¹, P. J. Thyssen¹, W. A. C. Godoy¹ & D. R. Solis²

ABSTRACT

The occurrence of 62 specimens of *Agelaia pallipes* caught in carrion traps using three types of baits (fish, cow liver and poultry viscera) in three different types of environments (rural, urban and forest area) in seven municipalities in Southeastern Brazil is reported here. This specific necrophagic behavior is discussed, since investigations concerning carrion wasps are scant in literature.

Key Words: swarm-founding wasps, vertebrate carrion, forensic entomology, Brazil.

INTRODUCTION

Wasps can feed directly on the fluids and tissues of carcasses, mainly in the earlier decomposition phases. Moreover, Vespidae species are predators of immatures and adults of sarcophagid and calliphorid flies, reducing their populations and therefore having a crucial role in the decomposition process, by retarding it (Wells & Greenberg 1994).

According to Silveira *et al.* (2005), carrion may be an important food source for social wasps (Vespidae) and bees (Apidae) in the Neotropical region, even though they depend primarily on live insect prey and pollen, respectively. The quality of a carcass as a source of amino acids, lipids, protein, carbohydrate, vitamins, and minerals seems to be dependent on taxon and stage of decomposition (Roubik 1989).

¹Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, SP, Brazil.

²Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, SP, Brazil.

Corresponding author: T. C. Moretti, Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, SP, Brazil. CEP: 18618-000. E-mail: tcmoretti@yahoo.com.br

Despite the abundance, diversity, distribution and ecological significance of the tribe Epiponini, most of its genera and species are known just taxonomically, with the basic natural history aspects of some genera poorly investigated (Hunt *et al.* 2001).

Agelaia (Lepeletier, 1836) formerly *Stelopolybia*, belongs to the subfamily Polistinae and is the third-largest epiponine genus with 31 species, all social. It is distributed from Mexico to northern Argentina, with 15 species recorded from Brazil (Hermes & Köhler 2004). This genus is one of two epiponine genera in which foragers are known to include the flesh of dead animals among the provisions for developing brood.

O'Donnell (1995) and Silveira *et al.* (2005) reported the occurrence of necrophagy by *Agelaia testacea*, *A. hamiltoni*, *A. multipicta*, *A. panamensis*, *A. areata*, *A. yepocapa*, *A. angulata*, *A. pallipes*, *A. fulvofasciata* and *A. cajennensis* collected in Costa Rica, Peru, Venezuela and Brazil, visiting a wide diversity and size range of carcasses: a large katydid (Orthoptera: Tettigoniidae), catfish, tayra (*Eira barbara*), snakes, an opossum (*Didelphis* sp.), tuna fish, poultry, frog embryos, iguanid lizards and a fragment of bovine lung.

The observations reported here are part of a Thematic Project named "Forensic Entomology: the utilization of Arthropods for determining time, place, cause and circumstances of death", supported by FAPESP (The State of São Paulo Research Foundation), grant no. 04/08544-0. The project involves research from various Universities in São Paulo State and arthropod collection in several localities of this State, and aims to expand the inventory of necrophagous species and to increase the comprehension of parameters that may be important in forensic analysis, such as the structure and dynamics of carrion insect communities, and the estimates of post-mortem intervals (PMI).

We herein report the consumption of vertebrate carrion by the Neotropical swarm-founding wasp *Agelaia pallipes* in the State of São Paulo, motivated by the lack of investigations on social wasps concerning biological aspects and possible importance to forensic sciences.

MATERIALS AND METHODS

The collections were performed monthly from May to November 2006 in three different types of environments (rural, urban and forest areas) in the

following municipalities of the State of São Paulo, Brazil: Artur Nogueira (22°34'22"S, 47°10'22"W), Botucatu (22°53'09"S, 48°26'42"W), Campinas (22°53'20"S, 47°04'40"W), Cosmópolis (22°38'45"S, 47°11'46"W), Jundiaí (23°11'11"S, 46°53'03"W), Mogi Guaçu (22°22'20"S, 46°56'32"W) and Paulínia (22°45'40"S, 47°09'15"W).

Three types of baits were utilized: fish (pieces of sardine), cow liver and poultry viscera, all being left to rot for 48 h at room temperature before being placed into the traps. Carrion traps, similar to the kind used for the collection of muscoid flies by several authors (Ferreira 1978; Linhares 1981) were used.

Each trap was made of 2 plastic soft drink bottles – each one approximately 35 cm in height and 8 cm in diameter (Fig. 1). The bottom of both bottles were removed to allow them to fit and to permit the entrance of insects through the inferior one, which was painted black. After every 24 hours of exposure, the baits were replaced in the traps, which were suspended with a cord from tree branches, approximately 180 cm above the ground. The traps remained exposed in the study sites for a period of 72 h, after which any trapped wasps



Fig. 1. Suspended carrion trap used to capture necrophagous wasps in São Paulo State, Brazil.

were collected, taken to the laboratory, and killed by freezing to -20 °C for identification. Each of the environments in each city received 6 traps per round of trapping, 2 for each kind of bait, a total of 18 traps per city.

RESULTS

During the present investigation, 62 specimens of *A. pallipes* were captured in the municipalities of Artur Nogueira, Campinas, Cosmópolis and Mogi Guaçu. Table 1 shows their distribution according to environments and baits. Most of the specimens were collected in the municipality of Artur Nogueira ($n=21$; 33.87%), followed by Mogi Guaçu ($n=20$; 32.26%),

Campinas ($n=12$; 19.35%) and Cosmópolis ($n=09$; 14.52%). Regarding the type of bait, 24 specimens (38.71%) were found in the liver baits, 20 (32.26%) in the fish baits and finally 18 specimens (29.03%) were collected from the traps using poultry viscera. In relation to the type of environment, most of *A. pallipes* ($n=39$; 62.91%) were found in the forest environment, while 23 specimens (37.09%) were collected in the rural environment. In the urban environment, we have not collected any *A. pallipes* specimens.

DISCUSSION

As can be seen in table 1, there is some variation in the abundance of *A. pallipes* in the different environments and cities. It is unlikely that this is due to diverse weather conditions, since the four cities share the same type of weather, Cwa - a subtropical climate, presenting dry winters (temperatures below 18°C) and humid and hot summers (with the average temperature of the hottest month above 22°C). This kind of weather encloses most of the São Paulo State, mainly in the central and eastern regions, with altitudes between 500 and 700 meters (Setzer 1966).

Therefore, the differences in abundance are most likely a result of other factors, such as the type of environment (rural, urban and forest) or the relative degree of disturbance in the forest areas from the different cities, since the forest area from Artur Nogueira (with the higher abundance of *A. pallipes*) may be considered quite undisturbed, which is in accordance with the investigations carried out by O'Donnell (1995) and Silveira *et al.* (2005), who collected *A. pallipes* mainly in well preserved forest sites. It is also worth

Table 1. Number of specimens of *Agelaiapallipes* collected in the 4 municipalities, in accordance with the type of environments and bait utilized. (R) rural, (U) urban & (F) forest; n = total number of specimens of *A. pallipes* per bait type.

Municipalities	Bait/ environments								
	Fish ($n=20$)			Liver ($n=24$)			Poultry ($n=18$)		
	R	U	F	R	U	F	R	U	F
Artur Nogueira	1	-	6	1	-	10	1	-	2
Campinas	1	-	3	3	-	2	-	-	3
Cosmópolis	1	-	2	-	-	2	-	-	4
Mogi Guaçu	6	-	-	2	-	4	7	-	1

noting the absence of specimens of *A. pallipes* in the urban area of all the cities involved in the study.

Comparing the relative preference of *A. pallipes* for the type of bait (fish, cow liver or poultry viscera), we can observe a slight predilection for the liver (38.71%), which is interesting since it is the only bait of mammalian origin, giving it a more direct forensic application.

Among the community of necrophagous Hymenoptera, ants are the most representative group (Martínez *et al.* 2002). Regardless, bees and wasps are rarely included in forensic entomology investigations, even though they contain both obligate and facultative species. The visiting of carrion by wasps does not necessarily mean that necrophagy is taking place: it may simply indicate the searching for inorganic salts, water or materials for nest building (Noll 1997).

Workers of *Agelaia* species have a structural modification of the mandibles, possibly associated with necrophagy: the dorsal tooth on the inner surface of the mandibles is elongated into an acute ridge that spans the length of that surface (O'Donnell 1995), and thus enables the foragers to cut a piece of flesh and to turn it into a ball.

The real importance of necrophagy for brood nutrition in social wasps is difficult to assess, but the skills of *Agelaia sp.* at rapidly discovering pieces of carcasses (Cornaby 1974) may suggest carrion is an important source of protein or other nutrients.

The growing importance of Forensic Entomology in the Neotropical region in recent years (Mavárez-Cardozo *et al.* 2005) is leading to a more concrete knowledge of the role played by scavengers, essentially by blowflies (Diptera: Calliphoridae), fleshflies (Diptera: Sarcophagidae) and, more rarely, by other families of flies and some Coleoptera groups. However, an understanding of the possible functions of swarm-founding wasps as carrion consumers is still lacking.

Further studies on the possible displacement of flies by wasps in carrion microhabitats are necessary, as are investigations concerning the quantification of flesh removal rates by carrion wasps, in order to clarify the relative ecological importance of carcass scavenging by this hymenopteran group.

ACKNOWLEDGMENTS

This investigation was supported by Grant No. 06/60504-9 from FAPESP.

REFERENCES

- Cornaby, B.W. 1974. Carrion reduction by animals in contrasting tropical habitats. *Biotropica* 6: 51-63.
- Ferreira, M.J.M. 1978. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba, Paraná. I. Calliphoridae. *Revista Brasileira de Biologia* 38: 445-454.
- Hermes, M.G. & A. Köhler 2004. The genus *Agelaia* Lepeletier (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) in Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 48: 135-138.
- Hunt, J.H., S. O'Donnell, N. Chernoff & C. Brownie 2001. Observations on two Neotropical swarm-founding wasps, *Agelaia yepocapa* and *A. panamensis* (Hymenoptera: Vespidae). *Annals of the Entomological Society of America* 94: 555-562.
- Linhares, A.X. 1981. Synanthropy of Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 25: 189-215.
- Martínez, M.D., M.I. Arnaldos, E. Romera & M.D. García 2002. Los Formicidae (Hymenoptera) de una comunidad sarco-saprófaga en un ecosistema mediterráneo. *Anales de Biología* 24: 33-44.
- Mavárez-Cardozo, M.G., A.I. Espina de Ferreira, F.A. Barrios-Ferrer & J.L. Ferreira-Paz 2005. La Entomología Forense y el Neotrópico. *Cuadernos de Medicina Forense* 11: 23-33.
- Noll, F.B. 1997. Foraging Behavior on carcasses in the necrophagic bee *Trigona hypogea* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Behavior* 10: 463-467.
- O'Donnell, S. 1995. Necrophagy by Neotropical swarm-founding wasps (Hymenoptera: Vespidae, Epiponini). *Biotropica* 27: 133-136.
- Roubik, D. W. 1989. *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. Cambridge University Press, New York: 514 pp.
- Setzer, J. 1966. Atlas climatológico e ecológico do Estado de São Paulo. Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguaí. Centrais Elétricas do Estado de São Paulo, São Paulo: 61pp.
- Silveira, O.T., M.C. Esposito, J.N. Santos Jr. & F. E. Gemaque Jr. 2005. Social wasps and bees captured in carrion traps in a rainforest in Brazil. *Entomological Science* 8: 33-39.
- Wells, J.D. & B. Greenberg 1994. Effect of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) and carcass type on the daily occurrence of post feeding carrion-fly larvae (Diptera: Calliphoridae, Sarcophagidae). *Journal of Medical Entomology* 31: 171-174.

Moretti TC, Giannotti E, Thyssen PJ, Solis DR, Godoy WAC. Bait and Habitat Preferences, and Temporal Variability of Social Wasps (Hymenoptera: Vespidae) Attracted to Vertebrate Carrion. **Journal of Medical Entomology** 48: 1069-1075, 2011.

Bait and Habitat Preferences, and Temporal Variability of Social Wasps (Hymenoptera: Vespidae) Attracted to Vertebrate Carrion

THIAGO DE CARVALHO MORETTI,¹ EDILBERTO GIANNOTTI,² PATRÍCIA JACQUELINE THYSSEN,³ DANIEL RUSS SOLIS,² AND WESLEY AUGUSTO CONDE GODOY⁴

J. Med. Entomol. 48(5): 1069–1075 (2011); DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/ME11068>

ABSTRACT In addition to feeding on carrion tissues and fluids, social wasps can also prey on immature and adult carrion flies, thereby reducing their populations and retarding the decomposition process of carcasses. In this study, we report on the occurrence and behavior of social wasps attracted to vertebrate carrion. The collections were made monthly from September 2006 to October 2007 in three environments (rural, urban, and forest) in six municipalities of southeast Brazil, using baited bottle traps. We collected *Agelaea pallipes* (Olivier, 1791) ($n = 143$), *Agelaea vicina* (Saussure, 1854) ($n = 106$), *Agelaea multipicta* (Haliday, 1836) ($n = 18$), and *Polybia paulista* Ihering, 1896 ($n = 3$). The wasps were observed feeding directly on the baits and preying on adult insects collected in the traps. Bait and habitat associations, temporal variability of social wasps, and possible forensic implications of their actions are discussed.

KEY WORDS *Agelaea*, Epiponini, forensic entomology, necrophagy, *Polybia*

Neotropical social wasps belong to the subfamily Polistinae, a group that encompasses >900 species in 25 genera, and are most abundant and diverse in the tropics and subtropics (Gomes and Noll 2009). The subfamily is divided into four tribes, of which three occur in Brazil, as follows: Polistini, Mischocyttarini, and Epiponini (Silva and Silveira 2009). In the last group, *Agelaea* Lepeletier, 1836; *Angiopolybia* Araujo, 1946; and some species of *Polybia* Lepeletier, 1836 are commonly recorded as consumers of vertebrate carcasses (Gomes and Noll 2009, O'Donnell 1995).

Although the literature on feeding habits of social wasps is sparse and anecdotal (Hunt 1991), it is well known that carrion may play an important role in the nourishment of these insects (Silveira et al. 2005). Nonetheless, few studies on insects associated with vertebrate carcasses in Brazil have dealt with social wasps (but see, e.g., Gomes et al. 2007a, 2007b; Moretti et al. 2008; Noll and Gomes 2009), and, with the exception of Silveira et al. (2005), almost no extensive surveys have dealt specifically with carrion wasps.

Ecologically, social wasps using vertebrate carrion function as both predators and necrophages. As predators, adults feed their larvae immatures and adults of carrion flies (mainly blow flies and flesh flies), and

deplete their populations. This may retard the decomposition process (Wells and Greenberg 1994). As necrophages, social wasps not only feed their larvae the carcass tissue itself, but also may produce holes or abrasions that can attract other kinds of necrophagous insects, accelerating the decomposition process. Moreover, social wasps, as ants (Campobasso et al. 2009), can produce postmortem artifacts that can be interpreted as premortem mutilations or injuries, possibly leading to errors in forensic evaluations.

The current study aims to report the occurrence, behavior, and annual variation in abundance of social wasps attracted to three types of vertebrate carrion (fish, chicken gizzards, and beef liver) in different environments of São Paulo state, southeast Brazil.

Materials and Methods

Study Sites. The collections were carried out in rural, urban, and forest environments in the following six municipalities: Artur Nogueira, Campinas, Cosmópolis, Jundiá, Mogi Guaçu, and Paulínia (Fig. 1). The rural sites in these municipalities are characterized by moderate agricultural activity and livestock farming, with a few scattered houses; their urban sites have little commercial activity; and the forest sites are mainly woodland remnant patches with similar phytophysiognomic features, with the exception of Campinas, where the forest area is a 250-ha mesophilic semideciduous Atlantic Forest fragment (Morellato and Leitão Filho 1995) surrounded by human dwellings.

All of these cities have the same type of weather according to the Köppen climate classification, Cwa-

¹ Corresponding author: Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho," Botucatu, São Paulo, Brazil, 18618-000 (e-mail: tcmoretti@yahoo.com.br).

² Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, São Paulo, Brazil, 13506-900.

³ Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil, 13083-970.

⁴ Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo, Brazil, 13418-900.

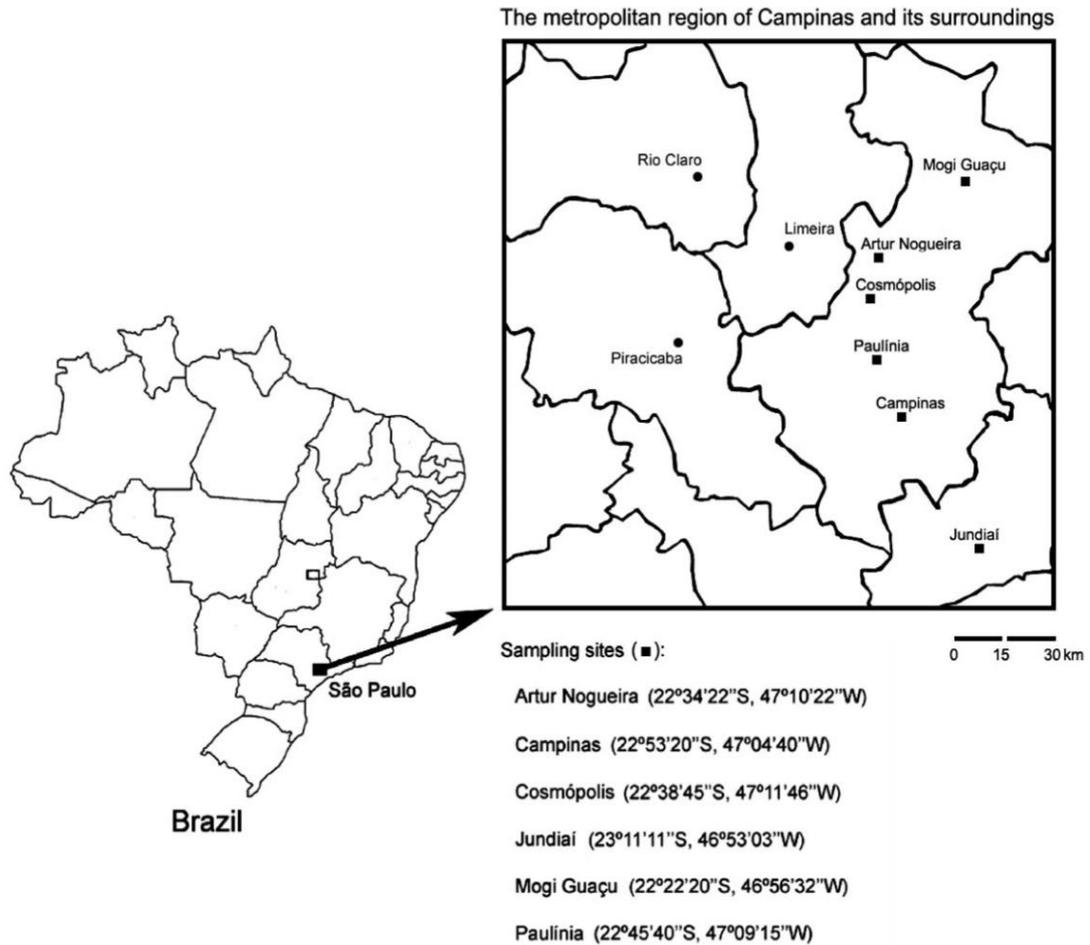


Fig. 1. Map showing the study sites.

subtropical climate, with cool, dry winters (temperatures below 18°C) and hot, humid summers (with the mean temperature in the hottest month above 22°C), as generally occurs in the state of São Paulo, mainly in the central and eastern regions, at altitudes between 500 and 700 m (Setzer 1966).

On-Site and Laboratory Procedures. The collections were made monthly from September 2006 to October 2007. Each of the environments in each municipality was monitored using six traps per month, two for each kind of bait, totaling 18 traps per municipality/mo and 1,512 sample units during the study. Baits composed of 12 g of fish (sardines), beef liver, or chicken gizzards were employed. Carrion traps, similar to those used to collect muscoid flies by several authors (Ferreira 1978, Linhares 1981a, Erzinçlioglu 1996, Hwang and Turner 2005, Silveira et al. 2005), were installed ≈15 m apart at the collection sites. Each trap (Fig. 2) was made of two 2.0-L plastic soft-drink bottles, each ≈35 cm in height and 8 cm in diameter. The bottoms of both bottles were removed to allow one to fit into another and to permit the entrance of

insects through the bottom opening of the lower bottle, which was painted black. The cap of the lower bottle was also removed, so its top end was open. Each bait was placed at the top end of the lower bottle with a small metal hook and was replaced in the traps every 24 h.

As recorded by Hwang and Turner (2005), this type of bottle trap is low priced and easy to make and to transport to and from the field. Each trap was suspended with a cord from a tree branch, ≈180 cm above the ground. Each trap remained exposed at the study site for a period of 72 h, after which any wasp trapped in the top bottle was collected, taken to the laboratory, and killed by freezing at -20°C, until later identification. After identification, the specimens were stored in a freezer. Any nonwasp arthropods collected in the traps were excluded from the analyses. Meteorological data were obtained from AGRITEMPO (2011).

Voucher specimens have been deposited in the Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz Entomological Museum (Department of Entomology and Acarology, Escola Superior de Agricultura Luiz de

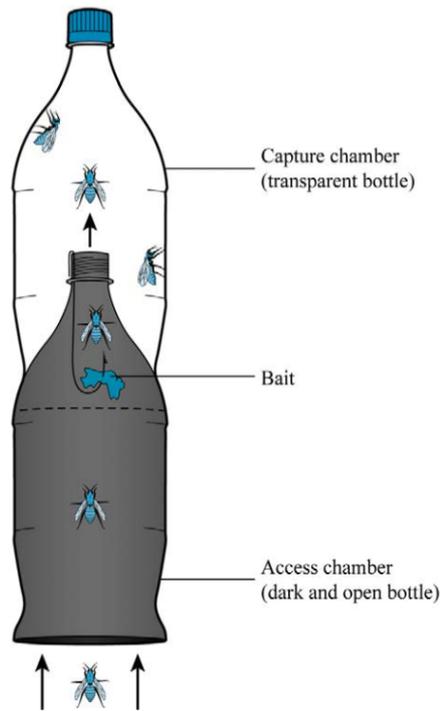


Fig. 2. Carrion trap used to collect social wasps in southeast Brazil (adapted from Moretti et al. 2009). (Online figure in color.)

Queiroz/University of São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brazil).

Statistical Analyses. A one-way analysis of variance (Gotelli and Ellison 2004) (independent variables: municipality, environment, and bait; dependent variable: abundance) was employed to compare the differences in abundance for the two most abundant species, *Agelaiia pallipes* (Olivier, 1791) and *Agelaiia vicina* (Saussure, 1854).

The χ^2 test (Beiguelman 2002) was used to verify the possible preference of *A. pallipes* and *A. vicina* for type of environment (rural, urban, and forest) and bait (fish, beef liver, or chicken gizzards).

Results

We collected 270 adult specimens of four social wasp species: three of *Agelaiia* Lepeletier, including *A.*

pallipes (Olivier, 1791) (52.96%), *A. vicina* (Saussure, 1854) (39.26%), and *Agelaiia multipicta* (Haliday, 1836) (6.67%); and one of *Polybia* Lepeletier, *Polybia paulista* Ihering, 1896 (1.11%) (Table 1). Most wasps were attracted to fish (47.78%), followed by chicken gizzards (28.15%) and beef liver (24.07%) (Table 1). Regarding the collection environment, most specimens were collected in the forest (71.48%), followed by the rural (22.96%) and the urban environments (5.56%) (Table 1). The municipality ($F = 0.012$, $P = 0.99$), environment ($F = 0.23$, $P = 0.63$), and type of bait ($F = 5.67$, $P = 0.15$) did not affect the abundance of *A. pallipes* throughout the study. Similarly, these same factors (municipality, $F = 0.94$, $P = 0.41$; environment, $F = 0.58$, $P = 0.57$; type of bait, $F = 0.067$, $P = 0.93$) showed no correlation with the abundance of *A. vicina*.

The χ^2 test showed that the only significant difference was for the bait preference of *A. vicina*, which prefers fish ($\chi^2 = 52.8$, $df = 4$). For the other analyses (*A. vicina*/environment, *A. pallipes*/bait, and *A. pallipes*/environment), no significant preference was identified ($P > 0.05$).

Table 2 compares the species compositions found in the current study with assemblages found in three other studies on social wasps associated with vertebrate carrion in Brazil: Silveira et al. (2005), Gomes et al. (2007b), and Noll and Gomes (2009). *A. pallipes* was the only species common to all of these studies. Fig. 3 shows the annual variation in abundance of *A. pallipes* and *A. vicina* (the two species with the highest abundance throughout the study) in relation to rainfall (mm). The annual variation in abundance of *A. pallipes* and *A. vicina* in relation to temperature ($^{\circ}\text{C}$) is shown in Fig. 4. For *A. vicina*, three clear abundance peaks were observed: one in November 2006, another in August 2007, and finally one in September 2007. For *A. pallipes*, there was only one pronounced peak in September 2007. The abundance peaks for both species occurred when the precipitation levels were low and the temperature rose.

The wasps were observed feeding directly on the baits and preying on adult insects collected in the traps (flies, moths, butterflies, ground crickets, cone-headed katydids, grasshoppers, common lacewings, and earwigs). When feeding on carcasses, foragers of epiponine wasps, similarly to their behavior with arthropod prey, their major protein source for the larvae, were observed cutting the carrion into a small

Table 1. Social wasps collected in southeast Brazil: bait and environment preferences

Species	Bait/Environment								
	Fish (47.78%) ^a			Beef liver (24.07%) ^a			Chicken gizzard (28.15%) ^a		
	R	U	F	R	U	F	R	U	F
<i>Agelaiia pallipes</i> (n = 143)	20	-	38	12	-	33	20	-	20
<i>Agelaiia vicina</i> (n = 106)	1	6	52	-	3	11	-	5	28
<i>Agelaiia multipicta</i> (n = 18)	6	1	5	-	-	4	-	-	2
<i>Polybia paulista</i> (n = 3)	-	-	-	2	-	-	1	-	-

n, Total abundance of each species collected during the study. F, forest; R, rural; U, urban.

^a Percentage of wasps attracted to each type of bait.

Table 2. Comparison of species composition among the present study and other surveys of carrion wasps in Brazil

Species	Surveys			
	Silveira et al. (2005) ^a	Gomes et al. (2007b) ^b	Noll and Gomes (2009) ^c	Present study (2011) ^d
<i>Angiopolybia pallens</i> (Lepelletier, 1836)	x			
<i>Angiopolybia paraensis</i> (Spinosa, 1851)	x			
<i>Agelaia fulvofasciata</i> (Degeer, 1773)	x			
<i>Agelaia angulata</i> (Fabricius, 1804)	x			
<i>Agelaia pallipes</i> (Olivier, 1791)	x	x	x	x
<i>Agelaia cajennensis</i> (Fabricius, 1798)	x			
<i>Agelaia vicina</i> (Saussure, 1854)		x	x	x
<i>Agelaia multipicta</i> (Haliday, 1836)				x
<i>Polybia paulista</i> Thering, 1896		x		x
<i>Polybia ignobilis</i> (Haliday, 1836)		x		

^a Ferreira Penna Research Station (ECFPn), "Floresta Nacional de Caxiuanã," Amazon Rainforest, municipality of Melgaço, state of Pará, Brazil (1:32'S, 51:20'W/1:50'S, 51:41'W).

^b Open field area on the campus of the Universidade Estadual Paulista, municipality of Rio Claro, state of São Paulo, Brazil (22° 23'5"S, 47° 32'32.28"W).

^c A fragment of semideciduous seasonal forest, municipality of Paulo de Faria, state of São Paulo, Brazil (19° 58'S, 49° 31'W/19° 55'S, 49° 30'W).

^d See *Materials and Methods* section (study sites).

piece, molding each piece into a ball with the mandibles and forelegs, and then transporting it to the nest (O'Donnell 1995).

Some of these predated insects gained access to the trap by crawling down the hanging cord. Frequently, only fragments of these insects, which proved insufficient to allow their identification to species level, were found in the traps from which wasps were collected, demonstrating that predation by wasps had taken place.

Discussion

A. pallipes was the only species in common among previous studies conducted by Silveira et al. (2005), Gomes et al. (2007b), Noll and Gomes (2009), and the current study (Table 2). Also, *A. vicina* appeared in

three of the four studies. More species in common might have been found if all the studies had used the same method to attract wasps. Silveira et al. (2005) used carrion traps baited with 50-g pieces of beef lung, whereas Noll and Gomes (2009) used 15-cm pieces of beef muscle. Gomes et al. (2007b) used pig carcasses weighing ≈10 kg and a hand net to collect the wasps. A whole carcass provides more flesh and available niches for wasps compared with small pieces of carrion; therefore, higher abundance and species diversity would likely occur in whole carcasses than in baits. Although these studies used different baits, we believe that they are comparable because, as pointed out by Bourel et al. (1999), most necrophilous insects are not specifically attracted to a particular type of carrion. The stage of decomposition is probably more important than the type of

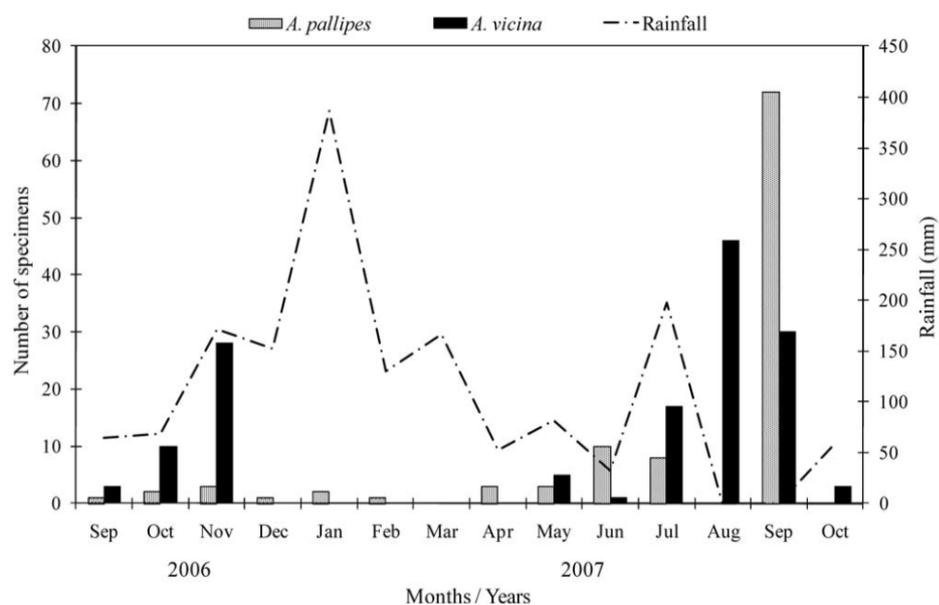


Fig. 3. Annual variation in abundance of *A. pallipes* and *A. vicina* in relation to rainfall (mm).

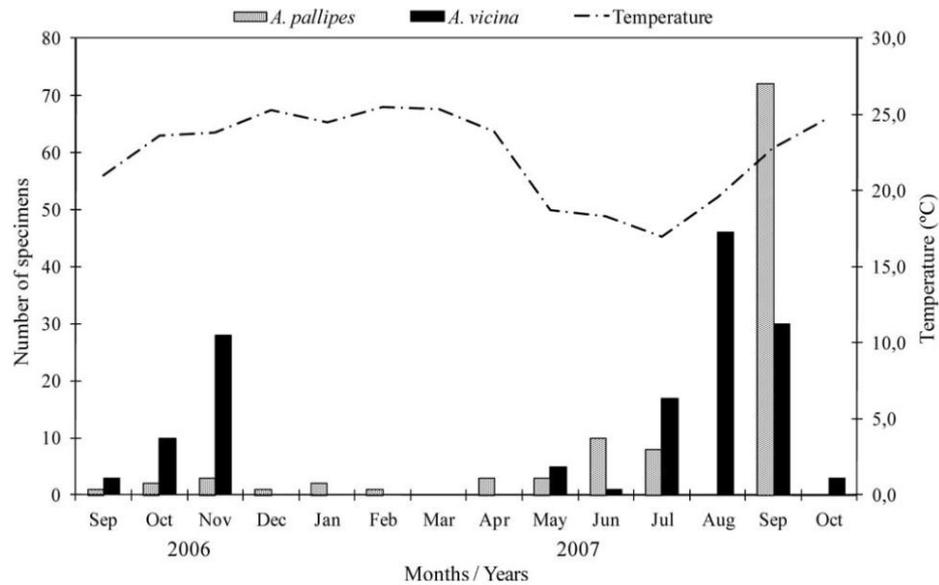


Fig. 4. Annual variation in abundance of *A. pallipes* and *A. vicina* in relation to temperature (°C).

carrion in attracting a specific group of necrophagous insects (Early and Goff 1986).

The variation in species abundance and composition we found may be related to habitat features or other site differences (see Table 2). The collection method may also explain the relatively low diversity of species of social wasps found in the current study. Silveira (2002) stated that traps would be efficient only for sampling the most abundant species of a given site, because this method is strongly dependent on the abundance, size of colonies, and season. Thus, bait trapping limits the number of species more than whole carcasses, which may affect forensic determinations.

Another reason for our observed low species diversity is the high degree of degradation in the forest environments at our study sites (Noll and Gomes 2009). A well-preserved forest would probably host many more species of *Agelaima*, for example. Other possible causes for the low species number are the availability of food resources, nesting sites, and season of the year (Santos et al. 2009).

Our study provides some evidence that the physical dimensions and perhaps placement of baits can greatly affect the outcome of monitoring. Our traps were installed 180 cm above the ground. D'Adamo and Lozada (2007) found that the higher a visual clue is placed, the easier it will be detected by wasps and bees. The height of the traps also most likely affected which wasp species were collected.

Although the *Agelaima* species occurred in all three types of environments and the statistical test showed no significant difference among areas, the wasp species seemed to be most attracted to forest sites. Silva and Silveira (2009) found similar results. This result may be related to the occurrence of larger numbers of decomposing animals and available habitat for nest construction in the forest, compared with the urban/rural sites.

Species of *Agelaima* have large colonies (Zucchi et al. 1995), which would allow them to be collected frequently throughout the year. *Agelaima* foragers regularly feed on vertebrate carrion, and are commonly more numerous locally than those of other Epiponini (Hunt et al. 2001). Occasionally, the abundance of *Agelaima* is surpassed by that of *Polybia*, which often live in smaller, but more numerous colonies (O'Donnell 1995). Because foragers of these two genera are usually abundant on carcasses, similar numbers of collected specimens should be expected. The predominance of specimens of *Agelaima* over *Polybia* in our collections is therefore most likely caused by other factors, for instance, the distance between the nests and the baits. We collected a large number of *A. vicina* in the forest sites. This species requires large spaces to build its nests, such as holes in large trees (Zucchi et al. 1995), which are found in the forest environments of all the municipalities where the collections took place. According to Santos et al. (2009), vegetation has a direct (by providing nesting sites and food resources) and indirect (by causing variations in temperature, air humidity, and shade levels) influence on the communities of social wasps in a given locality.

With respect to bait preferences, we collected more wasps attracted to the fish. This finding is not entirely new, because some *Agelaima* species are strongly attracted to fish carcasses (O'Donnell 1995). This preference is probably related to the adaptation of wasps to the easily available fish carcasses in the study area, which contains several rivers belonging to three main hydrographic basins, as follows: Piracicaba, Capivari, and Jundiá. Because of this preference, *Agelaima fulvofasciata* is known in Brazil as "caba de peixe" (fish wasp) (Ducke 1910). However, to our knowledge, *Agelaima* does not necessarily or preferably nest in riparian areas. The utilization of antibiotics in poultry production, mainly as growth promoters (Edens

2003), may have affected the attraction of wasps to chicken gizzards, because these substances remain in their carcasses.

Although food preferences exist in social wasps, the broad range of protein and carbohydrate sources used by foragers would overcome the potential difficulties arising from the reduction in the availability of a preferred food item (Spradbery 1973). Because the baits were replaced in the traps after 24 h of exposure, relatively fresh baits were available throughout the study. The choice of a food item by social wasps depends on the stage of decomposition of a vertebrate carcass. An animal dead for a long time or already infested with fly maggots does not offer the same nutritional quality as a freshly dead carcass, and will be avoided by foragers (O'Donnell 1995). Alternatively, in poorly diversified communities of arthropod prey types, the carcass may be an important alternative for the wasps. Future studies using stable isotope analysis (Ikeda et al. 2006, Tooker and Hanks 2004) could determine whether wasps are feeding on vertebrate carrion and confirm which arthropod species present in the carcass are being consumed by them. We believe that wasps most likely have a greater effect on the decomposition process than we realize.

The peaks of abundance of social wasps tended to occur in months with low levels of precipitation in the study area (Fig. 3). During the dry and cold season, carcasses tend to remain preserved for longer periods, and may then attract more wasps. Water availability is a key factor for the survivorship rates of social wasps, because of the depletion of nectar and insects. In this scenario, the carrion in the traps becomes a viable alternative source of sugar, water, and proteins (Elpino-Campos et al. 2007). In contrast, carcasses may become waterlogged and unattractive to wasps because of excessive rainfall (Archer 2004). Figs. 3 and 4 also demonstrate a clear mutual avoidance between *A. pallipes* and *A. vicina* throughout the collection period, possibly because the two species have similar niches. Displacements of one wasp species by others are common (O'Donnell 1995). When more than one wasp species is foraging at a carcass, competition for arthropod prey is likely to occur. Species that are less efficient in capturing prey (e.g., have a long handling time) may use the carcass as a protein source. To our knowledge, there are no published records of interactions between *A. pallipes* and *A. vicina*. Studies focusing on overlapping niches may clarify the true extent of interaction between these species.

A notable aspect of these findings is that the quantity and diversity of forensically important insects (mainly blow flies and flesh flies) may be underestimated. This is a possible practical implication of the usual finding of only insect fragments in the bottle traps, because of the predation of wasps on these flies. When extrapolating this circumstance to real forensic cases, the postmortem interval may be inaccurately estimated, when its inferences are based on insect succession. Therefore, caution is recommended in this regard, because surveys of flies of forensic importance that use the methodology employed in the current

study are widespread (e.g., Ferreira 1978, 1983; Linhares 1981a, 1981b). However, caution must be exercised because the confined space of the trap may have artificially increased the degree of predation compared with that on actual carcasses, because the probability of predator/prey encounters was increased (Hampton 2004).

Self-Critique. The sampling method used in the current study has potentially strong biases, as opposed to netting on a natural carcass. This issue was previously raised by Hwang and Turner (2005) for blow flies. According to these authors, the attractiveness of baited traps may be affected, among other factors, by different reactions to the trap stimulus among different species, weather aspects, height, and position of traps. However, because our experimental design used 1,512 sample units, it would have been difficult, in terms of logistics and fieldwork, to use pig carcasses (currently considered the best model to reproduce the decomposition of a human body; see Michaud and Moreau 2009) in the current study. Moreover, our sampling method has the following advantages: 1) no pigs are killed, avoiding problems with ethical norms of animal experimentation; 2) traps can be distributed in a wider range of localities/municipalities; 3) sampling errors are minimized, because it is unnecessary to compare weights of pig carcasses.

Acknowledgments

We thank Ana Isabel Martínez Sánchez (University of Alicante, Spain), David W. Roubik (Smithsonian Tropical Research Institute, Panama), Richard W. Merritt (Michigan State University), and Sean O'Donnell (University of Washington) for constructive comments that improved the clarity of this manuscript. The observations reported in this work are part of a thematic project named "Forensic Entomology: the Utilization of Arthropods for Determining Time, Place, Cause, and Circumstances of Death," supported by Grant 04/08544-0 from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (State of São Paulo Research Foundation). T.C.M. has also been supported by a scholarship from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Grant 06/60504-9), and W.A.C.G. was partially supported by a grant from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (National Council for Scientific and Technological Development).

References Cited

- AGRITEMPO-Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. 2011. Monitoramento Agrometeorológico da Região Sudeste. (<http://www.agritempo.gov.br>).
- Archer, M. S. 2004. Rainfall and temperature effects on the decomposition rate of exposed neonatal remains. *Sci. Justice* 44: 35–41.
- Beiguelman, B. 2002. Curso Prático de Bioestatística. Editora FUNPEC, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.
- Bourel, B., L. Martin-Bouyer, V. Hedouin, J. C. Cailliez, D. Derout, and D. Gosset. 1999. Necrophilous insect succession on rabbit carrion in sand dune habitats in northern France. *J. Med. Entomol.* 36: 420–425.
- Campobasso, C. P., D. Marchetti, F. Introna, and M. F. Colonna. 2009. Postmortem artifacts made by ants and

- the effect of ant activity on decompositional rates. *Am. J. Forensic Med. Pathol.* 30: 84–87.
- D'Adamo, P., and M. Lozada. 2007. Foraging behaviour related to habitat characteristics in the invasive wasp *Vespula germanica*. *Insect Science* 14: 383–388.
- Ducke, A. 1910. Révision des guêpes sociales polygames d'Amérique. *Ann. Mus. Nat. Hungar.* 8: 449–544.
- Early, M., and M. L. Goff. 1986. Arthropod succession patterns in exposed carrion on the island of O'ahu, Hawaiian Islands, USA. *J. Med. Entomol.* 23: 520–531.
- Edens, F. W. 2003. An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 5: 75–97.
- Elpino-Campos, A., K. Del-Claro, and F. Prezoto. 2007. Diversity of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) in *Cerrado* fragments of Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 36: 685–692.
- Erzinçlioglu, Y. Z. 1996. *Naturalists' Handbooks: Blowflies*, vol. 23. Richmond Publishing-Company of Biologists, Oxford, United Kingdom.
- Ferreira, M.J.M. 1978. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba, Paraná. I. Calliphoridae. *Rev. Bras. Biol.* 38: 445–454.
- Ferreira, M.J.M. 1983. Sinantropia de Calliphoridae (Diptera) em Goiânia, Goiás. *Rev. Bras. Biol.* 43: 193–210.
- Gomes, B., and F. B. Noll. 2009. Diversity of social wasps (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) in three fragments of semideciduous seasonal forest in the northwest of São Paulo State, Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* 53: 428–431.
- Gomes, L., G. Gomes, H. G. Oliveira, J. J. Morlin Jr., I. C. Desuó, I. M. Silva, S. N. Shima, and C. J. Von Zuben. 2007a. Forrageamento de *Polybia (Trichothorax) ignobilis* sobre moscas visitantes de carcaças animais. *Rev. Bras. Entomol.* 51: 389–393.
- Gomes, L., G. Gomes, H. G. Oliveira, J. J. Morlin Jr., I. C. Desuó, M.M.C. Queiroz, E. Giannotti, and C. J. Von Zuben. 2007b. Ocorrência de Hymenoptera em carcaças de *Sus scrofa* durante as estações de inverno e verão do sudeste do Brasil. *Rev. Bras. Entomol.* 51: 394–396.
- Gotelli, N. J., and A. M. Ellison. 2004. *A Primer of Ecological Statistics*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hampton, S. E. 2004. Habitat overlap of enemies: temporal patterns and the role of spatial complexity. *Oecologia* 138: 475–484.
- Hunt, J. H. 1991. Nourishment and the evolution of the social Vespidae, pp. 426–450. In K. G. Ross and R. W. Matthews (eds.), *The Social Biology of Wasps*. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Hunt, J. H., S. O'Donnell, N. Chernoff, and C. Brownie. 2001. Observations on two Neotropical swarm-founding wasps, *Agelaia yepocapa* and *A. panamaensis* (Hymenoptera: Vespidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 94: 555–562.
- Hwang, C., and B. D. Turner. 2005. Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas. *Med. Vet. Entomol.* 19: 379–391.
- Ikeda, H., K. Kubota, T. Kagaya, and T. Abe. 2006. Niche differentiation of burying beetles (Coleoptera: Silphidae: Nicrophorinae) in carcass use in relation to body size: estimation from stable isotope analysis. *Appl. Entomol. Zool.* 41: 561–564.
- Linhares, A. X. 1981a. Synanthropy of Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* 25: 189–215.
- Linhares, A. X. 1981b. Synanthropy of Muscidae, Fanniidae and Anthomyiidae (Diptera) in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* 25: 231–243.
- Michaud, J. P., and G. Moreau. 2009. Predicting the visitation of carcasses by carrion-related insects under different rates of degree-day accumulation. *Forensic Sci. Int.* 185: 78–83.
- Morellato, P. C., and H. F. Leitão Filho. 1995. *Ecologia e Preservação de uma Floresta Tropical Urbana: Reserva de Santa Genebra*. Editora da UNICAMP, Campinas, Brazil.
- Moretti, T. C., P. J. Thyssen, W.A.C. Godoy, and D. R. Solis. 2008. Necrophagy by the social wasp *Agelaia pallipes* (Hymenoptera: Vespidae, Epiponini): possible forensic implications. *Sociobiology* 51: 393–398.
- Moretti, T. C., P. J. Thyssen, and D. R. Solis. 2009. Breeding of the scuttle fly *Megaselia scalaris* in a fish carcass and implications for the use in forensic entomology (Diptera: Phoridae). *Entomol. Gen.* 31: 349–353.
- Noll, F. B., and B. Gomes. 2009. An improved bait method for collecting Hymenoptera, especially social wasps (Vespidae: Polistinae). *Neotrop. Entomol.* 38: 477–481.
- O'Donnell, S. 1995. Necrophagy by Neotropical swarm-founding wasps (Hymenoptera: Vespidae, Epiponini). *Biotropica* 27: 133–136.
- Santos, G.M.M., J. D. Cruz, O. M. Marques, and N. Gobbi. 2009. Diversidade de vespas sociais (Hymenoptera: Vespidae) em áreas de cerrado na Bahia. *Neotrop. Entomol.* 38: 317–320.
- Setzer, J. 1966. *Atlas Climatológico e Ecológico do Estado de São Paulo: Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguaí. Centrais Elétricas do Estado de São Paulo, São Paulo, Brazil.*
- Silva, S. S., and O. T. Silveira. 2009. Vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) de floresta pluvial Amazônica de terra firme em Caxiuanã, PA, Brazil. *Iheringia* 99: 317–323.
- Silveira, O. T. 2002. Surveying Neotropical social wasps: an evaluation of methods in the "Ferreira Penna" Research Station (ECFPn), in Caxiuanã, PA, Brazil (Hym., Vespidae, Polistinae). *Pap. Avulsos Zool.* 42: 299–323.
- Silveira, O. T., M. C. Esposito, J. N. Santos Jr., and F. E. Gemaque Jr. 2005. Social wasps and bees captured in carrion traps in a rainforest in Brazil. *Entomol. Sci.* 8: 33–39.
- Spradbery, J. P. 1973. *Wasps: an Account of the Biology and Natural History of Solitary and Social Wasps*. University of Washington Press, Seattle, WA.
- Tooker, J. F., and L. M. Hanks. 2004. Trophic position of the endophytic beetle, *Mordellistena aethiops* Smith (Coleoptera: Mordellidae). *Environ. Entomol.* 33: 291–296.
- Wells, J. D., and B. Greenberg. 1994. Effect of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) and carcass type on the daily occurrence of post feeding carrion-fly larvae (Diptera: Calliphoridae, Sarcophagidae). *J. Med. Entomol.* 31: 171–174.
- Zucchi, R., S. F. Sakagami, F. B. Noll, M. R. Meechi, S. Mateus, M. V. Baio, and S. N. Shima. 1995. *Agelaia vicina*, a swarm-founding polistine with the largest colony size among wasps and bees (Hymenoptera: Vespidae). *J.N.Y. Entomol. Soc.* 103: 129–137.

Received 1 April 2011; accepted 28 June 2011.

Modelagem estatística com base na determinação de estações de morte

Moretti TC, Bonato V, Godoy WAC. Determining the season of death from the family composition of insects infesting carrion. **European Journal of Entomology** 108: 211-218, 2011.

Determining the season of death from the family composition of insects infesting carrion

THIAGO DE CARVALHO MORETTI¹, VINÍCIUS BONATO² and WESLEY AUGUSTO CONDE GODOY³

¹Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo, 18618-000, Brazil; e-mail: tcmoretti@yahoo.com.br

²Pfizer Inc., Groton, Connecticut, 06340, USA; e-mail: vinibonato@yahoo.com.br

³Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, São Paulo, 13418-900, Brazil; e-mail: wacgodoy@esalq.usp.br

Key words. Forensic science, forensic entomology, necrophagous insects, seasonal dating, seasonality, Calliphoridae, Sarcophagidae, Fanniidae, Formicidae, baseline-category logit model

Abstract. Determining the season of death by means of the composition of the families of insects infesting carrion is rarely attempted in forensic studies and has never been statistically modelled. For this reason, a baseline-category logit model is proposed for predicting the season of death as a function of whether the area where the carcass was exposed is sunlit or shaded and of the relative abundance of particular families of carrion insects (Calliphoridae, Fanniidae, Sarcophagidae, and Formicidae). The field study was conducted using rodent carcasses (20–252 g) in an urban forest in southeastern Brazil. Four carcasses (2 in a sunlit and 2 in a shaded area) were placed simultaneously at the study site, twice during each season from August 2003 through June 2004. The feasibility of the model, measured in terms of overall accuracy, is $64 \pm 14\%$. It is likely the proposed model will assist forensic teams in predicting the season of death in tropical ecosystems, without the need of identifying the species of specimens or the remains of carrion insects.

INTRODUCTION

The microenvironment to which a carcass is exposed (e.g. shaded or sunlit sites), which affects local air temperature, humidity and rate of dehydration, has a major effect on (i) the rate of decomposition of the carcass, (ii) its attraction as an oviposition/larviposition site for flies, (iii) maggot development and (iv) relative abundance of carrion insects (Shean et al., 1993).

Another major factor is the season of the year, which has a crucial influence on weather and on the biotic community of a region, and may also affect both the decomposition process and the composition of the carrion entomofauna (Tomberlin & Adler, 1998).

The season is even more important than the time that has elapsed since death in determining the time of colonization of several species of carrion insects, mainly in temperate countries (Anderson, 2010).

The seasonality of some carrion arthropods and the different times of colonization of a carcass in different seasons imply that these organisms may be valuable in determining the season of death, which is especially useful when a corpse is discovered long after death occurred (i.e. long PMI cases) (Anderson, 2010). Establishing the season of death can be crucial in determining/eliminating suspects and confirming alibis in the case of murder, accidental death, suicide and even when the death is from natural causes (Schoenly et al., 1992; Geberth, 1996). The season of death can also have important implications for legal matters such as inheritance and insurance (Henssge et al., 2002).

In spite of its importance, the association between carrion insects and their season of appearance on corpses, and therefore the possibility of predicting the season of death using these organisms, has rarely been investigated (but see, e.g., Archer & Elgar, 2003), and, to the best of our knowledge, has never been statistically modelled.

For this reason, it is proposed here to use a statistical approach, a logit-based regression method, to model the season in which death occurred in terms of a function of the area where the carcass was exposed (sunlit or shaded) and the relative abundance of arthropod families found in the carrion. This type of model, which is unusual in the field of forensic entomology, is called a logit model, or specifically in our case, a baseline-category logit model (Agresti, 2002). This type of statistical approach was chosen to build a model able to describe the probability of occurrence of a nominal event (season) as a function of a set of independent covariates. A cross-validation procedure was used to validate the model and assess its accuracy in predicting the season in which death occurred.

MATERIAL AND METHODS

Study site

The site was located in an urban forest (22°49'15"S, 47°04'08"W) on the campus of the State University of Campinas (UNICAMP) in the municipality of Campinas, São Paulo State, Brazil (approx. 685 m above sea level). The climate of the region is seasonal, with a dry and cool season (winter) occurring from early June to late August, a warm and wet season (summer) from mid-November to late March, and two transitional periods characterized by oscillations in temperature and

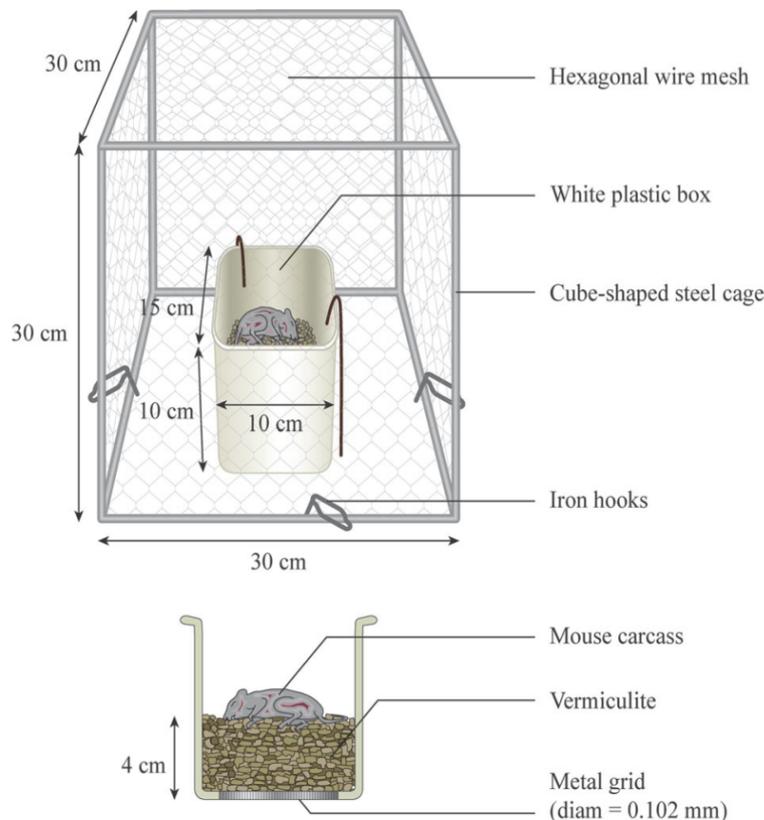


Fig. 1. Device used to carcass exposure in the field.

rainfall: early April to late May (autumn) and early September to early November (spring). The mean temperature of the coldest month is 18.5°C and that of the hottest month is 24.9°C. The mean annual rainfall is 119 mm (CEPAGRI-UNICAMP; Souza & Linhares, 1997).

Model

16 carcasses of mice (*Mus musculus* Linnaeus) and 16 of albino rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout), ranging from 20 to 252 g, were used. Rodent carcasses are widely used in studies on insect colonization of carrion (Monteiro-Filho & Penreiro, 1987; Blackith & Blackith, 1990; Kentner & Streit, 1990; Isiche et al., 1992; Moura et al., 1997; Tomberlin & Adler, 1998; Davies, 1999).

On-site and laboratory procedures

The field study was carried out from August 2003 through June 2004. Two mice and two rat carcasses were placed simultaneously at the study site twice in each season (with an interval of 30 days between placing out the first and second batch of carcasses), with a total of 32 rodents and 8 experiments during the 4 seasons.

The carcasses were placed in individual white plastic boxes (15 × 10 × 10 cm), and arranged 20 m apart in either sunlit or shaded areas in the forest (one mouse and one rat in both the sunlit and shaded areas). No interaction between the carcasses placed in the different areas (e.g. transfer of odours of decomposition) was detected. A thin metal grid (diam = 0.102 mm) at the bottom of the box allowed water to flow through while preventing adults and maggots from leaving.

There was a 4-cm-thick layer of vermiculite between the metal grid and the carcass, which absorbed rainwater and provided a substrate for pupation. A cube-shaped steel cage (30 × 30 × 30 cm) covered with one-inch hexagonal wire mesh was placed over the plastic box and fixed to the ground with four iron hooks. This cage prevented access by vertebrate scavengers while allowing arthropods to enter. Fig. 1 shows the device used in the present study. Each day, for 30 min between 10:00 and 14:00 h, each carcass was observed. A hand net was used to collect flying insects and tweezers the crawling arthropods (ants, beetles and harvestmen) directly from the carcasses. All collections were performed by the same person throughout the field study.

In the laboratory, all adult insects collected were placed in plastic vials, labelled with place and date of collection and stored at -20°C for later identification. Weather conditions in the field were measured daily during insect collection, with a Celsius thermometer and a humidity sensor. Further meteorological data (e.g. Max/Min daily temperatures) were obtained from a meteorological station, adjacent to the study site, located at 640 m above sea level. Each field experiment ended when the carcasses were no longer visited by adult insects.

Immature specimens (larvae and pupae) were collected from the vermiculite layer at the end of the experiment. They were reared under controlled laboratory conditions (25 ± 1°C, 60 ± 10% relative humidity), in vials containing only a layer of vermiculite and covered with transparent fabric. All insects that emerged were stored at -20°C for later identification.

TABLE 1. Total number of individuals of the various families of arthropods collected from the 32 rodent carcasses.

Specimens ¹	Abundance (n)
Order Diptera	
Calliphoridae ²	5,284
Sarcophagidae ²	380
Fanniidae ²	258
Otitidae	122
Syrphidae	75
Drosophilidae	25
Muscidae	22
Micropezidae	16
Dolichopodidae	14
Sepsidae	09
Phoridae	03
Richardiidae	02
Anthomyiidae	01
Asilidae	01
Lauxaniidae	01
Order Hymenoptera	
Formicidae ²	179
Encyrtidae ³	67
Apidae	29
Ichneumonidae	04
Order Opiliones	
Gonyleptidae	17
Order Coleoptera	
Staphylinidae	04

¹Includes adults and larvae.

²Families included in the reduced model.

³Represented by *Tachinaephagus zealandicus* Ashmead, a parasitoid of the larvae of the blowfly *Chrysomya megacephala* Fabricius (Moretti & Ribeiro, 2006).

Statistical modeling of the data

The season when the carcasses were exposed to arthropod visitation was represented by a nominal response variable Y with $J = 4$ categories (autumn, winter, spring and summer). The probability of a carcass being exposed in season j , for example is described by letting $j = 1$ represent a carcass exposed in autumn, given a fixed setting x of explanatory variables as $\pi_1(x) = P(Y = 1|x)$. Since $\sum_j \pi_j(x) = 1$, Y follows a multinomial distribution with probabilities $\{\pi_1(x), \dots, \pi_a(x)\}$ and, therefore, the vector of probabilities π_j 's can be modelled as a function of its covariates x using the baseline-category logit model described by Agresti (2002). The value of this model is that it describes the data and can easily be used to predict the season j of placement of the carcass. The baseline-category logit model uses separate binary logit models for describing the log odds of any event j with respect to a baseline event J (arbitrarily chosen), such that

$$\log\left(\frac{\pi_j(x)}{\pi_J(x)}\right) = \beta_j'x, \quad j = 1, 2, \dots, J-1$$

where the vector β_j represents the unknown effects to be estimated and x represents the $n \times p$ matrix, with the first column containing the indicator variable for the sunlit area and the remaining columns containing the counts of visiting specimens for each arthropod family p observed at each carcass sample n . These covariate effects vary according to the category j paired with the baseline; however, the effects for any other pair (a, b) of response categories can be obtained using

$$\log\left(\frac{\pi_a(x)}{\pi_b(x)}\right) = \log\left(\frac{\pi_a(x)}{\pi_J(x)}\right) - \log\left(\frac{\pi_b(x)}{\pi_J(x)}\right).$$

TABLE 2. Number of individuals (by season) of the families used in the reduced model.

Family (n)	Season			
	Autumn	Summer	Spring	Winter
Sarcophagidae	75	37	32	239
Calliphoridae	648	1,637	2,640	359
Fanniidae	6	105	137	10
Formicidae	91	0	88	0

Once the Maximum Likelihood Estimates (MLE) of the vector β_j is obtained, the probability $\pi_j(x)$ of each nominal response of the variable Y can be obtained using the equation

$$\pi_j(x) = \frac{\exp(\beta_j'x)}{1 + \sum_{j=1}^{J-1} \exp(\beta_j'x)} \quad (1)$$

setting the remaining $\beta_j = 0$. By fixing x_{p-1} it is possible to obtain the marginal effects of any x_p on $\pi_j(x)$.

Initially the full model was fitted including the area where the carcass was placed (sunlit or shaded area) and the counts of all arthropod families found on it (including larvae and adults). There appeared to be no plausible biological reason to include interactions in this model. The backward selection procedure was used to find the best model (Draper & Smith, 1981). This procedure starts with the full model (all main factors), and the least-significant variables are excluded one at a time. The model is refitted at each stage if the significance is below the threshold of $\alpha = 1$ based on the x^2 statistic (Agresti, 2002). A measure of goodness-of-fit of the model is the ratio (r) of the deviance statistic (D) to its degrees of freedom. The closer r is to 1, the better is the fit of the model (McCullagh & Nelder, 1989).

In the absence of truly independent data (the situation considered here) the predictive accuracy of the proposed model can be estimated as follows. The samples are split into mutually exclusive training (3/4 of the samples) and test sets (remaining 1/4 of the samples). For the training set, the counts of arthropods in the carcasses along with the area (sunlit/shaded) and season of sample are used to build the model. No data from the test set are used in the model construction. The model is then considered to be representative of the model built using all samples (of which the training set is a subset). The test set is used to evaluate the performance of the model built from the training set: for each sample in the test set, season is predicted from the area (sunlit/shaded) and counts of arthropods data. The predicted season (season with highest predicted probability of occurrence) is then compared to the observed data and summarized in terms of accuracy, i.e., given the vector $\hat{\beta}$ of estimated parameters using the training data, the nominal response of a sample was predicted from the validation data set using $\hat{j} = \arg \max \{P(Y=j | \hat{\beta}, x)\}$. To avoid dependency on the choice of the training and test set, this procedure is randomly repeated for 10 splits. Since the vector J of responses is known for the test set, it was compared with the estimated season of death vector (\hat{j}) and the average of the accuracy (% of correct predictions) resulting from each split used as the estimate of the feasibility of the model built using the data from all samples. The statistical analyses were performed using the package *mnet* (Venables & Ripley, 2002) implemented in the R software (R Development Core Team, 2010).

RESULTS

The full baseline-category logit regression model for the season of placement of the carcass has 8 covariates: the placement area (with 2 levels: sunlit and shaded) and

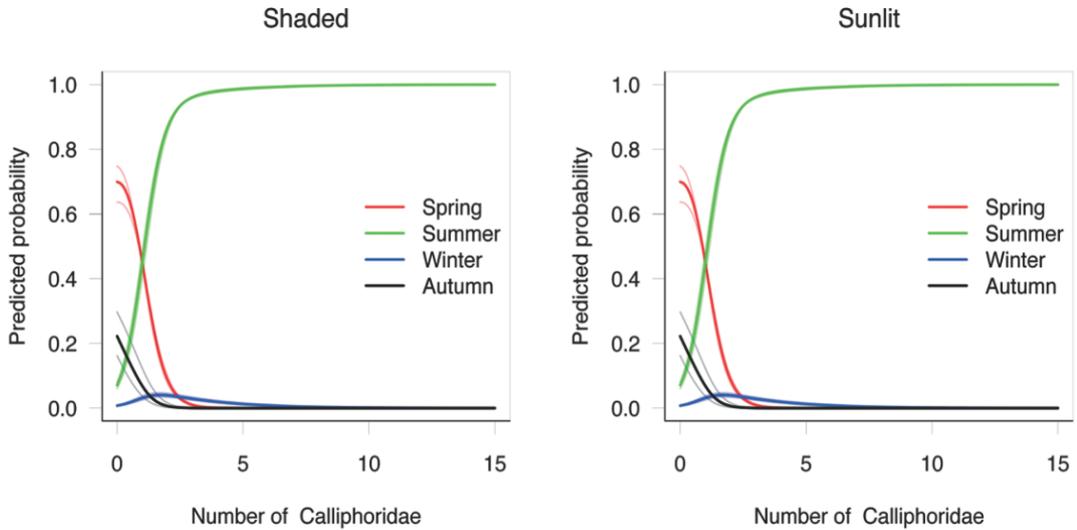


Fig. 2. Estimated probabilities for Calliphoridae depicted as a function of season and exposure of carcass to sun light (95% CI).

the counts of visiting and/or breeding arthropod families (with 7 levels: Calliphoridae, Encyrtidae, Fanniidae, Formicidae, Otitidae, Sarcophagidae and Syrphidae). The families Anthomyiidae, Asilidae, Apidae, Dolichopodidae, Drosophilidae, Gonyleptidae, Ichneumonidae, Lauxaniidae, Micropezidae, Muscidae, Phoridae, Richardiidae and Sepsidae were not included in the full model because few specimens were collected from the carcasses throughout the whole study ($n < 50$). The abundance of all families of arthropods collected from the 32 rodent carcasses is given in Table 1.

The backward selection procedure applied to the full model yielded a reduced model with placement area and counts of visiting and/or breeding arthropod families (with 4 levels: Calliphoridae, Fanniidae, Formicidae and

Sarcophagidae) as significant factors. Larvae and adults of these three dipteran families were collected, but only adults of ants. In Table 2, the abundance of the families used in the reduced model is presented by season. Further details on the species composition of the carrion fauna for the study area can be found in Moretti et al. (2008).

The goodness-of-fit of the reduced model to the data assessed by the deviance statistic ($D = 1274.93$; $d.f. = 1220$) showed that the model fits the data very well, because the value of r ($= 1.04$) was close to 1. The parameter estimates for the reduced model are in Table 3. The performance of this model, measured in terms of overall accuracy, is $64 \pm 14\%$, which is satisfactorily higher than that obtained by randomly guessing the seasons (25%).

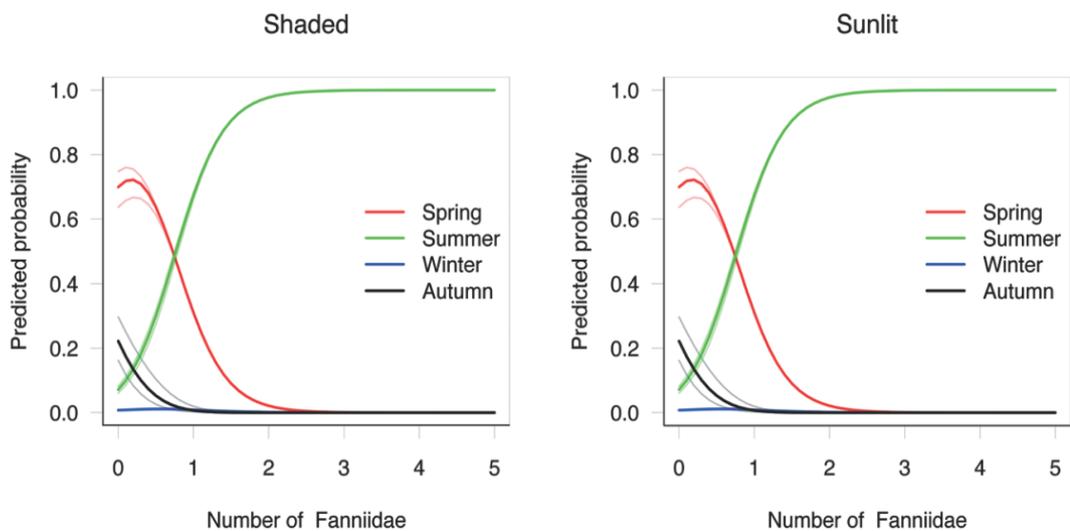


Fig. 3. Estimated probabilities for Fanniidae depicted as a function of season and exposure of carcass to sun light (95% CI).

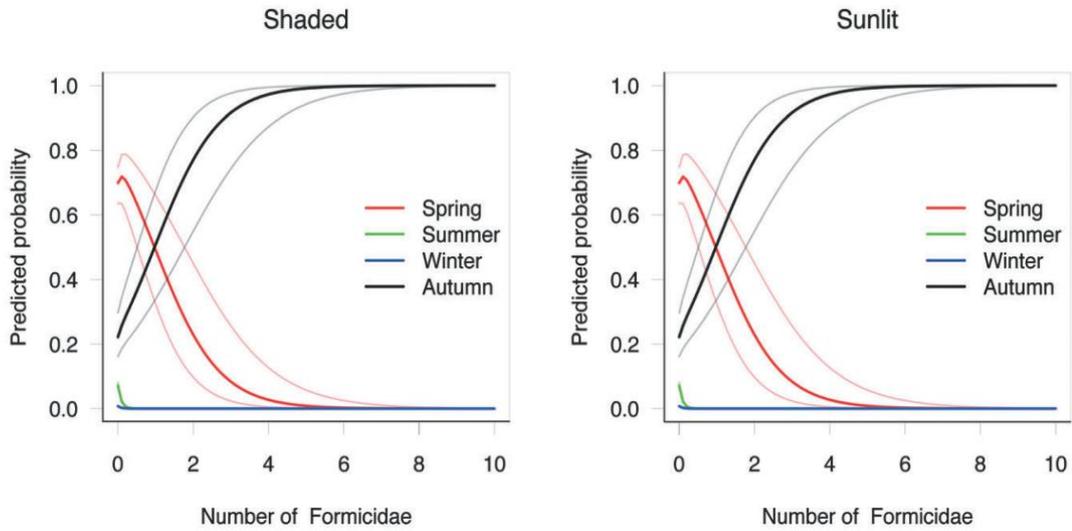


Fig. 4. Estimated probabilities for Formicidae depicted as a function of season and exposure of carcass to sun light (95% CI).

In Figs 2–5 are the estimated probabilities that a carcass was visited in a particular season based on the counts of visiting and/or the arthropods that bred in the carcasses. Positive coefficients for a particular season (Table 3) indicate that the more individuals of that family were found on the carcass, the greater is the probability that the carcass was placed in the field during that season. Negative coefficients indicate the opposite relationship. For example, according to the model, if a large number of specimens of Sarcophagidae are found in a carcass it strongly indicates that it was placed at the site during winter rather than spring. On the other hand, the more individuals of Calliphoridae and Fanniidae collected, the greater the probability that the carcass was placed at the site during summer. The more Formicidae present on a carcass, the more likely it was present in autumn. How-

ever, since the coefficients estimated for each visiting arthropod family (Table 3) are used simultaneously as a weighting system to identify the season in which a carcass was placed at a site, what governs the final predicted probability of the season in which a carcass was placed in the field is, in fact, the overall relative abundance of these 4 arthropod families. To illustrate this, equation (1) and the values in Table 3 are used to calculate the probability that a carcass was placed in the field during a certain season as a function of the relative abundance of the insect families found on it and of the area in which it was placed (sunlit/shaded). For the following examples it is assumed that the carcasses were placed in a sunlit area. For the first example it is assumed that 10 individuals of each family were collected from the carcass, i.e., relative abundances of 1:1:1:1 for Sarcophagidae, Calliphoridae,

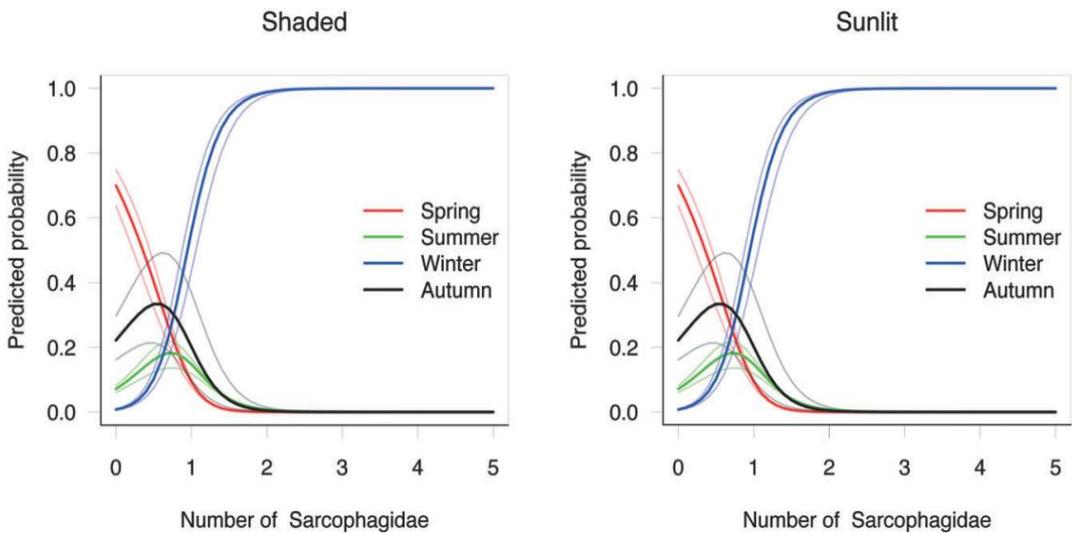


Fig. 5. Estimated probabilities for Sarcophagidae depicted as a function of season and exposure of carcass to sun light (95% CI).

TABLE 3. Parameter estimates used in the reduced model. Standard errors are shown in parentheses.

Logit	Intercept	Sunlit area	Family			
			Sarcophagidae	Calliphoridae	Fanniidae	Formicidae
$\log(\pi_{sp}(x)/\pi_{au}(x))$	0.32(0.11)	0.82(0.09)	-1.92(0.20)	0.74(0.10)	2.69(0.34)	-1.18(0.16)
$\log(\pi_{su}(x)/\pi_{au}(x))$	-3.55(0.12)	2.42(0.10)	0.82(0.19)	3.02(0.12)	5.75(0.32)	-13.15(0.01)
$\log(\pi_{wi}(x)/\pi_{au}(x))$	-3.12(0.14)	-0.27(0.13)	4.40(0.17)	2.60(0.14)	3.65(0.39)	-13.80(0.01)

sp – spring; *su* – summer; *wi* – winter; *au* – autumn.

Fanniidae and Formicidae. In this example, the estimated probability that the carcass was exposed in spring is 98.8%. In a second scenario, with counts of 10:5:5:5 for those families, i.e., relative abundances of 2:1:1:1, there is an estimated 94.6% chance that the carcass was placed out in winter. On the other hand, counts (and relative abundances) of 1:1:5:1 for those four families result in a 94.6% certainty that the sample came from a carcass placed out in summer. To conclude, a count of 5:5:5:10, i.e., relative abundances of 1:1:1:2 indicates, with a probability of 95.7%, that it was an autumn carcass.

DISCUSSION

The results of the study carried out by Souza & Linhares (1997), in the same area as the present study, support the predictability of the model presented here. They record that the flesh flies *Peckia* (*Pattonella*) *intermutans* Walker, *Peckia* (*Squamatodes*) *ingens* Walker and *Sarcophaga* (*Liopygia*) *ruficornis* Fabricius breed in pig carrion only during the cooler and drier periods of the year (mainly winter) and never in spring and summer. Also, they recorded more adult and immature blow flies (e.g., *Chrysomya albiceps* Wiedemann, *Chrysomya putoria* Wiedemann and *Lucilia eximia* Wiedemann) in summer. This clear seasonal pattern for sarcophagids (peak abundance in winter) is also recorded for human cadavers, in the state of Rio de Janeiro, Brazil (Oliveira-Costa et al., 2001). The Fanniids *Fannia pusio* Wiedemann (Marchiori & Prado, 1999) and *Fannia canicularis* Linnaeus (Byrd & Castner, 2010), which are tolerant of high temperatures, are more abundant during the warmer summer months, which also supports the findings of the model presented.

Unlike the other arthropods, ants have a quite diverse biology and are not true carrion insects, although there are records of several species of Formicidae consuming vertebrate carcasses (e.g. Moretti et al., 2008). In addition, as they are social and many are capable of recruiting nest mates to resources, it is difficult to decide if one should be counting dozens of individual ants or only a few nests. Moreover, the distance between a carcass and ant nests may affect the presence of Formicidae and may result in the patchy visits of carrion by ants (M. H. Villet, pers. commun.). Therefore, the present model must be interpreted with caution when predicting season of death based on the occurrence of ants. As seen in Figs 2–5, the predictions were only slightly affected by whether the carcass is in the shade or exposed to sun. Similarly, Souza & Linhares (1997) found in the same urban forest that insolation does not influence the frequency with which blow flies visit and breed in carcasses.

Byrd & Castner (2010) conclude that flesh flies are attracted to carrion both in shaded and sunlit areas, with no marked preference. Flesh flies are first recorded on both shaded and exposed carcasses of pigs on the same day in coastal Washington State, which possibly indicates that the insolation regime is not a key factor in the colonization of carcasses by members of this family (Shean et al., 1993). It is unknown whether this factor influences Fanniidae and Formicidae.

Moretti et al. (2008) provide a complete species composition of the local carrion fauna and the possible pattern of insect succession in the study area. This knowledge is vital if entomological tools are to be used in medico-legal routines, or even in cases of wildlife poaching. In this paper, the aim was to use relative abundance data for four forensically important families, Calliphoridae, Sarcophagidae, Fanniidae (Diptera) and Formicidae (Hymenoptera), to model the season of death, which together with the PMI estimation, are the most important forensic aspects (Turchetto & Vanin, 2010). In the model, immature and adult insects of these families are included because this approach leads to a more complete comprehension of the dynamics of the local carrion community (Michaud & Moreau, 2009).

From a practical viewpoint, the model is particularly easy to use because it requires that the specimens only be identified to family rather than to species. This is usually achievable, even when the specimens are damaged (e.g. discolored, with broken wings, missing bristles, fragmented). Therefore, entomological remnants e.g. empty puparia, dead larvae, post-feeding larvae, pupae, dead adult flies and ants, must be collected from the corpse and its vicinity, as the number of such remains is likely to indicate the number of living insects previously present on a carcass. Soil samples should be also collected from beneath the corpse and scanned for insect remains. Empty puparia, especially common when a corpse is found a long time after death, are likely to remain in the area for decades (Vanin et al., 2009). Afterwards, all this material must be identified to family level. Crime-scene analysts, death investigators and coroners, who are not necessarily familiar with carrion insects, should be trained to collect, preserve, and identify these remnants to family level. Molecular biology techniques may eventually be used to identify these insect remains (Archer & Elgar, 2003). Forensic entomologists may be able to help resolve the most complicated cases. Of particular importance of the results presented for forensic science is that the model utilizes specimens that were collected in an outdoor environment in a tropical ecosystem. Therefore, caution is needed when applying this model to indoor areas and

temperate ecosystems, because of the obvious differences in the weather, species composition of the carrion fauna, succession and seasonal patterns in these two ecosystems.

The overall accuracy of this model is greater than that of a random guess of the season. The model is a first attempt to statistically predict the season of death in tropical systems based on the family composition of the carrion insects and it is now necessary to develop more robust models. Schoenly (1992), who successfully used statistical protocols to estimate PMI from the succession of insects in carrion, points out that statistical approaches or protocols are unusual in forensic entomology, but merit a more extensive use. Logistic regression is utilized to demonstrate that the successional occurrence of some carrion insects can be predicted using accumulation of degree-days and seasonal effects, which may be used to increase the reliability of PMI estimations for a given geographical areas (Michaud & Moreau, 2009).

Archer & Elgar (2003) propose a method in which seasonal dating is based on entomological remains left by seasonally active taxa, such as pupal cases of flies and components of the exoskeleton. However, their method depends on identifying insect remains to species level, which may be difficult, even for experienced taxonomists. In addition, the authors collected the insect remains just after the soft tissue was fully decomposed, which increases the chances of identifying them to species level, even of those that are not identifiable after decomposition is complete. If a carcass is sampled long after decomposition is complete, which is common in forensic analyses, it is often very difficult to identifying the insect remains to species level, which greatly reduces the efficiency of this method.

The potential application of the results of this study to forensic entomology must be evaluated with caution, since the experimental model (small rodent carcass) differs from the most-commonly used carcass, the domestic pig *Sus scrofa* L. (Catts & Goff, 1992).

Nevertheless, following a study in an urban environment at Curitiba in southern Brazil, Moura et al. (1997) conclude that the carrion entomofauna collected from rodent carcasses does not differ from that collected from pig carcasses (Souza & Linhares, 1997) and human corpses (Salviano et al., 1996). Also, the general seasonal pattern of utilization of rodent and human carcasses by insects is similar (Moura et al., 1997). Moreover, because the model presented uses the relative abundance of carrion insects (i.e. the changing proportions of the four families) (i) the size of the carcass does not influence the prediction power of the model and (ii) exhaustive collections of insect remains are not required. Therefore, not only is this model easier to use in terms of the logistics and fieldwork required compared to the models developed for pig carcasses and human corpses, but also its predictions are robust.

Ethical standards

All procedures for killing the rodents and using their carcasses followed the ethical norms of the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA).

ACKNOWLEDGEMENTS. T.C.M. was funded by a scholarship from FAPESP (The State of São Paulo Research Foundation) (grant no. 06/60504-9) and W.A.C.G. was partially funded by CNPq (The National Council for Scientific and Technological Development). We thank M.H. Villet (Rhodes University, South Africa) for his constructive comments.

REFERENCES

- AGRESTI A. 2002: *Categorical Data Analysis*. John Wiley and Sons, New Jersey, 734 pp.
- ANDERSON G.S. 2010: Factors that influence insect succession on carrion. In Byrd J.H. & Castner J.L. (eds): *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. CRC Press, Boca Raton, pp. 201–250.
- ARCHER M.S. & ELGAR M.A. 2003: Yearly activity patterns in southern Victoria (Australia) of seasonally active carrion insects. *Forensic Sci. Int.* **132**: 173–176.
- BLACKITH R.E. & BLACKITH G.R. 1990: Insect infestation of small corpses. *J. Nat. Hist.* **24**: 699–709.
- BYRD J.H. & CASTNER J.L. 2010: Insects of forensic importance. In Byrd J.H. & Castner J.L. (eds): *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. CRC Press, Boca Raton, pp. 39–126.
- CATTS E.P. & GOFF M.L. 1992: Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.* **37**: 253–272.
- CEPAGRI – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura. Clima de Campinas. Available at: <<http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-de-campinas.html>>.
- DAVIES L. 1999: Seasonal and spatial changes in blowfly production from small and large carcasses at Durham in lowland northeast England. *Med. Vet. Entomol.* **13**: 245–251.
- DRAPER N.R. & SMITH H. 1981: *Applied Regression Analysis*. John Wiley and Sons, New Jersey, 407 pp.
- GEBERTH V.J. 1996: *Practical Homicide Investigation*. CRC Press, Boca Raton, 901 pp.
- HENSSE C., KNIGHT B., KROMPECHER T., MADEA B. & NOKES L. 2002: *The Estimation of the Time since Death in the Early Postmortem Period*. Arnold, London, 271 pp.
- ISICHE J., HILLERTON J.E. & NOWELL F. 1992: Colonization of the mouse cadaver by flies in southern England. *Med. Vet. Entomol.* **6**: 168–170.
- KENTNER E. & STREIT B. 1990: Temporal distribution and habitat preference of congeneric insect species found at rat carrion. *Pedobiologia* **34**: 347–359.
- MARCHIORI C.H. & PRADO A.P. 1999: Tabelas de Vida de *Fannia pusio* (Wied.) (Diptera: Fanniidae). *Neotrop. Entomol.* **28**: 557–563.
- McCULLAGH P. & NELDER J.A. 1989: *Generalized Linear Models*. Chapman and Hall, New York, 511 pp.
- MICHAUD J.P. & MOREAU G. 2009: Predicting the visitation of carcasses by carrion-related insects under different rates of degree-day accumulation. *Forensic Sci. Int.* **185**: 78–83.
- MONTENIRO-FILHO E.L.A. & PENEREIRO J.L. 1987: A study on decomposition and succession on animal carcasses in an area of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Biol.* **47**: 289–295.
- MORETTI T.C. & RIBEIRO O.B. 2006: Occurrence of the parasitoid *Tachinaephagus zealandicus* (Ashmead) (Hymenoptera: Encyrtidae) in pupae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) in rat carcass. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **58**: 137–140.
- MORETTI T.C., RIBEIRO O.B., THYSSEN P.J. & SOLIS D.R. 2008: Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. *Eur. J. Entomol.* **105**: 691–696.

- 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. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **92**: 269–274.
- OLIVEIRA-COSTA J., MELLO-PATIU C.A. & LOPES S.M. 2001: Muscoid Diptera associated with human corpses at the death scene in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Bol. Mus. Nac. N. S. (Zool.)* **464**: 1–6.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM 2010: *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>.
- SALVIANO R.J.B., MELLO R.P., SANTOS R.F.S., BECK L.C.N.H. & FERREIRA A. 1996: Calliphoridae (Diptera) associated with human corpses in Rio de Janeiro, Brazil. *Entomol. Vect.* **3**: 145–146.
- SCHOENLY K. 1992: A statistical analysis of successional patterns in carrion-arthropod assemblages: implications for forensic entomology and determination of the postmortem interval. *J. Forensic Sci.* **37**: 1489–1513.
- SCHOENLY K., GOFF M.L. & EARLY M. 1992: A BASIC algorithm for calculating the postmortem interval from arthropod successional data. *J. Forensic Sci.* **37**: 808–823.
- SHEAN B.S., MESSINGER L. & PAPWORTH M. 1993: Observations of differential decomposition on sun exposed v. shaded carrion in coastal Washington State. *J. Forensic Sci.* **38**: 938–949.
- SOUZA A.M. & LINHARES A.X. 1997: Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in Southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med. Vet. Entomol.* **11**: 8–12.
- TOMBERLIN J.K. & ADLER P.H. 1998: Seasonal colonization and decomposition of rat carrion in water and on land in an open field in South Carolina. *J. Med. Entomol.* **35**: 704–709.
- TURCHETTO M. & VANIN S. 2010: Climate change and forensic entomology. In Amendt J., Goff M.L., Campobasso C.P. & Grassberger M. (eds): *Current Concepts in Forensic Entomology*, Springer, Dordrecht, pp. 327–351.
- VANIN S., TURCHETTO M., GALASSI A. & CATTANEO C. 2009: Forensic entomology and the archaeology of war. *J. Conflict Archaeol.* **5**: 127–139.
- VENABLES W.N. & RIPLEY B.D. 2002: *Modern Applied Statistics with S*. Springer, New York, 495 pp.

Received September 20, 2010; revised and accepted December 12, 2010