

Juliana Zibordi Gião

**DINÂMICA DE INTERAÇÕES INTRA E INTERESPECÍFICAS EM
MOSCAS-VAREJEIRAS SOB AÇÃO DE PSICOFÁRMACOS:
APLICAÇÕES ECOLÓGICAS NO CONTEXTO FORENSE**

Botucatu - São Paulo

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**DINÂMICA DE INTERAÇÕES INTRA E INTERESPECÍFICAS EM
MOSCAS-VAREJEIRAS SOB AÇÃO DE PSICOFÁRMACOS:
APLICAÇÕES ECOLÓGICAS NO CONTEXTO FORENSE**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de concentração: Zoologia

Prof. Dr. Wesley Augusto Conde Godoy

Orientador

Botucatu - São Paulo
2011

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação - Campus De Botucatu - UNESP
Bibliotecária responsável: *Sulamita Selma Clemente Colnago* – CRB 8/4716

Gião, Juliana Zibordi.

Dinâmica intra e interespecífica em moscas varejeiras sob ação de psicofármacos : aplicações ecológicas no contexto forense / Juliana Zibordi Gião. - Botucatu, 2011

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

Orientador: Wesley Augusto Conde Godoy

Capes: 20400004

1. Mosca varejeira - Ecologia. 2. Entomologia forense.

Palavras-chave: Dinâmica populacional; Entomotoxicologia; Interação presa-predador; Resposta funcional

" Pros erros há perdão; pros fracassos, chance; pros amores impossíveis, tempo. De nada adianta cercar um coração vazio ou economizar alma. O romance cujo fim é instantâneo ou indolor não é romance. Não deixe que a saudade sufoque, que a rotina acomode, que o medo impeça de tentar. Desconfie do destino e acredite em você. Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando, porque embora quem quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu."

Luis Fernando Veríssimo

Dedico este trabalho a meus queridos pais, Célia e Rodolfo que muitas vezes renunciaram os seus sonhos para que eu pudesse realizar o meu! Muito obrigada! Amo vocês!

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me acompanhar e me dar forças nessa linda caminhada que é a vida.

Ao Prof. Dr. Wesley Augusto Conde Godoy pelo apoio, amizade, confiança e exemplo profissional. Muito obrigada!

Agradeço ao pessoal do laboratório, pela amizade e ajuda, principalmente a Carolina e Paula, que sempre estiveram dispostas a me ajudar! Carol muito obrigada pelos conselhos e ajudas técnicas, você foi fundamental na realização deste trabalho! Vocês moram no meu coração!

Agradeço ao meu marido, Júnior, por todo o seu amor, respeito, dedicação, cuidado.....Você é meu Anjo, meu protetor, meu consolador... que sabe o que sinto, que me conhece e sempre sabe dizer as palavras que preciso ouvir. Que me envolve em seus braços, e me faz esquecer dos problemas que me aflige. Aquele que sabe me fazer sorrir, quando mais devo chorar. Aquele que me apóia e me ajuda a tomar grandes decisões. Aquele que com o olhar diz que me ama e sabe me fazer a mulher mais feliz do mundo. Agradeço a DEUS por enviar você! Juninho você é o grande amor da minha vida! Te amo muito!

Agradeço à minha querida mãe, Célia pela dedicação, apoio e compreensão por todas as vezes que não pude estar presente. Você é a melhor mãe do mundo! Te amo.

Ao meu Pai, Rodolfo pelo apoio e confiança. Muito obrigada! Te amo.

Aos Meus Irmãos, Rodolfo e Renato pela grande amizade, amor e união que temos. Sinto muito a falta de vocês!

À minha avó, Mercedes por suas orações, carinhos e todo amor. Você é tudo para mim! Amo você!

Aos meus tios, e primos por toda a amizade, carinho e os momentos felizes que passamos juntos.

Agradeço aos professores Dr. Patrícia Jacqueline Thyssen (Depto. Parasitologia, IB, UNICAMP), Dr. Arício Xavier Linhares (Depto. Parasitologia, IB, UNICAMP), Dr. Cláudio José Von Zuben (Depto. Zoologia, IB, UNESP/Rio Claro), Dr. Marcelo Nogueira Rossi (Depto. de Ciências Biológicas, UNIFESP/Diadema) e Dr. Carolina Reigada (Depto. Física Condensada, UNICAMP) por se disporem a ler este trabalho.

Aos funcionários e professores do Departamento de Parasitologia.

A todas as pessoas e professores que contribuíram para que eu chegasse até aqui!

Por fim agradeço à FAPESP pela bolsa de estudos concedida para a realização deste trabalho (Processo 06/59889-3).

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Material e Métodos.....	14
2.1 Experimentação laboratorial.....	14
2.1.1 Coleta e manutenção dos espécimes	14
2.1.2 Meio e manipulação de drogas	14
2.1.3 Efeito dos fármacos sobre a dinâmica populacional intraespecífica de <i>C. albiceps</i>	16
2.1.4 Efeito da predação associada aos fármacos sobre a dinâmica de <i>C. albiceps</i>	17
2.1.5 Estimativa da frequência de predação larval interespecífica.....	17
2.2 Análise estatística.	19
2.2.1 Parâmetros da resposta funcional	20
2.3 Modelos matemáticos.....	21
2.3.1 Dependência da densidade (Prout & McChesney , 1985).....	21
2.3.2 Fundamentação para a aplicação da teoria de subconjuntos Fuzzy nos sistemas intra e interespecíficos	23
2.3.3 Simulação numérica.....	27
3. Resultados e discussão.....	33
3.1 Efeito de fármacos sobre o comportamento dinâmico de <i>C. albiceps</i>	33
3.1.2 Discussão.....	36
3.2 Estimativa de frequência de predação larval interespecífica.....	49
3.3 Análise da resposta funcional.....	56
3.4 Inferência Fuzzy.....	61
4. Referências	68

Dinâmica de interações intra e interespecíficas em moscas-varejeiras sob ação de psicofármacos:

Aplicações ecológicas no contexto forense

Resumo

No presente estudo a dinâmica de interações intra e interespecíficas foi investigada em *Chrysomya albiceps*. O estudo foi delineado para investigar a influência de psicofármacos sobre diversos aspectos ecológicos importantes para a demografia do grupo taxonômico, bem como de relevância para o contexto da entomologia forense. Modelagem matemática fundamentada na teoria populacional para processos dependentes da densidade foi utilizada para avaliar o impacto dos fármacos sobre a ecologia dos insetos. A dinâmica de predação por *C. albiceps* foi investigada com experimentação voltada para a comparação do desempenho de *C. albiceps* como espécie predadora sobre suas presas. Neste sentido, a resposta funcional também foi analisada. Os subconjuntos *Fuzzy* também foram utilizados nas simulações para analisar o efeito dos fármacos e da predação intraguildd sobre a dependência da densidade das espécies. Os resultados mostram que os diferentes fármacos agem significativamente sobre as populações de moscas, induzindo a mudanças comportamentais em nível individual e coletivo, com implicações para a dinâmica populacional e de predação de *C. albiceps*. Variações na fecundidade e na sobrevivência das espécies levam a alterações nos padrões de oscilação populacional de *C. albiceps*. A predação intraguildd também é substancialmente influenciada pelos fármacos. Os possíveis efeitos sinérgicos dos fatores mencionados são discutidos no estudo, assim como as implicações dos resultados para a entomologia forense.

**Dinâmica de interações intra e interespecíficas em moscas-varejeiras sob ação de
psicofármacos:**

Aplicações ecológicas no contexto forense

Abstract

In this study, intra and interspecific interaction dynamics were investigated in *Chrysomya albiceps*. The study was designed to investigate the influence of drugs on several ecological aspects important for the demographics of blowflies and the forensic entomology context. Mathematical modeling founded on the population theory for density-dependent process was used to evaluate the impact of drugs on the larval ecology of the insects. The predation dynamics of *C. albiceps* was investigated with experimentation focused on performance comparisons of *C. albiceps* as a predator species, on their prey. In this sense, the functional response was also analyzed. The Fuzzy subsets were also used in the simulations to analyze the effect of drugs and intraguild predation on the density dependence process of the species. The results show that the different drugs act significantly on the fly populations, inducing to behavioral changes, at individual and collective level, with implications for the population dynamics of *C. albiceps*. Changes in fecundity and survival of the species lead to alterations in oscillation population patterns of *C. albiceps*. The intraguild predation was also substantially influenced by drugs. The possible synergistic effects of the mentioned factors are discussed in the study, as well as the implications of results for forensic entomology.

Dinâmica de interações intra e interespecíficas em moscas-varejeiras sob ação de psicofármacos:

Aplicações ecológicas no contexto forense

1. Introdução

A entomologia forense é o estudo dos insetos e outros artrópodes envolvidos na estimativa de parâmetros importantes para a determinação do intervalo pós-morte em investigações médico-criminais (Hall, 2001; Martins et al. 2010; Moretti, 2011, Moretti et al 2008, 2011), com base na sucessão entomológica (Nuorteva, 1977; Watanabe, 1987; Smith, 1986). Em geral os primeiros artrópodes atraídos para a carcaça são as moscas-varejeiras da família Calliphoridae (Reed, 1958; Braack, 1987), essenciais para a estimativa do intervalo pós-morte (IPM). É possível estimar o IPM pela determinação do instar larval e tempo de desenvolvimento da espécie de mosca encontrada na carcaça, considerando fatores ambientais associados como, por exemplo, a temperatura (Erzinçlioglu, 1983; Smith, 1986). Entretanto erros podem ocorrer na estimativa, caso as larvas venham a ser dessecadas, congeladas, ou contaminadas com substâncias químicas (Nuorteva et al., 1974; Micozzi, 1986).

Outros fatores como a densidade larval e a competição também devem ser consideradas por, ocasionalmente, interferir no tempo de desenvolvimento, tamanho e peso das espécies relacionadas (Ulyett, 1950; Smith & Wall, 1997). Recentes estudos sugerem que os diferentes tecidos em que as larvas se alimentam também podem influenciar a taxa de desenvolvimento larval (Kaneshraja & Turner, 2004; Clark *et al.*, 2006; Day & Wallman, 2006). O aumento de mortes relacionadas ao uso de drogas, ou ainda mortes ligadas ao consumo acidental ou proposital de venenos ou substâncias tóxicas, justifica o interesse por um novo campo de investigação forense, a

entomotoxicologia. Este ramo estuda a aplicação de análises toxicológicas em insetos necrófagos com o intuito de investigar os efeitos das drogas e toxinas presentes em tecidos humanos sobre a biologia do inseto, principalmente quando o cadáver está em estado avançado de decomposição ou esqueletizado. A análise dos insetos necrófagos pode trazer informações qualitativas mais eficazes para uma informação toxicológica (Goff & Lord, 2001). Estudos recentes indicam a existência de efeitos causados pelas substâncias tóxicas no desenvolvimento dos artrópodos, como por exemplo, a alteração no tempo de desenvolvimento larval em espécies das famílias de Calliphoridae (Bourel *et al.*, 1999; Carvalho *et al.*, 2001), Muscidae (Gomes, 2006) e Sarcophagidae (Goff *et al.*, 1989; Goff *et al.*, 1991; Goff *et al.*, 1993; O'Brien & Turner, 2003). Alguns medicamentos também podem ser considerados drogas de abuso, causando tantos males quanto àqueles causados por drogas de uso ilícito, gerando dependência na forma de síndrome de abstinência e distúrbios comportamentais (Nascimento, 2003). Em 2003, os medicamentos lideraram a lista de agentes causadores de intoxicação em seres humanos no Brasil (28,2%) de acordo com os registros do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológica.

Algumas drogas tais como, anfepramona, fenobarbital (Gardenal) e oxycodone, agem sobre o sistema nervoso central, levando o usuário à rápida tolerância e, portanto alto risco de dependência (Rang *et al.*, 2001; Grond *et al.*, 2001; Wastila & Tompkins, 2001). A anfetamina age sobre os sistemas cardiovascular e nervoso central (Rang *et al.*, 2001). Geralmente são utilizadas como moderadores de apetite, mas quando misturadas com outras substâncias transformam-se nos rebites, drogas comumente utilizadas por caminhoneiros, principalmente no Brasil, como inibidoras do sono (Zeferino, 2004). Overdoses fatais são raras, e a dosagem letal ainda é desconhecida, sendo que os usuários mais habituais podem consumir até 1000 miligramas por dia. As

anfetaminas e metanfetaminas conhecida pelos nomes *speed*, *cristal*, *crank*, *meth*, *go* e *ice* são consideradas droga de abuso em vários países como Estados Unidos, Japão e também do Continente Europeu (Melgar & Kelly, 1993; Tanaka *et al.*, 1994).

O oxycodone é um opióide semi-sintético muito similar a codeína em sua estrutura e ação. É um depressor do sistema nervoso central, e sua ação se dá pela estimulação dos receptores opióides encontrados no sistema nervoso central que ativam a resposta descrita pela analgesia ou euforia. O repetido uso pode desenvolver tolerância ou resistência ao efeito da droga, constituindo-se potencialmente como droga de abuso, principalmente por induzir efeito de euforia (Grond *et. al.*, 2001; Wastila & Tompkins, 2001). O uso ilegal de Oxycontin começou na Austrália no início de 2000. Em 2007, 51% da população de usuários de drogas injetáveis na Austrália já havia relatado uso de oxycodone (Stafford *et al.*, 2008). Em 2001, as vendas de Oxycontin nos EUA superaram US\$ 1 bilhão por ano, principalmente pelo uso não clínico por usuários de drogas

O fenobarbital pertence à classe dos barbitúricos, substâncias depressoras do sistema nervoso central. Os barbitúricos, por possuírem pequena margem de segurança entre dosagens terapêuticas e tóxicas são frequentemente letais em superdose (Rang *et. al.*, 2001). A dose letal (DL) oscila de 2 a 10 g/Kg de massa corporal, mas o álcool ou outros agentes depressores do sistema nervoso central quando associados ao fenobarbital podem potencializar sua ação (Smith, 1993). A tolerância aos barbitúricos se desenvolve rapidamente e o risco de uso nocivo ou de dependência é alto. São usados como anticonvulsivos e constituem o segundo grupo de maior incidência nas tentativas de autoextermínio em 2004 (Rios *et al.*, 2005).

As moscas-varejeiras do gênero *Chrysomya* (Robineau-Desvoidy) pertencem à família Calliphoridae e incluem cerca de trinta espécies (Dear, 1985). O gênero já foi

restrito ao Velho Mundo e à Australásia em sua distribuição. Contudo, sua distribuição vem sendo estendida pelo mundo, incluindo o Brasil (Guimarães *et al.*, 1978). Nele estão incluídas as espécies de importância médico-sanitária (Guimarães *et al.*, 1983; Furlaneto *et al.*, 1984) e também forense por serem as que primeiro chegam aos corpos em decomposição, permitindo a estimativa do intervalo pós morte (Guimarães *et al.*, 1978; Von Zuben *et al.* 1996) e a detecção de drogas e toxinas *ante-mortem* (Catts & Goff, 1992). De todas as espécies do gênero, *C. megacephalla*, *C. putoria*, *C. albiceps* e *C. rufifacies* estão entre as mais estudadas, devido à introdução ocorrida nas Américas há cerca de trinta anos, bem como rápida dispersão e colonização (Guimarães *et al.*, 1978, 1979; Baumgartner & Greenberg, 1984; Greenberg, 1988).

A América do Sul foi colonizada por *C. megacephalla*, *C. putoria* e *C. albiceps* que se dispersaram rapidamente pelo Continente (Baumgartner & Greenberg, 1984) causando, aparentemente, o declínio de *Cochliomya macellaria*, espécie que ocorre desde o Canadá até a Argentina e por toda a região das Antilhas e Ilhas Galápagos. De forma menos acentuada a introdução das espécies exóticas influenciou também a abundância de *L. eximia*, uma espécie Neártica e Neotropical (Guimarães *et al.*, 1979; Prado & Guimarães, 1982; Baumgartner & Greenberg, 1984; Dear, 1985; Madeira *et al.*, 1989). A redução na frequência de *C. macellaria* ocorreu em diversas localidades das Américas após o período de introdução das espécies do gênero *Chrysomya*, sugerindo aparente associação com a invasão (Guimarães *et al.*, 1979; Prado & Guimarães, 1982; Ferreira, 1983; Guimarães, 1984; Greenberg & Szyska, 1984).

Moscas-varejereiras geralmente alimentam-se de substratos efêmeros, portanto a distribuição de imaturos deve influenciar o nível de competição, com consequências para a viabilidade dos adultos (De Jong, 1979, 1982), e efeitos sobre a dinâmica populacional (De Jong, 1979; Ives & May, 1985; Turchin, 1998; Godoy *et al.* 2001). O

número de ovos ou larvas na carcaça frequentemente excede a sua capacidade suporte (Kneidel, 1984 a, b), levando os imaturos a competirem por alimento, ou agirem como predadores facultativos (Levot *et al.*, 1979; Goodbrod & Golf, 1990; Faria *et al.*, 1999). Dessa forma, a similaridade entre nichos ecológicos das espécies do gênero *Chrysomya* e nativas sugere a ocorrência de sobreposição interespecífica (Ullyet, 1950; Guimarães *et al.*, 1979; Ferreira, 1983; Guimarães, 1984; Wells & Greenberg, 1992b).

A teoria da dinâmica populacional para espécie única tem sido intensamente empregada para estudar cinco espécies de dípteros califorídeos, *C. megacephala*, *C. putoria*, *C. albiceps*, *C. macellaria* e *L. eximia*, ao longo dos últimos 18 anos, a fim de melhor compreender aspectos da biologia populacional de cada espécie, importantes para a dinâmica de populações no contexto de invasões biológicas (Godoy, 2007). Os estudos revelaram importantes diferenças na dinâmica de equilíbrio populacional entre as espécies introduzidas *C. megacephala*, *C. albiceps* e *C. putoria* e as espécies nativas *C. macellaria* e *L. eximia* (Reis *et al.* 1996; Godoy *et al.* 2001; Silva *et al.*, 2003).

As interações interespecíficas vêm sendo também sistematicamente investigadas em estudos analisando a relação das espécies do gênero *Chrysomya* com a espécie nativa *C. macellaria* (Wells & Greenberg, 1992a, b, c; Faria *et al.*, 1999; Reis *et al.*, 1999; Faria & Godoy, 2001; Andrade *et al.* 2002). Parece clara a influência negativa que as espécies do gênero *Chrysomya* exercem sobre as espécies nativas, sobretudo em *C. macellaria* (Guimarães *et al.*, 1978, 1979; Faria *et al.*, 1999). O impacto gerado pela invasão biológica deve-se provavelmente a dois tipos de interações interespecíficas, competição e predação. As espécies do gênero *Chrysomya* exploram os mesmos recursos alimentares que *C. macellaria* e *L. eximia*, entretanto tem demonstrado maior habilidade competitiva e/ou predatória durante o confronto (Wells & Greenberg, 1992a, b, c; Reis *et al.*, 1999).

A predação larval facultativa já foi estudada em *C. albiceps* por Faria *et al.* (1999) através de experimentos que enfatizaram a preferência por diferentes presas. As taxas de predação foram investigadas sobre o terceiro instar larval de *C. macellaria*, *C. putoria* e *C. megacephala*, sendo constatada a preferência por larvas de *C. macellaria*. Faria *et al.* (1999) também constataram que *C. megacephala* e *C. putoria* são espécies mais ágeis que *C. macellaria* para evitarem o contato com *C. albiceps*. A flexibilidade de *C. albiceps* na escolha de presas sugere que o comportamento predatório desta espécie pode mudar em função da disponibilidade delas (Faria & Godoy, 2001). Faria *et al.* 2004b também observaram que a preferência por diferentes presas também pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento, ou seja, *C. albiceps* prefere atacar larvas de *C. macellaria* ao invés de *C. megacephala* quando as presas estão no terceiro instar. Para larvas de segundo instar a intensidade de ataque não é a mesma (Faria *et al.* 2004b).

As espécies do gênero *Chrysomya* têm se mostrado menos susceptíveis à predação que *C. macellaria* já que tornam o processo de captura e ataque mais difíceis para *C. albiceps* (Faria *et al.*, 1999; Faria & Godoy, 2001). Recentes estudos têm sido feitos na tentativa de esclarecer como a predação intraguilda pode influenciar a dinâmica de *C. albiceps* (Gião, 2007). Nesse sentido, modelos matemáticos e experimentação larval têm sido combinados para investigar padrões ecológicos da dinâmica temporal, resposta funcional e numérica em populações de *C. albiceps*.

A modelagem ecológica em populações de insetos tem se mostrado ótima ferramenta para revelar padrões comportamentais importantes para a dinâmica populacional, com implicações para a biologia da conservação e o controle de pragas (Cushing, *et al.* 2003; Lima *et al.* 2009). Dípteros califorídeos procriam-se em gerações discretas, exibindo alta sensibilidade em parâmetros demográficos, que geralmente estão fortemente associados com o equilíbrio das populações (Godoy, 2007). Os

modelos matemáticos centrados na análise do crescimento populacional de moscas constituem poderosas ferramentas analíticas para descrever padrões ecológicos especialmente importantes para a interpretação demográfica de espécies de importância médico-veterinária e forense como é o caso das moscas-varejeiras presentes na fauna de dípteros necrófagos do Brasil (Godoy 2007).

Análises teóricas através de um modelo matemático que incorpora o processo de dependência de densidade e a estrutura espacial já foram realizadas para investigar a dinâmica espaço-temporal de *C. megacephala*, *C. albiceps*, *C. putoria* e *C. macellaria* (Reis *et al.*, 1996; Godoy *et al.*, 1997; Godoy *et al.*, 2001). Os resultados indicam que as espécies exóticas do gênero *Chrysomya* apresentam um ciclo limite estável de dois pontos, caracterizado pela oscilação entre dois valores representativos do tamanho populacional em função do tempo, um máximo e outro mínimo. As espécies nativas, *C. macellaria* e *L. eximia*, exibem um equilíbrio estável monotônico cujo significado biológico é a estabilização do tamanho populacional em um único valor (Godoy *et al.*, 1996; Reis *et al.*, 1996; Godoy *et al.*, 2001; Silva *et al.* 2003, 2004). Estes resultados são importantes no contexto da dinâmica populacional, posto que uma nítida diferença no comportamento dinâmico entre as espécies introduzidas e as espécies nativas foi constatada.

Simulações feitas com o Modelo de Prout & McChesney demonstraram também que a dinâmica populacional de *C. albiceps* é caracterizada por oscilações irregulares, sugerindo regime caótico, quando o recurso alimentar é acrescido de dieta suplementar, constituída por larvas “presas” de outras espécies de moscas. Isto se dá pelo significativo aumento na sobrevivência e fecundidade, o que leva a população a produzir comportamentos mais complexos, como o caos (Gião, 2007). *Chrysomya*

albiceps parece ser a única espécie dentre as outras da família Calliphoridae a exibir comportamento caótico em laboratório.

O comportamento caótico exibido pela espécie também indica alto grau de instabilidade, com implicação para a persistência populacional no contexto do paradoxo do enriquecimento (Kato & Yamamura *et al.*, 1999). O paradoxo do enriquecimento constitui um enunciado que descreve o resultado da inserção de fonte alimentar suplementar sobre sistemas biológicos. Com base na teoria populacional, empiricismo e experimentação, o paradoxo é encontrado quando à medida que a população é enriquecida perde a estabilidade (Kato & Yamamura *et al.* 1999). Recentemente Serra *et al.* (2007b) analisaram a dinâmica de extinção em *C. albiceps*, *C. megacephala*, *C. putoria*, *C. macellaria* e *L. eximia* em contexto estocástico concluindo que sob vários aspectos *C. albiceps* dentre todas investigadas é a que mais exibe susceptibilidade à extinção local quando mantida sob escassez alimentar, a despeito do seu hábito predatório.

Os modelos matemáticos utilizados nos últimos anos para analisar o equilíbrio populacional das espécies de moscas-varejeiras, apesar de já incorporarem a estrutura espacial investigada através de mapas acoplados em reticulados, nem sempre têm incorporado dimensões capazes de considerar a incerteza inerente de sistemas complexos (Von Zuben *et al.* 1993; Godoy *et al.* 2001), exceto no estudo desenvolvido por Castanho *et al.* (2006), em que a dinâmica metapopulacional de moscas-varejeiras é analisada com a aplicação de subconjuntos *Fuzzy* e no estudo desenvolvido por Serra *et al.* (2007), no qual se analisa a sensibilidade de parâmetros sujeitos à estocasticidade demográfica.

Na abordagem clássica, o exato tamanho populacional na geração futura pode ser predito a partir do tamanho populacional da geração que a precede (Gotelli, 1995;

Hastings, 1997). Neste caso, a estimativa é feita sem considerar qualquer variabilidade, seja de natureza ambiental ou demográfica. A variabilidade é importante para sistemas dinâmicos ecológicos 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 de ferramentas que considerem incertezas em modelos determinísticos, pode representar importante artifício para avaliar tanto padrões ecológicos, como a persistência populacional. 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 em moscas-varejeiras, parâmetros essenciais para análise do crescimento populacional (Prout & McChesney, 1985; Hastings, 1997; Castanho *et al.* 2006).

Além disso, os parâmetros demográficos em populações de moscas são influenciados também por outros fatores, dentre os quais pode-se destacar a ação de fármacos, que são comumente ingeridos por humanos. Há para este caso um interesse específico na área de entomologia forense, já que a influência deles sobre diferentes características biológicas em moscas pode ser claramente notada a partir de estudos experimentais (Carvalho, *et al.* 2001, Soto, 2008; Grella & Thyssen, 2008). Modelar populações biológicas de moscas-varejeiras não é tarefa trivial, ainda que não se considere a ação de fármacos sobre parâmetros biológicos e demográficos. Assim, a inserção destes parâmetros no sistema, visando a criação de banco de dados para a ciência forense, torna a análise mais complexa, demandando técnicas de alta sensibilidade para incorporar todos os processos importantes no sistema.

Os subconjuntos *Fuzzy* constituem um arcabouço teórico adequado para analisar incertezas oriundas de sistemas que exibem grande variabilidade, sobretudo em populações em que os componentes são heterogêneos relativamente a alguma característica (Bassanezi, 2002). O termo *Fuzzy* é considerado como expressão da incerteza, porém com base intuitiva e não probabilística (Pedrycz & Gomide, 1998). Os conceitos de subconjuntos *Fuzzy* e lógica *Fuzzy* foram introduzidos em 1965 por Zadeh, que desenvolvia pesquisa na área de engenharia. Sua intenção foi propor uma estrutura analítica para lidar com problemas que envolvessem linguagens subjetivas. A idéia era apresentar alternativa para tratar de questões específicas em sistemas dinâmicos, sobretudo as de difícil análise por métodos matemáticos convencionais, os quais não eram adequados para investigar a subjetividade (Besdek, 1993).

Exemplos de aplicação de abordagem *Fuzzy* em populações de moscas-varejeiras podem ser citados, com base em três estudos recentes (Castanho *et al.*, 2006, Rashkovsky & Margaliot, 2006, Bianconi *et al.* 2010). O estudo desenvolvido por Castanho *et al.* (2006), foi uma aplicação sobre a dinâmica de dois fragmentos acoplados por migração, que resultou na análise do papel da migração local sob o efeito da heterogeneidade ambiental em populações de dípteros califorídeos.

A outra pesquisa foi desenvolvida para analisar a congruência entre a abordagem *Fuzzy* e a regulação natural observada em populações de *Lucilia cuprina* (Rashkovsky & Margaliot, 2006). O estudo desenvolvido por Bianconi *et al.* (2010) buscou a comparação entre metodologias analíticas associadas à teoria de redes neurais, incluindo os subconjuntos *Fuzzy*, com vistas à modelagem da dinâmica nutricional em moscas-varejeiras. Os estudos mencionados resultaram em descrições bem definidas de sistemas biológicos complexos, confirmando a adequabilidade dos subconjuntos *Fuzzy*

para aplicações em estudos centrados na dinâmica populacional de insetos (Bianconi *et al.*, 2010).

Nada se conhece sobre o comportamento dinâmico de moscas-varejeiras em contato com fontes alimentares com substâncias químicas que de alguma forma possam ser incorporadas ao sistema fisiológico do inseto, principalmente no que diz respeito à influência sobre as interações intraespecífica e interespecífica. A carência deste tipo de informação dá-se tanto no que diz respeito à experimentação laboratorial, como no que tange à modelagem matemática aplicada à dinâmica populacional. Os estudos realizados até o momento tratam exclusivamente da influência das substâncias químicas sobre o tempo de desenvolvimento larval para a estimativa do IPM (Goff *et al.*, 1993; Bourel *et al.*, 1999; Carvalho *et al.*, 2001; O'Brien & Turner, 2003).

A estimativa do intervalo pós-morte é de extrema importância nas investigações médico-criminais, mas o desconhecimento da ação das drogas sobre a dinâmica populacional e comportamentos interativos, tais como competição, canibalismo e predação intraguildd, pode refletir-se na qualidade das inferências necessárias aos peritos para a elaboração de laudos técnicos no contexto médico-legal. Ou seja, a ação das drogas pode interferir no comportamento dinâmico das espécies alterando seus padrões de flutuação, bem como na dinâmica de interações interespecíficas, com implicações para a composição da fauna necrófaga e também para a estimativa do intervalo pós-morte.

Assim o objetivo geral deste estudo é avaliar o efeito de substâncias químicas sobre a dinâmica populacional de *C. albiceps*, bem como sobre os mecanismos de interação interespecífica inerentes da predação intraguildd, combinando experimentação laboratorial e modelagem matemática. Com isso, espera-se compreender o espectro de

ação de psicofármacos sobre o comportamento dinâmico e interativo de moscas-varejeiras importantes no contexto forense.

Os resultados a serem obtidos trarão informações essenciais para o banco de dados em formação no Estado de São Paulo, norteando perícias e aumentando a eficácia das investigações na área de medicina legal. No estudo pretende-se combinar experimentação laboratorial munida de análises das influências de psicofármacos sobre a dinâmica populacional das moscas, com modelagem matemática e abordagem *Fuzzy*.

Os objetivos específicos deste estudo foram:

Investigar a dinâmica populacional de *C. albiceps* sob a influência dos fármacos anfetamina, fenobartital (Gardenal) e oxycodone.

Investigar a dinâmica de interações em larvas predadoras de *C. albiceps* sobre as presas *C. megacephala* e *C. putoria*, pela comparação das taxas de predação sob o efeito dos fármacos.

Analisar com modelos de respostas funcional, a dinâmica populacional de *C. albiceps* sob a influência dos fármacos.

Analisar a dinâmica intra e interespecífica de *C. albiceps* sob ação das drogas, com aplicação da teoria de subconjuntos *Fuzzy*.

Dinâmica de interações intra e interespecíficas em moscas-varejeiras sob ação de psicofármacos:

Aplicações ecológicas no contexto forense

2. Materiais e métodos

2.1 Experimentação Laboratorial

2.1.1 Coleta e manutenção dos espécimes

Populações experimentais de moscas-varejeiras foram obtidas a partir de exemplares coletados nas proximidades do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências da UNESP-Botucatu, São Paulo. Foram utilizadas carcaças de roedores em decomposição como substrato atrativo durante as coletas. Os exemplares coletados foram anestesiados com baixa temperatura, identificados segundo a espécie e colocados em gaiolas com armação de madeira e tela de “nylon” (30x30x30 cm), formando assim as populações em laboratório. As populações experimentais receberam água e açúcar *ad libitum* e foram mantidas à $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa de 70%. Às fêmeas adultas foi fornecido fígado bovino como fonte protéica suplementar, já que se tratam de espécies anautógenas (Linhares, 1988).

2.1.2 Meio de cultura e inserção de fármacos

O substrato alimentar que foi utilizado para o desenvolvimento larval das espécies estudadas foi o meio artificial a base de leite em pó, ágar, levedura de cerveja, Nipagin e caseína (Leal *et al.*, 1982) adicionado de coração de galinha para o melhor desenvolvimento de *C. albiceps*. As substâncias químicas utilizadas foram medicamentos considerados drogas de abuso e que tem forte atuação no sistema nervoso. O fenobarbital, que é utilizado no tratamento de convulsões tais como

epilepsia, status epiléptico, eclampsia, tétanos e espasmofilia, está disponível em farmácias com os nomes comerciais de Gardenal® e Luminal®. A dose letal (DL) oscila de 2 a 10 g/kg de massa corporal, podendo ocorrer intoxicação grave em adultos com uma dose oral de 1g.

Foi utilizada a dosagem de 150mg/Kg de fenobarbital na dieta artificial, sendo o controle somente a dieta artificial com a adição de coração de galinha, segundo Leal *et al.* (1982). A outra droga utilizada foi o Cloridrato de Oxycodone, um opióide analgésico similar a morfina, prescrito para tratamento de dores moderada a intensa. Está disponível em comprimidos, com os nomes comerciais de Percodan® e Oxycontin®. A dose letal foi estipulada a partir dos dados encontrados na literatura de 5mg/Kg registrado a partir de casos de overdose (Burrows *et al.*, 2003). No presente estudo, cada comprimido contendo 40mg de Cloridrato de Oxycodone foi macerado e solubilizado em 10 ml de água destilada, para facilitar a sua adição ao meio de cultura. Foi utilizada micropipeta modelo Jencons Sealpette® de 100 - 1000µl. Foi utilizada somente a dose letal, visto já se saber pelos experimentos realizados por Grella & Thyssen, (2008) que o crescimento larval de *C. megacephala*, *C. putoria* e *C. albiceps* não apresenta diferença significativa para as dosagens convencionalmente estabelecidas (metade da dose letal, dose letal e dobro da dose letal).

A anfetamina, principal metabólito da metanfetamina, foi utilizada considerando a dose terapêutica de 0,07mg/Kg. A anfetamina utilizada neste estudo foi o padrão, marca: RADIAN e estava diluída em metanol na proporção 1:1. Para se ter o controle dos resultados anfetamínicos, os experimentos foram desenvolvidos também com o metanol para posterior comparação. Para este caso foi utilizada micropipeta modelo Gilson pipetman® de 100 µl.

2.1.3 Efeito dos fármacos sobre a dinâmica populacional intraespecífica de *C. albiceps*

A competição larval intraespecífica do tipo explorativa foi estabelecida em laboratório pela formação de seis densidades larvais, 100, 200, 400, 600, 800 e 1000, com duas réplicas cada, desenvolvidas em 50g de dieta alimentar para o controle, 50g de dieta juntamente com o Fenobarbital (150mg/Kg), 50g de dieta juntamente com Cloridrato de Oxycodone (DL₅₀) e 50g de dieta com Anfetamina (0,07mg/Kg) e 50g de dieta com metanol (0,07mg/Kg). Este conjunto de densidades larvais é adequado para simular o processo de competição larval em espécies do gênero *Chrysomya*, produzindo decréscimo em parâmetros demográficos em função da densidade (Godoy *et al.* 2001).

A fecundidade foi estimada pela contagem do número de ovos por fêmea, expressa como a média diária de ovos, a qual é baseada na extensão do ciclo gonotrófico das espécies de moscas do gênero *Chrysomya* (Linhares, 1988). Um número mínimo de vinte fêmeas foi aleatoriamente retirado das gaiolas para cada respectiva densidade. Os insetos foram mortos e dissecados para o registro do número de ovos por fêmea. A sobrevivência foi estimada a partir do número de adultos emergentes em cada densidade larval.

2.1.4. Efeito da predação associada aos fármacos sobre a dinâmica de *C. albiceps*

Este experimento foi desenvolvido de forma similar ao anterior, exceto pela adição de presas à dieta de *C. albiceps*. Dessa forma, a predação foi considerada e as larvas de terceiro instar de *C. albiceps* foram submetidas às mesmas densidades larvais mencionadas, 100, 200, 400, 600, 800 e 1000, com duas réplicas cada. As larvas foram criadas em 50g de dieta artificial juntamente com as substâncias químicas e suas

respectivas doses, recebendo o equivalente ao peso do substrato remanescente, em larvas de terceiro instar de *C. megacephala*. As larvas foram contaminadas com as mesmas substâncias químicas da espécie predadora e respectivas doses, caracterizando assim o processo de predação intraguilda (Rosa *et al.*, 2004). Dessa forma, as larvas de *C. albiceps* receberam suplemento na dieta, constituído pela adição de presa, que substituiu o substrato alimentar remanescente. Assim, as estimativas da fecundidade e sobrevivência foram feitas segundo a mesma metodologia já especificada no item anterior.

2.1.5. Estimativa de frequência de predação larval interespecífica

a) Sem escolha de presas

As taxas de predação larval interespecífica foram estimadas a partir do acondicionamento de larvas de diferentes espécies aos pares (predador x presa) em placas de Petri medindo (10 x 50 mm). Foram utilizadas larvas de terceiro instar tanto para *C. albiceps* (larvas predadoras), como para *C. megacephala* (presas), controle e contaminadas com substâncias químicas. As larvas foram introduzidas em placas de Petri nas seguintes combinações:

***Chrysomya albiceps* com *C. megacephala*: 1 larva de terceiro instar (presa) x 1 larva de terceiro instar (predadora)**

Para o experimento foram estabelecidas 40 repetições, com larvas mantidas à $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa de 70%. O comportamento das larvas foi constantemente observado durante três horas e os instantes de predação por *C. albiceps* registrados a cada 30 minutos. O comportamento predatório foi considerado bem sucedido quando as larvas de terceiro instar de *C. albiceps* atingirem suas presas,

prendendo-as com seus espinhos e aparelho bucal para levá-las à morte e em seguida ingerí-las (Faria *et al.*, 1999; Faria & Godoy, 2001).

b) Com escolha de presas

Em cada placa de Petri foi introduzida uma larva de terceiro instar de *C. albiceps* e duas larvas de terceiro instar das diferentes espécies de presas, caracterizando uma interação em que a predadora tinha a possibilidade de escolha entre *C. megacephala* e *C. putoria* visto que todas as larvas foram contaminadas com substâncias químicas. Foram estabelecidas 40 repetições para cada combinação (n = 40), com as placas de Petri sendo colocadas em bancadas iluminadas e mantidas nas mesmas condições experimentais especificadas anteriormente. O comportamento das larvas foi observado conforme o item anterior.

2.1.6. Estimativa das respostas funcionais

Ao atingirem o terceiro instar, larvas de *C. megacephala* contaminadas com as drogas foram distribuídas em placas de Petri de acordo com as densidades especificadas a seguir. O delineamento experimental seguiu o padrão inicialmente determinado para estimativas de resposta funcional (Faria *et al.* 2004a, b). Assim, cinco densidades de larvas de terceiro instar de *C. megacephala*, denominadas “presas” neste estudo, foram estabelecidas com 10, 20, 30, 40, e 50, larvas. Diferentes densidades de predadoras foram utilizadas, com um experimento utilizando apenas uma larva, e o outro, cinco larvas de terceiro instar de *C. albiceps* confinadas com as larvas de terceiro instar de *C. megacephala* nas densidades e tratamentos acima.

Foram estabelecidas 7 réplicas para cada densidade. As larvas foram acondicionadas nos frascos já mencionados. Os frascos foram mantidos sobre bancadas

nas mesmas condições experimentais mencionadas, e após um período total de 24 horas, foram registrados os números de presas mortas por placa (Faria *et al.*, 2004a, b).

2.2. Análise estatística

Regressões exponenciais para fecundidade e sobrevivência como funções da densidade larval foram ajustadas aos dados, por já se conhecer de estudos prévios a sua adequabilidade analítica, caracterizada por produzir melhores ajustes que as regressões lineares ou hiperbólicas (Reis *et al.*, 1996; Godoy *et al.*, 1997, 2001). Além disso, o decréscimo na fecundidade em função da densidade larval pode ser visto biologicamente como um processo de Poisson, o qual é usualmente descrito pela função exponencial (Rodriguez, 1989).

Para a análise dos resultados obtidos na estimativa de frequência de predação larval foram consideradas como variáveis explicatórias os fármacos e a espécie da presa. As interações não significativas foram excluídas. O software estatístico R (R version 2.9.2, R Development Core Team 2006) foi empregado para avaliar as taxas de predação com e sem escolha de presas para todos os tratamentos com Modelos Lineares Generalizados (GLM), usando a regressão binomial. Foram analisadas as influências das variáveis: droga e espécie. A interação das variáveis foi significativa.

2.2.1. Parâmetros da resposta funcional

A estimativa dos parâmetros das funções não lineares foi inicialmente feita através de regressão logística polinomial, pelo método de verossimilhança máxima (Juliano, 2001). A estimativa objetivou a determinação dos padrões usuais de resposta funcional mais freqüentes em populações de insetos, ou seja: assintótico (tipo II) e sigmóide (tipo III). Dois parâmetros da função são essencialmente utilizados para a investigação paramétrica, P_1 e P_2 . Se $P_1 > 0$ e $P_2 < 0$ a proporção de presas consumidas é positivamente dependente da densidade, o que sugere uma resposta funcional do tipo

III. Se $P_1 < 0$ a proporção de presas consumidas declina monotonicamente com o número inicial de presas oferecidas descrevendo a resposta funcional do tipo II (Juliano, 2001).

Assim, os dados foram experimentalmente obtidos para a estimativa da resposta funcional em *C. albiceps* mediante duas densidades de predadores. Uma descrevendo a relação de uma única larva predadora sobre as densidades de 10, 20, 30, 40 e 50 presas (*C. megacephala*), submetidas aos tratamentos com os fármacos e a outra com 5 larvas predadoras. Os dados foram ajustados à função polinomial que descreve as relações entre o número de presas consumidas em função da densidade. A função polinomial é escrita como:

$$\frac{L_c}{L_i} = \frac{\exp (P_0 + P_1 L_i + P_2 L_i^2 + P_3 L_i^3)}{1 + \exp (P_0 + P_1 L_i + P_2 L_i^2 + P_3 L_i^3)}$$

Os parâmetros P_0, P_1, P_2 e P_3 determinam respectivamente o intercepto e os coeficientes linear, cúbico e quadrático pelo método de máxima verossimilhança. A expressão cúbica é geralmente empregada para determinar o formato da resposta funcional do tipo III por produzir boa precisão no ajuste da função (Trexler *et al.*, 1988). L_c e L_i determinam respectivamente o número de larvas consumidas e o número inicial de larvas.

2.3. Modelo matemático e subconjuntos Fuzzy

2.3.1. Dependência da densidade (Modelo de Prout & McChesney, 1985)

A dinâmica populacional foi simulada empregando diagramas de bifurcação sobre o modelo matemático de Prout & McChesney (1985) para descrever a variação dos tamanhos populacionais em função do espaço paramétrico da fecundidade e sobrevivência de *C. albiceps*. Os tratamentos cujos dados foram utilizados nas simulações foram apenas os que exibiram decréscimos significativos para a

sobrevivência, fecundidade, bem como ajustes satisfatórios à função exponencial (Tabelas 1 e 2).

O modelo matemático desenvolvido por Prout & McChesney (1985) considera o retardo devido à competição larval na geração t , nos parâmetros fecundidade (F) e sobrevivência (S), na geração subsequente ($t+1$), sendo, portanto uma equação de diferença finita de primeira ordem, escrita como:

$$n_{t+1} = \frac{1}{2} F(n_t) S(n_t) n_t, \quad (1)$$

onde a fração $\frac{1}{2}$ indica que metade da população é constituída por fêmeas.

A taxa de variação da fecundidade e sobrevivência será estimada pela regressão exponencial que pode ser escrita como $F = F^* e^{-fn}$ para fecundidade e $S = S^* e^{-sn}$ para sobrevivência. F^* e S^* são os interceptos da análise de regressão que representam valores máximos (teóricos) de fecundidade e sobrevivência, e f e s são os coeficientes de regressão que estimam a taxa de variação da fecundidade e sobrevivência em função da densidade de imaturos. Assim, aplicando as funções exponenciais à equação (1), temos

$$n_{t+1} = \frac{1}{2} F^* S^* e^{-(f+s)n_t} n_t \quad (2)$$

A expressão geral para o autovalor (λ) associado à equação (1) é obtida pela derivada de N_{t+1} em relação a N_t , avaliada em k , que descreve o número de imaturos em equilíbrio. Assim, o autovalor (λ) determina o tipo de equilíbrio populacional pela equação:

$$\lambda = 1 + \frac{1}{2} k S(k) \left. \frac{dF(n_t)}{dN_t} \right|_{n_t=k} + \frac{1}{2} k F(k) \left. \frac{dS(n_t)}{dN_t} \right|_{n_t=k} \quad (3)$$

O comportamento dinâmico de *C. albiceps* pode então ser deduzido pela equação (3). Se (λ) for menor que 1, em módulo, o equilíbrio é então estável e monotônico. Valores maiores que 1 denotam comportamentos cíclicos e até mesmo o caos determinístico.

2.3.2. *Fundamentação para aplicação da teoria de subconjuntos Fuzzy nos sistemas intra e interespecíficos*

Com base na exposição teórica apresentada por Bassanezi (2002) em seu livro texto quando trata de modelos variacionais *Fuzzy*, é possível extrair inferências com vistas a aplicações da teoria em contextos diferentes. Quando se pretende modelar populações em que os integrantes são heterogêneos no que tange a diferentes aspectos, é essencial considerar as características da heterogeneidade ao longo de um processo evolutivo. Por exemplo, em populações animais a predação é um tipo de interação inerente de alguns grupos taxonômicos. Se considerarmos uma população de predadores no instante t_0 , sujeita a alguma taxa de mortalidade, é natural que se queira saber da sua projeção em instantes futuros. Considerando que indivíduos de uma dada população podem ser simplesmente predadores ou não predadores, a questão pode ser resolvida com um modelo determinístico, analisando-se separadamente ambas as populações. Se por outro lado tem-se uma distribuição de probabilidades dos indivíduos predadores, pode-se usar modelagem estocástica para estudar a evolução da distribuição inicial.

Contudo, se o comportamento predatório não for definitivo, ou depender da disponibilidade de alimento convencional, qualidade das presas, densidade de predadores ou presas, como ocorre em sistemas como, por exemplo, o da predação intraguilda em moscas-varejeiras, é bastante razoável pressupor que a interação interespecífica deve ser graduada. Neste caso, cada indivíduo pertencente à população de predadores recebe grau específico de pertinência. Se não for predador seu grau é

zero, porém se sua atuação como predador for durante períodos de completa escassez alimentar sobre recursos convencionais, o grau poderia ser o máximo, 1 por exemplo. No presente estudo, além da predação intraguilda o efeito de dosagens de fármacos também foi avaliado por diferentes graus, no tocante à ação delas sobre as larvas de moscas.

Um subconjunto Fuzzy A de um conjunto U é caracterizado por uma função μ_A : $U \rightarrow [0,1]$, chamada grau de pertinência, onde $\mu_A(x)$ atribui o grau com que o elemento x pertence ao subconjunto Fuzzy A . $\mu_A(x)$ indica o grau com que o elemento x de U está em “concordância” com o conceito que caracteriza os “elementos” de A . Se A for um subconjunto clássico de U , então os únicos valores de $\mu_A(x)$ são um ou zero, dependendo se o elemento x está ou não em A .

Os modelos variacionais *Fuzzy* tendem a incorporar subjetividades (*Fuzziness*) diferentes, dependendo da escolha da variável de estado e dos parâmetros dos modelos. A subjetividade demográfica ocorre quando a variável de estado é um subconjunto *Fuzzy*. Já, a subjetividade ambiental aparece quando somente os parâmetros são considerados subconjunto *Fuzzy*. Contudo, ambas geralmente estão presentes em fenômenos biológicos.

Uma variável lingüística *Fuzzy* é uma variável cujo valor é expresso qualitativamente por um termo lingüístico e quantitativamente pela sua função de pertinência. Por exemplo, se a variável lingüística for **população**, pode-se lhe atribuir o termo lingüístico “pequena” e a correspondente função de pertinência, ambos concordando com o contexto. Regras *Fuzzy* descrevem situações específicas e sua inferência leva a resultados geralmente desejados. Apresentam a estrutura “**Se**” antecedente e “**então**”, conseqüente. Base de regras é considerada um conjunto de regras que descreve um sistema. Uma relação Fuzzy R entre duas variáveis, $x \in X$ e $y \in$

Y , é definida por uma função que mapeia o par ordenado $(x, y) \in X \times Y$ no seu grau de pertinência para a relação, ou seja, $R: X \times Y \rightarrow [0, 1]$.

Os sistemas baseados em regras *Fuzzy* descrevem linguisticamente a complexidade de dado sistema. A estrutura de um sistema baseado em regras *Fuzzy* pode ser compreendida pelo diagrama da figura 1.

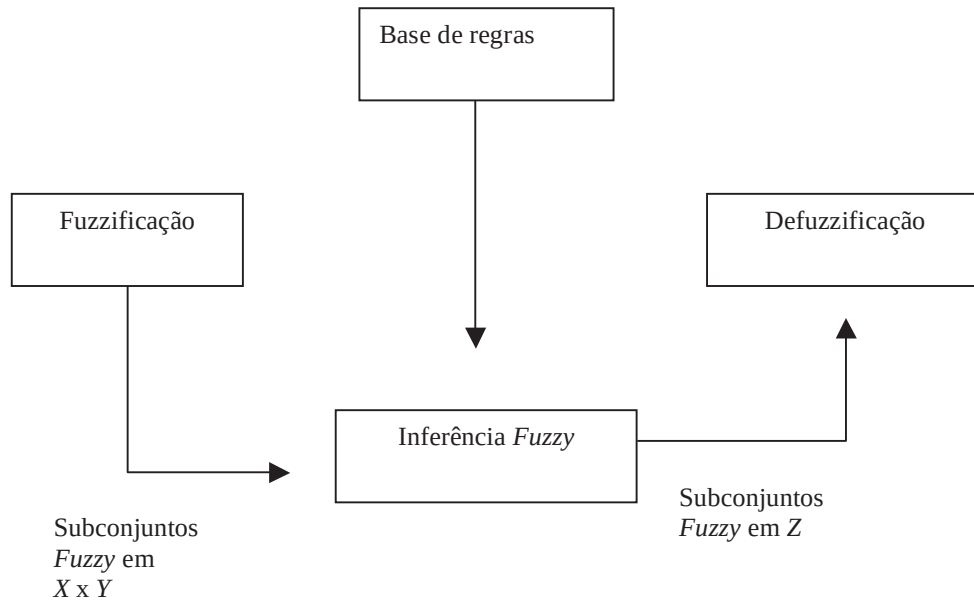


Fig. 1 Arquitetura de um sistema *Fuzzy*

Sistemas com este formato utilizam uma partição *Fuzzy* dos domínios das variáveis de entrada e de saída. O objetivo é associar cada subconjunto *Fuzzy* do domínio de entrada com o subconjunto *Fuzzy* conveniente do domínio de saída. O método de inferência determina a forma operacional do sistema baseado em regras *Fuzzy*. Ele é um mapeamento do valor de entrada no valor de saída.

Inferência de Mamdani

A teoria dos conjuntos *Fuzzy* por muito tempo permaneceu incompreendida. Em meados dos anos 70, Mamdani a utilizou para projetar controladores *Fuzzy* na indústria (Mamdani, 1974; Mamdani & Assilan, 1975). Até então, não se tinha conseguido automatizar máquinas com outras técnicas de controle. O método de inferência

proposta por Mandani tornou-se o modelo mais utilizado, já que possui a vantagem de ser intuitivo, amplamente aceito e o mais indicado para trabalhar com entradas a partir de informações de um especialista. A inferência de Mamdani combina graus de pertinência com cada valor de entrada por um operador mínimo e agrega as regras através de um operador máximo. Neste método, a saída é construída pela superposição dos “conseqüentes” das regras individuais. A base de regras pode então ser:

Regra 1: **Se** x é X e y é Y , **então** z é Z .

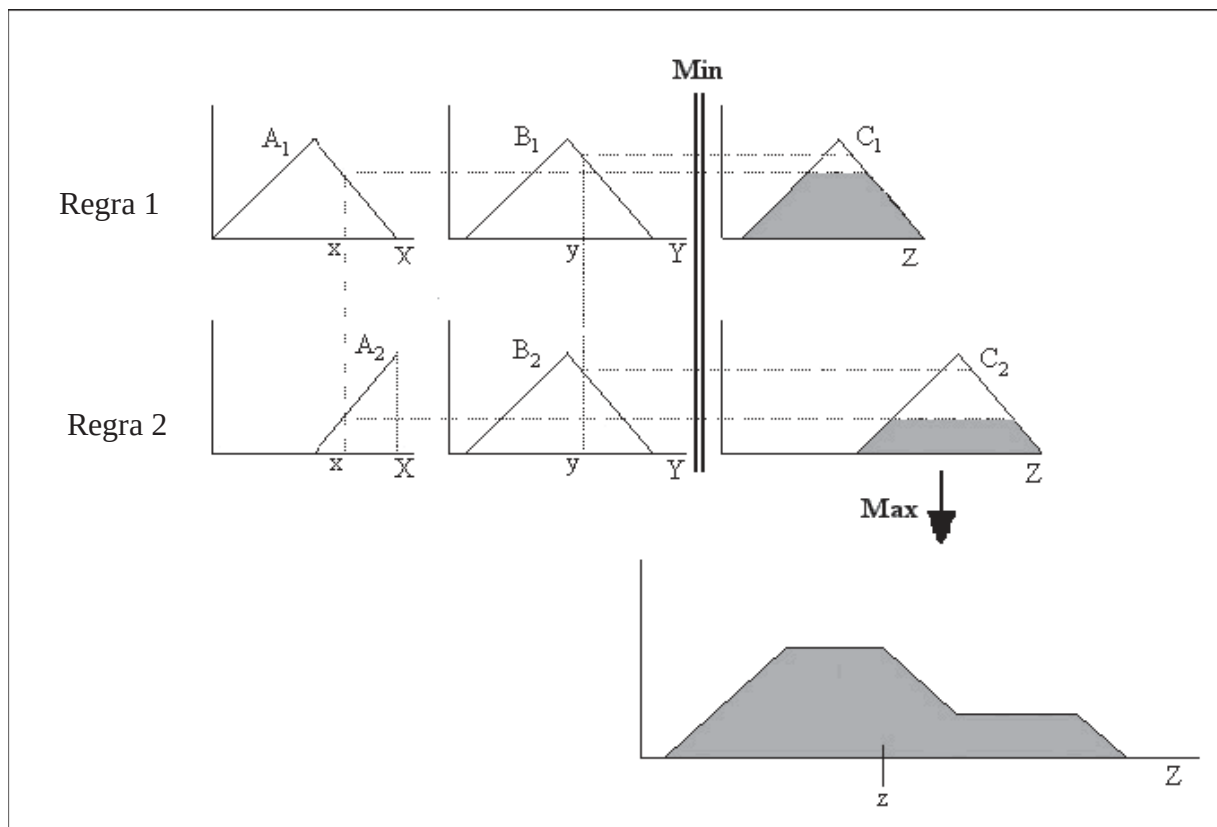
Regra 2: **Se** x é X' e y é Y' , **então** z é Z' .

O método descrito pela Figura 2 tem um conjunto *Fuzzy* como saída. O processo que converte este conjunto em valor numérico é conhecido como defuzificação.

O método “centro de gravidade”, escrito como:

$$\bar{z} = \frac{\int_R z.C(z)dz}{\int_R C(z)dz}$$

onde R é a área sombreada na Figura 2, foi o empregado no presente estudo. A base de regras para o presente estudo foi estabelecida a partir das informações próprias do sistema investigado e dos resultados obtidos na parte experimental.



2.3.3. Simulação numérica

A partir das estimativas obtidas em laboratório e pela obtenção dos valores gerados nas regressões estatísticas, as simulações foram feitas para a determinação do impacto da predação de *C. albiceps* sobre *C. megacephala*, na dinâmica populacional de *C. albiceps*. A modelagem baseada no subconjunto *Fuzzy* foi realizada empregando o software MATLAB versão 7.0.1 (MathWorks, 2004).

As variáveis linguísticas de entrada no sistema foram: densidades, predação e fármacos. E as variáveis de saída foram fecundidade e sobrevivência. Os termos linguísticos atribuídos para densidade foram classificados em baixa, média e alta (Fig. 3). Para predação, ausente ou presente (Fig. 4) e para os fármacos, ausente e presente

(Fig. 5). A fecundidade e sobrevivência foram classificadas como, baixa, média e alta (Figs. 6 e 7).

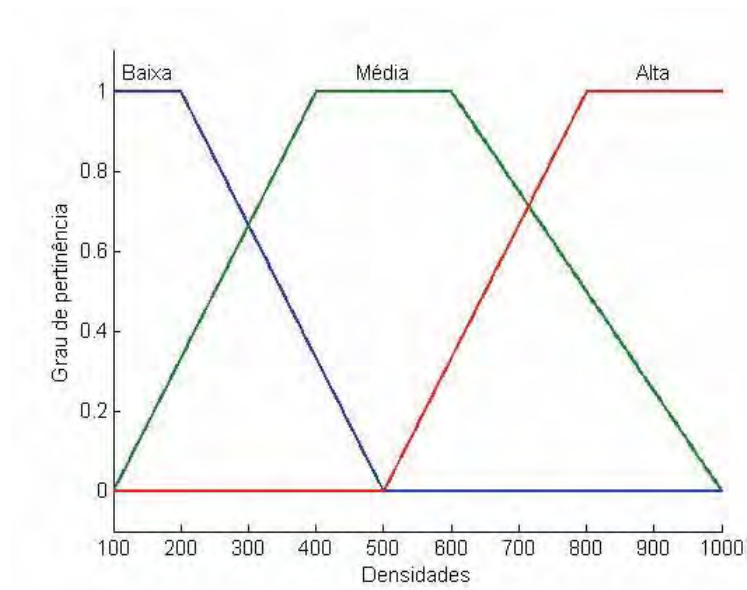


Fig. 3. Função de pertinência associada à primeira variável de entrada.

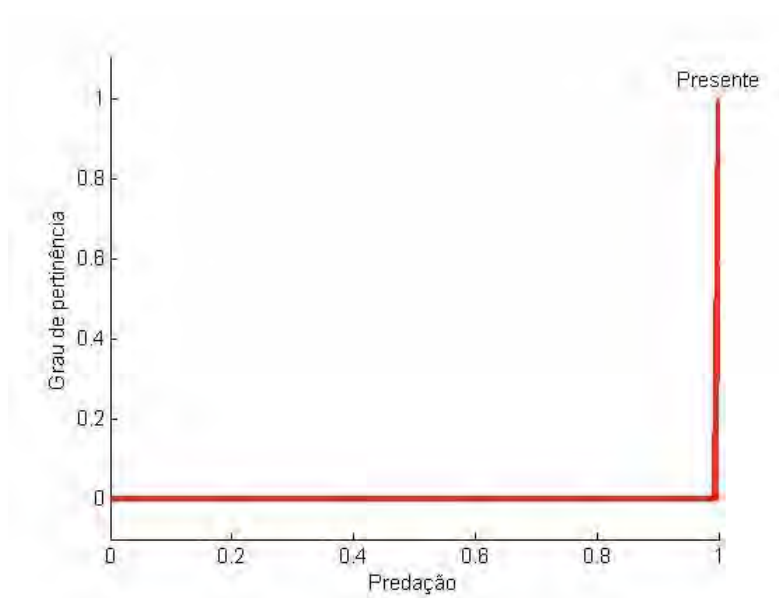


Fig. 4. Função de pertinência associada à segunda variável de entrada.

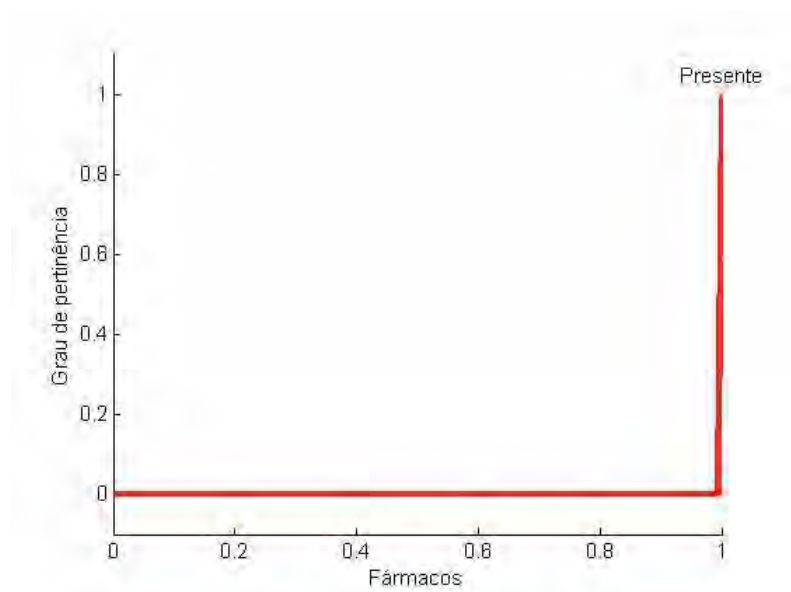


Fig. 5. Função de pertinência associada aos quatro fármacos , variáveis de entrada.

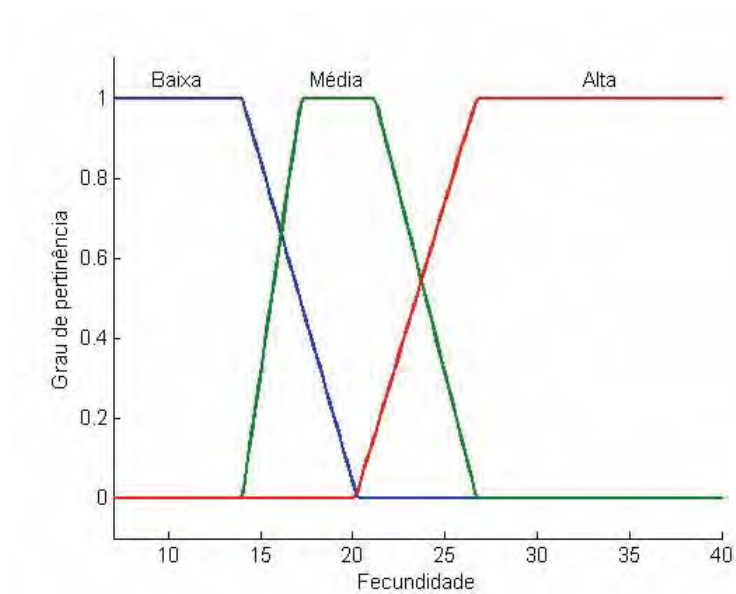


Fig. 6. Função de pertinência associada à primeira variável de saída.

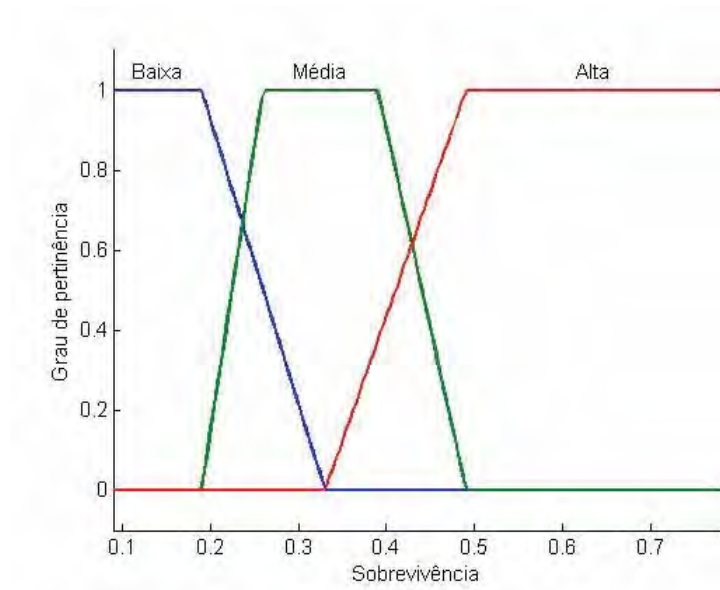


Fig. 7. Função de pertinência associada à segunda variável de saída.

As regras *Fuzzy* foram escritas da seguinte forma:

1. Se a densidade é baixa então a fecundidade é alta e a sobrevivência é alta. (1)
2. Se a densidade é média então a fecundidade é média e a sobrevivência é alta. (1)
3. Se a densidade é baixa então a fecundidade é baixa e a sobrevivência é baixa. (1)
4. Se a densidade é baixa e a predação é presente então a fecundidade é alta e a sobrevivência é média. (1)
5. Se a densidade é média e a predação é presente então a fecundidade é alta e a sobrevivência é média. (1)
6. Se a densidade é alta e a predação é presente então a fecundidade é média e a predação é média. (1)
7. Se a densidade é baixa e a anfetamina é presente então a fecundidade é alta e a sobrevivência é alta. (1)
8. Se a densidade é média e a anfetamina é presente então a fecundidade é baixa e a sobrevivência é média. (1)
9. Se a densidade é alta e a anfetamina é presente então a fecundidade é baixa e a sobrevivência é baixa. (1)

10. Se a densidade é baixa, e a predação e anfetamina são presentes então a fecundidade é alta e a sobrevivência é alta. (1)
11. Se a densidade é média e a predação e a anfetamina são presentes então a fecundidade é média e a sobrevivência é alta. (1)
12. Se a densidade é alta e a predação a anfetamina são presentes então a fecundidade é baixa e a sobrevivência é baixa. (1)
13. Se a densidade é baixa e o fenobarbital é presente então a fecundidade é média e a sobrevivência é alta. (1)
14. Se a densidade é media e o fenobarbital é presente então a fecundidade é média e a sobrevivência é média. (1)
15. Se a densidade é alta e o fenobarbital é presente então a fecundidade é baixa e a sobrevivência é baixa. (1)
16. Se a densidade é baixa e a predação e o fenobarbital são presentes então a fecundidade é média e a sobrevivência é baixa. (1)
17. Se a densidade é média e a predação e o fenobarbital são presentes então a fecundidade é alta e a sobrevivência é baixa. (1)
18. Se a densidade é alta e a predação e o fenobarbital são presentes então a fecundidade é alta e a sobrevivência é baixa. (1)
19. Se a densidade é baixa e o oxycontin é presente então a fecundidade é alta e a sobrevivência é alta. (1)
20. Se a densidade é média e o oxycontin é presente então a fecundidade é baiza e a sobrevivência é baixa. (1)
21. Se a densidade é alta e o oxycontin é presente então a fecundidade é média e a sobrevivência é baixa. (1)
22. Se a densidade é baixa e a predação e o oxycontin são presentes então a fecundidade é alta e a sobrevivência é alta. (1)
23. Se a densidade é média e a predação e o oxycontin são presentes então a fecundidade é média e a sobrevivência é alta. (1)
24. Se densidade é alta e a predação e o oxycontin são presentes então a fecundidade é alta e a sobrevivência é baixa. (1)

25. Se a densidade é baixa e o metanol é presente então a fecundidade é alta e a sobrevivência é alta. (1)
26. Se a densidade é média e o metanol é presente então a fecundidade é baixa e a sobrevivência é média. (1)
27. Se a densidade é alta e o metanol é presente então a fecundidade é baixa e a sobrevivência é baixa. (1)
28. Se a densidade é média e a predação e o metanol são presentes então a fecundidade é alta e a sobrevivência é alta. (1)
29. Se a densidade é média e a predação e o metanol são presentes então a fecundidade é alta e a sobrevivência é média. (1)
30. Se a densidade é alta e a predação e o metanol são presentes então a fecundidade é média e a sobrevivência é baixa. (1)

Dinâmica de interações intra e interespecíficas em moscas-varejeiras sob ação de psicofármacos:

Aplicações ecológicas no contexto forense

3. Resultados e discussão

3.1. Efeito de fármacos sobre o comportamento dinâmico de *C. albiceps*

Simulação com o Modelo de Prout & McChesney, 1985

O diagrama de bifurcação para a fecundidade, produzido para *C. albiceps* com larvas desenvolvidas em meio de cultura (tratamento controle), indica uma gama de comportamentos dinâmicos, desde o equilíbrio estável de um ponto, passando por ciclo limite de dois, quatro, oito pontos, até exibir o comportamento caótico. (Fig 8). A análise de bifurcação na figura 9 mostra o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento controle, exibindo equilíbrio estável de um ponto, ciclo limite de dois pontos e ciclo limite de quatro pontos. A figura 10 apresenta o diagrama de bifurcação para o grupo com fenobarbital exibindo equilíbrio estável de um ponto para $F > 0$ e $F < 16$, ciclos limite ($16 < F < 33$) e caos ($33 < F < 40$) para a fecundidade. Na figura 11, um diagrama de bifurcação para sobrevivência no grupo com fenobarbital exibe apenas dois comportamentos, equilíbrio estável de um ponto e ciclo limite de dois pontos.

O diagrama de bifurcação para fecundidade (Fig. 12), produzido com adição de metanol indica a ocorrência de apenas dois tipos de comportamento dinâmico, equilíbrio estável de um ponto e ciclo limite de dois pontos. Observa-se na figura 13 o diagrama de bifurcação para sobrevivência no tratamento com metanol que exibe equilíbrio estável de um ponto, ciclo limite de dois pontos e ciclo limite de quatro pontos. O diagrama de bifurcação para a fecundidade, produzido para *C. albiceps* com larvas desenvolvidas em meio de cultura com adição de anfetamina indica somente dois

comportamentos dinâmicos, equilíbrio estável de um ponto e ciclo limite de dois pontos (Fig. 14). Para a sobrevivência neste último tratamento observa-se novos tipos de equilíbrio, além dos citados para a fecundidade no tratamento com anfetamina, a sobrevivência exibe ciclo limite de quatro pontos (Fig. 15).

A Figura 16 mostra o diagrama de bifurcação para o tratamento com cloridrato de oxycodone (Oxycontin®) com inclusão *C. megacephala* como presa, exibindo equilíbrio estável de um ponto para $F > 0$ e $F < 17$, ciclos limites ($17 < F < 34$) e caos ($34 < F < 40$) para fecundidade. Para o mesmo tratamento o diagrama de bifurcação para a sobrevivência indica equilíbrio estável de um ponto, ciclo limite de dois pontos, ciclo limite de quatro pontos e ciclo limite de oito pontos (Fig. 17). A análise dos diagramas de bifurcação das Figuras 18 e 19 para a sobrevivência, no tratamento com metanol e inclusão de presas de *C. megacephala*, indica apenas dois comportamentos dinâmicos, equilíbrio estável de um ponto e ciclo limite de dois pontos.

Observa-se na figura 20 o diagrama de bifurcação para fecundidade no tratamento anfetamina com inclusão de presas de *C. megacephala* exibindo desde equilíbrio estável de um ponto, ciclo limite de dois, quatro, oito pontos até uma tendência para o caos. Na figura 21 o diagrama de bifurcação para sobrevivência, produzido para o mesmo tratamento citado acima exibe apenas dois comportamentos dinâmicos, equilíbrio estável de um ponto e ciclo limite de dois.

Comparando os diagramas de bifurcação produzidos sem a inclusão de presas *C. megacephala* a partir do controle com os tratamentos: fenobarbital, metanol e anfetamina nota-se que para a fecundidade a dinâmica complexa, caracterizada pelos ciclos e pelo regime caótico é antecipada, ou seja, a cascata de bifurcações inicia-se com valores mais baixos de fecundidade, sob a ação do psicofármacos. Este resultado não é encontrado quando metanol e anfetamina são incorporados ao meio de cultura. O

resultado para estes dois casos é equilíbrio estável de um ponto e ciclo limite de dois pontos.

É importante mencionar que o metanol foi um controle positivo para a anfetamina, pois a anfetamina estava diluída em metanol na proporção de 1:1. A diferença entre estas substâncias produziu a antecipação do ciclo limite de dois pontos para o tratamento com anfetamina. Contudo, nos gráficos de bifurcação em que se analisa sobrevivência como variável independente, nota-se que a ação do fenobarbital produz dois comportamentos, equilíbrio de um ponto para os valores mais baixos e ciclo limite de dois pontos para os valores superiores. Estes resultados diferem do tratamento controle, tratamento com anfetamina e metanol, mostrando que para valores superiores de sobrevivência o ciclo limite de quatro pontos pode ser encontrado.

Avaliando as simulações dos diagramas de bifurcação para psicofármacos com adição de presas de *C. megacephala* observa-se uma variedade de comportamentos dinâmicos para fecundidade nos tratamentos com cloridrato de oxycodone e anfetamina caos para valores superiores. Este resultado difere do tratamento metanol com inclusão de presas, que exibe um ciclo limite de dois pontos. Contudo, no diagrama para a sobrevivência, em cada tratamento citado acima com inclusão de presas, observou-se diferentes tipos de comportamento dinâmico nos valores superiores. Para o tratamento cloridrato de oxycodone com inclusão de presas um ciclo limite de oito pontos foi encontrado e o tratamento anfetamina com inclusão de presas exibiu ciclo limite de quatro pontos. O tratamento metanol com inclusão de presas exibiu ciclo limite de dois pontos.

3.1.2. Discussão

Diagramas de bifurcação foram empregados para descrever a variação dos tamanhos populacionais em função do espaço paramétrico da fecundidade e da sobrevivência de *C. albiceps*. O uso desta ferramenta analítica para investigar a

sensibilidade de parâmetros demográficos tem sido freqüente, tanto em estudos com moscas-varejeiras (Godoy et al. 1996; Serra et al. 2007), como em besouros (Cushing et al. 2003). A ferramenta é bastante útil já que mostra toda a variação dos valores dos parâmetros para uma única descrição (Edelstein-Keshet, 1988).

Os resultados obtidos para o controle experimental mostram para a fecundidade toda a gama de comportamentos possíveis de serem obtidos, desde o equilíbrio estável, passando por ciclos até atingir o caos. Já o diagrama que descreve a sobrevivência como variável independente apresenta a mesma cascata de comportamentos, porém atingindo no máximo um ciclo limite de oito pontos. Estudos prévios com moscas-varejeiras já revelaram resultados similares, sempre indicando que a fecundidade é o parâmetro demográfico com maior sensibilidade para exibir comportamentos complexos, tais como ciclos e caos (Godoy et al. 1996; Godoy et al. 2001).

A adição do fenobarbital no meio de cultura oferecido às moscas sugere que o fármaco não gera mudança qualitativa para fecundidade, ou seja, o mesmo espectro de comportamentos dinâmicos exibidos no controle aparece nos resultados. O efeito encontrado sobre a fecundidade foi apenas a antecipação das bifurcações. Já para a sobrevivência o efeito parece ter sido mais pronunciado, gerando estabilização no sistema, confirmada pela exibição de apenas dois tipos de comportamento dinâmico, equilíbrio estável de um ponto e ciclo limite de dois pontos.

O psicofármaco anfetamina e o seu controle positivo (metanol) adicionado ao meio de cultura geraram efeitos estabilizadores para a fecundidade em relação ao tratamento controle, já o sistema ficou restrito a uma única bifurcação. A exceção foi para o tratamento com anfetamina, que antecipou o ciclo limite de dois pontos em relação ao metanol. Não são muitas as pesquisas já realizadas com este enfoque. Porém, os poucos resultados existentes indicam alteração na estabilidade das populações.

Moe et al.(2002) mostraram que doses subletais de cádmio torna a dinâmica populacional mais estável, o que poderia levar a uma maior persistência populacional. No entanto, como as densidades médias foram reduzidas nas populações tratadas com cádmio, os indivíduos estão mais sujeitos a extinção através dos processos demográficos estocásticos Moe et al., 2002). No presente estudo, para a análise de sensibilidade da sobrevivência, o tratamento submetido à anfetamina e seu controle positivo (metanol) exibiram resultados com comportamento semelhante ao controle, apresentando até ciclo limite de quatro pontos nos valores superiores para a sobrevivência.

Os parâmetros demográficos, fecundidade e sobrevivência são altamente dependentes da densidade e os fármacos ou qualquer substância tóxica podem interferir na sensibilidade dos parâmetros que governam a dinâmica das espécies. Forbes et al. (2001) revisaram diversos experimentos e constataram que o delineamento experimental é de extrema importância para este tipo de estudo, podendo influenciar os resultados. Os efeitos da exposição às substâncias tóxicas são complexos para serem avaliados à campo, pois geralmente induzem diversos tipos de interações entre tóxicos e a dependência da densidade, atenuando ou acentuando o efeito dela sobre a população. Este aspecto foi decisivo para que o presente trabalho fosse delineado e desenvolvido em laboratório.

Pouco se sabe a respeito dos efeitos tóxicos sobre a dependência da densidade nos insetos, mas alguns estudos, como o de Gui & Grant (2008) demonstram o efeito do tóxico sobre a dependência da densidade e vice-versa. Além disso, examinam possíveis mecanismos de compensação entre os fatores e também os efeitos sinérgicos quando avaliados em conjunto. O presente estudo não teve o propósito de avaliar o efeito dos fármacos sobre a dependência da densidade, mas indiretamente o efeito foi avaliado

através dos parâmetros demográficos fecundidade e sobrevivência, que são funções dependentes da densidade.

Como no estudo desenvolvido por Gui & Grant (2008) observou-se a susceptibilidade da população ao estresse da dependência da densidade, quando populações eram submetidas à ação das substâncias químicas. Moe et al. (2002) expuseram populações de *Lucilia sericata* ao cádmio e avaliaram dentre outros fatores, a sobrevivência, como no presente estudo. Sob baixas densidades as taxas demográficas decresceram com o efeito do cádmio. Mesmo com a alta toxicidade para *L. sericata*, quando as populações foram expostas a altas densidades, o resultado foi positivo, contribuindo com a elevação dos valores dos parâmetros. Assim, pode-se dizer que houve uma reação compensatória sobre dependência da densidade.

Quando a predação passou a ser considerada no sistema com a inclusão das presas *C. megacephala* sujeitas à ação dos psicofármacos na dieta da espécie predadora *C. albiceps*, esta junção de fatores contribuiu para o efeito desestabilizador na fecundidade para o tratamento com anfetamina, produzindo comportamento bem diferente do sistema sem predação. Já o controle positivo da anfetamina, o metanol, não gerou mudança qualitativa no diagrama de bifurcação para fecundidade se comparado ao experimento sem predação.

O cloridrato de Oxycodone com inclusão de presas não exibiu mudanças qualitativas para fecundidade em relação ao controle, mantendo o mesmo espectro do comportamento dinâmico, com a produção de efeitos desestabilizadores. Já para a sobrevivência obteve-se um resultado diferente dos outros tratamentos apresentados acima, evidenciando ciclo limite de oito pontos. O cloridrato de Oxycodone com inclusão de presas não exibiu mudanças qualitativas para fecundidade em relação ao controle, mantendo o mesmo espectro do comportamento dinâmico, com a produção de

efeitos desestabilizadores. Já para a sobrevivência obteve-se um resultado diferente dos outros tratamentos apresentados acima, evidenciando ciclo limite de oito pontos.

Gião, 2007 observou comportamentos mais complexos, tais como e ciclos e caos, resultantes da adição de presas no sistema, contudo sem a adição de fármacos. Os resultados encontrados têm valor no âmbito ecológico, sobretudo se forem examinados no contexto de persistência populacional. A literatura focada em questões ecológicas desta natureza salienta freqüentemente a associação da susceptibilidade à extinção local para populações sujeitas ao regime caótico. Este resultado sugere que as populações podem sofrer significativa influência do fármaco sobre a dinâmica, com implicações para a persistência local.

Um estudo recente propôs a análise estocástica em cinco espécies de moscas varejeiras, *C. albiceps*, *C. megacephala*, *C. putoria*, *C. macellaria* e *L. eximia* (Serra *et al.*, 2007b). Os resultados encontrados sugerem que *C. albiceps* é a espécie que apresenta maior susceptibilidade à extinção local quando não considerada a ação a predação intraguilda exercida pela espécie.

Tabela 1. Análise de regressão exponencial da fecundidade e sobrevivência para os tratamentos controle, fenobarbital, metanol e anfetamina sem adição de presas.

	Controle		Fenobarbital		Metanol		Anfetamina	
	F	S	F	S	F	S	F	S
Interceptores em y	26,74	0,81	22,87	0,90	27,12	0,54	27,45	0,60
Coeficiente de regressão	0,0009	0,00163	0,0006	0,002	0,0009	0,001	0,0009	0,001
r^2	0,66	0,80	0,54	0,90	0,65	0,90	0,61	0,89
ANOVA	445	40,60	264	94,64	414	80,59	345	81,53

P < 0.001, F = fecundidade S = Sobrevivência

Tabela 2. Análise de regressão exponencial da fecundidade e sobrevivência para os tratamentos cloridrato de oxycodone, fenobarbital, metanol e anfetamina com adição de presas *C. megacephala*.

	Cloridrato de Oxycodone		Metanol		Anfetamina	
	F	S	F	S	F	S
Interceptores em y	29,15	0,87	23,34	0,57	28,14	0,77
Coeficiente de regressão	0,0008	0,002	0,0006	0,001	0,0009	0,001
r^2	0,54	0,83	0,50	0,86	0,59	0,89
ANOVA	228	48,98	216	63,31	272	70,97

P < 0.001, F = fecundidade S = Sobrevivência

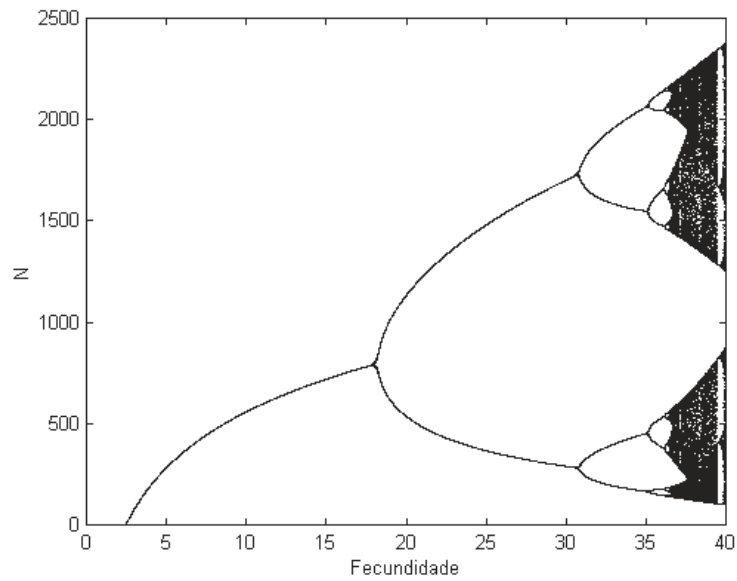


Fig.8. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da fecundidade sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento controle.

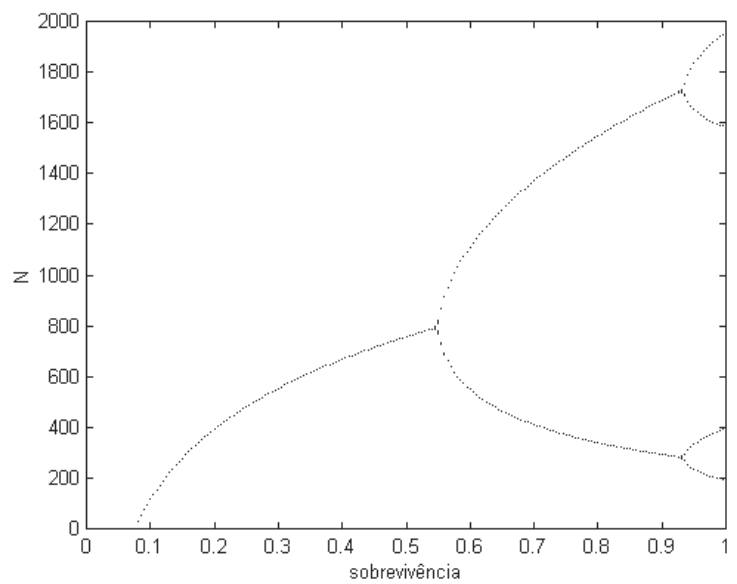


Fig.9. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento controle.

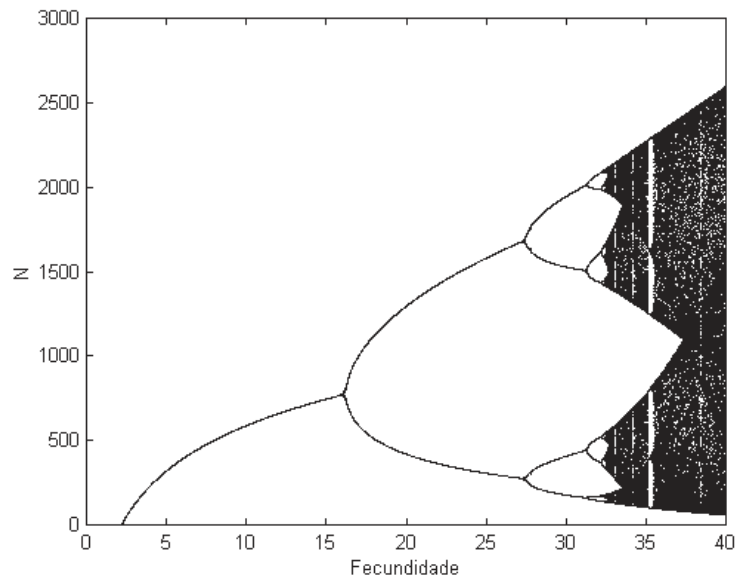


Fig.10. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da fecundidade sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com fenobarbital (150mg/kg).

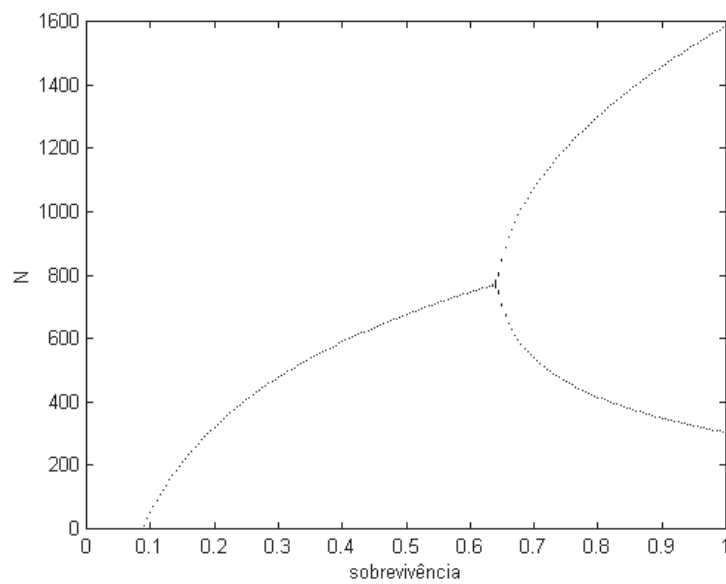


Fig.11. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com fenobarbital (150mg/kg).

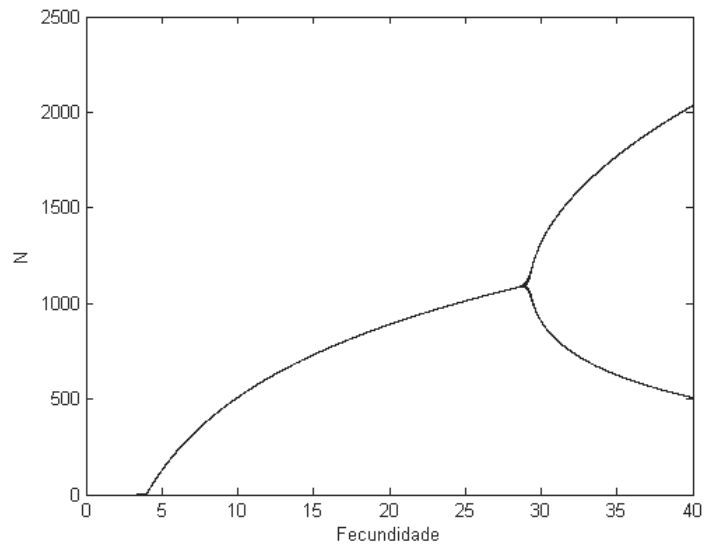


Fig.12. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da fecundidade sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com metanol (0,07mg/kg).

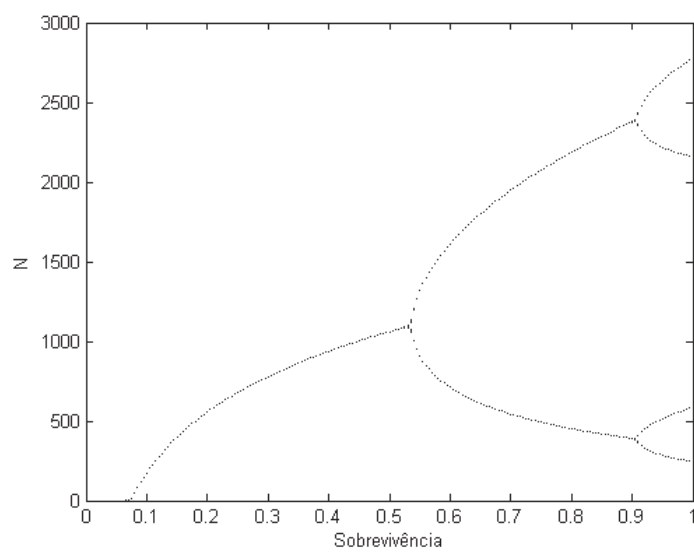


Fig.13. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com metanol (0,07mg/kg).

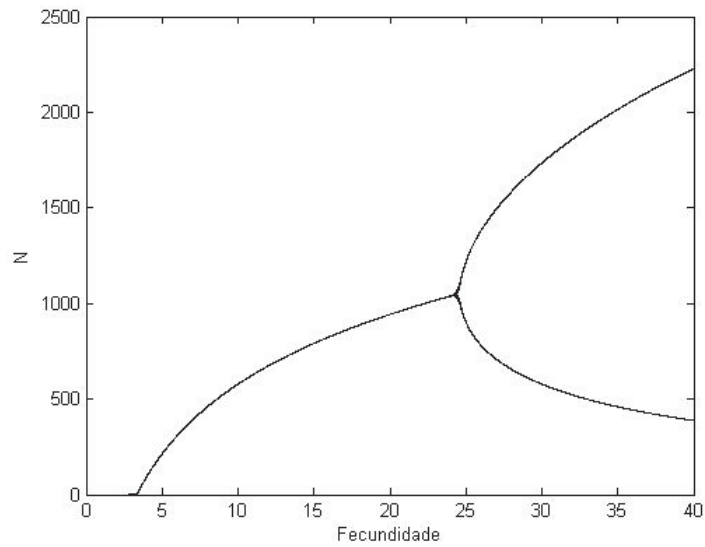


Fig.14. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da fecundidade sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com anfetamina (0,07mg/kg).

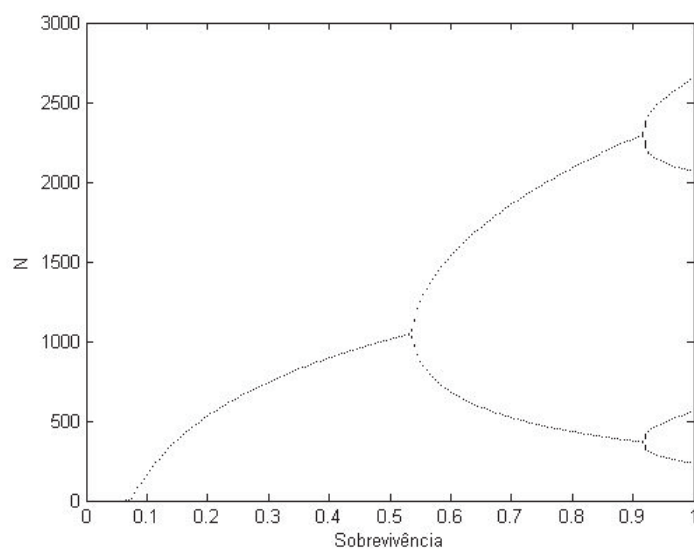


Fig.15. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com anfetamina (0,07mg/kg).

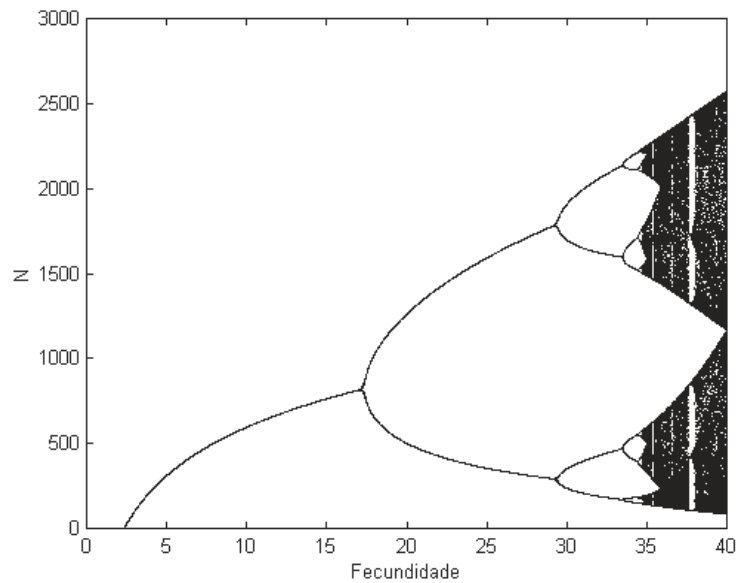


Fig.16. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da fecundidade sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com cloridrato de oxycodone (DL₅₀) com inclusão de presa *C. megacephala*.

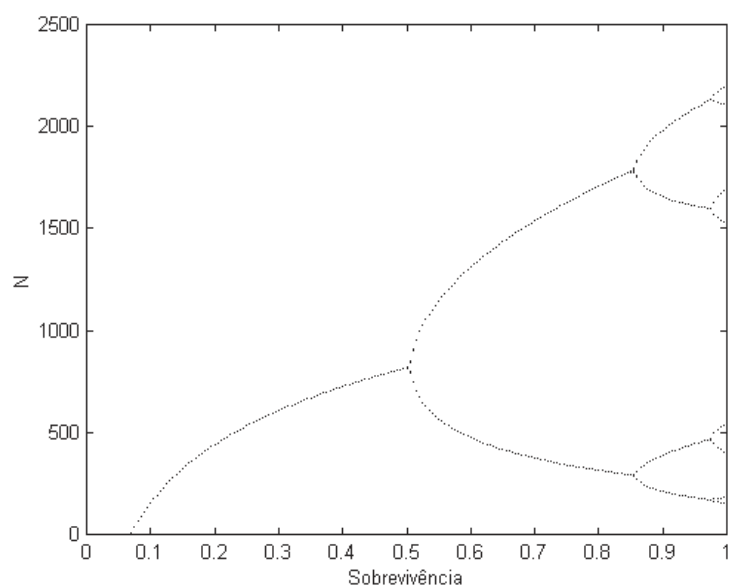


Fig.17. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com cloridrato de oxycodone (DL₅₀) com inclusão de presa *C. megacephala*.

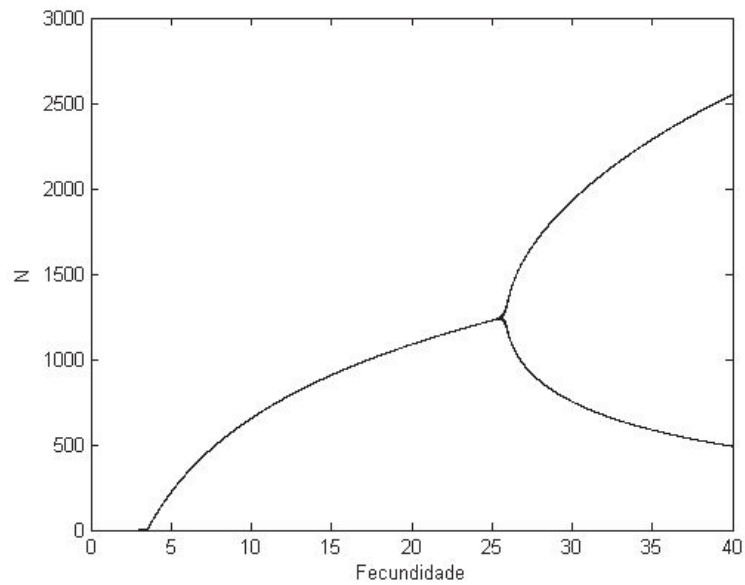


Fig.18. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da fecundidade sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com metanol (0,07mg/kg) com inclusão de presa *C. megacephala*.

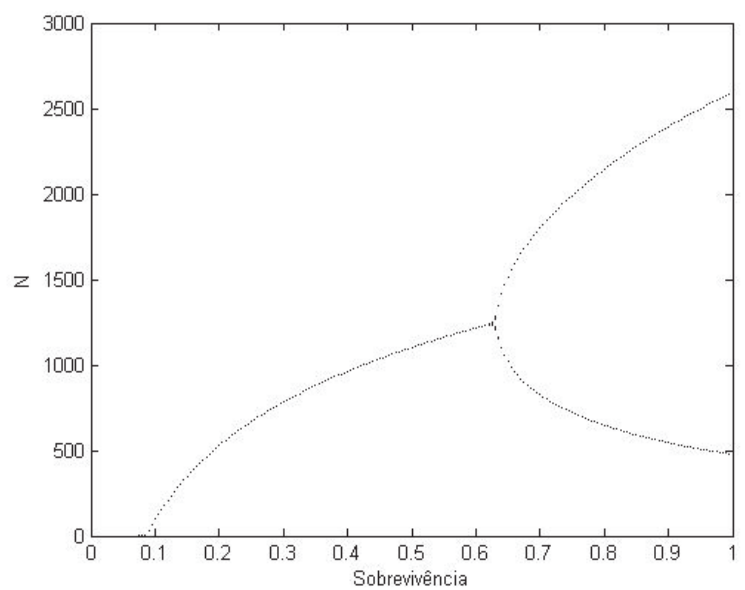


Fig.19. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com metanol (0,07mg/kg) com inclusão de presa *C. megacephala*.

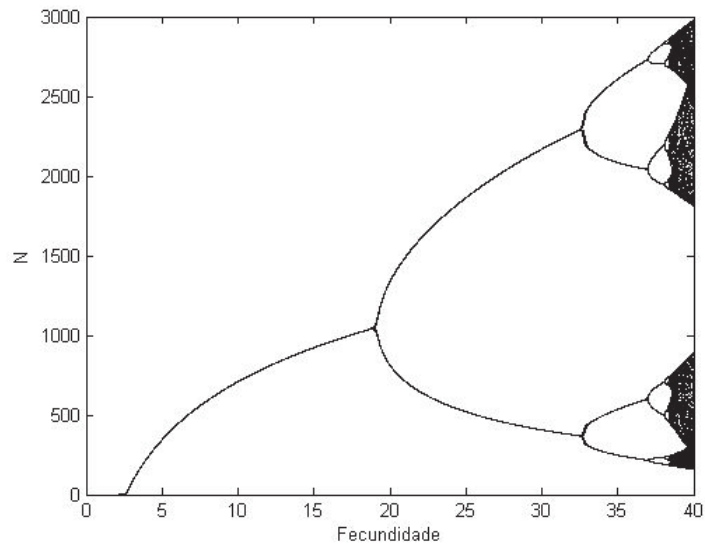


Fig.20. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da fecundidade sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com anfetamina (0,07mg/kg) com inclusão de presa *C. megacephala*.

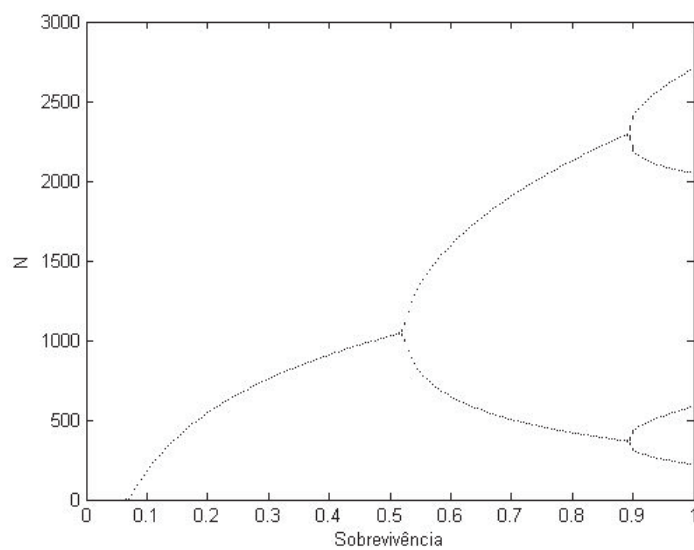


Fig.21. Análise de bifurcação mostrando o espectro de comportamentos dinâmicos produzidos pela variação da sobrevivência sobre a dinâmica de *C. albiceps* no tratamento com anfetamina (0,07mg/kg) com inclusão de presa *C. megacephala*.

3.2. Estimativa de frequência de predação larval interespecífica

Resultados e discussão

O maior percentual de larvas de *C. megacephala* predadas por *C. albiceps* em 180 minutos ocorreu para populações tratadas com Oxycontin, seguido por metanol, fenobarbital e anfetamina (Tabela 3). O menor percentual se deu sobre o controle. Contudo, a diferença somente foi significativa quando foram comparados o grupo controle e o Oxycontin (Tabela 6). A comparação entre os controles de *C. megacephala* e *C. putoria* não revelou diferença significativa (Tabela 6). Estes resultados sugerem que os fármacos, em especial o Oxycontin, podem aumentar a atividade de predação em *C. albiceps* quando a opção de presa for somente *C. megacephala*. Os resultados também sugerem que Fenobarbital e Metanol aceleram o consumo de larvas de *C. megacephala*, visto que os resultados indicam altos percentuais de consumo de presa após 30 minutos (Tabela 3).

Para *C. putoria*, o maior percentual de larvas predadas após 180 minutos foi observado sobre larvas tratadas com Anfetamina, seguida de Oxycontin, Metanol, Controle de Fenobarbital (Tabela 4). Assim, neste experimento as larvas que receberam fenobarbital foram as que menos predaram. Contudo, as comparações mostram que a diferença é significativa somente entre controle e Oxycontin e controle e Anfetamina (Tabela 7). Destaca-se aqui a Anfetamina como o fármaco que mais acelerou o ataque de *C. albiceps* sobre *C. putoria*, resultando em alto percentual após 30 minutos (Tabela 4). Avaliando a interação entre os fatores farmaco e espécie, não se observou efeito significativo ao analisar a predação sobre *C. putoria*, para os tratamentos com Fenobarbital, Metanol, Oxycontin e Anfetamina (Tabela 7).

Tabela 3. Percentual de predação de *C. albiceps* sobre *C. megacephala* sem escolha de presa.

	Percentual de predação sobre <i>C. megacephala</i>				
Tempo	Controle	Fenobarbital	Oxycontin	Anfetamina	Metanol
30	27,5	52,5	12,5	12,5	47,15
60	17,5	8	20	7,5	12,5
90	7,5	8	32,5	12,5	5
120	7,5	2,5	7,5	17,5	15
150	2,5	7,5	12,5	2,5	5
180	5	2,5	5	17,5	0
Total	67,5	81	90	70	85

Tabela 4. Percentual de predação de *C. albiceps* sobre *C. putoria* sem escolha de presa.

	Taxa de predação <i>C. putoria</i>				
Tempo	Controle	Fenobarbital	Oxycontin	Anfetamina	Metanol
30	35	20	10	57,5	32,5
60	15	12,5	22,5	20	17,5
90	5	12,5	35	7,5	12,5
120	15	2,5	10	5	10
150	2,5	10	12,5	5	2,5
180	2,5	10	2,5	0	2,5
Total	75	67,5	92,5	95	77,5

Tabela 5. Percentual de predação de *C. albiceps* com escolha de presa.

	Percentual de predação com escolha de presas <i>C. albiceps</i> x <i>C. megacephala</i> x <i>C. putoria</i>									
Tempo	Controle		Fenobarbital		Oxycontin		Anfetamina		Metanol	
	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P
30	2,5	12,5	2,5	0	2,5	2,5	7,5	10	12,5	17,5
60	2,5	10	2,5	0	0	17,5	10	10	5	10
90	0	2,5	0	0	10	5	0	12,5	5	12,5
120	0	7,5	0	2,5	5	2,5	10	10	0	2,5
150	2,5	0	5	2,5	5	5	2,5	5	0	2,5
180	0	2,5	25	17,5	15	5	2,5	0	0	0
Total	7,5	35	35	22,5	37,5	37,5	32,5	47,5	22,5	45

Para o experimento com escolha entre presas, o padrão dinâmico de predação já encontrado por Faria & Godoy (2001), caracterizado pela preferência de *C. albiceps* sobre *C. putoria* na ausência de *C. macellaria*, somente foi encontrado no grupo controle e nos grupos em que as larvas foram tratadas com Anfetamina e Metanol (Tabela 5). Em larvas influenciadas por Oxycontin o percentual total de predação foi o mesmo para as duas espécies de presa. Já com Fenobarbital, a preferência foi invertida, indicando que sob estas circunstâncias *C. megacephala* pode ser a espécie mais atacada. Este resultado corrobora de certa forma o resultado encontrado no experimento sem escolha de presas, quando a interação entre *C. albiceps* foi analisada com *C. megacephala*. Ficou evidenciado que no experimento sem escolha de presas o Fenobarbital pode acelerar o consumo de *C. megacephala*, o que parece não acontecer com *C. putoria*. Este fato poderia explicar a troca de presas.

Comparando o consumo de presas por *C. albiceps* entre os diversos tratamentos (fármacos), observa-se que somente para a Anfetamina e grupo controle ocorre diferença significativa (Tabelas 5 e 8). De maneira geral, os resultados sugerem que diferentes fármacos podem atuar distintamente sobre o comportamento predatório de *C. albiceps*, com implicações para a dinâmica de predação. Ficou evidenciado que em experimentos sem escolha de presa predomina a aceleração do processo predatório quando fármacos agem sobre as presas. Já para sistemas em que a escolha de presas ocorre a aceleração do processo predatório em *C. albiceps* não se dá de forma tão clara (Tabela 5). Dessa forma, sob o presente delineamento a ação predatória exibida por *C. albiceps* pode não definir totalmente a diversidade de presas encontradas em corpos, conforme já conjecturado por Grassberger *et al.* (2003), caso a vítima tenha feito uso de fármacos.

Tabela 6. Estatística da interação entre fatores na predação de *C. albiceps* sobre *C. megacephala*

Interação	Estimava	E.P.	z	p
Controle - Mega	0.73089	0.33758	2.165	0.0304 *
Controle x Fenobarbital	1.00371	0.55681	1.803	0.0714 .
Controle x Metanol	1.03270	0.55606	1.857	0.0633 .
Controle x Oxycontin	1.46634	0.62589	2.343	0.0191 *
Controle x Anfetamina	0.11641	0.48271	0.241	0.8094
Controle Put x Cont. Mega	0.36772	0.49729	0.739	0.4596
Fenobarbital:Especie x Put	-1.44555	0.74286	-1.946	0.0517 .
Metanol:Especie x Put	-0.89455	0.76544	-1.169	0.2425
Oxycontin:Especie x Put	-0.02598	0.94060	-0.028	0.9780
Anfetamina:Especie x Put	.72942	0.94478	1.831	0.0672 .

Códigos para valores de significância: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05

Tabela 7. Estatística da interação entre fatores na predação de *C. albiceps* sobre *C. putoria*

Interação	Estimava	E.P.	z	p
Controle Put	1.09861	0.36515	3.009	0.00262 **
Controle x Fenobarbital	-0.44183	0.49173	-0.899	0.36891
Controle x Metanol	0.13815	0.52603	0.263	0.79284
Controle Oxycontin	1.44036	0.70213	2.051	0.04023 *
Controle x Anfetamina	.84583	0.81215	2.273	0.02304 *
Especie x mega	-0.36772	0.49729	-0.739	0.45963
Fenobarbital :Especie x mega	1.44555	0.74286	1.946	0.05166 .
Metanol:Especie x mega	0.89455	0.76544	1.169	0.24254
Oxycontin:Especie x mega	0.02598	0.94060	0.028	0.97797
Anfetamina:Especie x mega	-1.72942	0.94478	-1.831	0.06717 .

Códigos para valores de significância: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05

Tabela 8. Estatística comparativa da predação analisada para cada um dos fármacos em experimentos com escolha de presas

Fármaco	Estimativa	E. P.	Valor de z	Valor de p
Fenobarbital	-1.07782	0.55186	-1.953	0.05081
Metanol	-0.52683	0.58190	-0.905	0.36528
Oxycontin	0.34175	0.79839	0.418	0.6686
Anfetamina	2.0971	0.8033	2.611	0.000904

Os estudos realizados até o momento focando sobre predação larval foram delineados para investigar apenas taxas de predação em contexto de dinâmica de forrageio (Faria et al. 1999; Faria et al. 2004a,b; Rosa et al. 2004; Faria et al. 2007). Os resultados encontrados nestes estudos foram corroborados de certa forma pelo grupo controle do presente estudo. Contudo, os resultados do presente estudo mostram que a dinâmica interativa em larvas de moscas-varejeiras é altamente sensível a ação dos fármacos, com inversões comportamentais capazes de desestruturar a configuração de espécies em um sistema caracterizado por insetos necrófagos.

3.3. Análises da resposta funcional

Resultados e discussão

De todos os ajustes obtidos pela função polinomial logística aos resultados de cada tratamento, apenas para a relação entre larvas consumidas e densidade de presas investigada no grupo controle para 5 predadores (Fig. 22) foi encontrada significância estatística (Tabelas 9 e 10). Para este caso, o padrão de resposta funcional observado foi o do tipo III (Tabela 9). Caso houvesse significância para as relações funcionais, todos os tratamentos seriam reconhecidos como funções ajustadas a resposta funcional do tipo III (Tabelas 9 e 10).

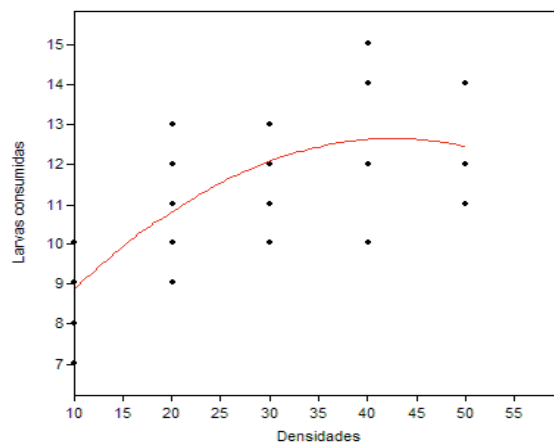


Figura 22. Resposta funcional para *C. albiceps* sobre *C. megacephala*, grupo controle ($r^2 = 0.54$)

Provavelmente, a indicação encontrada para a resposta do tipo III não reflete exatamente o padrão ecológico sigmoidal encontrado em populações de insetos. Estudos prévios realizados com moscas varejeiras sugerem que o padrão se aproxima muito mais de uma assíntota, o que caracteriza a resposta funcional do tipo II (Faria *et al.* 2004). Este resultado deve ser atribuído muito mais a variabilidade dos dados obtidos experimentalmente. Com densidades crescentes de presa é comum o aumento da variação dos valores (Faria *et al.* 2004). A ausência de significância, apesar da indicação de resposta do tipo III, pode ser atribuída à ação dos fármacos sobre as populações de presas, que indiretamente estariam influenciando o comportamento das larvas predadoras.

Neste estudo, dois fatores foram analisados no delineamento experimental, número de predadores e fármacos considerando diferentes densidades de presas. A diferença entre o número de presas consumidas entre as densidades foi altamente significativa ($F = 351,4$, $p < 0,00001$) quando o número de predadores era 5 e assim foi também entre os diferentes fármacos ($F = 235,5$, $p < 0,00001$). Considerando apenas 1

predador por experimento, a diferença entre o número de larvas consumidas entre densidades também foi significativa ($F = 577,4$, $p < 0,00001$).

Levando em conta o número de larvas consumidas entre os diferentes fármacos, a diferença também foi significativa ($F = 14,23$, $p = 0,0001899$). Apesar das diferenças entre densidades terem sido significativas pela análise de variância, a trajetória dos dados obtidos não indicou relação entre a variável dependente, número de larvas consumidas e a variável independente, densidade de presas, razão pela qual o ajuste das respostas funcionais ao consumo de presas por *C. albiceps* não ocorreu, exceto para o grupo controle (Tabelas 9 e 10).

Tabela 9. Parâmetros da regressão polinomial utilizados para a caracterização do padrão de resposta funcional para 5 predadores

Tabela 10. Parâmetros da regressão polinomial utilizados para a caracterização do padrão de resposta funcional para 1 predador

As populações de moscas sujeitas ao efeito de Metanol e do grupo controle foram as que mais consumiram larva de *C. megacephala* no tratamento com 5 predadores (Fig. 23). Larvas sob o efeito de Anfetamina foram as que exibiram o menor consumo de presas na maioria das densidades (Fig. 23). Os demais fármacos influenciaram moderadamente o consumo de presas mantendo os patamares de consumo em espaço paramétrico intermediário (Fig. 23).

Já para o tratamento com apenas uma larva predadora, inversões foram observadas (Fig. 24). Oxycontin foi o fármaco que mais influenciou positivamente o consumo de presas (Fig. 24). As populações sob a influência de Gardenal e também

Anfetamina foram as que menos larvas consumiram (Fig. 24). Estes resultados sugerem que os fármacos podem influenciar expressivamente a dinâmica de predação em *C. albiceps*, interferindo sensivelmente na composição da fauna necrófaga a ela associada. Até onde se sabe, este estudo é pioneiro na investigação sobre efeitos de fármacos sobre comportamento larval voltado à predação, com vistas ao enfoque em entomologia forense. O conhecimento da dinâmica de predação pode auxiliar o levantamento de dados concernentes ao tipo de fauna e espécies que poderiam ser consideradas chave para a elaboração de relatórios técnicos sobre a fauna decompositora de cadáveres.

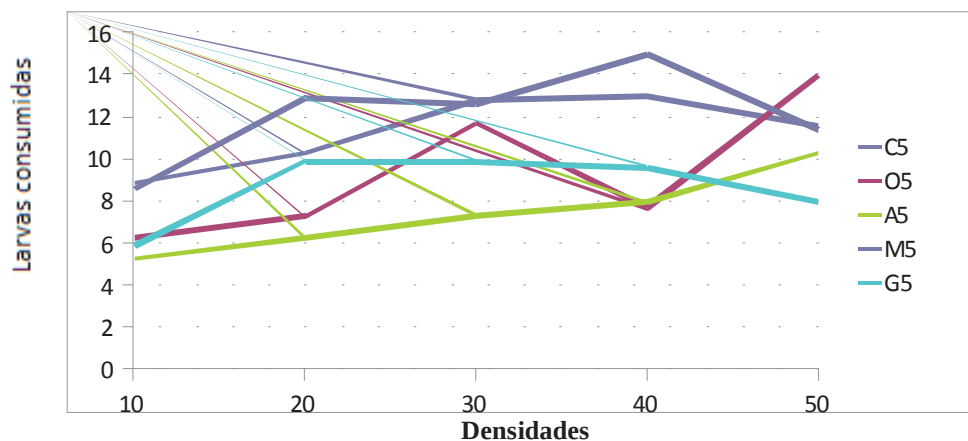


Fig. 23. Consumo de *C. megacephala* por 5 larvas de *C. albiceps* em diferentes densidades sob o efeito de fármacos (C5 = controle com 5 predadores, O = oxycontin, A = anfetamina, M= metanol, G = gardenal)

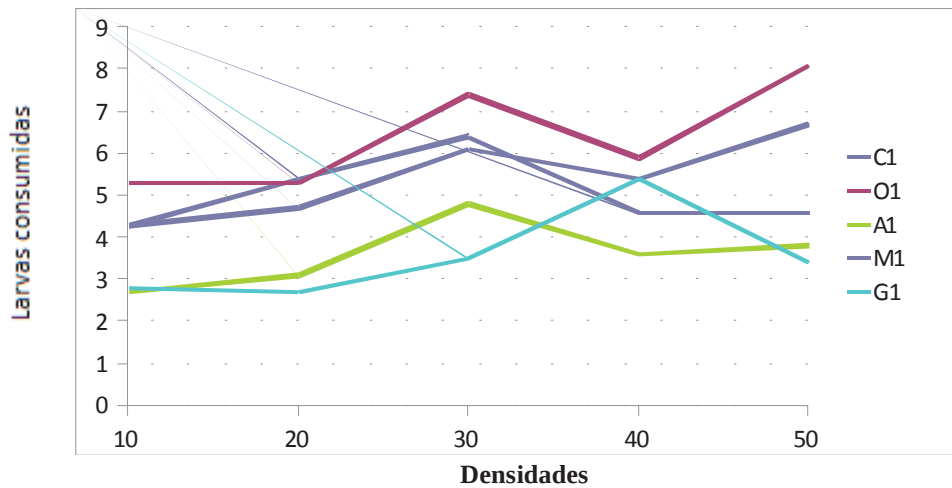


Fig. 24. Consumo de *C. megacephala* por 1 larva de *C. albiceps* em diferentes densidades sob o efeito de fármacos.

3.4. Inferência Fuzzy

Resultados

Utilizando valores médios de fecundidade e sobrevivência, obtidos em laboratório para *C. albiceps* em função da densidade larval, foram geradas as regras especificadas no item Material e métodos para o subconjunto *Fuzzy*, incluindo a ação dos fármacos e da predação intraguilda de *C. albiceps* sobre as outras espécies. A fecundidade sofreu decréscimo em resposta à densidade larval em todos os tratamentos com fármacos (Figs. 25 a, b, c, d, e). Contudo, quando houve inclusão da Anfetamina e seu controle positivo, o Metanol (Figs. 25b, c), o decréscimo foi mais intenso nas densidades iniciais. Já para o tratamento com Fenobarbital (Fig. 25d) observa-se que nas densidades iniciais pouco varia a fecundidade e nas densidades posteriores o decréscimo é similar ao tratamento controle.

Para o tratamento com Oxycontin (Fig. 25e), nota-se um decréscimo até a densidade 500 e nas densidades posteriores o fármaco cancela o efeito da dependência

da densidade sobre o parâmetro fecundidade se comparado ao controle. Quando a predação é inserida no sistema nota-se que atua de forma expressiva, aumentando a fecundidade ao longo das densidades, sobretudo as mais altas. (Fig. 25f, g, h, i, j).

A sobrevivência também decresceu no tratamento controle (Fig. 26a), apresentando um decréscimo a partir da densidade 600. Já para os tratamentos com os fármacos observa-se, um decréscimo nas densidades 100 e 200, seguida de estabilização até a densidade de 500 (Fig. 26 b, c, d, e), exceto para o Oxycontin, que a mantêm até a densidade 700 e depois decresce em função da densidade. Quando há inclusão da presa *C. megacephala* observa-se que para as densidades iniciais os valores de sobrevivência são menores do que os tratamentos sem inclusão de presas, elevando-se apenas no tratamento controle entre as densidades 300 a 500, e nas densidades posteriores sofrem decréscimo (Fig. 26 f, g, h, i, j).

Discussão

Dentre os fármacos atuantes na dieta das moscas o que pareceu mais influente foi o Oxycontin, para o parâmetro fecundidade, antecipando o decréscimo dos valores para a densidade de 500. O padrão de decréscimo encontrado também foi alterado se comparado ao controle e aos outros fármacos. O Fenobarbital parece também ter retardado o decréscimo da fecundidade se comparado aos outros fármacos. A predação intraguildda agiu sobre *C. albiceps* elevando seus valores de fecundidade. Aparentemente, as populações tratadas com Fenobarbital e Oxycontin foram as que mais exibiram sensibilidade à predação larval, tendo apresentado em seus valores substancial elevação se comparados aos outros tratamentos e controle.

No tocante à sobrevivência, a ação dos fármacos parece ter sido bem inferior se comparada à ação sobre a fecundidade. A predação também influenciou a sobrevivência das populações tratadas com fármacos e controle, porém em escala bem menor que para

a fecundidade. Quando as populações de moscas exibiam maior sobrevivência pela ação da predação, isto se dava nas densidades mais elevadas. A ação da sobrevivência em menor escala que a da fecundidade em moscas-varejeiras já é fato conhecido de vários experimentos previamente realizados (Godoy, 2007). A fecundidade parecer ser parâmetro chave para a demografia de moscas, já que é bem mais sensível ao efeito da densidade (Godoy et al. 1996).

A ação dos fármacos sobre os parâmetros fecundidade e sobrevivência ainda não tinha sido investigada em populações de moscas-varejeiras, pelo menos no contexto de densidades larvais crescentes. Os estudos realizados até o momento trataram da avaliação da taxa de desenvolvimento larval sob o efeito das substâncias químicas. Grella & Thyssen (2008) demonstraram que o Cloridrato de Oxycodone não exerceu influência nas taxas de desenvolvimento larval em relação ao grupo controle para três espécies de califorídeos, *C. megacephala*, *C. putoria* e *C. albiceps*, sugerindo a ausência de metabolização da droga e nem o seu bio acúmulo. Apesar dos resultados obtidos por Grella & Thyssen (2008), no presente trabalho o cloridrato de oxicodona atuou de forma significativa nos parâmetros demográficos analisados.

Soto (2008) observou o efeito do barbitúrico Fenobarbital na taxa de desenvolvimento e mortalidade em três espécies de califorídeos, *C. albiceps*, *C. megacephala* e *C. putoria* utilizando três dosagens diferentes (150mg, 500mg e 1000mg/Kg). Foi constatado que o fenobarbital afeta significativamente o ganho de massa corporal nas três dosagens para todas as espécies investigadas, sendo que *C. albiceps* foi a mais afetada. Para as maiores dosagens houve 100% de mortalidade de *C. albiceps* e na dosagem de 150mg/Kg, a mesma utilizada neste estudo, as larvas de *C. albiceps* ganharam, em média, maior volume de massa das 48 hs às 84 hs de desenvolvimento e atingiram o estágio de pupa 12 horas antes do grupo controle.

Lima (2009) investigou o desenvolvimento de *C. putoria* e *C. megacephala* em três dosagens de anfetamina: dose terapêutica duas e cinco vezes a dose terapêutica de 0,07 mg/Kg.z. Também foram feitos controle positivo com metanol, pois o padrão de anfetamina utilizado estava diluído em metanol na proporção de 1:1. *Chrysomya megacephala* não apresentou qualquer diferença em relação ao tempo de desenvolvimento dos grupos experimentais e o controle. Já *C. putoria* o fez, com aumento para o período de pupa. Carvalho (2004) analisou os efeitos da anfepramona, um derivado anfetamínico sobre o desenvolvimento de imaturos de *C. albiceps* e não encontrou diferença comparando com o grupo controle.

No entanto, Goff *et al.* (1992) observaram um aumento na taxa de desenvolvimento do sarcófago *Parasarcophaga ruficornis* sob a influência da dose letal e duas vezes a dose letal de metanfetamina (2 x 71,4 mg/Kg). A literatura mencionada reúne importantes informações sobre a sensibilidade do desenvolvimento larval aos fármacos. Apesar da impossibilidade comparativa com os resultados do presente estudo, o desenvolvimento larval é parte integrante da fase imatura dos dípteros, período este em que se define a sobrevivência do adulto, o peso e a fecundidade da população (Reis *et al.* 1994).

Recentemente Gião (2007) investigou a influência da predação larval sobre os parâmetros fecundidade e sobrevivência de *C. albiceps* no intuito de analisar o impacto do incremento presa em sua dieta alimentar. As culturas larvais foram estabelecidas com quantidades diferentes de alimento, 20 e 50 gramas, e duas dietas diferentes: carne moída e carne moída substituída por larvas de *Lucilia eximia*, Wiedmann, 1819 (Diptera: Caliphoridae). Os resultados obtidos sugerem maiores valores para os parâmetros demográficos fecundidade e sobrevivência para 50 g do que 20 g, e maiores valores de fecundidade e sobrevivência na dieta em que foi acrescida *L. eximia*, o que

sugere grande influência do comportamento predatório sobre a bionomia de *C. albiceps* (Faria *et al.*, 1999). O efeito da predação foi mais pronunciado quando os experimentos foram conduzidos com 20 g de dieta, pois sob esta condição a escassez alimentar exerce forte influência negativa nos parâmetros demográficos (Mondy *et al.*, 2004). Este fato pode justificar os maiores valores na fecundidade para densidades mais elevadas.

O Subconjunto *Fuzzy* foi já empregado em estudos populacionais com moscas-varejeiras com a finalidade de incorporar a ação da migração e de fatores ambientais sobre o sistema populacional, levando em conta a dinâmica populacional descrita pelo modelo de Prout & McChesney (Castanho *et al.* 2006). Os resultados encontrados trouxeram interessantes aspectos ecológicos à tona, indicando diferentes possibilidades de comportamento dinâmico em resposta à migração local entre diferentes ambientes.

A heterogeneidade ambiental parece alterar substancialmente o equilíbrio populacional de *C. albiceps* e *L. eximia* (Castanho *et al.* 2006). Recentemente, Bianconi *et al.* (2010) realizou estudo aplicando inferência *Fuzzy* comparada a outros métodos analíticos com o intuito de avaliar a predição do número de sobreviventes de *C. megacephala*, com base na densidade larval inicial, quantidade de alimento disponível e duração de estágios imaturos. Os resultados encontrados por Bianconi *et al.* (2010) sugerem que a inferência *Fuzzy* exibe melhor desempenho para a predição da sobrevivência em *C. megacephala* se comparada a métodos alternativos oriundos da teoria de redes neurais, tais como *Multi-Layer Perceptron* e, *Radial Basis Function*.

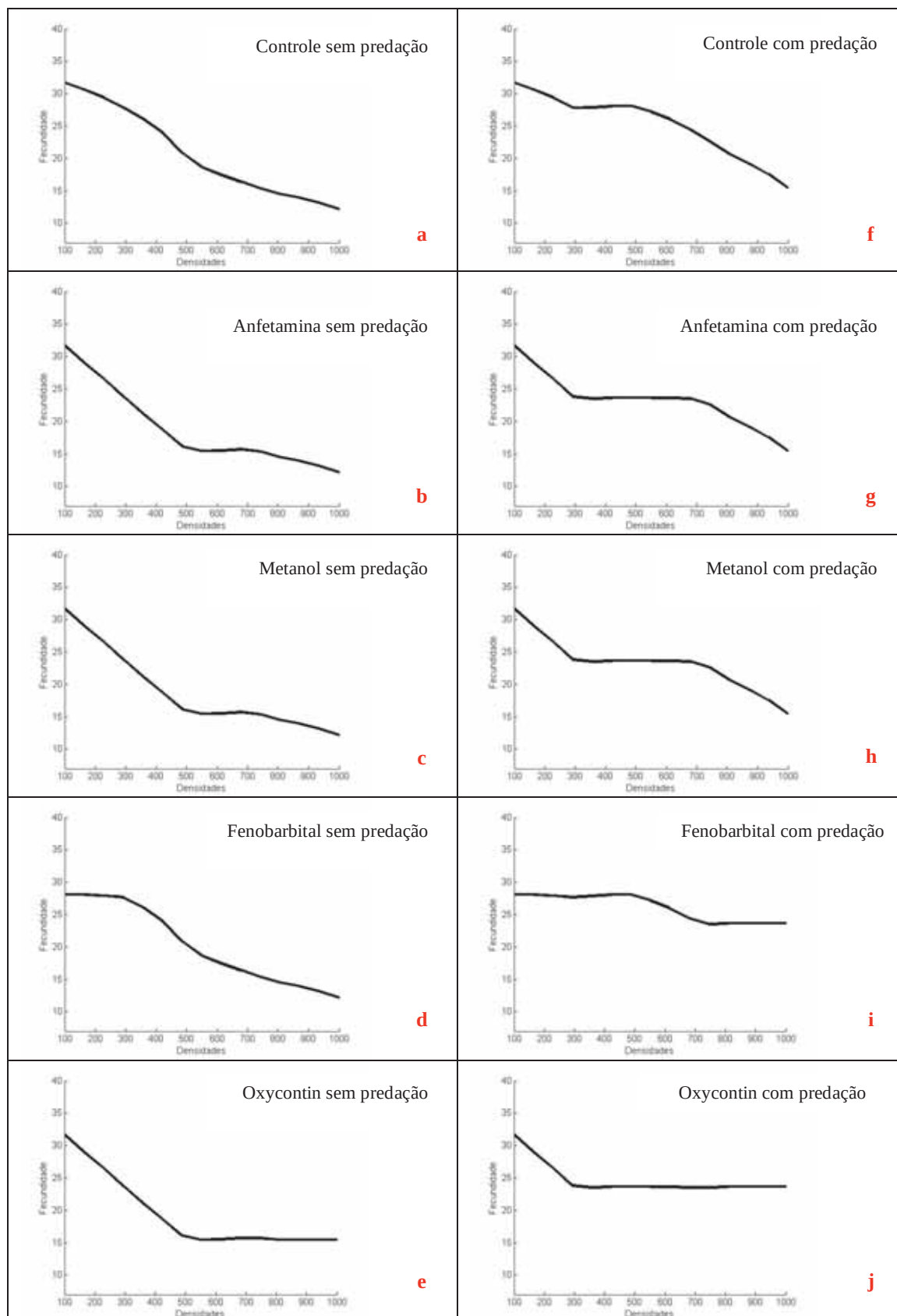


Fig.25. Variação da fecundidade em função da densidade larval para *C. albiceps*, descrita por inferência Fuzzy

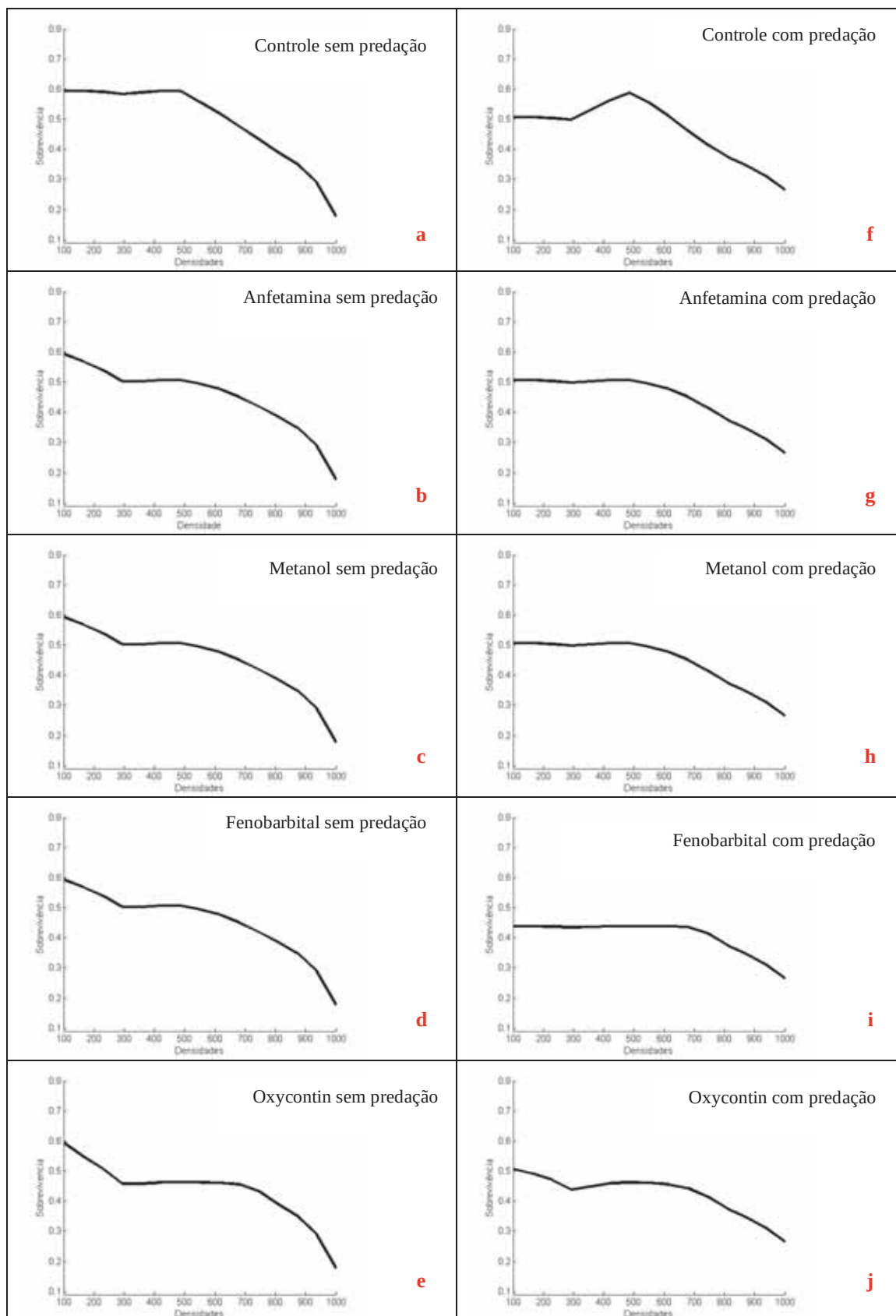


Fig.26. Variação da sobrevivência em função da densidade larval para *C. albiceps*, descrita por inferência Fuzzy

4. Referências

- AGARWALA, B. K., DIXON, A. F. G. (1992). Laboratory study of cannibalism and interspecific predation in ladybirds. - *Ecol. Entomol.* **17**: 303-309.
- ANDRADE, J. B., ROCHA, F. A., RODRIGUES, P., ROSA, G. S., FARIA, L. D. B., VON ZUBEN, C. J., ROSSI, M. R. & GODOY, W. A. C. (2002) Larval dispersal and predation in experimental populations of *Chrysomya albiceps* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **97**, 1137-1140.
- BAILEY, K. H., and POLIS, G. A. (1987). An experimental analysis of optimal and central place foraging by the harvester ant, *Pogonomyrmex californicus*. *Oecologia* **72**: 440-448.
- BAKKER, K. (1961). An analysis of factors which determine success in competition for food among larvae of *Drosophila melanogaster*. *Archives Neerlandaises de Zoologie* **14**: (2) 200-281.
- BARATA, C., BAIRD, D.J., SOARES, A.M.V.M. (2002). Demographic responses of a tropical cladoceran to cadmium: effects of food supply and density. *Ecol. Appl.* **12** (2): 552-564.
- BASSANEZI, R. C. (2002) **Ensino-aprendizagem com modelagem matemática**. Ed. Contexto, São Paulo. SP.
- BAUMGARTNER, D. L., GREENBERG, B. (1984) The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the New World. *Journal of Medical Entomology*, **21**, 105-113.
- BEZDEK, J. C. (1993). Fuzzy models. What are they and why? *IEEE Transactions on Fuzzy Systems* **1**: 1-6.

BIANCONI, A., VON ZUBEN, C. J., SERAPIÃO, A. B. S., GOVONE, J. S. (2010).

The use of artificial neural networks in analyzing the nutritional ecology of *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae), compared with a statistical model. *Australian Journal of Entomology* **49**: 201-212.

BOUREL, B., HEDOUIN, V., MARTIN-BOUYER, L., BECART, A., TOURNEL, G.,

DEVEAUX, M & GOSSET, D. (1999) Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal Forensic Science*. **44**: 354-358.

BRAACK, L. E. O. (1987) Community dynamics of carrion-attendant arthropods in tropical african woodland. *Oecologia*, **72**: 402-409.

BURROWS, D.L., HAGARDORN, A.N., HARLAN, G.C., WALLEN, E.D.B. &

FERSLEW, K.E. (2003) A fatal drug interaction between oxycodone and Clonazepam. *Journal of Forensic Sciences*, **48**: 683-686.

CARVALHO, L. M. L., LINHARES, A. X. & TRIGO, J. R. (2001) Determination of

drug levels and effects of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil. *Forensic Science International*. **120**: 140-144.

CASTANHO, M. J. P., MAGNAGO, K. F., BASSANEZI, R. C., GODOY, W. A. C.

(2006). Fuzzy subset approach in coupled population dynamics of blowflies. *Biological Research* **39**: 341-352.

CATTS, E. P. & GOFF, M. L. (1992) Forensic entomology in criminal investigations.

Annual Review Entomology. **37**: 253-272.

CLARK, K., EVANS, L., WALL, R. (2006) Growth rates of the blowfly, *Lucilia*

sericata, on different body tissues. *Forensic Science International*. **156**: 145-149.

- CROWLEY, P., NISBET, R., GURNEY, W., LAWTON, J. (1987). Population regulation in animals with complex life histories: Formulation and analysis of a damself model. *Adv. Ecol. Res.* **17**: 1-59.
- DAY, D. M., WALLMAN, J. F. (2006) Influence of substrate tissue type on larval growth in *Calliphora augur* and *Lucilia cuprina* (Díptera: Calliphoridae). *Journal Forensic Science*. doi: 10.1111/j1556-4029.2006.00127.x
- DEAR, J. P. (1985) A revision of the New World Chrysomyini (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Zoologia*, **3**, 109-169.
- DE JONG, G. (1979) The influence of the distribution of juveniles over patches of food on the dynamics of a population. *Netherlands Journal of Zoology*. **29**: 33-51.
- DE JONG, G. (1982) The influence of dispersal pattern on the evolution of fecundity. *Netherlands Journal of Zoology*. **32**: 1-30.
- DONG, Q., POLIS, G. A. (1992). The dynamics of cannibalistic populations: A foraging perspective. In Elgar, M. A., and Crespi, B. J. (eds.), *Cannibalism, Ecology and Evolution Among Diverse Taxas*, Oxford Science, Oxford, pp. 13-38.
- EDELSTEIN-KESHET, L. (1988) *Mathematical Models In Biology* by Leah Edelstein-Keshet New York: Random House.
- ELGAR, M. A., and CRESPI, B. J. (1992). Ecology and evolution of cannibalism. In Elgar, M. A., and Crespi, B. J. (eds.), *Cannibalism, Ecology and Evolution Among Diverse Taxas*, Oxford Science, Oxford, pp. 1-13
- ERZINCILIOGLU, Y. Z. (1983) The application of entomology to forensic medicine. *Medicine, Science and the Law*. **23**: 57-63.
- 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*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **90**, 149-155.

- FARIA, L.D.B. & GODOY W.A.C. (2001) Prey choice by facultative predator larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **96**, 875-878.
- FARIA, L. D. B., TRINCA, L. A., GODOY, W. A. C. (2004b) Cannibalistic behavior and functional response in *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Insect Behavior*, **17**, 251-261.
- FERREIRA, M. J. M. (1983) Sinantropia de Calliphoridae (Díptera) em Goiânia, GO. *Revista Brasileira de Biologia*, **43**, 199-210.
- FINCKE, O. M. (1994). Population regulation of a tropical damselfly in the larval stage by food limitation, cannibalism, intraguild predation and habitat drying. *Oecologia* **100**: 118-127.
- FOLKVORD, A., and HUNTER, J.R. (1986). Size-specific vulnerability of northern anchovy, *Engraulis mordax*, larvae to predation by fishes. *Fish. Bull.*(U. S.) **84**: 859-869.
- FOX, L. R. (1975). Cannibalism in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **6**: 87-106.
- FURLANETO, S. M. P., CAMPOS, M. L. C., HARSI, C. M., BURALLI, G. M. & ISHIHATA, G. K. (1984) Microorganismos enteropatogênicos africanos pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Díptera: Calliphoridae) no Brasil. *Revista de Microbiologia* **15(3)**: 170-174.
- GIÃO, J. Z. (2007) **Comportamento dinâmico populacional e predação larval por *Chrysomya albiceps* (Diptera Calliphoridae): experimentação e modelagem**
Dissertação (mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

- GIRAY, T., LUYTEN, Y., MACPHERSON, M., STEVENS, L. (2001). Physiological bases of cannibalism and its evolution in the four beetles *Tribolium confusum*. *Evolution* **55**: 797-806.
- GODOY, W. A. C. 2007. Dynamics of blowfly populations. *Functional Ecosystems and Communities*. **1**: 129-139.
- GODOY, W. A. C., REIS, S. F., VON ZUBEN, C. J., RIBEIRO, O. B. (1993) Population dynamics of *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Applied Entomology*, **116**, 163-169.
- GODOY, W. A. C., VON ZUBEN, C. J., REIS, S. F., VON ZUBEN, F. J. (1996) Dynamics of experimental blowflies (Diptera: Calliphoridae): Mathematical modelling and the transition from asymptotic equilibrium to bounded oscillations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **91**, 641-648.
- GODOY, W. A. C., VON ZUBEN, C. J., REIS, S. F. & VON ZUBEN, F. J. (1997) The spatial dynamics of native and introduced blowflies (Dipt. Calliphoridae). *Journal of Applied Entomology*, **121**, 305-309.
- GODOY, W. A. C., VON ZUBEN, F. J., VON ZUBEN, C. J., REIS, S. F. (2001) Spatio-temporal dynamics and transition from asymptotic equilibrium to bounded oscillations in *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **96**, 627-634.
- GOFF, M. L., OMORI, A. I. & GOODBROD, J. R. (1989) Effect of cocaine in tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrine* (Diptera: Sarcophagidae). *Journal Medical Entomology*. 26: 91-93.
- GOFF, M. L., BROWN, W. A., HEWADIKARAM, K. A. & OMORI, A. I. (1991) Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) and its implications of this effect on estimation

- of postmortem intervals using arthropod development patterns. *Journal of Forensic Science*. **36**: 537-542.
- GOFF, M. L., BROWN, W. A., OMORI, A. I., LA POITE, D. A. (1993). Preliminary observations of effects of amitriptyline in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficollis* (Diptera : Sarcophagidae) and implications of this effect to estimation of post mortem interval. *Journal of Forensic Science*. **38**: 316-322.
- GOFF, M. L. & LORD, W. D. (2001) Entomotoxicology: insects as toxicological indicators and the impact of drugs and toxins on insect development. *In: Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations* (eds. J. H. Byrd, J. L. Castner), CRC. Boca Raton, Fla, pp. 331-340.
- GOMES, L. (2006) **Processos Auto-Organizados: Efeitos de substâncias químicas que agem no sistema nervoso sobre o desenvolvimento e padrão de dispersão larval pós-alimentar de dípteros (Calliphoridae e Muscidae)**. Dissertação (mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- GOODBROD, J. R., GOFF, M. L. (1990) Effects of larval population density on rates of development and interactions between two species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture. *Journal of Medical Entomology*. **27**: 338-343.
- GOTELLI, N. J. (1995) **A primer of ecology**. Sinauer Associates, Sunderland MA
- GRANT, A. (1998). Population consequences of chronic toxicity: incorporating density dependence into the analysis of life table response experiments. *Ecol. Model.* **105** (2-3), 325-335.
- GREENBERG, B. (1988) *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae) collected in North America and notes on *Chrysomya* species present in the New World. *Journal of Medical Entomology*, **25**, 199-200.

- GREENBERG, B., SZYSKA, M. L. (1984) Immature stages and biology of fifteen species of peruvian Calliphoridae (Diptera). *Annals of the Entomological Society of America*, **77**, 488-517.
- GRELLA, M. D., and THYSSEN, P. J. (2008). Qualitative analyses of the effect of oxycodone (opioid analgesic) on the development rate of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) and its importance for estimating of the post-mortem interval in Brazil. In: XXIII International Congress of Entomology.
- GROND, S., MEERT, T. F., NOORDUIN, H. (2001). Safety and tolerability of opioid analgesia: a comparable class profile? *Pain Reviews*. **8**: 103-111.
- GUIMARÃES, J. H. (1984) Considerações gerais sobre as moscas do gênero *Chrysomya* no Brasil. *Agroquímica*, **24**, 8-12.
- GUIMARÃES, J. H., PRADO, A. P., LINHARES, A. X. (1978) Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Díptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, **22**, 53-60.
- GUIMARÃES, J. H., PRADO, A. P., BURALLI, G. M. (1979) Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, **23**, 245-255.
- GUIMARÃES, J. H., PAPAVERO, N., PRADO, A. P. (1983) As miíases na região neotropical (identificação, biologia, bibliografia). *Revista Brasileira de Zoologia*. **1(4)**: 239-416.
- GURNEY, W. S. C.; NISBET, R. M. **Ecological dynamics**. (1998). New York: Oxford University Press.
- GUY, Y. & GRANT, A. (2008) Joint effects of density dependence and toxicant exposure on *Drosophila melanogaster* populations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **70**: 236–243
- HALL, R. D. (2001) Perceptions and status of forensic entomology In: **Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations** (eds. J. H. Byrd, J. L. Castner), CRC. Boca Raton, Fla, pp. 1-15.

- HASTINGS, A. and CONTANTINO, R. F. (1987). Cannibalistic egg-larva interactions in *Tribolium*: An explanation for the oscillations in population numbers. *Am.Nat.* **120**: 36-52.
- HASTINGS, A. **Population biology**. (1997). New York: Springer.
- HAUSFATER, G., and HRDY, S. (1984). **Infanticide: Comparative and Evolutionary Perspectives**, Aldine, New York.
- HIRONORI, Y., KATSUHIRO, S. (1997). Cannibalism and interspecific predation in two predatory ladybird in relation to prey abundance in the field. *Entomophaga* **42**: 153-163.
- HO, F. K., and DAWSON, P. S. (1966). Egg cannibalism by *Tribolium* larvae. *Ecology* **47**: 318-322.
- HUNTER, J. R., and KIMBRELL, C. A. (1980). Egg cannibalism in the northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull. (U.S.)* **78**: 811-816.
- IVES, A. R., MAY, R.M. (1985) Competition within and between species in a patchy environment – Relations between microscopic and macroscopic models. *Journal Theoretical Biology*. **115**: 65-92.
- JOHANSSON, G. (1992). Effects of zooplankton availability and foraging mode on cannibalism in three dragonfly larvae. *Oecologia* **91**: 179-183.
- JULIANO, S. A. (2001) Non linear curve fitting: Predation and functional response curves. In: Scheiner S.M. and Gurvethich J., editors. *Design and analysis of ecological experiments* 2nd edition. 178-196. New York: Chapman and Hall.
- KANESHRAJAH, G., TURNER, B. (2004) *Calliphora vicina* larvae grow at different rates on different body tissues. *International Journal Legal Medicine*. **118**: 242-244.

- KATO, M. G., YAMAMURA, N. (1999). Unpalatable prey resolves the paradox of enrichment. *Proceedings of the Royal Society of London*. **266B**: 1215-1219.
- KNEIDEL, K. A. (1984a) Competition and disturbance in communities of carrion breeding diptera. *Journal of Animal Ecology*. **53**: 849-865.
- _____ (1984b) The influence of carcass taxon and size on species composition of carrion-breeding Diptera. *The American Midland Naturalist*. **111**: 57-63.
- LEAL, T.T.S.; PRADO, A.P., ANTUNES, A.J. (1982). Rearing the larvae of the blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wiedemam) (Diptera: Calliphoridae) on oligidic diets. *Revista Brasileira Zoologia* **1**: 41-44.
- LEVOT, G. W., BROWN, K. R., SHIPP, E. (1979) Larval growth of some Calliphoridae and sarcophagidae Diptera. *Bulletim of Entomological Research* **69**: 469-475.
- LIMA, E. A. B. F., FERREIRA, C. P., GODOY, W. A. C. (2009). Ecological modeling and pest population management: a possible and necessary connection in a changing world. *Neotropical Entomology* **38**: 699-707.
- LINHARES, A. X. (1988) The gonotrophic cycle of *Chrysomya megacephala* (Diptera, Calliphoridae) in the laboratory. *Revista Brasileira de Entomologia*, **32**, 383-392.
- MADEIRA, N. G.; SILVEIRA, G. A. R.; PAVAN, C. (1989). The occurrence of primary myiasis in cats caused by *Phaenicia eximia* (Diptera: Calliphoridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **84**: 341.
- MARTINS, E.; NEVES, J. A.; MORETTI, T. C.; GODOY, W. A. C.; THYSSEN, P. J. (2010). Breeding of *Ornidia obesa* (Diptera: Syrphidae: Eristalinae) on pig carcasses in Brazil. *Journal of Medical Entomology*, **47**:690-4.
- MELGAR, R., KELLY, R. C. (1993). A novel GC/MS derivatization method for amphetamines. *Journal Analytical Toxicology*. **17**: 399-402.

- MICOZZI, M. L. (1986) Experimental study of postmortem change under field conditions: effects of freezing, thawing and mechanical injury. *Journal of Forensic Science*. **3**: 953-961.
- MOE, S.J., STENSETH, N.C., SMITH, R.H. (2002). Density-dependent compensation in blowfly populations give indirectly positive effects of a toxicant. *Ecology* **83** (6): 1597–1603.
- MOE, S.J., KRISTOFFERSEN, A.B., SMITH, R.H., STENSETH, N.C. (2005). From patterns to processes and back: analyzing density-dependent responses to an abiotic stressor by statistical and mechanistic modeling. *Proc. R. Soc. B* **272**: 2133–2142.
- MORETTI, T. A., THYSSEN, P. J., GODOY, W. A. C., SOLIS, D. R. (2008). Necrophagy by the social wasp *Agelaia pallipes* (Olivier, 1792) (Hymenoptera: Vespidae, Epiponini): possible forensic implications. *Sociobiology*, **51**: 393-398.
- MORETTI, T. A., BONATO, V., GODOY, W. A. C. 2011. Determining the season of death from the composition of carrion insects. *European Journal of Entomology* (no prelo).
- NASCIMENTO, M. C. (2003). **Medicamentos: ameaça ou apoio à saúde?** Rio de Janeiro: Viera e Lent.
- NUORTEVA, P., SCHUMANN, H., ISOKOSKI, M. & LAIHO, K. (1974) Studies on the possibilities of using blowflies (Diptera: Calliphoridae) as medicolegal indicators in Finland. *Annual Entomology Fennici*. **40**: 70-74.
- NUORTEVA, P. (1977) Sarcosaprophagous insects as forensic indicators *In: Forensic medicine: a study in trauma and environmental hazards, Vol. 2* (eds. C. G. Tedeschi, W. G. Eckert and L. G. Tedeschi), Saunders, Philadelphia. pp 1072-1095.

- O' BRIEN, W., SLADE, N., VINYARD, G. (1976). Apparent size as the determinant of prey selection by bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Ecology* **57**: 1304-1310.
- O' BRIEN, C., TURNER, B. (2003) Impact of paracetamol on *Calliphora vicina* larval development. *International Journal Legal Medicine*. **118**: 188-189.
- ORR, B. K., MURDOCH, W.W., BENICE, J. R. (1990). Population regulation, convergence, and cannibalism in *Notonecta* (Hemiptera). *Ecology* **71**:68-82.
- PEDRYCZ, W., GOMIDE, F. (1998). **An introduction to fuzzy sets: Analysis and design**. Massachusetts The MIT Press.
- POLIS, G.A. (1981) The evolution of dynamics of intraspecific predation. *Ann Rev Ecol System* **12**: 125-251.
- POLIS, G. A. (1984). Age structure component of niche width and intraspecific resource partitioning by predators: Can age groups function as ecological species? *Am. Nat.* **123**: 541- 564.
- POLIS, G.A, MYERS, C.A., HOLT, R.D. (1989). The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat other. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **20**:297-330.
- PRADO, A.P., GUIMARÃES, J.H. (1982) Estado atual de dispersão e distribuição do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy na região Neotropical (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* **26**, 225-231.
- PROUT, T., MCCHESENEY, F. (1985). Competition among immatures affects their adult fecundity: population dynamics. *American Naturalist*, **126**: 521-558.
- RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M. (2001). **Farmacologia**. 4º Eds. Guanabara Koogan. Rio de janeiro.

- RASHKOVSKY, I., MARGALOT, M. (2006). Nicholson's Blowies Revisited: A Fuzzy Modeling Approach. *IEEE World Congress on Computational Intelligence* (WCCI2006), Vancouver, BC, Canadá.
- REED, H. B. Jr. (1958) A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. *American Midland Naturalist*. **59**: 213-245.
- REIS, S. F., G. S., GODOY, W. A. C., VON ZUBEN, C. J. AND RIBEIRO, O. B. (1994).
Variação em caracteres bionômicos em função de densidade larval em *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* (Diptera, Calliphoridae). - *Rev. Bras. Entomol.* **38**: 33-46.
- REIS, S. F., TEIXEIRA, M. A., VON ZUBEN, F. J., GODOY, W. A. C., VON ZUBEN, C. J. (1996) Theoretical dynamics of experimental populations of introduced and native blowflies (Díptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, **33**, 537-544.
- REIS, S. F., VON ZUBEN C. J., & GODOY W. A. C. (1999) Larval aggregation for food in experimental population of *Chrysomya putoria* (Wied.) and *Cochliomyia macellaria* (F.) (Dipt. Calliphoridae). *Journal Applied Entomology* **123**, 485-489.
- RIBACK, T. I. & GODOY, W. A.C. (2008) Fecundity, body size and population dynamics of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). *Brazilian Journal of Biology*. **68(1)**: 631-637.
- RIBEIRO, O. B., PRADO, A. P., GUIMARÃES, J. H. (1993). Competição intraespecífica em *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1930) (Diptera: Calliphoridae) em meio artificial. *Revista Brasileira de Entomologia* **37**: 641-652

- RIOS, D. P., BASTOS, F. M., CUNHA, L. C., VALADARES, M. C. (2005). Tentativa de suicídio com o uso de medicamentos registrados pelo CIT-GO nos anos de 2003 e 2004. *Revista Eletrônica de Farmácia* **2**: 6-14.
- RODRIGUEZ, D. J. (1989) A model of population dynamics for fruit fly *Drosophila melagonaster* with density dependence is more than on life stage and delayed density effects. *Journal of Animal Ecology*. **58**:349-365.
- ROSA, G. S.; CARVALHO, L. R.; GODOY, W. A. C. (2004) Survival rate, body size and food abundance in pure and mixed blowfly cultures. *African Entomology*, Pretoria - Africa do Sul **12**: 97-105.
- SCHAUSBERGER, P. and CROFT, A. (1999). Predation on and discrimination between corn-and heterospecific eggs among specialist and generalist Phytoseiid mites (acari: Phytoseiidae). *Environ. Entomol.* **28**: 523-528.
- SERRA, H., GODOY, W.A.C.; VON ZUBEN, F.J.; VON ZUBEN, C.J.; REIS, S.F. (2007)a. Sex ratio and dynamic behavior in populations of the exotic blowfly *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). *Brazilian Journal of Biology*. **67**: 347-353.
- SERRA, H.; SILVA, I.R.; MANCERA, P.F.A.; FARIA, L.D.B.; VON ZUBEN, C.J.; REIS, S.F.; GODOY, W.A.C. (2007)b Stochastic dynamics in coupled populations of exotic and native blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Ecology Research* **22**: 686–695.
- SILVA, I. C. R., MANCERA, P. F. A., GODOY, W. A. C. (2003) Population dynamics of *Lucilia eximia* (Dipt., Calliphoridae). *Journal of Applied Entomology*, **127**, 2-6.
- SILVA, I. C. R., GODOY, W. A. C., VON ZUBEN, C. J., MANCERA, P. F. A. (2004) Population dynamics of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) at different temperatures. *African Entomology*. **12**: 157-163.

- SIBLY, R. M., WILLIAMS, T. D., JONES, M. B. (2000). How environmental stress affects density dependence and carrying capacity in a marine copepod. *Journal of Applied. Ecology* **37**:388–397.
- SMITH, K. E., WALL, R. (1997) Asymmetric competition between larvae of the blowflies *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* in carrion. *Ecological Entomology*. **22**: 468-474.
- SMITH, K. G. V. (1986) **A manual of forensic entomology**. Cornell University Press, NY.
- SONLEITNER, F. J., and GUTHRIE, P. J. (1991). Factors affecting oviposition rate in the flour beetle *Tribolium castaneum* and the origin of the population regulating mechanism. *Research Population Ecology* **33**: 1-12.
- SOTO, D. A. E. (2008) Avaliação da taxa de desenvolvimento de três espécies de califórídeos (Diptera) de importância forense sob o efeito de dois barbitúricos Tese (doutorado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- SPENCE, J. R., and CARCAMO, H. A. (1991). Effects of cannibalism and intraguild predation on pondskaters (Gerridae). *Oikos* **62**: 333-341.
- STAFFORD, J., SINDICICH, N., & BURNS, L. (2008). An overview of the 2008 IDRS: the Injecting Drug User survey preliminary findings. Drug Trends Bulletin, December 2008. Sydney: National Drug and Alcohol Research Centre, University of New South Wales).
- TANAKA, K. OHMORI, T., INOVE, T., SETA, S. (1994). Impurity profiling analysis of illicit methamphetamine by capillary gas chromatography. *Journal of forensic Science*. **39**: 500-511.

- TSCHINKEL, W. R. (1993). Resource allocation, brood production and cannibalism during colony founding in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Behavior Ecology Sociobiology* **33**: 209-233.
- ULLYET, G. C. (1950) Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Philosophica lTransaction of Royal Society of London*. **234B**: 77- 174.
- VON ZUBEN, C. J., REIS, S. F., DO VAL, J. B. R., GODOY, W. A. C., RIBEIRO, O. B. (1993) Dynamics of a mathematical model of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*. **30**: 443-448.
- VON ZUBEN, C. J., BASSANEZI, R. C., REIS, S. F., GODOY, W. A. C. & ZUBEN, F. J. V. (1996) Theoretical approaches to forensic entomology. I. Mathematical models of postfeeding larval dispersal. *Journal Applied Entomology*. **120(3)**: 379-382.
- WASTILA, L. S., TOMPKINS, C. (2001). Balancing diversion control and medical necessity: the case of prescription drugs with abuse potencial. *Substance Use & Misuse*. **36**: 9-10.
- WATANABE, S. (1987) **Glossário de ecologia**. ACIESP, CNDCT, FAPESP, CNPq. Academia de Ciências de São Paulo. 1ª edição, 271 p.
- WELLS, J. D. & B. GREENBERG (1992a) Rates of predation by *Chrysomya rufifacies* (Macquart) on *Cochliomyia macellaria* (Fabr.) (Diptera: Calliphoridae) in the laboratory: Effect of predator and prey development. *Pan-Pacific Entomologist* **68**, 12-14.
- _____, (1992b) Laboratory interaction between introduced *Chrysomya rufifacies* and native *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Environmental Entomology* **21**, 640-645.

_____, (1992c) Interaction between *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): the possible consequences of an invasion. *Bulletin of Entomological Research* **82**, 133-137.

ZEFERINO, M. T. (2004). **Acidentes de trânsito e os estimulantes do tipo anfetaminas - Estudo de caso junto as empresas de transporte rodoviário de cargas no Estado de santa Catarina.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC.