
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)**

**RESPOSTA OLFATIVA DE FÊMEAS DE *CHRYSOMYA
MEGACEPHALA* (F.) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)
FRENTE A POSTURAS PRÉVIAS E CARACTERIZAÇÃO
QUÍMICA APOLAR DA SUPERFÍCIE DE SEUS OVOS**

Thiago de Lima

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração - Zoologia)

**Rio Claro
2015**

THIAGO DE LIMA

RESPOSTA OLFATIVA DE FÊMEAS DE *CHRYSOMYA*
MEGACEPHALA (F.) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) FRENTE
A POSTURAS PRÉVIAS E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA
APOLAR DA SUPERFÍCIE DE SEUS OVOS

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Câmpus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciências Biológicas
(Área de Concentração – Zoologia)

Orientador: Claudio José Von Zuben

Rio Claro
Janeiro – 2015

595.77 Lima, Thiago
L732r Resposta olfativa de fêmeas de *Chrysomya Megacephala*
(F.) (Diptera: Calliphoridae) frente a posturas prévias e
caracterização química dos compostos apolares da superfície
de seus ovos / Thiago Lima. - Rio Claro, 2015
51 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Cláudio José Von Zuben

1. Díptero. 2. Ecologia comportamental química. 3.
Moscas-varejeiras. 4. Semioquímicos. 5. Oviposição
agregada. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Resposta olfativa frente a oviposturas prévias e caracterização química da superfície do ovo em *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae)

AUTOR: THIAGO DE LIMA

ORIENTADOR: Prof. Dr. CLAUDIO JOSÉ VON ZUBEN

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), pela Comissão Examinadora:

Claudio José Von Zuben

Prof. Dr. CLAUDIO JOSÉ VON ZUBEN

Departamento de Zoologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

Sulene Noriko Shima

Profa. Dra. SULENE NORIKO SHIMA

Departamento de Zoologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

Guilherme Gomes

Prof. Dr. GUILHERME GOMES

Departamento de Física e Informática, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos/SP

Data da realização: 04 de março de 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Francisco Edson de Lima e Maria Soely Bortoli de Lima que sempre apoiaram e confiaram nas decisões feitas durante a minha vida, ao meu irmão Erick de Lima, que sempre me serviu como exemplo e inspiração para ser melhor aluno e profissional.

Esse trabalho não seria possível sem os conselhos, as dicas e apoio moral de grandes amigos como Rodrigo Vieira Guidelli e Anna Carolina Gressler Bressan.

Queria também agradecer às minhas amigas, Larissa Braz e Isabelle Bueno pela amizade criada no laboratório, o que facilitou muito a realização do projeto. E principalmente a minha amiga e colega de trabalho, Caroline Rodrigues de Souza que sempre me ajudou com a superar as dificuldades encontradas durante esses 2 anos de mestrado.

Ao Dr. Guilherme Gomes, pela amizade, orientação e conselhos valiosos sobre a vida acadêmica.

Em especial, gostaria de agradecer à Dra. Maria Cláudia Guidetti Campos. Sua paciência para me explicar tudo e principalmente sua vontade e prontidão em ajudar a resolver todos os problemas que surgiram foram essenciais para que a pesquisa desse certo. Suas idéias, sugestões e conhecimento na área me fizeram crescer muito como pesquisador. Eu a conheço há pouco tempo, mas já a considero como amiga e espero que essa parceria possa continuar ainda por muito tempo. Muito obrigado por tudo Cláudia.

Gostaria de agradecer ao meu amigo, professor e orientador Dr. Cláudio José Von Zuben, também pela paciência, apoio e pelo conhecimento científico compartilhado. O seu grande interesse pela ciência me faz querer ser, cada vez mais, um pesquisador melhor.

À Cnpq, pelo auxílio financeiro.

RESUMO

A escolha do sítio de oviposição por fêmeas adultas de moscas-varejeiras envolve, principalmente, a atração que o substrato exerce sobre esses indivíduos. O olfato é utilizado para localizar a carcaça através de diferentes semioquímicos que são liberados, atraindo assim diferentes espécies. A visão tem papel importante na decisão do pouso, enquanto o contato com o substrato pode também prover informações importantes sobre o local, influenciando na decisão de postura. As oviposições de moscas-varejeiras são geralmente agregadas, isso ocorrendo devido à liberação de feromônios pelas fêmeas, mas há evidências, em outros insetos, que os ovos possam conter algum composto volátil que auxilie nesse processo. O presente estudo teve como objetivo analisar se as fêmeas de *C. megacephala* conseguem distinguir, através do olfato, locais que contenham ovos, de locais apenas contendo substrato, e também traçar o perfil químico do córion dos ovos dessa espécie em diferentes estágios de desenvolvimento, para averiguar a presença de possíveis substâncias que possam afetar a decisão da fêmea no momento da escolha do substrato. Os resultados demonstraram que as fêmeas conseguem localizar os ovos apenas pelo olfato, dependendo da situação apresentada e que não há compostos voláteis presentes nos extratos do córion dos ovos e sim uma mistura complexa de compostos que possuem cadeia carbônica entre 11 e 31 átomos. Os compostos mais representativos foram alcanos lineares, monometilalcanos, dimetilalcanos e alcenos (hidrocarbonetos), álcool, amida e ácidos. Destes, os compostos cis9-ÁcidoHexadecenóico (ácido palmitoleico), n-Ácido Hexadecanóico (ácido palmítico) foram os que apresentaram diferenciação entre as amostras de 0, 3 e 6 horas.

PALAVRAS-CHAVE: Moscas-varejeiras; semioquímicos; oviposição agregada

ABSTRACT

The choice of oviposition site by adult females of blowflies mainly involves the attraction that the substrate has on these individuals. The sense of smell is used to locate carcass and different semiochemicals are released, attracting different species. The vision plays an important role in landing decision, while contact with the substrate can also provide important information about the place, influencing the posture decision. The blowflies' oviposition process is generally clustered, this is due to release pheromones by females, but there is evidence, in other insects, that eggs could contain some volatile compound that aids in this process. This study aimed to analyze if females of *C. megacephala* can distinguish, by smell, locations containing eggs from sites containing only substrate, and also, to plot the chemical profile of the chorion of this species' eggs at different stages of development, to verify the presence of possible substances that may affect the female decision when choosing the substrate. The results showed that the females can locate the eggs only by smell and no volatile compounds were found in the eggs' chorion, but a complex mixture of compounds having carbon chain between 11:31 atoms were found. The most representative compounds were linear alkanes, *monomethylalkanes*, dimethylalkanes and alkenes (hydrocarbons), alcohol, amide and fatty acids. Of these, the compounds cis9-Hexadecenoic acid (palmitoleic acid), n-hexadecanoic acid (palmitic acid) showed differences in concentrations among samples at 0, 3 and 6 hours.

KEYWORDS: Blowflies; semiochemicals; clustered oviposition

SUMÁRIO

	Páginas
1. Introdução	5
1.1 <i>Chrysomya megacephala</i>	11
2. Objetivos	12
3. Material e Métodos	12
3.1 Coleta e Manutenção dos indivíduos	12
3.2 Bioensaios	13
3.3 Extração, Identificação e Análise dos Compostos presentes nos ovos	15
3.4 Análise de Dados dos Bioensaios	17
3.5 Análises estatísticas dos perfis dos córions	17
4. Resultados	17
4.1 Bioensaios	17
4.2 Resultados dos perfis dos córions	20
5. Discussão	23
6. Conclusões	32
7. Referências Bibliográficas	33

1. Introdução

Diptera (califorídeos, sarcófagídeos, mutucas, moscas comuns, mosquitos, dentre outros) é uma das quatro ordens mega-diversas de insetos e a melhor catalogada em todas as regiões; são moscas e mosquitos muitas vezes cosmopolitas com aproximadamente 150.000 espécies descritas em 158 famílias (YEATES & WIEGMANN, 2005; THOMPSON, 2006).

Dentro dessa Ordem, a família Calliphoridae, com representantes conhecidos popularmente como moscas-varejeiras, possui espécies com grande importância na saúde pública, causando miíases e sendo vetores de doenças (NORRIS, 1965). Essas moscas também podem ser utilizadas na entomologia forense, por serem indicadoras de tempo de decomposição de cadáveres (WELLS & GREENBERG, 1992; VON ZUBEN *et al.*, 1996; GRASSBERGER & REITER, 2003; LEFBVERE & PASQUERAULT, 2004; GOMES *et al.*, 2005). Assim, conhecendo-se o padrão de sucessão entomológica durante a colonização do cadáver e também a idade das larvas no local, pode-se estimar o intervalo pós-morte (IPM) (SCHOENLY *et al.*, 1991; ANDERSON & VANLAERHOVEN, 1996; EL KADY, 1999). Na área da medicina, os imaturos de algumas espécies, são utilizados na terapia larval auxiliando na limpeza de lesões de uma maneira asséptica (SHERMAN & PECHTER, 1988). E em algumas culturas e regiões, esses insetos são utilizados na alimentação humana, embora essa prática ainda seja bem restrita (HEATH, 1982).

Em insetos, o olfato é de extrema importância em diferentes estágios da vida, utilizado para localizar alimento ou substratos para oviposição, assim como na interação com outros indivíduos durante a procura por parceiros sexuais (HANSSON, 1999). A capacidade de localização do alimento em dípteros deve-se a órgãos sensitivos altamente adaptados para a detecção de odores, as sensilas presentes nas antenas (BORROR *et al.*, 2011; SHIELDS & HILDEBRAND, 2001), bem desenvolvidas nas moscas-varejeiras, que estão entre os principais consumidores de carcaça (REED, 1958; BRAACK, 1987) e são geralmente os primeiros a chegar pouco tempo após a morte e permanecer no local durante os estágios de decomposição (CATTS & GOFF, 1992; LECCESE, 2004).

Cada sensila possui neurônios receptores olfativos que detectam compostos químicos voláteis (SHIELDS & HILDEBRAND 2001). Os compostos entram por poros nas sensilas onde são transportados por proteínas até os dendritos dos neurônios olfativos (McIVER, 1982). A informação é passada para o sistema nervoso central induzindo a uma resposta comportamental no inseto (HANSSON, 2002; ZHOU *et al.* 2004).

Os compostos captados pelas antenas são chamados de semioquímicos, voláteis por natureza que podem ser detectados a longas distâncias por diferentes organismos (SELBY, 2003), e contêm informações importantes sendo classificados em dois grupos, feromônios e aleloquímicos (NORDLUND & LEWIS, 1976; BLIGHT, 1990). Feromônios são compostos que causam interações entre indivíduos da mesma espécie (intra-específicas), como por exemplo, feromônios de acasalamento; enquanto aleloquímicos geram interações entre espécies diferentes (interespecíficas) (AGELOPOULOS *et al.*, 1999).

Apneumônios, por exemplo, são voláteis liberados durante a decomposição por carcaças, que permitem moscas-varejeiras localizá-las, aumentando as chances de encontrar um sítio de oviposição adequado, um parceiro sexual, e alimento para a prole (SMITH, 1986).

Em *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) e *L. sericata* (Meigen, 1826), por exemplo, a orientação até o substrato, é mediada principalmente por compostos voláteis ricos em enxofre, a segunda, particularmente por uma mistura de dimetil trissulfeto etanotiol e sulfeto de hidrogênio, produzidos por infecções bacterianas no hospedeiro (ASHWORTH & WALL, 1994). Quando esses compostos são produzidos por microorganismos, são denominados M.V.O.C. (microbial volatile organic compound = compostos orgânicos voláteis microbianos) (DAVIS *et al.*, 2013). Compostos sulfurosos também são atrativos para *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) (AAK, *et al.*, 2010; AAK, *et al.*, 2011; PACZKOWSKI & SCHÜTZ, 2011), enquanto altos níveis de ácidos, característicos de estágios avançados da decomposição, parecem atrair *Phormia regina* (Meigen, 1826) que aparece na carcaça após dias (ERZINCILIOGLU, 1996; BYRD & CASTNER, 2010).

Embora alguns semioquímicos ajam, supostamente, como atrativos, outros podem ter efeitos negativos no comportamento do inseto. Por exemplo, Birkett *et al.* (2004) e Logan *et al.* (2008, 2009) constaram que quando hospedeiros vertebrados não são atrativos para os insetos-praga, há elevados níveis de certos semioquímicos que podem agir como repelentes, possivelmente “mascarando” os componentes de atração, ou seja, reduzindo a sensibilidade das moscas-varejeiras a esses atrativos.

Altos níveis de ácidos, por exemplo, reduzem a atração e o pouso de *Calliphora vicina* sobre o substrato (AAK, *et al.*, 2010; AAK, *et al.*, 2011; PACZKOWSKI & SCHÜTZ, 2011). Através dos voláteis emitidos pela carcaça, as moscas são capazes de perceber substratos em diferentes períodos de decomposição, mesmo sem contato visual ou gustativo (JOHANSEN *et al.*, 2013).

Além da atratividade olfativa do substrato ter um papel fundamental na escolha do sítio de oviposição (BARTON BROWNE, 1960), o valor nutricional do mesmo e a qualidade, podem influenciar na sua decisão de postura (ZUCOLOTO, 1991). As espécies *Calliphora vicina* e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) têm preferências distintas por substratos: a primeira prefere ovipor em mamíferos, enquanto a segunda opta por peixe (ERZINCLIOGLU, 1996; KNEIDEL, 1984; ESSER, 1990, 1991). *Lucilia sericata* parece não demonstrar preferência por nenhum tipo de substrato (SILVA *et al.*, 2008). No entanto, o valor da carcaça, como um todo, pode mudar rapidamente como resultado da decomposição e alimentação larval, e dessa maneira, as fêmeas que chegaram depois terão que selecionar locais diferentes dos previamente selecionados por outras, para que sua prole tenha um desenvolvimento adequado (ARCHER & ELGAR, 2003).

Kennedy *et al.* (1959a, 1959b, 1961) afirmam que a detecção e posterior aceitação do meio de oviposição envolvem atratividade olfativa e também a visual, em conjunto. Uma vez próximas no substrato alimentar, as moscas adultas avaliarão sua dimensão, e em seguida, pistas visuais irão auxiliar no pouso: em *C. megacephala*, o odor do substrato parece orientá-las até a fonte, mas a decisão do pouso está mais fortemente ligada com a presença ou não de algo visualmente destacado (GOMES *et al.*, 2007). *Lucilia sericata* também se orienta por compostos liberados pelo substrato, mas escolhe pousar nos locais que possuem pistas visuais claras (cor branca) (WALL & FISHER, 2001). Muitas espécies que colonizam cadáveres humanos tendem a observar locais no corpo com sinais de trauma, com presença de pêlos e orifícios naturais, como boca, cavidades nasais e ânus (BYRD & CASTNER, 2010).

Alcançado o substrato, após uma análise olfativa e visual inicial, as moscas avaliam este substrato através de receptores existentes no labelo, tarso e ovipositor (WALLIS, 1962; ERZINCLIOGLU, 1996). Os estímulos, nesse momento, são causados por substâncias no estado líquido ou por soluções com concentrações relativamente altas ao entrar em contato direto com o inseto. A quimiorrecepção por contato tem grande importância no reconhecimento final do alimento, do local de oviposição e da escolha do parceiro (CHAPMAN, 1998).

Estudos de quimiorrecepção em Diptera mostram que as pernas de diversas moscas como *Calliphora vicina*, *Phormia regina* e *Musca domestica* possuem função gustativa (VAN WOLK 1978; LAKES & POLLACK 1990). *Lucilia cuprina* possui 22 sensilas localizadas próximas ao ovipositor que parecem funcionar como quimiorreceptores de contato, participando na regulação do comportamento de deposição de ovos (RICE, 1976). O mesmo

parece ocorrer em *L. sericata*, *C. megacephala* e *P. regina* (WALLIS, 1962; CHAIWONG *et al.*, 2008).

Lucilia cuprina tende a depositar seus ovos em locais úmidos, via detecção de umidade, colocando receptores presentes no tarso em contato com o substrato (ARCHER & ELGAR, 2003) e também em locais presentes com compostos ricos em amônia (ASHWORTH & WALL, 1994; BRODIE *et al.*, 2014). Sabe-se também que soluções salinas e alcalinas estimulam a oviposição, sendo detectadas por órgãos sensoriais presentes no ovipositor das fêmeas (WALLIS, 1962; EMMENS & MURRAY, 1983).

Finalmente, a seleção do local deve favorecer a progênie, provendo proteção contra dessecação e inimigos naturais, além do fornecimento do alimento (ARCHER & ELGAR, 2003). Em seguida, a deposição de ovos se inicia.

As posturas de ovos de moscas-varejeiras são geralmente agregadas, podendo apresentar conseqüências positivas como negativas para a progênie (RIVERS *et al.*, 2011). Esser (1990, 1991) confirmou que locais com ovos frescos de *C. megacephala* atraem de maneira mais eficiente, outras fêmeas do que substratos sem ovos.

O comportamento de agregação de moscas-varejeiras consiste da deposição adicional de ovos por fêmeas da mesma espécie e é estimulado devido a feromônios produzidos pelas fêmeas que se mantêm associados aos ovos, tornando-os atrativos à outras (JIANG *et al.*, 2002); por feromônios produzidos e liberados por fêmeas no momento da oviposição que estimulam outras a depositar seus ovos em locais próximos, no mesmo substrato (NORRIS, 1965; BARTON BROWNE *et al.*, 1969; HANSKI, 1987); por semioquímicos produzidos através da glândula salivar de fêmeas se alimentando no local (BRODIE, 2014), ou, possivelmente, como ocorre em outros dípteros, por voláteis produzidos por microorganismos associados aos ovos depositados por outras fêmeas (HOUGH *et al.*, 1982; JUDD & BORDEN, 1992).

Porém, como níveis de agregação elevados podem causar condições desfavoráveis para as larvas e futuros adultos (DE JONG, 1976, 1978; RIVERS *et al.*, 2010) é provável que as fêmeas de *Chrysomya* sejam capazes de avaliar o substrato, diminuindo o tamanho de suas oviposições em locais muito saturados com ovos ou larvas, ou procurando outro local para ovipor (IVES, 1989). Insetos que utilizam recursos efêmeros e limitados, caso das moscas-varejeiras (HANSKI 1987; PESCHKE *et al.*, 1987), como habitats para o desenvolvimento de sua progênie freqüentemente depositam mensagens químicas que ajudam na prevenção de competição intraespecífica (LAM *et al.*, 2007).

Moscas de fruta de cerejeira, *Rhagoletis cerasi* e da maçã, *Rhagoletis pomonella*, colocam feromônios, que imediatamente, desencorajam outros indivíduos, que entraram em contato com essa substância, a ovipor (AVERILL & PROKOPY, 1987; STÄDLER *et al.*, 1994). Lam *et al.* (2007) relataram que para *Musca domestica*, altas densidades de uma linhagem bacteriana específica na superfície dos ovos, proveniente das fêmeas da mesma espécie, bloqueiam futuras oviposições, funcionando portanto como um sinal inibitório. Em muitas ordens de insetos, já foi relatado a presença de compostos químicos na região externa dos ovos, o córion (CHAPMAN, 1998), principalmente ácidos graxos, que tem efeito inibitório de oviposição para fêmeas coespecíficas, conhecidos como ODP, feromônios que desencorajam a oviposição (do inglês: Oviposition-detering pheromones) (LI *et al.*, 2001; LI & ISHIKAWA, 2004).

Todos esses compostos citados anteriormente, sejam semioquímicos voláteis ou reconhecidos apenas por contato direto, têm a intensidade de suas mensagens diminuída com o passar do tempo, sendo mensagens atrativas ou de repelência, sendo que suas concentrações são geralmente alteradas com o tempo, através da evaporação ou degradação do composto (HÖLLER *et al.*, 1991; HURST *et al.* 1998).

Outra substância que pode estar presente nos ovos de moscas-varejeiras são os hidrocarbonetos cuticulares. Consistem principalmente, de cadeias longas de alcanos e cadeias menores de alcenos (MARTIN *et al.*, 2004). São biologicamente estáveis, encontrados em todos os estágios de vida dos artrópodes e têm a função primária de proteção contra dessecação (LOCKEY, 1988). No entanto, em insetos sociais, os hidrocarbonetos parecem ser usados na identificação intraespecífica (SINGER, 1988) e como sinais de regulação reprodutiva, sinais esses associados e transmitidos pelos ovos (BRIAN & RIGBY, 1978; ENDELER *et al.*, 2004). Por exemplo, Endeler *et al.* (2004) relataram que a rainha da espécie *Camponotus floridanus*, deposita ovos que contêm um sinal, transmitido por toda a colônia por eles, que inibe as operárias de se reproduzirem.

Em dípteros, a existência de feromônios, aleloquímicos e hidrocarbonetos, originados em ovos, larvas, exsudatos, substratos ou lipídeos cuticulares, já foi demonstrada em diversas famílias como Culicidae, Psychodidae, Simuliidae, Glossinidae, Cecidomyiidae, Agromyzidae, Anthomyiidae, Muscidae, Tephritidae e Drosophilidae (ANDERSON, 2002; McCALL, 2002; WERTHEIM *et al.*, 2005).

Mas não há até o momento, na família Calliphoridae, estudos do comportamento de oviposição relacionados à presença dos ovos e semioquímicos. Não se sabe da presença de voláteis ou compostos de outra natureza nos ovos de espécies dessa família que possam

influenciar no processo de escolha do local de oviposição ou no processo de oviposição agregada.

1.1 *Chrysomya megacephala*

Chrysomya megacephala (Fabricius), originária da Australásia, foi introduzida acidentalmente no Continente Americano, provavelmente, através de navios (GUIMARÃES *et al.*, 1978, 1979), tendo sido descoberta no Sudeste brasileiro na década de 70 juntamente com *C. albiceps* (Wiedemann, 1819) e *C. putoria* (Wiedemann, 1830) (IMBIRIBA *et al.*, 1977; GUIMARÃES *et al.*, 1978, 1979).

O adulto desta espécie apresenta uma coloração azul-verde metálica em seu tórax e abdômen e seus olhos compostos na tonalidade vermelha (OLIVEIRA-COSTA, 2003; CARVALHO & MELLO-PATIU, 2008; GOMES, 2010).

É um inseto com desenvolvimento holometábolo, apresentando quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto (TRIPLEHORN & JOHNSON, 2011). O tempo de vida varia de um mês a dois meses, desde estágio de ovo até adulto (GABRE *et al.*, 2005; BARROS-CORDEIRO & PUJOL-LUZ, 2010).

Chrysomya megacephala está presente em vários estados brasileiros, associada principalmente à matéria orgânica em decomposição em áreas urbanas, sendo considerada uma espécie sinantrópica (D'ALMEIDA, 1993; MENDES & LINHARES, 1993; CAMPOS & BARROS, 1995; D'ALMEIDA & ALMEIDA, 1998). Adultos são comuns perto de habitações humanas, e causam incômodo em mercados de carne e peixes, matadouros, latrinas e fossas (SMITH, 1986).

Em condições laboratoriais, esta espécie foi capaz de se desenvolver em uma variedade de substratos como bacalhau, sapos, rãs, lagartos, e pombos (ROY & DASGUPTA, 1971; ESSER, 1990, 1991), mas também pode ser atraída por frutas, alimentos doces, urina e fezes (BYRD & CASTNER, 2010). No Brasil, D'Almeida (1986, 1988, 1989, 1993) concluiu que tanto em áreas urbana, rural e litorânea, *C. megacephala* prefere depositar seus ovos em sardinha e fígado.

Embora não possua o mesmo status de peste no Brasil como em outros países, *C. megacephala*, assim como outros integrantes do gênero *Chrysomya*, possui importância forense (WELLS & GREENBERG, 1992; VON ZUBEN *et al.*, 1996; CARVALHO *et al.*, 2000; GOMES *et al.*, 2003) e médico-veterinária (ZUMPT, 1965; FURLANETTO *et al.*, 1984; GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2002).

2. Objetivos

Os objetivos do projeto foram:

- Averiguar se existe uma distinção por parte de fêmeas de *C. megacephala*, através do seu olfato, da presença prévia de ovos da mesma espécie no local de oviposição ou sua ausência. Ou seja, pretende-se investigar se as fêmeas têm preferência por substratos com ovos (indicando atratividade) ou sem eles (indicando repelência), priorizando a agregação de imaturos ou evitando competição larval.

- Traçar o perfil químico do córion dos ovos de *C. megacephala* em diferentes estágios de desenvolvimento, e assim, averiguar a presença de possíveis substâncias que possam afetar a decisão da fêmea no momento da escolha do substrato.

3. Material e Métodos

3.1 Coleta e manutenção dos indivíduos

Exemplares de *C. megacephala* foram coletados nos arredores do Instituto de Biociências (IB) da UNESP, em Rio Claro, SP, Brasil, utilizando matéria orgânica em decomposição (carne moída bovina) como isca. Os exemplares foram separados e mantidos em gaiolas teladas (30 x 30 x 30 cm) (Figura 1) em sala climatizada com temperatura de 27 ± 1 °C, 60% de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Água e açúcar foram administrados *ad libitum*.

Para a formação de novas gerações, as fêmeas adultas coletadas foram alimentadas com fígado bovino fresco por cinco dias. Após mais cinco dias completou-se o ciclo gonotrófico (LINHARES, 1988). A oviposição da geração parental ocorreu em carne moída. Os ovos foram separados e colocados em potes plásticos de aproximadamente 750 ml, também contendo carne moída (Figura 1). Os mesmos foram tampados com organza e mantidos em câmaras climáticas (temperatura de 27 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 h). Em seguida, as larvas no terceiro instar foram transferidas para potes maiores, de aproximadamente 2,5 litros, contendo serragem de madeira e novamente levados à câmara climática a 27 ± 1 °C. Quando o estágio de pupa foi atingido, estas foram transferidas para gaiolas teladas (30 x 30 x

30 cm) até a emergência dos adultos que foram mantidos nas mesmas condições que os indivíduos parentais.

A fim de manter a padronização nos resultados, apenas as gerações F_2 e F_3 foram utilizadas nos experimentos, por estas terem sido as progênies de uma geração cujo desenvolvimento ocorreu inteiramente em condições laboratoriais controladas.



Figura 1. Frasco de vidro com carne moída, utilizado para desenvolvimento dos imaturos (esquerda) e gaiola telada, utilizada para manutenção de populações (direita). Foto: Leonardo Corrêa.

3.2 Bioensaios

Para averiguar se existe distinção das fêmeas por substratos com posturas prévias ou sem os ovos, considerando apenas a percepção olfativa das mesmas, foi utilizado um olfatômetro (Figura 2), aparelho utilizado para determinar a escolha de um invertebrado frente a situações distintas de estímulo olfativo (MCINDOO, 1926; WRIGHT, 1966). O aparelho que foi construído e modificado de Geier & Boeckh (1999), consiste em um tubo de vidro com forma de “Y”, cada braço com 8 cm, corpo com 9 cm de comprimento e diâmetro interno de 2 cm (permitindo apenas a locomoção da fêmea e não seu voo, pois o objetivo foi investigar apenas sua escolha e não seu padrão de busca), com ângulo entre os braços de exatos 130°.

Na extremidade do corpo do “Y”, um frasco de 510 ml foi conectado, local de aclimatização e ponto inicial de partida das fêmeas. Conectada a este frasco estava uma bomba de vácuo Dia-Pump Compressor Aspirador Fanem LTDA, modelo CAL BF-1732, com uma corrente de ar, que se mantinha, entre 80 ml/s e 100 ml/s.

Na extremidade de cada braço do “Y”, uma armadilha foi colocada para que as fêmeas, ao escolherem um braço, ficassem presas e não pudessem retornar ao ponto inicial. Após a armadilha, estava o cenário de cada tratamento, contendo ou apenas 50 g de substrato (carne moída bovina) ou 50 g de substrato mais ovos prévios (Tabela 1), dentro de um frasco plástico, com 5 cm de altura e 4 cm de diâmetro, coberto com uma camada de gaze. Os pontos de conexão finais entre os cenários e as armadilhas também foram fechados com gaze, permitindo assim a passagem de ar mas impedindo as moscas-varejeiras, que não ficassem presas nas armadilhas, de chegarem aos cenários, causando alguma interferência.

Todo o caminho a ser percorrido até as armadilhas e o ponto inicial de partida foram cobertos com papel alumínio para impedir interferência da luz da sala (que permaneceu ligada nos testes) e possível uso da visão pelas moscas-varejeiras, deixando apenas a parte inferior livre para visualização, posicionada em cima de uma superfície branca (MORAES *et al.*, 2003).

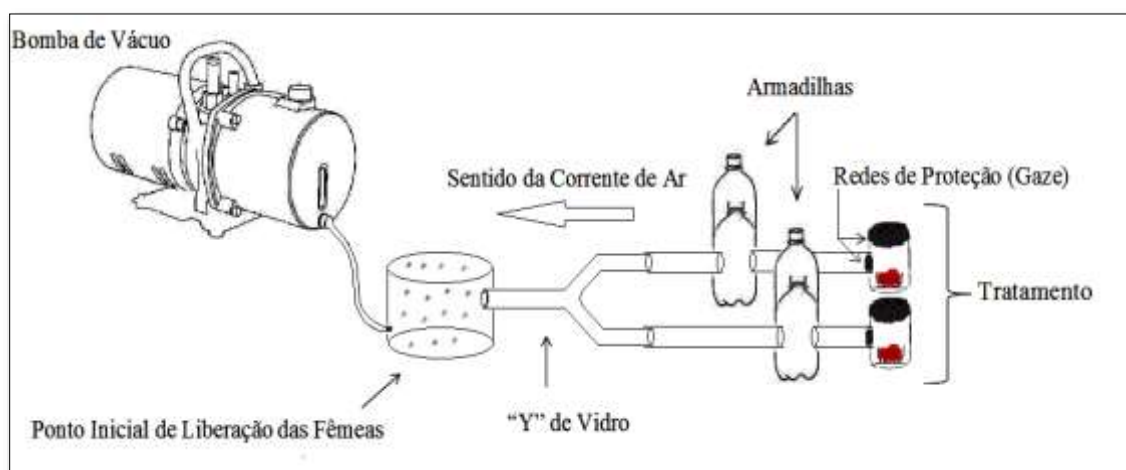


Figura 2. Esquema do olfatômetro.

Foram realizados quatro tratamentos distintos para as duas espécies: A, B, C e D, com maiores detalhes descritos na Tabela 1. Para cada tratamento, primeiramente, 15 fêmeas com 15 dias de idade e portando ovos foram colocadas no ponto de partida e avaliadas durante 2 h (das 12 h às 14 h); após esse período, eram contados os indivíduos presos em cada armadilha e os que não saíram do ponto inicial. Passadas 2 h, a bomba ficava desligada por uma hora (evitando superaquecimento) e o “Y” de vidro era virado 180°, com o objetivo de evitar tendenciosidade dos resultados. Em seguida, 15 novas fêmeas, nas mesmas condições das anteriores, foram selecionadas e testadas por mais 2 h (15 h às 17 h) do mesmo modo citado anteriormente. A massa de ovos utilizada às 15 h foi a mesma massa utilizada ao meio dia, essa massa foi obtida às 10 h da manhã no dia de cada experimento. Ao final dos

experimentos, para os tratamentos A, B, C e D foram realizadas três repetições com o “Y” posicionado de uma maneira e mais três após ser virado 180°, totalizando seis repetições por tratamento.

Os indivíduos da geração F₂ foram utilizados nos tratamentos A e B, enquanto os da geração F₃ foram utilizados nos tratamentos C e D.

O “Y” de vidro e o frasco do ponto inicial foram lavados com álcool entre cada repetição (ALTAFINI *et al.*, 2010).

Todos os testes foram realizados entre setembro e abril, caracterizados como os meses mais quentes do ano (primavera e verão), que são as épocas de maior atividade desses insetos, assim como o horário (12h-14h e 15h-17), devido ao fato de que a maioria das moscas-varejeiras é considerada diurna e relativamente inativa à noite (PAYNE, 1965, BYRD & CASTNER, 2010). Os experimentos ocorreram em sala climatizada com temperatura de 27 ± 1 °C, 60% de umidade relativa.

Tabela 1. Tratamentos realizados nos bioensaios e os cenários de cada tratamento.

Cenários Tratamentos	Braço Esquerdo do "Y"	Braço Direito do "Y"
A	50 g de Substrato	50 g de Substrato + 0,05 g de ovos
B	50 g de Substrato	50 g de Substrato + 0,25 g de ovos
C	50 g de Substrato	50 g de Substrato + 0,5 g de ovos
D	50 g de Substrato	50 g de Substrato + 1 g de ovos

3.3 Extração, Identificação e Análise dos Compostos presentes nos ovos

No laboratório de Ecologia Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto – SP, no departamento de Biologia, foram coletadas doze amostras de ovos de *C. megacephala*, contendo 0,0350 gramas cada. Essa massa de ovos foi escolhida, pois representa uma quantidade maior que uma postura total de uma única fêmea (VON ZUBEN, 1998). Quatro amostras foram analisadas 0h após a postura, quatro amostras foram analisadas 3h após a postura e quatro amostras foram analisadas 6h após a postura, para verificar a composição do córion dos ovos com o passar do tempo. Os ovos foram mantidos em *vials* à temperatura ambiente até o momento da extração dos

componentes do córion. Para a extração dos componentes, cada amostra de ovos foi banhada em 30 μ l de solvente apolar (diclorometano com 95 % de pureza da marca Mallinckrodt Chemicals), por dois minutos.

As amostras foram analisadas em um sistema de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010, equipado com coluna capilar de silicone de 30 m e hélio como gás carreador a 1 ml/min. (Figura 3), utilizando os métodos de ionização química (CI) e ionização eletrônica (EI) a fim de se determinar o espectro do pico molecular e fornecer informações a respeito das estruturas.

Posteriormente, os dados foram analisados para caracterização do espectro de massa. Comprimentos de cadeias equivalentes foram determinados utilizando-se n-alcanos padrões (Sigma Chemical Co.), e a quantificação foi baseada nas áreas de pico obtidas pelos cromatogramas (SINGER *et al.*, 1992). O protocolo de temperatura usado foi de: 50 °C -180 °C a 5 °C/min por 5 minutos e 180 °C -280 °C a 5 °C/min. por 10 minutos e a temperatura de injeção foi de 280 °C. Análises foram feitas em modo “splitless”.



Figura 3. Sistema de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010. Foto: www.shimadzu.com

3.4 Análise de Dados dos Bioensaios

O teste de Hipótese de Proporção Bilateral foi utilizado, e consiste em uma regra de decisão utilizada para aceitar ou rejeitar uma hipótese estatística com base em elementos amostrais, comparando-se o parâmetro “z” encontrado com o “z” tabelado (MARTINS & FONSECA, 1996). Tendo como hipótese nula, a não preferência por nenhuma situação apresentada e a hipótese alternativa como existência de preferência das fêmeas por alguma situação. Para se aceitar a hipótese nula, o valor do módulo de “z” encontrado deve ser menor que o valor de “z” tabelado (1,96 para $\alpha = 5\%$) e para rejeitar essa hipótese, o valor do módulo de “z” encontrado deve ser maior que o valor de “z” tabelado nas mesmas condições.

3.5 Análises estatísticas dos perfis dos córions

Foi realizada uma análise de variância PERMANOVA com 9999 permutações, em que os dados foram previamente normalizados e transformados por raiz quadrada e a matriz de semelhança (distância Euclidiana) calculada. Testes post-hoc (PERMANOVA, pair-wise tests) foram utilizados para comparação dos perfis químicos dos córions em cada uma das amostras. A distância média dos centróides dos perfis químicos também foi calculada. Essas análises foram realizadas utilizando o programa Primer 6 (Primer-eLtda). Uma análise canônica também foi realizada.

4. Resultados

4.1 Bioensaios

Nos tratamentos A, B e C, os resultados indicaram que não houve preferência das fêmeas por nenhuma situação apresentada, e que a maioria das fêmeas (47,5%) não saiu do ponto inicial de partida. Nesses tratamentos, os módulos dos valores de $z_{\text{calculado}}$ são inferiores ao z_{tabelado} para $p = 5\%$, que é igual a 1,96 (Figuras 4, 5 e 6).

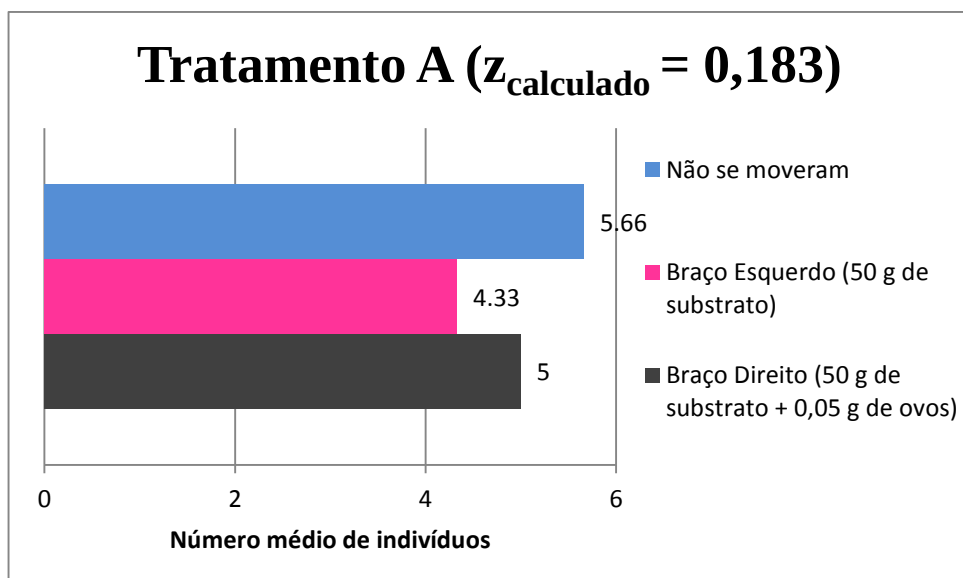


Figura 4. Resultados dos bioensaios no tratamento A, utilizando 0,05 g de ovos em um dos cenários. Os valores indicam a média de indivíduos que optaram por não se mover (dp [desvio padrão] = 3,076), quantos escolheram o braço esquerdo (apenas substrato) (dp = 1,366) e quantos escolheram o braço direito (substrato mais ovos) (dp = 2,607). $z_{\text{calculado}} < z_{\text{tabelado}}$. Seis repetições foram realizadas, com 15 fêmeas em cada uma.

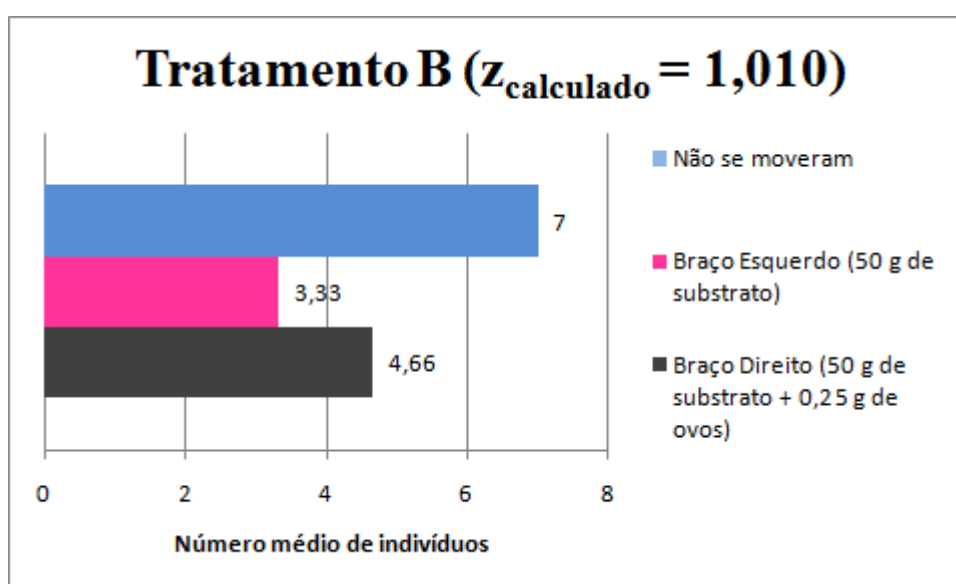


Figura 5. Resultados dos bioensaios no tratamento B, utilizando 0,25 g de ovos em um dos cenários. Os valores indicam a média de indivíduos que optaram por não se mover (dp [desvio padrão] = 3,687), quantos escolheram o braço esquerdo (apenas substrato) (dp = 1,032) e quantos escolheram o braço direito (substrato mais ovos) (dp = 2,732). $z_{\text{calculado}} < z_{\text{tabelado}}$. Seis repetições foram realizadas, com 15 fêmeas em cada uma.

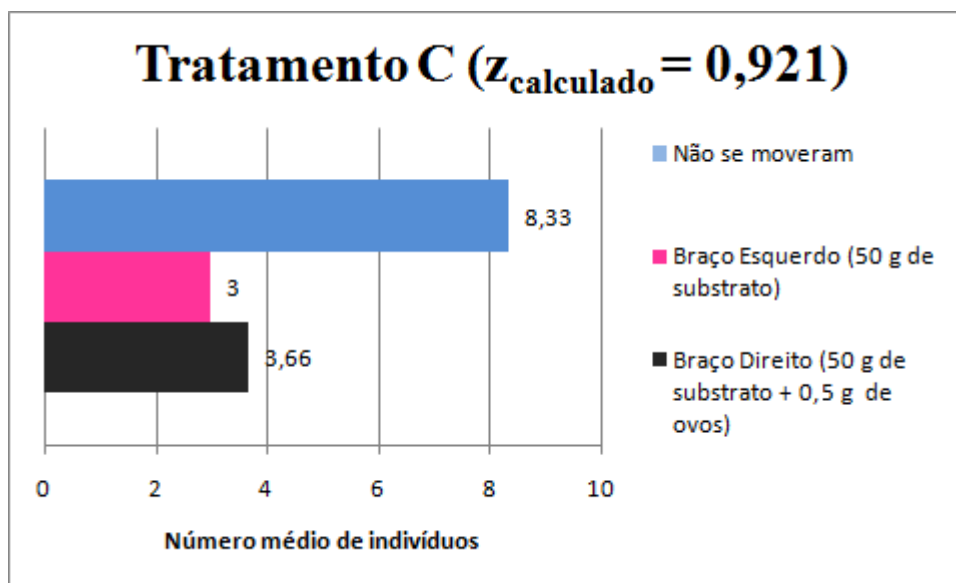


Figura 6. Resultados dos bioensaios no tratamento C, utilizando 0,5 g de ovos em um dos cenários. . Os valores indicam a média de indivíduos que optaram por não se mover (dp [desvio padrão] = 2,943), quantos escolheram o braço esquerdo (apenas substrato)(dp = 2,366) e quantos escolheram o braço direito (substrato mais ovos)(dp = 2,422). $z_{\text{calculado}} < z_{\text{tabelado}}$. Seis repetições foram realizadas, com 15 fêmeas em cada uma.

Por outro lado, no tratamento D (com um grama de ovos prévios no braço direito), apesar de 50 % das fêmeas não terem se movimentado, o teste confirmou preferência das fêmeas pelo local com a presença de ovos, nesse caso, 35% das fêmeas escolheram esse cenário, sendo que o $z_{\text{encontrado}}$ foi de 3,14 (Figura 7).

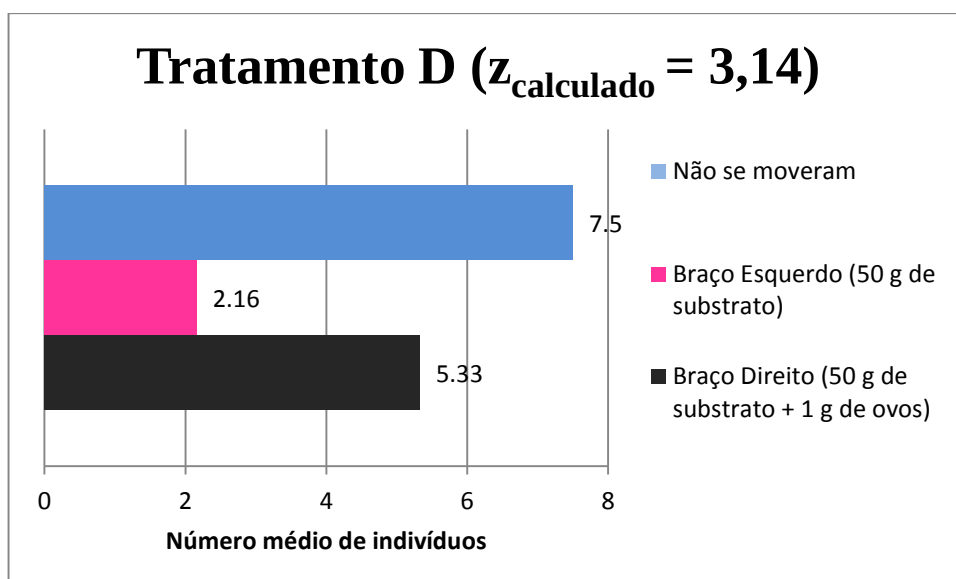


Figura 7. Resultados dos bioensaios no tratamento D, utilizando 1 g de ovos em um dos cenários. . Os valores indicam a média de indivíduos que optaram por não se mover (dp [desvio padrão] = 2,588), quantos escolheram o braço esquerdo (apenas substrato)(dp = 2,136) e quantos escolheram o braço direito (substrato mais ovos)(dp = 1,861). $z_{\text{calculado}} > z_{\text{tabelado}}$. Seis repetições foram realizadas, com 15 fêmeas em cada uma. Único tratamento em que houve preferência por um dos cenários.

4.2 Resultados dos perfis dos córions

Os picos gerados pelas amostras nas três situações foram colocados no mesmo gráfico para auxiliar a visualização da intensidade do sinal de cada composto no decorrer da análise do GC-MS (Figura 8). Em relação aos compostos apolares, o córion do ovo de *C. megacephala* apresenta uma grande diversidade de compostos, com cadeia carbônica entre 11 e 31 átomos, e os compostos Ácidotetradecanóico, cis9-Ácido Hexadecenóico, n-Ácido Hexadecanóico, 9-Ácido octadecanóico, Hexadecamida, 9-Ácido octadecenóico, 9-Octadecenamida, 1-Heptacosanol, Colesterol (Tabela 2).

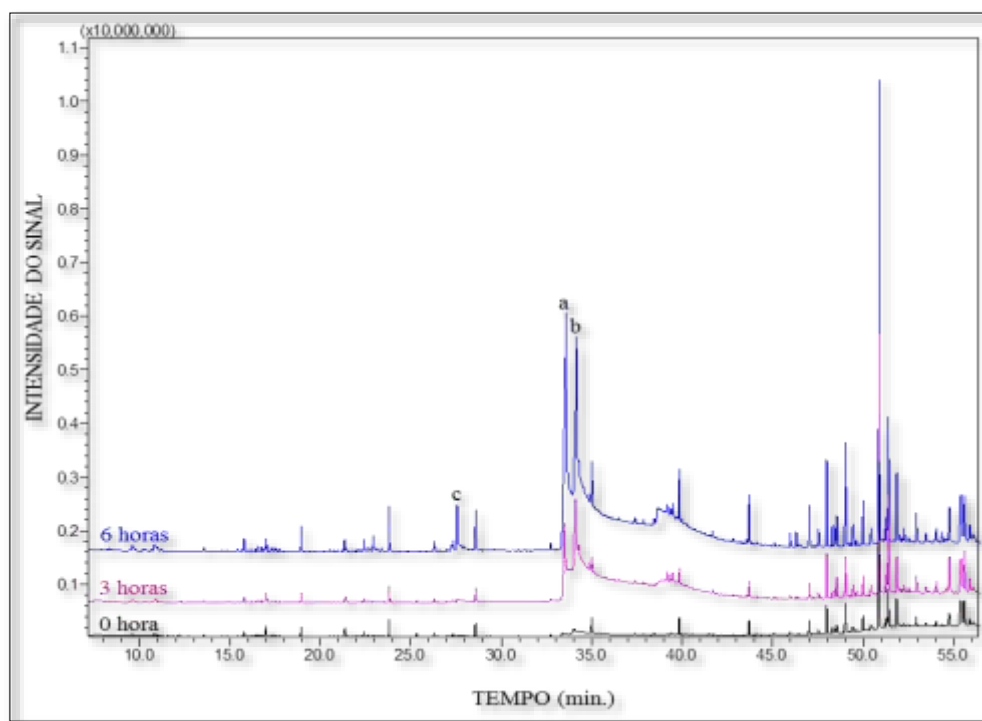


Figura 8. Cromatografia total do GC-MS do extrato de diclorometano do córion dos ovos de *C. megacephala*. Os compostos a e b mostraram diferenciação entre as amostras (ácidos palmitoleico e palmítico, respectivamente). Composto c, o ácido mirístico foi um dos compostos identificados que tiveram alta representatividade nas amostras. As linhas das intensidades dos sinais rosa e azul estão modificadas para efeito didático (facilitar observação), o início dessas linhas começam com intensidade igual a zero, o mesmo da linha preta.

Tabela 2. Proporções relativas dos perfis dos córions dos ovos de *C. megacephala*. M = média das concentrações de cada composto, DP = desvio padrão. A letra a acima dos compostos, indica que esses tiveram grande variação estatística de concentração com o passar do tempo. As letras b, c e d auxiliam a visualização na diferenciação desses valores.

COMPOSTOS	0h	3h	6h
	M±DP	M±DP	M±DP
n-C ₁₁	1,23±1,79	0,80±1,02	0,71±0,88
n-C ₁₂	0,35±0,48	0,27±0,31	0,28±0,37
n-C ₁₃	1,02±1,42	0,72±0,83	0,75±0,98
n-C ₁₄	1,55±1,98	1,17±1,28	1,19±1,48
n-C ₁₅	1,10±1,24	3,02±5,10	1,55±2,67
n-C ₁₆	2,90±3,51	2,21±2,37	2,20±2,75
Ácidotetradecanóico	0,56±0,58	0,43±0,45	1,40±0,76
n-C ₁₈	3,30±3,88	2,51±2,72	2,70±3,44
cis9-Ácido Hexadecenóico ^a	5,06±7,00 ^b	7,65±6,84 ^c	20,40±13,71 ^d
n-Ácido Hexadecanóico ^a	6,23±9,35 ^b	7,98±5,86 ^c	9,51±6,24 ^d
n-C ₂₀	3,51±3,72	2,79±3,04	2,80±3,57
9-Ácido octadecanóico	0,71±1,00	0,43±0,64	1,30±1,73
Hexadecamida	0,31±0,08	0,55±0,29	0,65±0,32
n-C ₂₂	3,41±3,36	2,62±2,97	2,53±3,71
9-Ácido octadecenóico	0,17±0,07	0,60±0,56	0,55±0,86
9-Octadecenamida	0,29±0,37	0,84±1,33	0,10±0,07
n-C ₂₄	3,07±2,85	2,63±2,46	2,69±3,08
n-C ₂₅	2,44±2,04	2,16±1,78	2,16±2,43
13- MeC ₂₅ ; 11-MeC ₂₅	0,86±0,63	0,43±0,30	0,52±0,16
3-MeC ₂₅	3,58±1,70	2,93±1,42	2,08±0,72
1-Heptacosanol	0,81±0,76	0,31±0,14	0,52±0,18
15- MeC ₂₆ ; 13- MeC ₂₆ ; 11-MeC ₂₆	0,71±0,51	0,52±0,20	0,44±0,15
n-C ₂₇	1,58±0,69	1,49±0,51	1,27±0,38
13- MeC ₂₇ ; 11-MeC ₂₇	5,79±4,77	2,96±0,48	3,27±0,90
13,15-DiMeC ₂₇	1,45±1,21	0,86±0,16	0,83±0,32
3-MeC ₂₇	0,32±0,04	0,28±0,08	0,20±0,11
n-C ₂₈	2,32±1,64	2,25±1,29	2,16±2,02
14- MeC ₂₈ ; 13-MeC ₂₈	0,81±0,47	0,67±0,26	0,54±0,11
4-MeC ₂₈	17,42±7,87	18,11±9,77	13,36±4,24
Z-C ₂₉	0,57±0,45	0,29±0,09	0,38±0,17
15,17- DiMeC ₂₈ ; 13,17-DiMeC ₂₈	1,53±0,55	1,78±0,95	1,11±0,19
n-C ₂₉	4,90±1,76	6,00±3,55	4,03±0,61
15- MeC ₂₉ ; 13-MeC ₂₉	3,69±1,77	3,47±1,71	2,78±0,66
7-MeC ₂₉	0,25±0,14	0,31±0,23	0,25±0,06

5-MeC ₂₉	0,14±0,05	0,20±0,10	0,14±0,03
13,17-DiMeC ₂₉	0,50±0,21	0,55±0,29	0,47±0,10
3-MeC ₂₉	0,45±0,36	0,55±0,59	0,38±0,35
n-C ₃₀	1,76±1,28	1,91±0,77	1,74±1,48
15- MeC ₃₀ ; 14-MeC ₃₀	0,53±0,25	0,69±0,35	0,44±0,10
4-MeC ₃₀	0,63±0,26	0,86±0,41	0,68±0,20
15,17- DiMeC ₃₀ ; 13,17-DiMeC ₃₀	0,40±0,20	0,21±0,12	0,45±0,24
n-C ₃₁	1,98±0,99	2,51±1,51	1,43±0,43
13- MeC ₃₁ ; 11-MeC ₃₁	5,42±2,79	5,49±3,07	3,63±1,30
Colesterol	3,63±2,36	3,85±1,71	2,81±1,39
15,17- DiMeC ₃₁ ; 13,17-DiMeC ₃₁	0,84±0,38	1,18±0,92	0,68±0,20

Os compostos mais representativos foram alcanos lineares, monometilalcanos, dimetilalcanos e alcenos (hidrocarbonetos), álcool, amida e ácidos. Destes, os compostos cis9-ÁcidoHexadecenóico (ácido palmitoleico), n-Ácido Hexadecanóico (ácido palmítico) foram os que apresentaram diferenciação entre as amostras, ou seja, suas concentrações foram aumentando com o passar do tempo (0h – 3h – 6h) (Tabela 2).

Todas as amostras analisadas apresentaram perfis muito semelhantes quanto à diversidade desses compostos e a análise estatística não revelou diferença significativa entre elas (PERMANOVA, Pseudo-F = 0, 60165, p = 0,727). Quando as amostras foram comparadas aos pares, as comparações 0h vs 3h, 3h vs 6h e 0h vs 6h não apresentaram diferenças (PERMANOVA, pair-wise tests, 0h vs 3h: p = 0,8, 3h vs 6h: p = 0,548, 0h vs 6h: p = 0,468). Ao calcular a distância entre os centróides e a distância média percebe-se que as amostras são relativamente próximas em relação aos seus perfis (Distância média para 0h vs 3h: 4,81; 3h vs 6h: 4,83 e 0h vs 6h: 5,36). Segundo a análise canônica, 50,00 % das amostras com 0h, 25,00% das amostras com 3h e 75,00% das amostras com 6h foram classificadas corretamente (Figura 9).

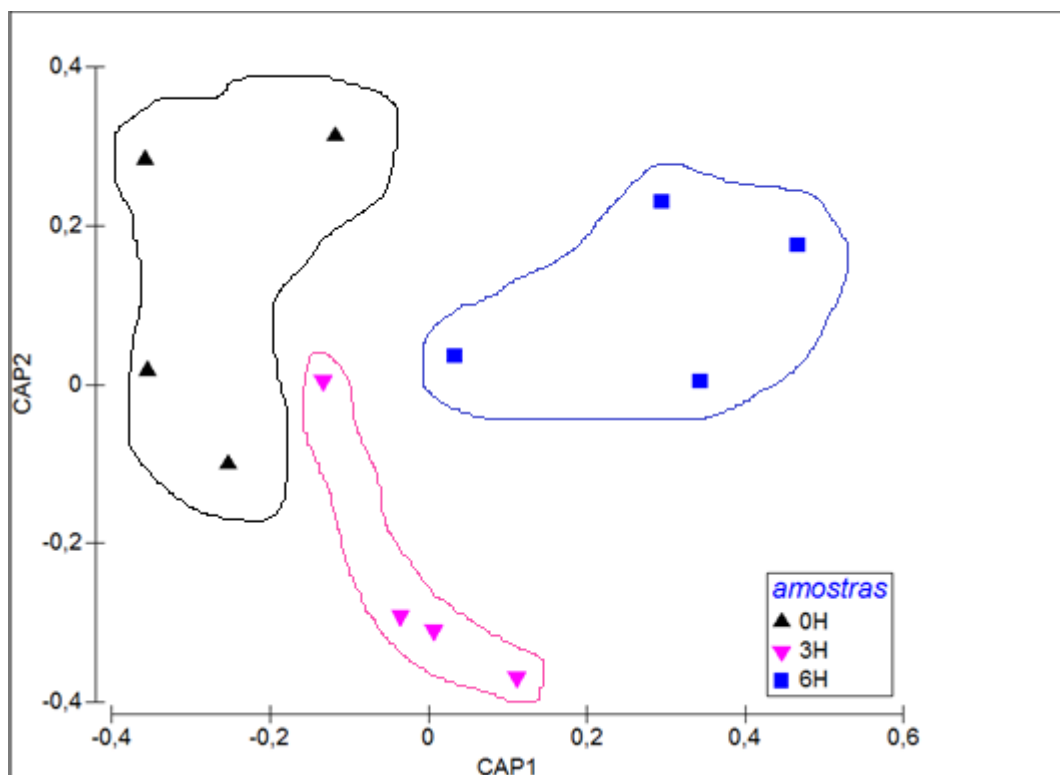


Figura 9. Análise canônica do perfil do córion dos ovos de *C. megacephala*, em tempos diferentes após a postura.

5. Discussão

Os bioensaios mostraram que a presença dos ovos não afetou a escolha das fêmeas nos tratamentos A, B e C. Apenas no último tratamento, em que a massa de ovos utilizada foi a maior, as fêmeas demonstraram preferência pelo substrato em que eles estavam localizados. A análise dos ovos de *C. megacephala* não constatou a presença de nenhuma substância volátil que poderia ter atraído, nem repellido as fêmeas nos bioensaios para o local presente com massas de ovos. Porém, a análise revelou compostos químicos que podem atuar, por contato direto, como possíveis reguladores de oviposição.

Nos bioensaios realizados, primeiramente, nota-se que um grande número de indivíduos não foi atraído por nenhuma situação apresentada, ou seja, não saíram do ponto inicial de partida do olfatômetro.

Aproximadamente metade das fêmeas não se moveu do ponto inicial durante os experimentos, ou seja, não apresentaram atividade durante o período avaliado. Os bioensaios foram realizados durante o dia, se iniciavam ao meio dia e terminavam exatamente às 17h, esse intervalo foi escolhido, pois a maioria das moscas-varejeiras é considerada diurna e relativamente inativa à noite (PAYNE, 1965, BYRD & CASTNER, 2010), porém, mesmo

sem provas concretas, observações recentes, sugerem a possibilidade de ocorrência de oviposição noturna (WOOLDRIDGE *et al.*, 2007).

Chrysomya megacephala é considerada como ativa desde o começo da manhã até o entardecer, embora seu pico de atividade seja nos momentos mais quentes da tarde (BYRD & CASTNER, 2010). Wijesundara (1957) relatou que a oviposição na espécie condiz com este período de atividade, o que causa uma distribuição crescente de oviposições ao longo do dia, atingindo seu pico no horário das 15h às 18h. Porém, Herzog (1992) encontrou resultados distintos, com um pico secundário de oviposição compreendido entre as 15h e 18h, enquanto o primário foi relatado no período das 18h até as 6h do dia seguinte.

Apesar da maioria dos indivíduos apresentarem atividade nos experimentos, corroborando com os resultados de Wijesundara (1957) e Byrd & Castner (2010), os que não apresentaram atividade de procura por nenhuma situação apresentada, no período dos testes, podem ser mais ativos nos momentos descritos por Herzog (1992).

Porém, a maioria dos indivíduos de todos os tratamentos exibiu atividade, buscando uma das situações apresentadas. Os insetos devem localizar fontes de alimentos para sobreviver, obter energia e nutrientes suficientes para produzir uma prole e então, achar um local para oviposição (LEBLANC & LOGAN, 2010). Isso é alcançado através de processos sensoriais eficientes e mecanismos comportamentais mediados por estímulos externos e internos (AGELOPOULOS & PICKETT, 1998).

A idéia de que fêmeas de moscas-varejeiras são atraídas por pistas voláteis químicas emitidas por corpos em decomposição (substratos de origem animal) para estabelecer um local adequado para depositar seus ovos, é amplamente aceita (IGNELL & HANSSON, 2005). Sabe-se, por exemplo, que *Calliphora vicina*, *Phormia regina*, *Lucilia cuprina* e *L. sericata* são atraídas por diferentes compostos voláteis, sobretudo substâncias contendo compostos sulfurosos (ASHWORTH & WALL, 1994; AAK *et al.*, 2010; AAK *et al.*, 2011; PACZKOWSKI & SCHÜTZ, 2011; BRODIE *et al.*, 2014).

Como semioquímicos têm um papel considerável no comportamento de insetos (BIRKETT *et al.* 2004; PICKETT *et al.* 1998), é provável que a espécie envolvida nesse projeto tenha sido atraída por algum composto volátil emitido pelo substrato, que esteve presente em todos os cenários de todos os tratamentos, causando sua movimentação nos bioensaios.

Lembrando que diferentes espécies respondem a diferentes compostos e que esses são encontrados em diferentes concentrações durante os processos de decomposição (LEBLANC, 2008), a identificação dessas substâncias específicas e a investigação das respostas que elas

provocam nos insetos poderiam proporcionar uma melhor compreensão do comportamento de moscas-varejeiras (LEBLANC & LOGAN, 2010).

Outro fator que pode ter provocado a movimentação dos indivíduos do ponto inicial do olfatômetro é a presença de ovos previamente colocados em um dos cenários em cada tratamento. Esser (1990) relatou que fêmeas de *C. megacephala* preferem depositar seus ovos em locais onde já estão presentes ovos da mesma espécie, e atribuiu à atração exercida pelos ovos, uma natureza olfativa, ou seja, percebida principalmente pelo olfato.

Para a espécie estudada, nos resultados dos tratamentos A, B e C, a presença dos ovos nos cenários não influenciou de maneira alguma a escolha das fêmeas por uma das situações, não exercendo papel atrativo e nem repelente; o teste aponta uma diferença insignificante entre as escolhas, não indicando preferência por nenhum local. Esses resultados corroboram com os dados encontrados na análise química dos ovos de *C. megacephala*. O perfil químico do córion não aponta a presença de compostos voláteis (únicos compostos que poderiam ser captados pelas fêmeas nos bioensaios); pelo contrário, os compostos mais representativos, os ácidos graxos, por exemplo, apresentam grande cadeia carbônica, característico de substâncias pouco voláteis (OLIVEIRA *et al.* 2003) e isso é notado em todos os compostos encontrados.

É possível, portanto, que não existam voláteis nos ovos que desempenhem papel atrativo para essa espécie e que a atração e posterior agregação de outras fêmeas em locais que contenham ovos sejam mediadas, principalmente pela visão. Primeiramente, a atração de fêmeas para um local que contenha outras moscas realizando oviposição pode ser controlada por feromônios produzidos por elas (NORRIS, 1965; BARTON BROWNE *et al.*, 1969; HANSKI, 1987; BRODIE, 2014) e os ovos funcionem atrativamente, apenas como pistas visuais (WALL & FISHER, 2001; GOMES *et al.*, 2007). Assim, como não parece haver sinais atrativos nos ovos, também não parece haver presença de um volátil que exerça repelência nas fêmeas. Feromônios de repelência presentes em ovos com ação imediata para as fêmeas já foram relatados em duas moscas pragas de frutas, *Rhagoletis cerasi* e *Rhagoletis pomonella* (AVERILL & PROKOPY, 1987; STÄDLER *et al.*, 1994), porém, para essas espécies, a sobrevivência dos imaturos é reduzida drasticamente quando a densidade larval é maior que um (STÄDLER *et al.*, 1994). Portanto, sinais químicos repelentes de oviposição com ação imediata são imprescindíveis para o futuro da prole. O contrário nota-se para moscas-varejeiras, em que há a preferência em depositar seus ovos de maneira agregada (NORRIS, 1965; BARTON BROWNE *et al.*, 1969; HANSKI, 1987; JIANG *et al.*, 2002, BRODIE, 2014) e que, de primeiro momento, não necessitam de um sinal repelente de oviposição.

Porém, os resultados obtidos no tratamento D foram completamente diferentes dos resultados já apresentados para os outros tratamentos: nota-se grande preferência das fêmeas pelo substrato que continha a massa de ovos, priorizando a agregação dos futuros imaturos, sendo que a diferença nas escolhas foi altamente significativa, indo contra a suposição de que não exista algo nos ovos que esteja atraindo os indivíduos.

Como elucidado anteriormente, a existência de compostos químicos originados em ovos, larvas e exsudatos ou lipídios cuticulares já foi demonstrada em diversas famílias de Diptera (ANDERSON, 2002; McCALL, 2002; WERTHEIM *et al.*, 2005), principalmente casos de compostos encontrados nos ovos que provocam atração e futura agregação das fêmeas para uma oviposição mais concentrada (McCALL, 2002).

Lutzomya longipalpis, um Psychodidae de importância médica, por exemplo, tem presente no córion de seu ovo ácido dodecanóico, e esse feromônio que é volátil, provoca agregação de outras fêmeas no local (El NAIEM & WARD, 1991; DOUGHERTY, *et al.*, 1992, 1994; DOUGHERTY & HAMILTON, 1997); em *Simulium damnosum*, a “black fly”, outras fêmeas são estimuladas a ovipor no mesmo local, devido a um feromônio volátil emitido por ovos depositados recentemente (McCALL, 1995). O feromônio possui tanto propriedades atrativas como estimulantes para as fêmeas (McCALL, *et al.*, 1994; WILSON, *et al.*, 2000); em *Delia antiqua* (Meigen), a “mosca da cebola” seus ovos contêm bactérias que produzem estimulantes de oviposição para outros indivíduos, um caso de M.V.O.C. (HOUGH *et al.*, 1982; JUDD & BORDEN, 1992; DAVIS *et al.*, 2013). A presença de compostos voláteis atrativos presentes nos ovos também já foi descrito em moscas-varejeiras, mais especificamente, na *Musca domestica*, em que os feromônios de atração são produzidos pela fêmea e se associam aos ovos, que posteriormente, terão o papel de atração de outros indivíduos (JIANG *et al.*, 2002).

Como a constatação de componentes químicos atrativos presentes nos ovos de muitos dípteros é numerosa, não podemos descartar a possibilidade de que compostos semelhantes possam ser encontrados nos ovos de *C. megacephala*. Outra razão, para que a existência de um volátil presente nos ovos de *C. megacephala* responsável pela atração de outras fêmeas, seja possível, embora não confirmada no presente trabalho, é que as consequências da agregação, processo comum entre as moscas varejeiras (IVES, 1991; GREENBERG & KUNICH, 2002; CHARABIDZE *et al.*, 2011) garantem grandes vantagens à sua progênie (RIVERS *et al.*, 2011).

A agregação dos ovos gera calor interno (DEONIER, 1940; GOODBRED & GOFF, 1990; ANDERSON & VANLAERHOVEN, 1996), o que mantém as larvas em temperaturas

ótimas para completar o desenvolvimento com máxima eficiência (CIANCI & SHELDON, 1990; RIVERS *et al.*, 2011). Além disso, a agregação pode facilitar a digestão e assimilação alimentar e contribuir com a proteção contra predadores e parasitos (RIVERS *et al.*, 2011).

Aceitando-se a idéia de que há um composto volátil atrativo nos ovos para outras fêmeas, deve-se entender o motivo pelo qual ele não agiu nos primeiros tratamentos (A, B e C) e também porque ele não foi constatado nas análises químicas.

Esser (1990) relatou, para *C. megacephala*, que 0,05 gramas de ovos são minimamente necessários para atrair fêmeas, porém, em seus experimentos, os indivíduos utilizavam o olfato e também a visão, sendo que é possível que a mesma massa não seja perceptível apenas pelo olfato desses insetos. E sabe-se também, que devido às fracas ligações moleculares, compostos químicos voláteis têm a intensidade diminuída rapidamente com o passar do tempo (HÖLLER *et al.*, 1991; HURST *et al.* 1998).

A massa de ovos que despertou atenção das fêmeas, atraindo-as no tratamento D, é 20 vezes maior que a massa utilizada no primeiro tratamento e o dobro da massa utilizada no tratamento C. Talvez, os voláteis presentes na massa de um grama de ovos (tratamento D) tenham levado maior tempo para evaporar que nas massas menores, mantendo a intensidade do sinal minimamente perceptível durante os experimentos. O mesmo pode ter ocorrido na análise química dos ovos, cuja massa utilizada nesses testes, apesar de representar uma quantidade maior do que uma única fêmea consegue ovipor (VON ZUBEN, 1998), é inferior a todas as massas utilizadas nos tratamentos dos bioensaios. Mesmo o ovo tendo sido analisado ainda fresco, algum eventual composto volátil pode ter se evaporado rapidamente e nos ovos com seis horas de idade, as chances de encontrar algo volátil, seria mínima.

Se existe ou não um composto químico volátil presente nos ovos de *C. megacephala*, responsável pela atração de outras fêmeas, essa questão poderá ser melhor compreendida apenas com novos bioensaios propostos e também com mais análises químicas realizadas, utilizando, principalmente, diferentes massas de ovos nos testes.

Como comentado anteriormente, compostos voláteis não foram encontrados nas análises químicas do córion dos ovos, mas o perfil químico traçado contém compostos com características interessantes. Dentre os compostos identificados, com exceção dos alcanos lineares, monometilalcanos, dimetilalcanos e alcenos, que serão comentados mais adiante, três merecem maior atenção.

Os ácidos graxos, Ácidotetradecanóico, cis9-Ácido Hexadecenóico e n-Ácido Hexadecanóico, conhecidos como ácido mirístico, ácido palmitoleico e ácido palmítico, respectivamente, foram altamente representativos nas amostras e entre eles, os ácidos

palmitoleico e palmítico apresentaram diferentes concentrações entre as amostras, com um aumento na concentração observado com o passar das horas. Lembrando que os ácidos graxos encontrados nas análises são compostos com grandes cadeias carbônicas, portanto não-voláteis (THURMAN, 1985; OLIVEIRA *et al.* 2003) e que sua percepção aconteça, provavelmente, por contato direto.

A presença de todos esses compostos é comum na composição geral dos ácidos graxos em pelo menos sete ordens de insetos: Lepidoptera, Hemiptera, Orthoptera, Diptera, Hymenoptera e Dictyoptera, sendo que as proporções de cada ácido podem variar. Altos níveis de ácido palmitoleico são encontrados em Diptera enquanto altos níveis de ácido mirístico, em Hymenoptera (THOMPSON, 1973). Esses compostos também foram relatados na superfície dos ovos em diferentes ordens de insetos, Neuroptera, Hymenoptera e principalmente Lepidoptera (THIÉRY & GABEL, 1993; EISNER *et al.*, 1996; GABEL & THIÉRY, 1996).

As funções desses ácidos são diversas, porém uma se destaca: desencorajadores de futuras oviposições (THIÉRY & GABEL, 1993; DANI *et al.*, 1996; EISNER *et al.*, 1996; GABEL & THIÉRY, 1996). Os ácidos palmitoleico, palmítico e mirístico foram relatados em ovos de *Lobesia botrana* (Lepidoptera), e parecem funcionar, de maneira independente (sozinhos), como reguladores de oviposição. As fêmeas dessa espécie percebem esses compostos e imediatamente evitam esse local como sítio de oviposição ou em algumas vezes, diminuem a quantidade da postura de ovos, e quanto maior a concentração desses compostos, mais intensas são essas respostas (GABEL & THIÉRY, 1996). Gabel & Thiéry (1996) também encontraram nos ovos dessa espécie quantidades muito baixas de um éster: o metil palmitato, também conhecido como palmitato de metila, ou simplesmente palmitato. Ésteres derivam de um ácido através de um processo denominado esterificação, no caso do palmitato de metila, o ácido palmítico reagiu com o metanol dando origem a esse éster. Ésteres possuem cadeias curtas e ligações moleculares fracas, tornando-os altamente voláteis, se comparados a ácidos graxos (McMURRY, 2004). Esse éster, palmitato de metila, teve função semelhante ao do seu ácido de origem, desencorajando a espécie a ovipor no local (GABEL & THIÉRY, 1996).

Muitas vezes, misturas de ácidos graxos resultantes da extração do córion dos ovos foram apresentadas a alguns insetos, e conclusões parecidas foram encontradas. Em *Cydia pomonella* (Lepidoptera), indivíduos evitaram depositar seus ovos em locais onde uma mistura contendo sete ácidos graxos, provenientes dos ovos dessa espécie, estava presente; nessa mistura, estavam incluídos os ácidos mirístico, palmitoleico e palmítico (THIÉRY *et*

al., 1995), os ésteres miristato (derivado do ácido mirístico) e o palmitato também foram identificados nas extrações dos ovos, porém não foram testados. Em alguns casos, essas substâncias podem ser reconhecidas entre espécies. Misturas contendo três ácidos graxos, inclusive o mirístico e o palmítico, e mais alguns ésteres, incluindo o palmitato e o palmitoleato (derivado do ácido palmitoleico) extraídos dos ovos de *Lobesia botrana* foram reconhecidas por três outras espécies, e essas decidiram então, não ovipor no local (THIÉRY & GABEL, 1993).

Esses compostos nem sempre são encontrados nos ovos, mas a função exercida por eles parece ser a mesma. Li & Ishikawa (2004) constataram a presença de cinco ácidos graxos nas fezes de imaturos de quatro espécies de mariposas. Essa mistura de ácidos graxos, que incluía ácido palmítico, desencoraja as fêmeas de todas as espécies do projeto desses autores a depositarem novos ovos no local de aplicação da substância. Ácido palmítico foi encontrado em grandes quantidades no abdômen e no tarso de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera) junto com ácido oléico e quando testados, apresentaram atividade de repelência e desencorajamento para outras fêmeas oviporem (LI *et al.*, 2001). Há estudos com Coleoptera que evidenciam a presença de ácido palmítico em secreções liberados por glândulas, tendo a mesma função de inibidores de oviposição (MUDD *et al.*, 1997).

Aparentemente, para muitos insetos, esses ácidos e seus ésteres derivados, agem principalmente como O.D.P.s, (do inglês: Oviposition-detering pheromones) (LI *et al.*, 2001; LI & ISHIKAWA, 2004), desencorajando oviposições de fêmeas da mesma espécie ou de outras espécies que competem por recursos e locais para oviposição.

Nos casos citados, esses compostos foram, provavelmente, percebidos pelos insetos de duas maneiras: devido às propriedades físico-químicas descritas para os ácidos graxos, sua não volatilidade não permite sua percepção pelo olfato, e possivelmente sua percepção ocorreu por contato direto com a substância (THIÉRY *et al.*, 1995; GABEL & THIÉRY, 1996; LI & ISHIKAWA, 2004). Entre os insetos, não é incomum a percepção de O.D.P.s através de quimiorrecepção por contato, que ocorre em representantes das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera (KLIJNSTRA & ROESSINGH, 1986; STÄDLER *et al.* 1994; RŮZICKA, 2003). O segundo modo de detecção está relacionado com os ésteres derivados desses ácidos, que por possuírem cadeias menores e ligações moleculares mais instáveis, são voláteis (McMURRY, 2004) e possivelmente detectados pelo olfato. Guo & Li (2009) demonstraram que uma mistura de três ésteres, incluindo o palmitato, é reconhecida olfativamente pelas fêmeas da espécie *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera).

Como relatado anteriormente, as análises químicas do córion dos ovos de *C. megacephala* não constaram nenhuma substância volátil e nenhum éster esteve presente. Novos testes e análises devem ser realizados com os ovos para ter certeza se eles realmente não existem para essa espécie ou se apenas, não foram registrados. Com relação aos ácidos, por serem compostos não voláteis, não teriam como influenciar as fêmeas dessa mosca-varejeira nos bioensaios realizados. Esses últimos levaram em conta apenas a percepção olfativa dos indivíduos. Contudo, isso não significa que esses ácidos não possam ter uma função para essa espécie.

Para Ives (1989), é provável que as fêmeas de *Chrysomya* sejam capazes de avaliar o substrato, diminuindo o tamanho de suas oviposições em locais muito saturados com ovos ou larvas, ou procurando outro local para ovipor. A presença e a concentração dos ácidos citados anteriormente podem ter papel importante nessa avaliação das fêmeas de *C. megacephala* do substrato com ovos. Sensilas presentes na região do ovipositor dessa espécie já foram detalhadas e sugestões de que esses possam ter função de quimiorrecepção por contato, regulando a oviposição, já foram propostas (CHAIWONG *et al.*, 2008).

Nos resultados do presente projeto, a concentração dos ácidos palmitoleico e palmítico aumentou com o passar do tempo. Lam *et al.* (2007) observaram que fêmeas de *Musca domestica* devem evitar oviposições próximas a ovos velhos ou na iminência de eclosão das larvas, porque a progênie pode ser canibalizada por uma geração mais nova originada de eventos de oviposição anteriores, diminuindo sua sobrevivência. Situação semelhante pode ocorrer para *C. megacephala*, se a fêmea ovipor junto a ovos mais velhos, sua progênie irá eclodir e enfrentar uma alta competitividade por alimento com larvas mais velhas e maiores, provenientes de oviposições anteriores, diminuindo suas chances de sobrevivência.

Portanto, novos testes podem comprovar se as altas concentrações desses ácidos podem ser percebidas pelas fêmeas, através do contato direto, como um sinal de ovos mais velhos ou grandes quantidades de ovos e induzi-las a evitar novas oviposições, estimulando-as a procurar um local com menos ovos ou ovos mais novos, ajudando a corroborar a proposta de Ives (1989) e os resultados de Lam *et al.* (2007).

Porém, não há relatos na literatura sobre o perfil químico dos ovos dessa espécie nem das funções de seus compostos, portanto para confirmar os efeitos desses ácidos em *C. megacephala* e como eles atuam, ainda são necessários mais estudos. Esses ácidos são facilmente sintetizados ou comprados no mercado, possibilitando idéias para novos bioensaios que permitiriam a obtenção de novos resultados. Outra possibilidade seria sintetizar os ésteres dos ácidos encontrados e analisar seus possíveis efeitos em moscas-varejeiras.

Anteriormente, foram citados também os alcanos lineares, monometilalcanos, dimetilalcanos e alcenos, ou seja, os hidrocarbonetos, que são todos altamente representativos nas amostras. São hidrocarbonetos, pois esses compostos possuem nas cadeias apenas átomos de hidrogênio e carbono.

Os hidrocarbonetos cuticulares em insetos solitários são espécie – específicos e geralmente sexo - específicos, ou seja, sua função é reconhecer outros indivíduos da mesma espécie durante o contato (SINGER, 1988). Possivelmente, esses hidrocarbonetos encontrados no córion dos ovos possam servir como sinais que os identificam como sendo de *C. megacephala* para outras fêmeas da mesma espécie, possibilitando uma oviposição agregada, pois se sabe que fêmeas de *C. megacephala* evitam ovipor em locais que contenham imaturos de outras espécies de varejeiras (GIÃO & GODOY, 2006; YIANG & SHIAO, 2012). Emmens (1981) constatou a presença de lipídios cuticulares nas fêmeas de *Lucilia cuprina* que parecem atrair outros indivíduos para uma oviposição agregada, mas esses hidrocarbonetos não foram identificados.

Novamente, não há relatos na literatura da presença e nem das características funcionais desses hidrocarbonetos presentes nos ovos de Calliphoridae que tenham alguma influência em fêmeas coespecíficas. Dessa forma, novas análises químicas e testes laboratoriais envolvendo esses hidrocarbonetos devem ser propostos, para uma melhor compreensão de seu papel no comportamento de moscas-varejeiras.

6. Conclusões

- As fêmeas de *C. megacephala* não demonstraram preferência pelos locais sem ovos, em relação ao substrato de oviposição.
- As fêmeas demonstraram preferência pelo local que continha massa prévia de ovos, somente no Tratamento D, priorizando a agregação dos ovos neste caso.
- Não foi encontrado nenhum composto volátil na análise química dos ovos.
- A composição do córion do ovo de *C. megacephala* é uma mistura complexa de compostos que possuem cadeia carbônica entre 11 e 31 átomos.
- Os ácidos graxos merecem destaque nesta composição, possibilitando sugerir seu papel na regulação da oviposição nesta espécie de mosca-varejeira.
- Uma grande quantidade de hidrocarbonetos foi relatada no córion dos ovos.

7. Referências Bibliográficas

AAK, A.; BIRKEMOE, T.; KNUDSEN, G. K. Efficient mass trapping: catching the pest, *Calliphora vicina*, (Diptera, Calliphoridae), of Norwegian stockfish production. *Journal of Chemical Ecology*, v. 37, n. 9, p. 924–931, 2011.

AAK, A.; KNUDSEN, G. K.; SOLENG, A. Wind tunnel behavioral response and field trapping of the blowfly *Calliphora vicina*. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 24, n. 3, p. 250–257, 2010.

AGELOPOULOS, N. G.; HOOPER, A. M.; MANIAR, S. P.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. A novel approach for isolation of volatile chemicals released by individual leaves of a plant *in situ*. *J. Chem. Ecol.* 25, v. (6), p. 1411–1425, 1999.

AGELOPOULOS, N. G.; PICKETT, J. A. Headspace analysis in chemical ecology: Effects of different sampling methods on ratios of volatile compounds present in headspace samples. *J. Chem. Ecol.* v. 24, n. 7, p. 1161–1172, 1998.

ALTAFINI, D. L.; SANT'ANA, J.; REDAELLI, L. R. Efeito de Fatores Endógenos na Percepção Química de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) ao Feromônio Sexual. *Neotropical Entomology*, v. 39, n. 3, p. 330-337, 2010.

ANDERSON, P. Oviposition pheromones in herbivorous and carnivorous insects. In: HILKER, M.; MEINERS, T. (Org). *Chemoecology of insect eggs and deposition*. Berlin, Germany: Blackwell Publishing, 2002. p. 235-263.

ANDERSON, G.S.; VANLAERHOVEN, S.L. Initial Studies on Insect Succession on Carrion in Southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Science*, v. 41, p. 617-625, 1996.

ARCHER, M. S.; ELGAR, M. A. Female breeding-site preferences and larval feeding strategies of carrion-breeding Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera): a quantitative analysis. *Australian Journal of Zoology*, v. 51, n. 2, p. 165-174, 2003.

ASHWORTH, J. H.; WALL, R. Responses of the sheep blowflies *Lucilia sericata* and *L. cuprina* to odour and the development of semiochemical baits. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 8, n. 4, p. 303-309, 1994.

AVERILL, A. L. & PROKOPY, R. J. Intraspecific competition in the tephritid fruit fly *Rhagoletis pomonella*. *Ecology*, v. 68, p. 878-886, 1987.

BARROS-CORDEIRO, K.B. & PUJOL-LUZ, J. R. Morfologia e duração do desenvolvimento pós embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 50, p. 709-717, 2010.

BARTON-BROWNE, L. The role of olfaction in the stimulation of oviposition in the blowfly, *Phormia regina*. *J. Insect. Physiol.*, v. 5, p. 16-22, 1960.

BIRKETT, M. A.; ANGELOPOULOS, N.; JENSEN, K-M. V.; JESPERSEN, J. B.; PICKETT, J. A.; PRIJS H. J.; THOMAS, G.; TRAPMAN, J. J.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. The role of volatile semiochemicals in mediating host location and selection by nuisance and disease-transmitting cattle flies. *Med. Vet. Entomol.* v. 18, p. 313–322, 2004.

BLIGHT, M. M. *Techniques for isolation and characterization of volatile semiochemicals of phytophagous insects*, 1990.

BRAACK, L.E.O. Community dynamics of carrion-attendant arthropods in tropical African woodland. *Oecologia*, v. 72: p. 402-409, 1987.

BRIAN, M. V. & RIGBY, C. *Insectes Soc.* v. 25, p. 89–110, 1978.

BIRKETT, M. A.; ANGELOPOULOS, N.; JENSEN, K-M. V.; JESPERSEN, J. B.; PICKETT, J. A.; PRIJS, H. J.; THOMAS, G.; TRAPMAN, J. J.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. The role of volatile semiochemicals in mediating host location and selection by nuisance and disease-transmitting cattle flies. *Med. Vet. Entomol.* v. 18, p. 313–322, 2004.

BRODIE, B. S.; WONG, W. H.; VANLAERHOVEN, S. & GRIES, G. Is aggregated oviposition by the blow flies *Lucilia sericata* and *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) really pheromone-mediated?. *Insect science*, 2014.

BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. 2 ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010. 681p.

CAMPOBASSO, C. P.; MARCHETTI, D.; INTRONA, F. & COLONNA, M. F. Postmortem artifacts made by ants and the effect of ant activity on decompositional rates. *The American journal of forensic medicine and pathology*, v. 30, n. 1, p. 84-87, 2009.

CAMPOS, C. F. M.; BARROS, A. T. Dípteros muscóides da área urbana de Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 55, n. 3, p. 351-354, 1995.

CARVALHO, C. J. B.; MELLO-PATIU, C. A. Keys to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, n. 3, p. 390-406, 2008.

CARVALHO, L. M. L.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X.; PALHARES, F. A. B. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 95, n. 1, p. 135–138, 2000.

CATTS, E.P; GOFF, M.L. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 37, p. 253-272, 1992.

CHAIWONG, T.; SUKONTASON, K.; OLSON, J. K.; KURAHASHI, H.; CHAITHONG, U.; SUKONTASON, K. L. Fine structure of the reproductive system of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae): the external sexual organ. *Parasitol. Res.* v. 102, p. 973–980, 2008.

CHAPMAN, R. F. *The insects: structure and function*. Cambridge university press. 1998.

CHARABIDZE, D., BOUREL, B. & GOSSET, D. Larval-mass effect: characterisation of heat emission by necrophageous blowflies (Diptera: Calliphoridae) larval aggregates. *Forensic Science International*, v. 1-3, p. 61-66, 2011.

CIANCI, T.J. & SHELDON, J.K. Endothermic generation by blowfly larvae *Phormia regina* developing in pig carcasses. *Bulletin of the Society of Vector Ecology*, v. 15, p. 33–40, 1990.

D'ALMEIDA, J. M; ALMEIDA, J. R. Nichos tróficos em dípteros caliptrados no Rio de Janeiro, RJ. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 58, n. 4, p. 563-570, 1998.

D'ALMEIDA, J. M. Capture of Caliptrate with different breeding substrates on beaches in Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 88, n. 2, p. 215-220, 1993.

D'ALMEIDA, J. M. Substratos utilizados para a criação de dípteros caliptrados no jardim zoológico do Rio de Janeiro (Rio-Zoo). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 84, n. 2, p. 257-264, 1989.

D'ALMEIDA, J. M. Substratos utilizados para a criação de dípteros caliptrados em uma área urbana do Município do Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 83, n.2, p. 201-206, 1988.

D'ALMEIDA, J. M. Substratos utilizados para a criação de dípteros caliptrados em uma área rural do Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 9, p. 13-22, 1986.

DANI, F. R.; CANNONI, S.; TURILLAZZI, S. & MORGAN, E. D. Ant repellent effect of the sternal gland secretion of *Polistes dominulus* (Christ) and *P. sulcifer* (Zimmermann).(Hymenoptera: Vespidae). *Journal of chemical ecology*, v. 22, n. 1, p. 37-48, 1996.

DAVIS, T. S.; CRIPPEN, T. L.; HOFSTETTER, R. W. & TOMBERLIN, J. K. Microbial volatile emissions as insect semiochemicals. *Journal of chemical ecology*, v. 39, n. 7, p. 840-859, 2013.

DE JONG, G. The influence of the distribution of juveniles over patches of food on the dynamics of a population. *Netherlands Journal of Zoology*, v. 29, n. 1, p. 33-51, 1978.

DE JONG, G. A model of competition for food. I. Frequency-dependent viabilities. *The American Naturalist*, v. 110, n. 976, p. 1013-1027, 1976.

DEONIER, C.C. Carcass temperatures and their relation to winter blowfly populations and activity in the southwest. *Journal of Economic Entomology*, v. 33, p. 166–170, 1940.

DOUGHERTY, M.J. & HAMILTON, G. Dodecanoic acid is the oviposition pheromone of *Lutzomyia longipalpis*. *J. Chem. Ecol.*, v. 23, p. 2657- 2671, 1997.

DOUGHERTY, M.J.; HAMILTON, J.G.C. & WARD, R.D. Isolation of oviposition pheromone from the eggs of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Med. Vet. Entomol.*, v. 8, p. 119-124, 1994.

DOUGHERTY, M.J.; WARD, R.D. & HAMILTON, G. Evidence for the accessory glands as the site of production of the oviposition attractant and/ or stimulant of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J. Chem. Ecol.*, v. 18, p. 1165- 1175, 1992.

EISNER, T.; ATTYGALLE, A. B.; CONNER, W. E.; EISNER, M.; MACLEOD, E. & MEINWALD, J. Chemical egg defense in a green lacewing (*Ceraeochrysa smithi*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 93, n. 8, p. 3280-3283, 1996.

EL-KADY, E.M. Problems facing application of forensic entomology. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v. 2, p. 280–289, 1999.

EL NAIEM, D.A. & WARD, R.D. Response of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to an oviposition pheromone associated with conspecific eggs. *Med. Vet. Entomol.* , v. 5, p. 87-91, 1991.

EMMENS, J. H.; MURRAY, M. D. The effect of substrate pH on oviposition by *Lucilia cuprina* (Wiedemann), the Australian sheep blowfly. *Australian Journal of Entomology*, v. 22, n. 4, p. 343-344, 1983.

ENDLER, A.; LIEBIG, J.; SCHMITT, T.; PARKER, J. E.; JONES, G. R.; SCHREIER, P. & HÖLLDOBLER, B. Surface hydrocarbons of queen eggs regulate worker reproduction in a social insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 9, p. 2945-2950, 2004.

ERZINCLIOGLU, Z. *Blowflies*. Slough, Great Britain: Richmond Publishing, 1996, 71 p.

ESSER, J. R. Biology of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) and reduction of losses caused to the salted-dried fish industry in south-east Asia. *Bulletin of Entomological Research*, v. 81, n. 1, p. 33-41, 1991.

ESSER, J. R. Factors influencing oviposition, larval growth and mortality in *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), a pest of salted dried fish in south-east Asia. *Bulletin of Entomological Research*, v. 80, n. 4, p. 369-376, 1990.

FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÁRSI, C. M.; BURALLI, G. M.; ISHIHATA, G. K. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil. *Revista de Microbiologia*, v. 15, n. 3, p.170-174, 1984.

GABEL, B.; THIÉRY, D. Oviposition response of *Lobesia botrana* females to long-chain free fatty acids and esters from its eggs. *Journal of chemical Ecology*, v. 22, n. 1, p. 161-171, 1996.

GABRE, R. M.; F. F. ADHAM & H. CHI. Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). *Acta Oecologica*, v. 27, p. 179–183, 2005.

GEIER, M. & BOECKH, J. A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. *Entomol. Exp. Appl.* v. 92, p. 9 -19, 1999.

GIÃO, J. Z. & GODOY, W. A. C. Ovipositional behavior in predator and prey blowflies. *Journal of Insect behavior*, v. 20, n. 1, p. 77-86, 2007.

GOODBROD, J.R. & GOFF, M.L. Effects of larval populations density on rates of development and interactions between two species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture. *Journal of Medical Entomology*, v. 27, p. 338–343, 1990.

GOMES, L. Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais. 523p. Editora: *Technical Books*, ISBN: 9788561368135, 2010.

GOMES, L.; GOMES, G.; CASARIN, F. E.; SILVA, I. M. D.; SANCHES, M. R.; VON ZUBEN, C. J. & FOWLER, H. G. Visual and olfactory factors interaction in resource-location by the blowfly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius)(Diptera: Calliphoridae), in natural conditions. *Neotropical entomology*, v. 36, n. 5, p. 633-639, 2007.

GOMES, L. *et al.* Occurrence of Hymenoptera on *Sus scrofa* carcasses during summer and winter seasons in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 51, n. 3, p. 394-396, 2007.

GOMES, L; M. R. SANCHES, M. R.; VON ZUBEN, C. J. Dispersal and burial behavior in larvae of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *Journal of Insect Behavior*, v. 18, p. 281–292. 2005.

GRASSBERGER, M.; FRIEDRICH, E.; REITER, C. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *International Journal of Legal Medicine*, v. 117, n. 2, p. 75-81, 2003.

GREENBERG, B. & KUNICH, J.C. *Entomology and the Law*. Cambridge, UK, Cambridge University Press, 2002.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. *Myiasis in man and animals in the Neotropical Region*. São Paulo: Ed. Plêiade e FAPESP, 1999. 308p.

GUIMARÃES, J. H., PRADO, A. P., BURALLI, G. M. Dispersal and Distribution of the three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 23, n. 4, p. 245-255, 1979.

GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; LINHARES, A. X. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 22, n. 1, p. 53-60, 1978.

GUO, L.; LI, G. Q. Olfactory perception of oviposition-detering fatty acids and their methyl esters by the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *Journal of Insect Science*, v. 9, 2009.

HANSKI, I. Nutritional ecology of dung- and carrion-feeding insects. In: SLANSKY, F., RODRIGUEZ, F. G. (Eds). Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. New York: *John Wiley and Sons*, 1987. p. 837-844.

HANSSON, B. S. Insect olfaction. *Springer*, 1999.

HANSSON, B. S. A bug's smell – research into insect olfaction. *Trends. Neurosci.* v. 25, p. 270–274, 2002.

HEATH, A. C. G. Beneficial aspects of blowflies (Diptera: Calliphoridae). *New Zealand Entomologist*, v. 7, n. 3, p. 343-348, 1982.

HERZOG, J. D. A., MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V., FERREIRA, Y. L. Observações preliminares sobre o ritmo horário de oviposição de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 21, n. 1, p. 101-106, 1992.

HÖLLER, C.; WILLIAMS, H. J. & VINSON, S. B. Evidence for a two component external marking pheromone system in an aphid hyperparasitoid. *Journal of Chemical Ecology*, v. 17, p. 1021-1035, 1991.

HOUGH, J. A.; ECKENRODE, C. J. & HARMAN, G. E. Nonpathogenic bacteria affecting oviposition behavior in the onion fly *Hylemya antique*. *Environmental Entomology*, v. 11, p. 585-589, 1982.

HURST, J. L.; ROBERTSON, D. H. L.; TOLLADAY, U. & BEYNON, R. J. Proteins in urine scent marks of male house mice extend the longevity of olfactory signals. *Animal Behavior*, v. 55, p. 1289-1297, 1998.

IMBIRIBA, A. S.; D. T. IZUTANI; I. T. MILHORETO & E. LUZ. Introdução da *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na região Neotropical (Diptera: Calliphoridae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v. 20, p. 35-39, 1977.

IGNELL, R.; HANSSON, B. Insect olfactory neuroethology – an electrophysiological perspective. In: *Christensen TA (ed) Methods in insect sensory neuroscience*. CRC, Florida, p. 319–348, 2005.

IVES, A.R. Aggregation and coexistence in carrion fly community. *Ecological Monographs*, v. 61, n. 1, p. 75-94, 1991.

IVES, A. R. The optimal clutch size of insects when many females oviposit per patch. *The American Naturalist*, v. 133, p. 671-687, 1989.

JIANG, Y.; LEI, C. L.; NIU, C. Y.; FANG, Y. L.; XIAO, C. & ZHANG, Z. N. Semiochemicals from ovaries of gravid females attract ovipositing female houseflies, *Musca domestica*. *Journal of insect physiology*, v. 48, n. 10, p. 945-950, 2002.

JOHANSEN, H.; SOLUM, M.; KNUDSEN, G. K.; HAGVAR, E. B.; NORLI, H. R.; AAK, A. Blowfly responses to semiochemicals produced by decaying carcasses. *Medical and Veterinary Entomology*, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/mve.12016>. Acesso em 02 de novembro de 2014.

JUDD, G. J. R. & BORDEN, J. H. Aggregated oviposition in *Delia antiqua* (Meigen): a case for mediation by semiochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, 18, 621-635, 1992.

KENNEDY, J. S.; BOOTH, C. O.; KERSHAW, W. J. S. Host finding by aphids in the field—I. Gynoparae of *Myzus persicae* (Sulzer). *Ann. Appl. Biol.* v. 47, p. 410–423, 1959a.

KENNEDY, J. S.; BOOTH, C. O.; KERSHAW, W. J. S. Host finding by aphids in the field—II. *Aphis fabae* Scop. (Gynoparae) and *Brevicoryne brassicae* L.; with a re-appraisal of the role of host-finding behaviour in virus spread. *Ann. Appl. Biol.* v. 17, p. 424–444, 1959b.

KENNEDY, J. S.; BOOTH, C. O.; KERSHAW, W. J. S. Host finding by aphids in the field—III. Visual attraction. *Ann. Appl. Biol.* v. 49, p. 1–21, 1961.

KLIJNSTRA, J. W.; ROESSINGH, P. Perception of the oviposition deterring pheromone by tarsal and abdominal contact chemoreceptors in *Pieris brassicae*. *Entomologia experimentalis et applicata*, v. 40, n. 1, p. 71-79, 1986.

KNEIDEL, K. A. Influence of carcass taxon and size on species composition of carrion-breeding diptera. *American Midland Naturalist*, v. 111, n. 1, p. 57-63, 1984.

LAKES, R.; POLLACK, G. S. The development of the sensory organs of the legs in the blowfly, *Phormia regina*. *Cell Tissue Res.* v. 259, p. 93–103, 1990.

LAM, K.; BABOR, D.; DUTHIE, B.; BABOR, E. M.; MOORE, M. & GRIES, G. Proliferating bacterial symbionts on house fly eggs affect oviposition behaviour of adult flies. *Animal behaviour*, v. 74, n. 1, p. 81-92, 2007.

LEBLANC, H. N.; LOGAN, J. G. Exploiting insect olfaction in forensic entomology. *Springer Netherlands*, 2010.

LEBLANC, H. N. *Olfactory stimuli associated with the different stages of vertebrate decomposition and their role in the attraction of the blowfly Calliphora vomitoria (Diptera: Calliphoridae) to carcasses*. The University of Derby for the Degree of Doctor of Philosophy, 2008.

LECCESE, A. Insects as forensic indicators: methodological aspects. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, v. 5, p. 33-39, 2004.

LEFBVERE, F.; PASQUERAULT, T. Temperature-dependent development of *Ophyra aenescens* (Wiedemann 1830) and *Ophyra capensis* (Wiedemann 1818) (Diptera, Muscidae). *Forensic Science International*, v. 139, p. 75–79, 2004.

LI, G.; ISHIKAWA, Y. Oviposition deterrents in larval frass of four *Ostrinia* species fed on an artificial diet. *Journal of chemical ecology*, v. 30, n. 7, p. 1445-1456, 2004.

LI, G.; ZHAOJUN, H.; LILI, M.; XIAORAN, Q.; CHANGKUN, C. & YINCHANG, W. Natural oviposition-deterrent chemicals in female cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Journal of insect physiology*, v. 47, n. 9, p. 951-956, 2001.

LINHARES, A. X. The gonotrophic cycle of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in the laboratory. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 32, p. 383-392, 1988.

LOGAN, J. G. SEAL, N. J. COOK, J. I.; STANCZYK, N. M.; BIRKETT, M. A. CLARK, S. J.; GEZAN, A. S.; WADHAMS, L. J.; PICKETT, J. A.; MORDUE, J. Identification of human-derived volatile chemicals that interfere with attraction of the Scottish Biting Midge and their potential use as repellents. *J. Med. Entomol.* v. 46, p. 208–219, 2009.

LOGAN, J. G.; BIRKETT, M. A.; CLARK, S. J.; POWERS, S.; SEAL, N. J.; WADHAMS, L. J.; MORDUE, A. J.; PICKETT, J. A. Identification of human-derived volatile chemicals that interfere with attraction of *Aedes aegypti* mosquitoes. *J. Chem. Ecol.* v. 34, p. 308–322, 2008.

LOCKEY, K.H. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, v. 89, p. 595–645, 1988.

MARTIN, S. J.; JONES, G. R.; CHÂLINE, N. & RATNIEKS, F. L. Role of hydrocarbons in egg recognition in the honeybee. *Physiological Entomology*, v. 29, n. 4, p. 395-399, 2004.

MARTINS, G. A. & FONSECA, J. S. Curso de estatística. *Atlas*, 6ª Edição, 1996.

McCALL, P. J. Chemoecology of oviposition in insects of medical and veterinary importance. In: HILKER, M.; MEINERS, T. (Org). *Chemoecology of insect eggs and deposition*. Berlin, Germany: Blackwell Publishing, 2002. p. 265-289.

McCALL, P.J. Oviposition aggregation pheromone in the *Simulium damnosum* complex. *Med. Vet. Entomol.*, v. 9, p. 101-108, 1995.

McCALL, P.J.; TREES, A.J.; WALSH, J.F. & MOLYNEUX, D.H. Aggregated oviposition in the *Simulium damnosum* complex is mediated by eggs in a laboratory bioassay. *Med. Vet. Entomol.*, v. 8, p. 76-80, 1994.

MCINDOO, N.E. An insect olfactometer. *Journal of Economic Entomology*, v. 19, p. 545-571, 1926.

McIVER, S. B. Sensilla of mosquitos (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, v. 19, p. 489-535, 1982.

McMURRY, J. *Organic Chemistry*, 6th ed. Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

MENDES, J.; LINHARES, A. X. Atratividade por iscas e estágios de desenvolvimento ovariano em várias espécies sinantrópicas de Calliphoridae (Diptera). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 37, n. 1, p. 157-166, 1993.

MORAES, M. C. B.; SOUSA, L. M. P. de; LAUMANN, R.; BORGES, M. Metodologia para estudos de semioquímicos e a sua aplicação no manejo de pragas: a influência de voláteis de soja no comportamento do parasitóide *Telenomus podisi*. Brasília: *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, v. 6, p. 24, 2003.

MUDD, A.; FERGUSON, A.W.; BLIGHT, M. M.; WILLIAMS, I. H.; SCUBLA, P.; SOLINAS, M. & CLARK, S. J. Extraction, isolation, and composition of oviposition-detering secretion of cabbage seed weevil *Ceutorhynchus assimilis*. *J. Chem. Ecol.* v. 23, p. 2227-2240, 1997.

NORDLUND, D. A.; LEWIS, W. J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *J. Chem. Ecol.* v. 2 n. (2), p. 211–220, 1976.

NORRIS, K. R. The Bionomics of blow flies. *Annual Review of Entomology*, v. 10, n. 1, p. 47–68, 1965.

OLIVEIRA-COSTA, J. Entomologia Forense: quando os insetos são os vestígios. In: *Tratado de perícias criminalísticas*. Millennium, 2008.

OLIVEIRA, M. A.; DO LAGO, C. L.; TAVARES, M. F. & DA SILVA, J. A. F. Análise de ácidos graxos por eletroforese capilar utilizando detecção condutométrica sem contato. *Quimica Nova*, v. 26, n. 6, p. 821-824, 2003.

OLIVEIRA, V. C. DE; MELLO, R. P. DE; D' ALMEIDA, J. M. Muscoid dipterans as helminth eggs mechanical vectors at the zoological garden, Brazil. *Revista de Saúde Pública*, v. 36, n. 5, p. 614–620, 2002.

PACZKOWSKI, S.; SCHÜTZ, S. Post-mortem volatiles of vertebrate tissue. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 91, n. 4, p. 917–935, 2011.

PAYNE, J. A. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology*, p. 592-602, 1965.

PESCHKE, K.; KRAPF, D.; FULDNER, D. Ecological separation, functional relationships, and limiting resources in a carrion insect community. *Zoological Jb. System*, v. 114, p. 241-265, 1987

PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. Insect supersense: mate and host location by insects as model systems for exploiting olfactory interactions. Reprinted from – *The Biologist*. Portland Press Ltd, London, 1998.

REED Jr, H.B. A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. *Amer. Midl. Nat.*, v. 59, p. 213-245, 1958.

RICE, M. J. Contact Chemoreceptors on the Ovipositor of *Lucilia Cuprina* (Wied.), The Australian Sheep Blowfly. *Australian Journal of Zoology*, v. 24, n. 3, p. 353-360, 1976.

RIVERS, D. B.; THOMPSON, C.; BROGAN, R. Physiological trade-offs of forming maggot masses by necrophagous flies on vertebrate carrion. *Bulletin of entomological research*, v. 101, n. 5, p. 599-611, 2011.

ROY, P.; DASGUPTA, B. Behavior of *Chrysomya megacephala* (Fabr.) and *Hemipyrellia ligurriens* (Wied) as parasites of living animals under experimental conditions. *S. Afr. J. Med. Sci.* v. 36 n. 4, p. 85-91, 1971.

RŮZICKA, Z. Perception of oviposition-detering larval tracks in aphidophagous coccinellids *Cycloneda limbifer* and *Ceratomegilla undecimnotata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, v. 100, n. 3, p. 345-350, 2003.

SCHOENLY, K.; GRIEST, K.; RHINE, S. An Experimental Field Protocol for Investigating the Postmortem Interval Using Multidisciplinary Indicators. *Journal of Forensic Sciences*, v. 36, p. 1395-1415, 1991.

SELBY, M. J. Chemical ecology of the carrot fly, *Psila rosae* (F.): laboratory and field studies. The University of Nottingham for the Degree of Doctor of Philosophy, 2003.

SHERMAN, R. A.; PECHTER, E. A. Maggot therapy: a review of the therapeutic applications of fly larvae in human medicine, especially for treating osteomyelitis. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 2, n. 3, p. 225-230, 1988.

SHIELDS, V. D. C.; HILDEBRAND, J.G. Recent advances in insect olfaction, specifically regarding the morphology and sensory physiology of antennal sensillae of the female Sphinx Moth *Manduca sexta*. *Microsc. Res. Tech.* v. 55, p. 307-329, 2001.

SILVA, A. S. DA; ZANETTE, R. A.; MONTEIRO, S. G. Biologia da mosca *Phaenicia sericata* em diferentes substratos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n. 2, p. 63-66, 2008.

SINGER, T. L. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *American Zoologist*, v. 38, n. 2, p. 394-405, 1998.

SINGER, T. L.; CAMANN, M. A. & ESPELIE, K. E. Discriminant analysis of cuticular hydrocarbons of social wasp *Polistes exclamans* Viereck and surface hydrocarbons of the paper and pedicel. — *J. Chem. Ecol.* v. 18, p. 785–797, 1992.

SMITH, K. G. V. *A manual of forensic entomology*. Trustees of the British Museum, London, 1986.

STÄDLER, E.; ERNST, B.; HURTER, J. & BOLLER, E. Tarsal contact chemoreceptor for the host marking pheromone of the cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*: responses to natural and synthetic compounds. *Physiological Entomology*, v. 19, p. 139-151, 1994.

THIÉRY, D.; GABEL, B.; FARKAS, P. & JARRY, M. Egg dispersion in codling moth: influence of egg extract and of its fatty acid constituents. *Journal of chemical ecology*, v. 21, n. 12, p. 2015-2026, 1995.

THIÉRY, D.; GABEL, B. Inter-specific avoidance of egg-associated semiochemicals in four tortricids. *Experientia*, v. 49, n. 11, p. 998-1001, 1993.

THOMPSON, S. N. A review and comparative characterization of the fatty acid compositions of seven insect orders. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, v. 45, n. 2, p. 467-482, 1973.

THOMPSON, F. C. Nomenclator Status Statistics. Beltsville, Maryland, 2006. The Diptera site. *The BioSystematic Database of World Diptera*. Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov/Diptera/names/Status/bdwdstat.htm>> Acesso em 20 mar. 2014.

THURMAN, Earl Michael (Ed.). *Organic geochemistry of natural waters*. Springer, 1985.

TRIPLEHORN, C. A. & JOHNSON, N. F. Estudo dos Insetos. Editora: *Cengage Learning*. 808p. 2011.

VAN WOLK, F. M. D. The typology and topography of the tarsal chemoreceptors of the blow flies *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy and *Phormia terranova* Robineau-Desvoidy and the Housefly *Musca domestica* L. *J. Morphol.* v. 157, p. 201–209, 1978.

VON ZUBEN, C. J. Individual oviposition behavior, percentage of egg hatching and minimum weight for successful pupation in populations of *Chrysomya megacephala* (F.). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 27, n. 4, p. 525-533, 1998.

VON ZUBEN, C. J.; BASSANEZI, R. C.; REIS, S. F.; GODOY, W. A. C.; ZUBEN, F. J. V. Theoretical approaches to forensic entomology: I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. *Journal of Applied Entomology*, v. 120 p. 379-382, 1996.

WADHAMS, L. J. The use of coupled gas chromatography: electrophysiological techniques in the identification of insect pheromones. In: *Chromatography and isolation of insect hormones and pheromones*. Springer US, p. 289-298, 1991.

WALL, R.; FISHER, P. Visual and olfactory cue interaction in resource-location by the blowfly *Lucilia sericata*. *Physiological Entomology*, v. 26, n. 3, p. 212–218, 2001.

WALLIS, D. I. Olfactory stimuli and oviposition in the blowfly, *Phormia Regina* Meigen. *Journal of Experimental Biology*, v. 39, n. 4, p. 603-615, 1962.

WELLS, J. D.; GREENBERG, B. 1992. Interaction between *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): the possible consequences of an invasion. *Bulletin of Entomological Research*, v. 82, p. 133-137, 1992.

WERTHEIM, B.; BAALEN, E. A. V.; DICKE, M.; VET, L. E. M. Pheromone-mediated aggregation in nonsocial arthropods: An evolutionary ecological perspective. *Annual Review of Entomology*, v. 50, p. 321-346, 2005.

WIJESUNDARA, D.P. The life-history and bionomics of *Chrysomya megacephala* (Fab.). *Ceylon Journal of Science*, v. 25, p. 169–185, 1957.

WILSON, M.D.; OSEI-ATWENEBOANA, M.Y.; BOAKYE, D.A. & McCALL, P.J. Improved survival and oviposition of *Simulium damnosum* (Diptera: Simuliidae) in the laboratory. *Bull. ent. Res.*, v. 90, p. 285- 289, 2000.

WOOLDRIDGE, J.; SCRASE, L.; WALL, R. Flight activity of the blowflies, *Calliphora vomitoria* and *Lucilia sericata*, in the dark. *Forensic science international*, v. 172, n. 2, p. 94-97, 2007.

WRIGHT, R. H. An insect olfactometer. *Can. Entomol.*, v. 98, p. 282-285, 1966.

YEATES, D. K.; WIEGMANN, B. *The Evolutionary Biology of Flies*. New York, United States of America: Columbia University Press, 2005. 430 p.

YANG, S-T.; SHIAO, S-F. Oviposition preferences of two forensically important blow fly species, *Chrysomya megacephala* and *C. rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), and implications for postmortem interval estimation. *Journal of medical entomology*, v. 49, n. 2, p. 424-435, 2012.

ZHOU, J. J.; HUANG, W. S.; ZHANG, G. A.; PICKETT, J. Á.; FIELD, L. M. “Plus-C” odorant-binding protein genes in two *Drosophila* species and the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Gene* v. 327, p. 117–129, 2004.

ZUCOLOTO F. S. Effects of flavour and nutritional value on a diet selection by *Ceratitis capitata* larvae (Diptera Tephritidae). *Journal of Insect Physiology* v. 37, p. 21–25, 1991.

ZUMPT, F. *Myiasis in man and animals in the Old World*. London: Butterworths, 267 p, 1965.

7. Referências Bibliográficas

AAK, A.; BIRKEMOE, T.; KNUDSEN, G. K. Efficient mass trapping: catching the pest, *Calliphora vicina*, (Diptera, Calliphoridae), of Norwegian stockfish production. *Journal of Chemical Ecology*, v. 37, n. 9, p. 924–931, 2011.

AAK, A.; KNUDSEN, G. K.; SOLENG, A. Wind tunnel behavioral response and field trapping of the blowfly *Calliphora vicina*. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 24, n. 3, p. 250–257, 2010.

AGELOPOULOS, N. G.; HOOPER, A. M.; MANIAR, S. P.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. A novel approach for isolation of volatile chemicals released by individual leaves of a plant *in situ*. *J. Chem. Ecol.* 25, v. (6), p. 1411–1425, 1999.

AGELOPOULOS, N. G.; PICKETT, J. A. Headspace analysis in chemical ecology: Effects of different sampling methods on ratios of volatile compounds present in headspace samples. *J. Chem. Ecol.* v. 24, n. 7, p. 1161–1172, 1998.

ALTAFINI, D. L.; SANT'ANA, J.; REDAELLI, L. R. Efeito de Fatores Endógenos na Percepção Química de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) ao Feromônio Sexual. *Neotropical Entomology*, v. 39, n. 3, p. 330-337, 2010.

ANDERSON, P. Oviposition pheromones in herbivorous and carnivorous insects. In: HILKER, M.; MEINERS, T. (Org). *Chemoecology of insect eggs and deposition*. Berlin, Germany: Blackwell Publishing, 2002. p. 235-263.

ANDERSON, G.S.; VANLAERHOVEN, S.L. Initial Studies on Insect Succession on Carrion in Southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Science*, v. 41, p. 617-625, 1996.

ARCHER, M. S.; ELGAR, M. A. Female breeding-site preferences and larval feeding strategies of carrion-breeding Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera): a quantitative analysis. *Australian Journal of Zoology*, v. 51, n. 2, p. 165-174, 2003.

ASHWORTH, J. H.; WALL, R. Responses of the sheep blowflies *Lucilia sericata* and *L. cuprina* to odour and the development of semiochemical baits. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 8, n. 4, p. 303-309, 1994.

AVERILL, A. L. & PROKOPY, R. J. Intraspecific competition in the tephritid fruit fly *Rhagoletis pomonella*. *Ecology*, v. 68, p. 878-886, 1987.

BARROS-CORDEIRO, K.B. & PUJOL-LUZ, J. R. .Morfologia e duração do desenvolvimento pós embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 50, p. 709-717, 2010.

BARTON-BROWNE, L. The role of olfaction in the stimulation of oviposition in the blowfly, *Phormia regina*. *J. Insect. Physiol.*, v. 5, p. 16-22, 1960.

BIRKETT, M. A.; ANGELOPOULOS, N.; JENSEN, K-M. V.; JESPERSEN, J. B.; PICKETT, J. A.; PRIJS H. J.; THOMAS, G.; TRAPMAN, J. J.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. The role of volatile semiochemicals in mediating host location and selection by nuisance and disease-transmitting cattle flies. *Med. Vet. Entomol.* v. 18, p. 313–322, 2004.

BLIGHT, M. M. *Techniques for isolation and characterization of volatile semiochemicals of phytophagous insects*, 1990.

BRAACK, L.E.O. Community dynamics of carrion-attendant arthropods in tropical African woodland. *Oecologia*, v. 72: p. 402-409, 1987.

BRIAN, M. V. & RIGBY, C. *Insectes Soc.* v. 25, p. 89–110, 1978.

BIRKETT, M. A.; ANGELOPOULOS, N.; JENSEN, K-M. V.; JESPERSEN, J. B.; PICKETT, J. A.; PRIJS, H. J.; THOMAS, G.; TRAPMAN, J. J.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. The role of volatile semiochemicals in mediating host location and selection by nuisance and disease-transmitting cattle flies. *Med. Vet. Entomol.* v. 18, p. 313–322, 2004.

BRODIE, B. S.; WONG, W. H.; VANLAERHOVEN, S. & GRIES, G. Is aggregated oviposition by the blow flies *Lucilia sericata* and *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) really pheromone-mediated?. *Insect science*, 2014.

BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. 2 ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010. 681p.

CAMPOBASSO, C. P.; MARCHETTI, D.; INTRONA, F. & COLONNA, M. F. Postmortem artifacts made by ants and the effect of ant activity on decompositional rates. *The American journal of forensic medicine and pathology*, v. 30, n. 1, p. 84-87, 2009.

CAMPOS, C. F. M.; BARROS, A. T. Dípteros muscóides da área urbana de Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 55, n. 3, p. 351-354, 1995.

CARVALHO, C. J. B.; MELLO-PATIU, C. A. Keys to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, n. 3, p. 390-406, 2008.

CARVALHO, L. M. L.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X.; PALHARES, F. A. B. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 95, n. 1, p. 135-138, 2000.

CATTS, E.P; GOFF, M.L. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 37, p. 253-272, 1992.

CHAIWONG, T.; SUKONTASON, K.; OLSON, J. K.; KURAHASHI, H.; CHAITHONG, U.; SUKONTASON, K. L. Fine structure of the reproductive system of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae): the external sexual organ. *Parasitol. Res.* v. 102, p. 973-980, 2008.

CHAPMAN, R. F. *The insects: structure and function*. Cambridge university press. 1998.

CHARABIDZE, D., BOUREL, B. & GOSSET, D. Larval-mass effect: characterisation of heat emission by necrophageous blowflies (Diptera: Calliphoridae) larval aggregates. *Forensic Science International*, v. 1-3, p. 61-66, 2011.

CIANCI, T.J. & SHELDON, J.K. Endothermic generation by blowfly larvae *Phormia regina* developing in pig carcasses. *Bulletin of the Society of Vector Ecology*, v. 15, p. 33–40, 1990.

D'ALMEIDA, J. M; ALMEIDA, J. R. Nichos tróficos em dípteros caliptrados no Rio de Janeiro, RJ. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 58, n. 4, p. 563-570, 1998.

D'ALMEIDA, J. M. Capture of Caliptrate with different breeding substrates on beaches in Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 88, n. 2, p. 215-220, 1993.

D'ALMEIDA, J. M. Substratos utilizados para a criação de dípteros caliptrados no jardim zoológico do Rio de Janeiro (Rio-Zoo). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 84, n. 2, p. 257-264, 1989.

D'ALMEIDA, J. M. Substratos utilizados para a criação de dípteros caliptrados em uma área urbana do Município do Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 83, n.2, p. 201-206, 1988.

D'ALMEIDA, J. M. Substratos utilizados para a criação de dípteros caliptrados em uma área rural do Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 9, p. 13-22, 1986.

DANI, F. R.; CANNONI, S.; TURILLAZZI, S. & MORGAN, E. D. Ant repellent effect of the sternal gland secretion of *Polistes dominulus* (Christ) and *P. sulcifer* (Zimmermann).(Hymenoptera: Vespidae). *Journal of chemical ecology*, v. 22, n. 1, p. 37-48, 1996.

DAVIS, T. S.; CRIPPEN, T. L.; HOFSTETTER, R. W. & TOMBERLIN, J. K. Microbial volatile emissions as insect semiochemicals. *Journal of chemical ecology*, v. 39, n. 7, p. 840-859, 2013.

DE JONG, G. The influence of the distribution of juveniles over patches of food on the dynamics of a population. *Netherlands Journal of Zoology*, v. 29, n. 1, p. 33-51, 1978.

DE JONG, G. A model of competition for food. I. Frequency-dependent viabilities. *The American Naturalist*, v. 110, n. 976, p. 1013-1027, 1976.

DEONIER, C.C. Carcass temperatures and their relation to winter blowfly populations and activity in the southwest. *Journal of Economic Entomology*, v. 33, p. 166–170, 1940.

DOUGHERTY, M.J. & HAMILTON, G. Dodecanoic acid is the oviposition pheromone of *Lutzomyia longipalpis*. *J. Chem. Ecol.*, v. 23, p. 2657- 2671, 1997.

DOUGHERTY, M.J.; HAMILTON, J.G.C. & WARD, R.D. Isolation of oviposition pheromone from the eggs of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Med. Vet. Entomol.*, v. 8, p. 119-124, 1994.

DOUGHERTY, M.J.; WARD, R.D. & HAMILTON, G. Evidence for the accessory glands as the site of production of the oviposition attractant and/ or stimulant of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J. Chem. Ecol.*, v. 18, p. 1165- 1175, 1992.

EISNER, T.; ATTYGALLE, A. B.; CONNER, W. E.; EISNER, M.; MACLEOD, E. & MEINWALD, J. Chemical egg defense in a green lacewing (*Ceraeochrysa smithi*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 93, n. 8, p. 3280-3283, 1996.

EL-KADY, E.M. Problems facing application of forensic entomology. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v. 2, p. 280–289, 1999.

EL NAIEM, D.A. & WARD, R.D. Response of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to an oviposition pheromone associated with conspecific eggs. *Med. Vet. Entomol.* , v. 5, p. 87-91, 1991.

EMMENS, J. H.; MURRAY, M. D. The effect of substrate pH on oviposition by *Lucilia cuprina* (Wiedemann), the Australian sheep blowfly. *Australian Journal of Entomology*, v. 22, n. 4, p. 343-344, 1983.

ENDLER, A.; LIEBIG, J.; SCHMITT, T.; PARKER, J. E.; JONES, G. R.; SCHREIER, P. & HÖLLDOBLER, B. Surface hydrocarbons of queen eggs regulate worker reproduction in a social insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 9, p. 2945-2950, 2004.

ERZINCLIOGLU, Z. *Blowflies*. Slough, Great Britain: Richmond Publishing, 1996, 71 p.

ESSER, J. R. Biology of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) and reduction of losses caused to the salted-dried fish industry in south-east Asia. *Bulletin of Entomological Research*, v. 81, n. 1, p. 33-41, 1991.

ESSER, J. R. Factors influencing oviposition, larval growth and mortality in *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), a pest of salted dried fish in south-east Asia. *Bulletin of Entomological Research*, v. 80, n. 4, p. 369-376, 1990.

FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÁRSI, C. M.; BURALLI, G. M.; ISHIHATA, G. K. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil. *Revista de Microbiologia*, v. 15, n. 3, p.170-174, 1984.

GABEL, B.; THIÉRY, D. Oviposition response of *Lobesia botrana* females to long-chain free fatty acids and esters from its eggs. *Journal of chemical Ecology*, v. 22, n. 1, p. 161-171, 1996.

GABRE, R. M.; F. F. ADHAM & H. CHI. Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). *Acta Oecologica*, v. 27, p. 179–183, 2005.

GEIER, M. & BOECKH, J. A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. *Entomol. Exp. Appl.* v. 92, p. 9 -19, 1999.

GIÃO, J. Z. & GODOY, W. A. C. Ovipositional behavior in predator and prey blowflies. *Journal of Insect behavior*, v. 20, n. 1, p. 77-86, 2007.

GOODBROD, J.R. & GOFF, M.L. Effects of larval populations density on rates of development and interactions between two species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture. *Journal of Medical Entomology*, v. 27, p. 338–343, 1990.

GOMES, L. Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais. 523p. Editora: *Technical Books*, ISBN: 9788561368135, 2010.

GOMES, L.; GOMES, G.; CASARIN, F. E.; SILVA, I. M. D.; SANCHES, M. R.; VON ZUBEN, C. J. & FOWLER, H. G. Visual and olfactory factors interaction in resource-location by the blowfly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius)(Diptera: Calliphoridae), in natural conditions. *Neotropical entomology*, v. 36, n. 5, p. 633-639, 2007.

GOMES, L. *et al.* Occurrence of Hymenoptera on *Sus scrofa* carcasses during summer and winter seasons in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 51, n. 3, p. 394-396, 2007.

GOMES, L.; SANCHES, M. R.; VON ZUBEN, C. J. Dispersal and burial behavior in larvae of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *Journal of Insect Behavior*, v. 18, p. 281–292. 2005.

GRASSBERGER, M.; FRIEDRICH, E.; REITER, C. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *International Journal of Legal Medicine*, v. 117, n. 2, p. 75-81, 2003.

GREENBERG, B. & KUNICH, J.C. *Entomology and the Law*. Cambridge, UK, Cambridge University Press, 2002.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. *Myiasis in man and animals in the Neotropical Region*. São Paulo: Ed. Plêiade e FAPESP, 1999. 308p.

GUIMARÃES, J. H., PRADO, A. P., BURALLI, G. M. Dispersal and Distribution of the three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 23, n. 4, p. 245-255, 1979.

GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; LINHARES, A. X. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 22, n. 1, p. 53-60, 1978.

GUO, L.; LI, G. Q. Olfactory perception of oviposition-detering fatty acids and their methyl esters by the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *Journal of Insect Science*, v. 9, 2009.

HANSKI, I. Nutritional ecology of dung- and carrion-feeding insects. In: SLANSKY, F., RODRIGUEZ, F. G. (Eds). Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. New York: *John Wiley and Sons*, 1987. p. 837-844.

HANSSON, B. S. Insect olfaction. *Springer*, 1999.

HANSSON, B. S. A bug's smell – research into insect olfaction. *Trends. Neurosci.* v. 25, p. 270–274, 2002.

HEATH, A. C. G. Beneficial aspects of blowflies (Diptera: Calliphoridae). *New Zealand Entomologist*, v. 7, n. 3, p. 343-348, 1982.

HERZOG, J. D. A., MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V., FERREIRA, Y. L. Observações preliminares sobre o ritmo horário de oviposição de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 21, n. 1, p. 101-106, 1992.

HÖLLER, C.; WILLIAMS, H. J. & VINSON, S. B. Evidence for a two component external marking pheromone system in an aphid hyperparasitoid. *Journal of Chemical Ecology*, v. 17, p. 1021-1035, 1991.

HOUGH, J. A.; ECKENRODE, C. J. & HARMAN, G. E. Nonpathogenic bacteria affecting oviposition behavior in the onion fly *Hylemya antique*. *Environmental Entomology*, v. 11, p. 585-589, 1982.

HURST, J. L.; ROBERTSON, D. H. L.; TOLLADAY, U. & BEYNON, R. J. Proteins in urine scent marks of male house mice extend the longevity of olfactory signals. *Animal Behavior*, v. 55, p. 1289-1297, 1998.

IMBIRIBA, A. S.; D. T. IZUTANI; I. T. MILHORETO & E. LUZ. Introdução da *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na região Neotropical (Diptera: Calliphoridae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v. 20, p. 35-39, 1977.

IGNELL, R.; HANSSON, B. Insect olfactory neuroethology – an electrophysiological perspective. In: *Christensen TA (ed) Methods in insect sensory neuroscience*. CRC, Florida, p. 319–348, 2005.

IVES, A.R. Aggregation and coexistence in carrion fly community. *Ecological Monographs*, v. 61, n. 1, p. 75-94, 1991.

IVES, A. R. The optimal clutch size of insects when many females oviposit per patch. *The American Naturalist*, v. 133, p. 671-687, 1989.

JIANG, Y.; LEI, C. L.; NIU, C. Y.; FANG, Y. L.; XIAO, C. & ZHANG, Z. N. Semiochemicals from ovaries of gravid females attract ovipositing female houseflies, *Musca domestica*. *Journal of insect physiology*, v. 48, n. 10, p. 945-950, 2002.

JOHANSEN, H.; SOLUM, M.; KNUDSEN, G. K.; HAGVAR, E. B.; NORLI, H. R.; AAK, A. Blowfly responses to semiochemicals produced by decaying carcasses. *Medical and Veterinary Entomology*, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/mve.12016>. Acesso em 02 de novembro de 2014.

JUDD, G. J. R. & BORDEN, J. H. Aggregated oviposition in *Delia antiqua* (Meigen): a case for mediation by semiochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, 18, 621-635, 1992.

KENNEDY, J. S.; BOOTH, C. O.; KERSHAW, W. J. S. Host finding by aphids in the field—I. Gynoparae of *Myzus persicae* (Sulzer). *Ann. Appl. Biol.* v. 47, p. 410–423, 1959a.

KENNEDY, J. S.; BOOTH, C. O.; KERSHAW, W. J. S. Host finding by aphids in the field—II. *Aphis fabae* Scop. (Gynoparae) and *Brevicoryne brassicae* L.; with a re-appraisal of the role of host-finding behaviour in virus spread. *Ann. Appl. Biol.* v. 17, p. 424–444, 1959b.

KENNEDY, J. S.; BOOTH, C. O.; KERSHAW, W. J. S. Host finding by aphids in the field—III. Visual attraction. *Ann. Appl. Biol.* v. 49, p. 1–21, 1961.

KLIJNSTRA, J. W.; ROESSINGH, P. Perception of the oviposition deterring pheromone by tarsal and abdominal contact chemoreceptors in *Pieris brassicae*. *Entomologia experimentalis et applicata*, v. 40, n. 1, p. 71-79, 1986.

KNEIDEL, K. A. Influence of carcass taxon and size on species composition of carrion-breeding diptera. *American Midland Naturalist*, v. 111, n. 1, p. 57-63, 1984.

LAKES, R.; POLLACK, G. S. The development of the sensory organs of the legs in the blowfly, *Phormia regina*. *Cell Tissue Res.* v. 259, p. 93–103, 1990.

LAM, K.; BABOR, D.; DUTHIE, B.; BABOR, E. M.; MOORE, M. & GRIES, G. Proliferating bacterial symbionts on house fly eggs affect oviposition behaviour of adult flies. *Animal behaviour*, v. 74, n. 1, p. 81-92, 2007.

LEBLANC, H. N.; LOGAN, J. G. Exploiting insect olfaction in forensic entomology. *Springer Netherlands*, 2010.

LEBLANC, H. N. *Olfactory stimuli associated with the different stages of vertebrate decomposition and their role in the attraction of the blowfly Calliphora vomitoria (Diptera: Calliphoridae) to carcasses*. The University of Derby for the Degree of Doctor of Philosophy, 2008.

LECCESE, A. Insects as forensic indicators: methodological aspects. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, v. 5, p. 33-39, 2004.

LEFBVERE, F.; PASQUERAULT, T. Temperature-dependent development of *Ophyra aenescens* (Wiedemann 1830) and *Ophyra capensis* (Wiedemann 1818) (Diptera, Muscidae). *Forensic Science International*, v. 139, p. 75–79, 2004.

LI, G.; ISHIKAWA, Y. Oviposition deterrents in larval frass of four *Ostrinia* species fed on an artificial diet. *Journal of chemical ecology*, v. 30, n. 7, p. 1445-1456, 2004.

LI, G.; ZHAOJUN, H.; LILI, M.; XIAORAN, Q.; CHANGKUN, C. & YINCHANG, W. Natural oviposition-detering chemicals in female cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Journal of insect physiology*, v. 47, n. 9, p. 951-956, 2001.

LINHARES, A. X. The gonotrophic cycle of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in the laboratory. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 32, p. 383-392, 1988.

LOGAN, J. G. SEAL, N. J. COOK, J. I.; STANCZYK, N. M.; BIRKETT, M. A. CLARK, S. J.; GEZAN, A. S.; WADHAMS, L. J.; PICKETT, J. A.; MORDUE, J.

Identification of human-derived volatile chemicals that interfere with attraction of the Scottish Biting Midge and their potential use as repellents. *J. Med. Entomol.* v. 46, p. 208–219, 2009.

LOGAN, J. G.; BIRKETT, M. A.; CLARK, S. J.; POWERS, S.; SEAL, N. J.; WADHAMS, L. J.; MORDUE, A. J.; PICKETT, J. A. Identification of human-derived volatile chemicals that interfere with attraction of *Aedes aegypti* mosquitoes. *J. Chem. Ecol.* v. 34, p. 308–322, 2008.

LOCKEY, K.H. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, v. 89, p. 595–645, 1988.

MARTIN, S. J.; JONES, G. R.; CHÂLINE, N. & RATNIEKS, F. L. Role of hydrocarbons in egg recognition in the honeybee. *Physiological Entomology*, v. 29, n. 4, p. 395-399, 2004.

MARTINS, G. A. & FONSECA, J. S. Curso de estatística. *Atlas*, 6ª Edição, 1996.

McCALL, P. J. Chemoecology of oviposition in insects of medical and veterinary importance. In: HILKER, M.; MEINERS, T. (Org). *Chemoecology of insect eggs and deposition*. Berlin, Germany: Blackwell Publishing, 2002. p. 265-289.

McCALL, P.J. Oviposition aggregation pheromone in the *Simulium damnosum* complex. *Med. Vet. Entomol.*, v. 9, p. 101-108, 1995.

McCALL, P.J.; TREES, A.J.; WALSH, J.F. & MOLYNEUX, D.H. Aggregated oviposition in the *Simulium damnosum* complex is mediated by eggs in a laboratory bioassay. *Med. Vet. Entomol.*, v. 8, p. 76-80, 1994.

MCINDOO, N.E. An insect olfactometer. *Journal of Economic Entomology*, v. 19, p. 545-571, 1926.

McIVER, S. B. Sensilla of mosquitos (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, v. 19, p. 489–535, 1982.

McMURRY, J. *Organic Chemistry*, 6th ed. Belmont, CA: Brooks/Cole, 2004.

MENDES, J.; LINHARES, A. X. Atratividade por iscas e estágios de desenvolvimento ovariano em várias espécies sinantrópicas de Calliphoridae (Diptera). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 37, n. 1, p. 157-166, 1993.

MORAES, M. C. B.; SOUSA, L. M. P. de; LAUMANN, R.; BORGES, M. Metodologia para estudos de semioquímicos e a sua aplicação no manejo de pragas: a influência de voláteis de soja no comportamento do parasitóide *Telenomus podisi*. Brasília: *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, v. 6, p. 24, 2003.

MUDD, A.; FERGUSON, A.W.; BLIGHT, M. M.; WILLIAMS, I. H.; SCUBLA, P.; SOLINAS, M. & CLARK, S. J. Extraction, isolation, and composition of oviposition-detering secretion of cabbage seed weevil *Ceutorhynchus assimilis*. *J. Chem. Ecol.* v. 23, p. 2227–2240, 1997.

NORDLUND, D. A.; LEWIS, W. J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *J. Chem. Ecol.* v. 2 n. (2), p. 211–220, 1976.

NORRIS, K. R. The Bionomics of blow flies. *Annual Review of Entomology*, v. 10, n. 1, p. 47–68, 1965.

OLIVEIRA-COSTA, J. Entomologia Forense: quando os insetos são os vestígios. In: *Tratado de perícias criminalísticas*. Millennium, 2008.

Oliveira, M. A.; do Lago, C. L.; Tavares, M. F. & da Silva, J. A. F. Análise de ácidos graxos por eletroforese capilar utilizando detecção condutométrica sem contato. *Quimica Nova*, v. 26, n. 6, p. 821-824, 2003.

OLIVEIRA, V. C. DE; MELLO, R. P. DE; D' ALMEIDA, J. M. Muscoid dipterans as helminth eggs mechanical vectors at the zoological garden, Brazil. *Revista de Saúde Pública*, v. 36, n. 5, p. 614–620, 2002.

PACZKOWSKI, S.; SCHÜTZ, S. Post-mortem volatiles of vertebrate tissue. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 91, n. 4, p. 917–935, 2011.

PAYNE, J. A. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology*, p. 592-602, 1965.

PESCHKE, K.; KRAPF, D.; FULDNER, D. Ecological separation, functional relationships, and limiting resources in a carrion insect community. *Zoological Jb. System*, v. 114, p. 241-265, 1987

PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. Insect supersense: mate and host location by insects as model systems for exploiting olfactory interactions. Reprinted from – *The Biologist*. Portland Press Ltd, London, 1998.

REED Jr, H.B. A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. *Amer. Midl. Nat.*, v. 59, p. 213-245, 1958.

RICE, M. J. Contact Chemoreceptors on the Ovipositor of *Lucilia Cuprina* (Wied.), The Australian Sheep Blowfly. *Australian Journal of Zoology*, v. 24, n. 3, p. 353-360, 1976.

RIVERS, D. B.; THOMPSON, C.; BROGAN, R. Physiological trade-offs of forming maggot masses by necrophagous flies on vertebrate carrion. *Bulletin of entomological research*, v. 101, n. 5, p. 599-611, 2011.

ROY, P.; DASGUPTA, B. Behavior of *Chrysomya megacephala* (Fabr.) and *Hemipyrellia ligurriens* (Wied) as parasites of living animals under experimental conditions. *S. Afr. J. Med. Sci.* v. 36 n. 4, p. 85–91, 1971.

RŮZICKA, Z. Perception of oviposition-detering larval tracks in aphidophagous coccinellids *Cycloneda limbifer* and *Ceratomegilla undecimnotata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, v. 100, n. 3, p. 345-350, 2003.

SCHOENLY, K.; GRIEST, K.; RHINE, S. An Experimental Field Protocol for Investigating the Postmortem Interval Using Multidisciplinary Indicators. *Journal of Forensic Sciences*, v. 36, p. 1395-1415, 1991.

SELBY, M. J. Chemical ecology of the carrot fly, *Psila rosae* (F.): laboratory and field studies. The University of Nottingham for the Degree of Doctor of Philosophy, 2003.

SHERMAN, R. A.; PECHTER, E. A. Maggot therapy: a review of the therapeutic applications of fly larvae in human medicine, especially for treating osteomyelitis. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 2, n. 3, p. 225–230, 1988.

SHIELDS, V. D. C.; HILDEBRAND, J.G. Recent advances in insect olfaction, specifically regarding the morphology and sensory physiology of antennal sensillae of the female Sphinx Moth *Manduca sexta*. *Microsc. Res. Tech.* v. 55, p. 307–329, 2001.

SILVA, A. S. DA; ZANETTE, R. A.; MONTEIRO, S. G. Biologia da mosca *Phaenicia sericata* em diferentes substratos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n. 2, p. 63–66, 2008.

SINGER, T. L. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *American Zoologist*, v. 38, n. 2, p. 394–405, 1998.

SINGER, T. L.; CAMANN, M. A. & Espelie, K. E. Discriminant analysis of cuticular hydrocarbons of social wasp *Polistes exclamans* Viereck and surface hydrocarbons of the paper and pedicel. — *J. Chem. Ecol.* v. 18, p. 785–797, 1992.

SMITH, K. G. V. *A manual of forensic entomology*. Trustees of the British Museum, London, 1986.

STÄDLER, E.; ERNST, B.; HURTER, J. & BOLLER, E. Tarsal contact chemoreceptor for the host marking pheromone of the cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*: responses to natural and synthetic compounds. *Physiological Entomology*, v. 19, p. 139–151, 1994.

THIÉRY, D.; GABEL, B.; FARKAS, P. & JARRY, M. Egg dispersion in codling moth: influence of egg extract and of its fatty acid constituents. *Journal of chemical ecology*, v. 21, n. 12, p. 2015–2026, 1995.

THIÉRY, D.; GABEL, B. Inter-specific avoidance of egg-associated semiochemicals in four tortricids. *Experientia*, v. 49, n. 11, p. 998–1001, 1993.

THOMPSON, S. N. A review and comparative characterization of the fatty acid compositions of seven insect orders. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, v. 45, n. 2, p. 467-482, 1973.

THOMPSON, F. C. Nomenclator Status Statistics. Beltsville, Maryland, 2006. The Diptera site. *The BioSystematic Database of World Diptera*. Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov/Diptera/names/Status/bdwdstat.htm>> Acesso em 20 mar. 2014.

THURMAN, Earl Michael (Ed.). *Organic geochemistry of natural waters*. Springer, 1985.

TRIPLEHORN, C. A. & JOHNSON, N. F. Estudo dos Insetos. Editora: *Cengage Learning*. 808p. 2011.

VAN WOLK, F. M. D. The typology and topography of the tarsal chemoreceptors of the blow flies *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy and *Phormia terranova* Robineau-Desvoidy and the Housefly *Musca domestica* L. *J. Morphol.* v. 157, p. 201–209, 1978.

VON ZUBEN, C. J. Individual oviposition behavior, percentage of egg hatching and minimum weight for successful pupation in populations of *Chrysomya megacephala* (F.). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 27, n. 4, p. 525-533, 1998.

VON ZUBEN, C. J.; BASSANEZI, R. C.; REIS, S. F.; GODOY, W. A. C.; ZUBEN, F. J. V. Theoretical approaches to forensic entomology: I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. *Journal of Applied Entomology*, v. 120 p. 379-382, 1996.

WADHAMS, L. J. The use of coupled gas chromatography: electrophysiological techniques in the identification of insect pheromones. In: *Chromatography and isolation of insect hormones and pheromones*. Springer US, p. 289-298, 1991.

WALL, R.; FISHER, P. Visual and olfactory cue interaction in resource-location by the blowfly *Lucilia sericata*. *Physiological Entomology*, v. 26, n. 3, p. 212–218, 2001.

WALLIS, D. I. Olfactory stimuli and oviposition in the blowfly, *Phormia Regina* Meigen. *Journal of Experimental Biology*, v. 39, n. 4, p. 603-615, 1962.

WELLS, J. D.; GREENBERG, B. 1992. Interaction between *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): the possible consequences of an invasion. *Bulletin of Entomological Research*, v. 82, p. 133-137, 1992.

WERTHEIM, B.; BAALEN, E. A. V.; DICKE, M.; VET, L. E. M. Pheromone-mediated aggregation in nonsocial arthropods: An evolutionary ecological perspective. *Annual Review of Entomology*, v. 50, p. 321-346, 2005.

WIJESUNDARA, D.P. The life-history and bionomics of *Chrysomya megacephala* (Fab.). *Ceylon Journal of Science*, v. 25, p. 169–185, 1957.

WILSON, M.D.; OSEI-ATWENEBOANA, M.Y.; BOAKYE, D.A. & McCALL, P.J. Improved survival and oviposition of *Simulium damnosum* (Diptera: Simuliidae) in the laboratory. *Bull. ent. Res.*, v. 90, p. 285- 289, 2000.

WOOLDRIDGE, J.; SCRASE, L.; WALL, R. Flight activity of the blowflies, *Calliphora vomitoria* and *Lucilia sericata*, in the dark. *Forensic science international*, v. 172, n. 2, p. 94-97, 2007.

WRIGHT, R. H. An insect olfactometer. *Can. Entomol.*, v. 98, p. 282-285, 1966.

YEATES, D. K.; WIEGMANN, B. *The Evolutionary Biology of Flies*. New York, United States of America: Columbia University Press, 2005. 430 p.

YANG, S-T.; SHIAO, S-F. Oviposition preferences of two forensically important blow fly species, *Chrysomya megacephala* and *C. rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), and implications for postmortem interval estimation. *Journal of medical entomology*, v. 49, n. 2, p. 424-435, 2012.

ZHOU, J. J.; HUANG, W. S.; ZHANG, G. A.; PICKETT, J. Á.; FIELD, L. M. “Plus-C” odorant-binding protein genes in two *Drosophila* species and the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Gene* v. 327, p. 117–129, 2004.

ZUCOLOTO F. S. Effects of flavour and nutritional value on a diet selection by *Ceratitis capitata* larvae (Diptera Tephritidae). *Journal of Insect Physiology* v. 37, p. 21–25, 1991.

ZUMPT, F. *Myiasis in man and animals in the Old World*. London: Butterworths, 267 p, 1965.