



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

TESE

Quimiotaxonomia de Sarcophagidae (Insecta, Diptera) de importância forense
utilizando perfis de hidrocarbonetos cuticulares

Rodrigo Rocha Barbosa

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

QUIMIOTAXONOMIA DE SARCOPHAGIDAE (INSECTA, DIPTERA) DE
IMPORTÂNCIA FORENSE UTILIZANDO PERFIS DE HIDROCARBONETOS
CUTICULARES

RODRIGO ROCHA BARBOSA

Prof. Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz

Orientadora

Dra. Marina Vianna Braga

Co-orientadora

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências, no Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal.

Seropédica, RJ

Março de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

RODRIGO ROCHA BARBOSA

Tese submetida submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.

APROVADO EM/...../.....

Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz (IOC/FIOCRUZ)

Dr. Antônio José Mayhé Nunes (UFRRJ)

Dra. Janyra Oliveira Costa (ICCE – PCRJ)

Dra. Patrícia Jaqueline Thyssen (UNICAMP)

Dr. Rubens Pinto de Mello (IOC/FIOCRUZ)

Dedico, com carinho, ao que tenho de mais valioso: minha querida esposa Dulmara, meus pais Carlos e Nádia, meu irmão e sobrinhas...

"Feliz é aquele que pode rir de si mesmo. Ele nunca deixa de se divertir." (Habib Bourguiba)

AGRADECIMENTOS

Tenho profunda gratidão à minha orientadora, Dra. Margareth Maria de Carvalho Queiroz, por não medir esforços para que eu desenvolvesse esta tese, me dando todas as condições para trabalhar. Obrigado também pelos ensinamentos, amizade e até pelas merecidas “brincas” que fazem parte do crescimento de todos. Muito obrigado por tudo!

Da mesma forma, agradeço à minha co-orientadora, Dra. Marina Vianna Braga, pela imprescindível ajuda no decorrer do trabalho. Obrigado pela amizade, pela magnífica orientação e por ter aceitado este desafio! Muito obrigado!

Sou muito grato ao Dr. Gary James Blomquist (Universidade de Nevada – Reno, EUA) por me receber tão bem em seu laboratório e por me ensinar muito sobre os hidrocarbonetos cuticulares. Muito obrigado!

Sou grato à CAPES pela concessão da bolsa, pois sem auxílio financeiro seria impossível desenvolver este trabalho.

À Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro - FAPERJ (Processo N° E-26/111.502/2013 – APQ1), ao Instituto Oswaldo Cruz – IOC/FIOCRUZ e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo N° 485303/2013-2 - Projeto Universal e Processo N° 4001532011-4 – PROEP-CNPq), pelo suporte financeiro imprescindíveis para o desenvolvimento do meu projeto de tese, principalmente para a realização das coletas dos insetos nos diferentes estados do Brasil.

Ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRRJ, ao Prof. Dr. Gerson Araújo e a Agra Mendonça pela atenção e atendimento.

Sou grato ao Instituto Oswaldo Cruz por me permitir utilizar seu espaço físico para realizar grande parte de meus experimentos.

Agradeço muito à Tecnologista Ana Cristina Simões Rosa, do Laboratório de Toxicologia (CESTEH/ENSP), da Fundação Oswaldo Cruz, por me permitir utilizar o CG-EM e por tirar minhas dúvidas em relação à técnica.

Agradeço em especial à minha querida professora e amiga Dra. Cátia Antunes de Mello Patiu (Museu Nacional - UFRJ) pelo carinho, identificação de material e pelos valiosos ensinamentos sobre os sarcófagídeos.

Agradeço aos professores e amigos Dr. Alexandre Ururahy Rodrigues (Vigilância Sanitária – Seropédica) Dr. Rubens Pinto de Mello (IOC – Fiocruz), Dr. José Mário d’Almeida (UFF) e Dra. Márcia Souto Couri (Museu Nacional – UFRJ) por toda colaboração e ensinamentos durante minha formação.

Agradeço aos professores Dr. José Albertino Rafael (INPA) e Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto (UNIFAP) pela logística durante a fase de coleta dos espécimes.

Agradeço em especial à minha esposa, por todo amor e incansável dedicação. Registro aqui todo meu amor e admiração por você. Te amo muito!

Agradeço aos meus pais Carlos e Nádia por tudo que sempre fizeram por mim, meus irmãos, sobrinhas, tios e primos por serem minha família... Amo vocês!

Agradeço a todos meus grandes amigos do Setor de Entomologia Médica e Forense, Alexandre Xavier, Aspira, César, Isabel, Lili, Lucas, Luís, Márcio, Paloma, Raquel, Rebecca, Renata, Tayra, Thiany Werneck, Vitor, Dra. Viviane, Zeneida e aos que não estou me lembrando (muita gente), pela amizade que construímos. Foi um enorme prazer conhecer cada um de vocês! Sinto muita falta das risadas, das quartas-selvagens, dos botecos, dos bate-papos e das nossas viagens pelo Brasil afora. Muito obrigado a cada um de vocês!

Peço desculpas a você que está lendo os agradecimentos e que deveria ter agradecido! Obrigado também!

RESUMO

Barbosa, Rodrigo Rocha. **Quimiotaxonomia de Sarcophagidae (Insecta, Diptera) de importância forense utilizando perfis de hidrocarbonetos cuticulares**. 2015. 114 p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2015.

A quimiotaxonomia baseada em perfis de hidrocarbonetos cuticulares (HCs) é uma ferramenta taxonômica que tem sido utilizada em insetos desde a década de 70 e sua utilização é baseada em sua espécie-especificidade. Em Diptera, estudos importantes têm sido publicados demonstrando que HCs podem ser utilizados em quimiotaxonomia, sendo úteis inclusive para distinção de espécies crípticas. A família Sarcophagidae possui espécies de importância forense, que são pioneiras na degradação cadavérica e aquelas dos gêneros *Peckia* Robineau-Desvoidy, 1830 e *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 são encontradas frequentemente em carcaças de animais e cadáveres humanos. Este estudo teve como objetivo descrever, através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), os perfis dos HCs dos adultos de nove espécies de Sarcophagidae, considerando o sexo e a distribuição geográfica, além de comparar os perfis resultantes com os de outras espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae e Stratiomyidae. As extrações dos HCs foram feitas em triplicata usando dez fêmeas e/ou dez machos para cada espécie coletadas em campo. A metodologia de extração e análise seguiu os protocolos anteriormente descritos. Utilizamos o CG-EM do Setor de Agrotóxico do Laboratório de Toxicologia da Fundação Oswaldo Cruz. Foram identificados apenas os HCs com comprimento de cadeia entre 21 e 40 carbonos, por serem os mais comumente encontrados nos insetos. A abundância relativa de cada pico foi obtida calculando sua área em relação à área total da amostra, sendo identificados apenas aqueles representando mais de 0,5%. Ao todo foram identificados 213 compostos classificados como *n*-alcanos, alcanos metil-ramificados e alcenos entre 22 e 39 carbonos na cadeia principal (CCP). Nos Sarcophagidae foram identificados 164 compostos variando entre 22 e 39 CCP e cada espécie apresentou um número diferente de HCs identificados. *Oxysarcodexia thornax* foi a espécie com maior quantidade de HCs identificados (48 compostos), contrastando com *Peckia (Squamatodes) ingens* que teve a menor (26 compostos). Todas as espécies de Sarcophagidae mostraram HCs específicos, como *Malacophagomyia filamenta* que foi a única que apresentou trimetilalcanos em sua composição, além de ser a com maior quantidade de HCs específicos (14), enquanto que *Oxysarcodexia intona* apresentou a menor quantidade deles (2). Algumas espécies apresentaram dimorfismo sexual, exemplificado por *Ravinia belforti*, cujos machos obtiveram 41 HCs com mais de 0,5% de abundância e as fêmeas 32. As populações de *O. thornax* de diferentes regiões do Brasil apresentaram cromatogramas semelhantes, mas, como esperado, houve oscilações nas abundâncias dos HCs compartilhados e alguns poucos específicos por população. Os dois dendrogramas gerados para avaliar a similaridade entre os perfis de HCs das espécies resultaram em diferentes relações. Com a inclusão dos *n*-alcanos, o dendrograma mostrou boa correlação entre as espécies de Sarcophagidae, mas não entre os Calliphoridae e os Muscidae. No entanto, ao excluir os *n*-alcanos da análise, as espécies de Sarcophagidae continuaram com boa correlação, as de Calliphoridae e Muscidae ficaram melhor correlacionadas e Stratiomyidae, como esperado, se apresentou como a espécie mais dissimilar. Os resultados se mostraram promissores na utilização desta técnica na identificação de espécies de Sarcophagidae e de outras famílias de importância forense, bem como tornou possível a montagem de um banco de dados com informações acerca da quimiotaxonomia dessas espécies.

Palavras-Chave: Cromatografia Gasosa; Epicutícula; Entomologia Forense.

ABSTRACT

Barbosa, Rodrigo Rocha. **Chemotaxonomy of forensic important Sarcophagidae (Insecta, Diptera) using cuticular hydrocarbons profiles**. 2015. 114p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2015.

The chemotaxonomy based on cuticular hydrocarbon profiles (CHs) is a taxonomic tool that has been used for insects since the 1970's and their use is based on the species-specificity. In Diptera, significant studies have been published showing that CHs can be used in chemotaxonomy, being useful even for distinction of cryptic species. The Sarcophagidae family include species of forensic importance, which are pioneers in cadaveric degradation and those of genres *Peckia* Robineau-Desvoidy, 1830 and *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 are often found in animal carcasses and human corpses. This study aimed to describe, by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), the profiles of the CHs of adults from nine species of the family Sarcophagidae, considering gender and geographical distribution, and compare the resulting profiles with the other species of the families Calliphoridae, Muscidae and Stratiomyidae. The extraction of CHs were made in triplicate using ten female and/or ten males for every species collected in the field. The methodology used for the extraction and analysis followed previously described protocol. We used the GC-MS from the Laboratório de Toxicologia of the Fundação Oswaldo Cruz. Only the CHs with chain length ranging from 21 to 40 carbons were identified, since these are the most commonly found in insects. The relative abundance of each peak was obtained by calculating its area in relation to the total area of the sample, and only those with more than 0.5% were identified. Altogether, 213 compounds were identified and classified as *n*-alkanes, methyl-branched alkanes and alkenes ranging from 22 to 39 carbons in the main chain (CMC). In Sarcophagidae 164 compounds were identified ranging from 22 to 39 CMC and each species had a different number of identified CHs. *Oxysarcodexia thornax* was the species with the largest number of identified CHs (48 compounds), contrasting with *Peckia (Squamatodes) ingens* with the fewest (26 compounds). All species of Sarcophagidae presented specific HCs, as *Malacophagomyia filamenta*, which was the only that presented trimethylalkanes in its profile as well as having the largest number of specific CHs (14), while *Oxysarcodexia intona* had the lowest amount (2). Some species show sexual dimorphism, as *Ravinia belforti*, whose males presented 41 and females 32 HCs with more than 0.5% of abundance. The populations of *O. thornax* from different regions of Brazil showed similar chromatograms, but, as expected, there were fluctuations in the abundance of shared CHs and only a few specific per population. The two dendrograms generated to assess the similarity among the HCs profiles of the species resulted in different relationships. When *n*-alkanes are taken into account, the dendrogram showed good correlation among the species of Sarcophagidae, but not among Calliphoridae and Muscidae. However, when excluding the *n*-alkanes from the analysis, the species of Sarcophagidae continued with good correlation, the Calliphoridae and Muscidae were better correlated and Stratiomyidae, as expected, was presented as the most dissimilar species. The results showed promising use of this technique for the identification of species from Sarcophagidae, and other forensic important families, making it possible to establish a chemotaxonomic database of these species.

Keywords: Gas Chromatography; Epicuticle; Forensic Entomology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas dos principais hidrocarbonetos presentes na epicutícula dos insetos (adaptado de Blomquist, 2010).....	05
Figura 2 – Armadilha Shannon utilizada para captura dos sarcófagídeos.....	19
Figura 3 – Municípios de coleta, coordenadas geográficas de referência e espécies analisadas com os respectivos sexos referentes às localidades.....	20
Figura 4 – Esquema das etapas de extração dos HCs.....	21
Figura 5 – Esquema da coluna de Florisil®.....	21
Figura 6 – Esquema dos procedimentos pré-injeção no Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas.....	22
Figura 7 – Esquema geral de funcionamento do Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas.....	23
Figura 8 – Cromatograma de uma mistura padrão contendo n-alcenos de 21 a 40 carbonos.....	24
Figura 9 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Malacophagomyia filamenta</i> , Rio de Janeiro-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	27
Figura 10 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia fringidea</i> , Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	29
Figura 11 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Rio de Janeiro-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	32
Figura 12 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Peckia (Squamatodes) ingens</i> , Angra dos Reis-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	34
Figura 13 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Peckia (Peckia) pexata</i> , Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	36
Figura 14 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Ravinia belforti</i> , Rio de Janeiro-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	38

Figura 15 – Cromatograma representativo de machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia inflata</i> , Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	40
Figura 16 – Cromatograma representativo de machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia intona</i> , Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	42
Figura 17 – Cromatograma representativo de machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia terminalis</i> , Terenos-MS, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	44
Figura 18 – Cromatograma representativo de machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	46
Figura 19 – Cromatograma representativo de machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Terenos-MS, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	48
Figura 20 – Comparação entre os cromatogramas representativos dos machos (♂♂) de <i>Oxysarcodexia thornax</i> de Macapá-AP, Terenos-MS e Rio de Janeiro-RJ.....	50
Figura 21 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Cochliomyia macellaria</i> , Macapá-AP mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	53
Figura 22 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Hemilucilia segmentaria</i> , Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	55
Figura 23 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Lucilia cuprina</i> , Macapá-AP mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	57
Figura 24 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de <i>Graphomyia maculata</i> , Macapá-AP mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	59
Figura 25 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) de <i>Musca domestica</i> , Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	60
Figura 26 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) de <i>Synthesiomia nudiseta</i> , Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	62
Figura 27 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) de <i>Hermetia illucens</i> , Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.....	64
Figura 28 – Dendrograma de similaridade baseado na distância de Bray-Curtis, mostrando as relações de semelhança dos perfis de HCs das espécies das famílias estudadas, incluindo os <i>n</i> -alcanos.....	66

Figura 29 – Dendrograma de similaridade baseado na distância de Bray-Curtis, mostrando as relações de semelhança dos perfis de HCs das espécies das famílias estudadas, excluindo os *n*-alcanos..... 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Nomenclatura relacionada às representações químicas dos hidrocarbonetos cuticulares.....	25
Tabela 2 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de <i>Malacophagomyia filamenta</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	28/29
Tabela 3 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de <i>Oxysarcodexia fringidea</i> , Macapá-AP.....	30/31
Tabela 4 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	32/33
Tabela 5 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de <i>Peckia (Squamatodes) ingens</i> , Angra dos Reis-RJ.....	34/35
Tabela 6 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de <i>Peckia (Peckia) pexata</i> , Macapá-AP.....	36/37
Tabela 7 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de <i>Ravinia belforti</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	38/39
Tabela 8 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos <i>Oxysarcodexia inflata</i> , Macapá-AP.....	40/41
Tabela 9 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos <i>Oxysarcodexia intona</i> , Macapá-AP.....	42/43
Tabela 10 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos <i>Oxysarcodexia terminalis</i> , Terenos-MS.....	44/45
Tabela 11 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Macapá-AP.....	46/47
Tabela 12 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Terenos-MS....	48/49

Tabela 13 - Comparação das média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos <i>Oxysarcodexia thornax</i> de Macapá-AP, Terenos-MS e Rio de Janeiro-RJ.....	51/52
Tabela 14 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos e fêmeas de <i>Cochliomyia macellaria</i> , Macapá, AP.....	53/54
Tabela 15 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos e fêmeas de <i>Hemilucilia segmentaria</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	55/56
Tabela 16 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos e fêmeas de <i>Lucilia cuprina</i> , Macapá, AP.....	59/60
Tabela 17 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de <i>Graphomyia maculata</i> , Rio de Janeiro, RJ.....	58/59
Tabela 18 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de <i>Musca domestica</i> , Rio de Janeiro, RJ.	61
Tabela 19 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de <i>Synthesiomyia nudiseta</i> , Rio de Janeiro, RJ.	62/63
Tabela 20 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de <i>Hermetia illucens</i> , Rio de Janeiro, RJ.....	64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVOS.....	04
2.1 Objetivos Gerais.....	04
2.2 Objetivos Específicos.....	04
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	05
3.1 Os Hidrocarbonetos Cuticulares (HCs).....	05
3.1.1 Considerações para o uso dos Hidrocarbonetos Cuticulares em quimiotaxonomia.....	06
3.1.2 Hidrocarbonetos cuticulares como marcadores filogenéticos.....	08
3.1.3 Uso da quimiotaxonomia baseada em perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares em insetos de importância forense.....	10
3.2 Família Sarcophagidae.....	14
3.2.1 Sarcófagídeos de importância forense.....	14
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 Coleta dos espécimes.....	19
4.2 Extração dos Hidrocarbonetos Cuticulares.....	20
4.3 Injeção das amostras no Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espetrômetro de Massas.....	22
4.4 Interpretação dos espectros de massas.....	23
4.5 Estabelecimento dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares.....	25
4.6 Análises estatísticas.....	25
5 RESULTADOS.....	27
5.1 Descrição dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares.....	27
5.1.1 Família Sarcophagidae.....	27
5.1.1.1 <i>Malacophagomyia filamenta</i> , Rio de Janeiro.....	27
5.1.1.2 <i>Oxysarcodexia fringidea</i> , Macapá-AP.....	29
5.1.1.3 <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	31

5.1.1.4 <i>Peckia (Squamatodes) ingens</i> , Angra dos Reis-RJ.....	33
5.1.1.5 <i>Peckia (Peckia) pexata</i> , Macapá-AP.....	35
5.1.1.6 <i>Ravinia belforti</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	37
5.1.1.7 <i>Oxysarcodexia inflata</i> , Macapá-AP.....	40
5.1.1.8 <i>Oxysarcodexia intona</i> , Macapá-AP.....	41
5.1.1.9 <i>Oxysarcodexia terminalis</i> , Terenos-MS.....	43
5.1.1.10 <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Macapá-AP.....	45
5.1.1.11 <i>Oxysarcodexia thornax</i> , Terenos-MS.....	47
5.2 Comparação entre perfis de HCs de machos de <i>Oxysarcodexia thornax</i> de três diferentes regiões do Brasil	49
5.3 Descrição dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares de espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae e Stratiomyidae.....	52
5.3.1 Família Calliphoridae.....	52
5.3.1.1 <i>Cochliomyia macellaria</i> , Macapá-AP.....	52
5.3.1.2 <i>Hemilucilia segmentaria</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	54
5.3.1.3 <i>Lucilia cuprina</i> , Macapá-AP.....	56
5.3.2 Família Muscidae.....	58
5.3.2.1 <i>Graphomyia maculata</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	58
5.3.2.2 <i>Musca domestica</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	60
5.3.2.3 <i>Sythesiomyia nudiseta</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	61
5.3.3 Família Stratiomyidae.....	63
5.3.3.1 <i>Hermetia illucens</i> , Rio de Janeiro-RJ.....	63
5.4 Análise da similaridade dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares entre espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae e Stratiomyidae.....	65
6 DISCUSSÃO	68
6.1 Perfil de hidrocarbonetos cuticulares das espécies da família Sarcophagidae.....	68
6.1.1 Número de carbonos na cadeia principal.....	68
6.1.2 Hidrocarbonetos cuticulares considerados para a quimiotaxonomia.....	68
6.1.3 Comparação dos perfis de hidrocarbonetos cuticulares entre machos e fêmeas.....	71
6.1.4 Comparação dos perfis de hidrocarbonetos cuticulares entre machos de <i>Oxysarcodexia thornax</i> de três diferentes localidades.....	73

6.2 Perfil de hidrocarbonetos cuticulares das espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae e Stratiomyidae.....	75
6.2.1 Família Calliphoridae.....	75
6.2.2 Famílias Muscidae e Stratiomyidae.....	77
6.3 Similaridade dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares entre espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae e Stratiomyidae.....	78
7 CONCLUSÃO	81
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

1. INTRODUÇÃO

A capacidade de os insetos suportarem a dessecação foi reconhecida na década de 1930, quando Wigglesworth (1933) descreveu, em *Rhodnius prolixus* Stål, 1859, um complexo gorduroso nas camadas mais externas da cutícula, a qual chamou de "cuticulina". No entanto, a presença de hidrocarbonetos foi sugerida por Chibnall *et al.* (1934), mas só foi confirmada sua existência por Baker *et al.* (1963), ao analisarem os compostos epicuticulares de *Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758), através da técnica cromatográfica.

O desenvolvimento e aplicação da cromatografia gás-líquida combinada à espectrometria de massa foi essencial para a rápida e eficiente análise de hidrocarbonetos de insetos, o que permitiu que trabalhos como os de Jackson (1970) e Jackson & Baker (1970) reconhecessem o papel especial dos hidrocarbonetos cuticulares (HCs) na taxonomia química. A partir daí, trabalhos pioneiros e de grande importância foram publicados, como os de Carlson & Service (1979; 1980), que conseguiram distinguir espécies do complexo *Anopheles gambiae* Giles, 1902 a partir de perfis de HCs.

Em meados da década de 1980, desde o desenvolvimento das técnicas moleculares para fins taxonômicos, o número de artigos sobre taxonomia química de insetos baseada em HCs caiu, pois acreditava-se que todas as lacunas deixadas pela quimiotaxonomia e pela taxonomia clássica seriam preenchidas (Bagnères & Wicker-Thomas, 2010). No entanto, a técnica da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) também sofreu muitos avanços, o que permitiu que novos métodos para identificação química fossem criados e aperfeiçoados, sendo, então, os HCs úteis novamente não só à diferenciação de espécies, mas também à descoberta de espécies crípticas (Lavine *et al.*, 2003; Akino, 2006; Cvačka *et al.*, 2006).

A quimiotaxonomia baseada em HCs apresenta algumas vantagens sobre a taxonomia molecular, pois, além de ser mais rápida, não é necessário o acondicionamento dos espécimes em nitrogênio ou etanol. Porém, os insetos capturados em campo necessitam de ser mantidos em frascos de vidro, evitando o contato com materiais plásticos. Além disso, pelo fato de os hidrocarbonetos analisados serem oriundos da epicutícula dos insetos, a quimiotaxonomia não inviabiliza os espécimes e, portanto, podem ser utilizados em estudos de taxonomia morfológica (Phillips & Milligan, 1986).

A taxonomia é muito importante nos dias de hoje, especialmente por conta de uma crise da biodiversidade atual. A definição precisa é primordial para avaliar o número de espécies ameaçadas de extinção e para a identificar áreas biodiversas (Sites & Crandall, 1997). Um desafio especial para os taxonomistas é identificar o limiar além do qual dois indivíduos podem ser considerados como espécies independentes, ou seja, o quão diferente é suficientemente diferente. Isto se torna ainda mais complicado pois existem mais de 20 conceitos propostos de espécies (Hey, 2006).

Na Entomologia Forense, a identificação acurada das espécies é o primeiro passo para o sucesso da técnica (Smith, 1986). Mas, na maioria das vezes, o inseto que pode fornecer pistas sobre um delito está no estágio imaturo, o que torna difícil e imprecisa sua identificação por métodos morfológicos (Greenberg, 1991). São poucos os trabalhos sobre quimiotaxonomia de insetos de importância forense, destacando-se os de Ye *et al.* (2007), Zhu *et al.* (2007), Roux *et al.* (2008), Braga *et al.* (2013a) e Moore *et al.* (2013, 2014), que analisaram a composição de HCs de imaturos de dípteros necrófagos.

A família Sarcophagidae possui espécies de importância forense, que são pioneiras no processo de degradação cadavérica (Barbosa *et al.*, 2009; 2010). A taxonomia do grupo é baseada na genitália do macho e as fêmeas são de difícil identificação, pois poucos são os caracteres que as diferencie em nível específico (Lopes, 1954; Pape, 1996). Dentre os sarcófagídeos de importância forense, destacam-se os gêneros *Peckia* Robineau-Desvoidy, 1830 e *Oxysarcodexia* Townsend, 1917, por serem as moscas desta família mais frequentemente encontradas em carcaças e cadáveres humanos (Souza & Linhares, 1997; Carvalho *et al.*, 2000; Barbosa *et al.*, 2009, 2010).

Os únicos trabalhos sobre quimiotaxonomia de Sarcophagidae se restringem aos de Jackson *et al.* (1974) e Arnold & Regnier (1975), com adultos e imaturos de *Sarcophaga bullata* Parker, 1916; Ye *et al.* (2007), com pupários de *Boettcherisca peregrina* (Robineau-Desvoidy, 1830) e *Parasarcophaga crassipalpis* (Macquart, 1839) e Braga *et al.* (2013a), com pupários de *Peckia* (*Pattonella*) *intermutans* (Thomson, 1869), *Peckia* (*Peckia*) *chrysostoma* (Wiedemann, 1830), *Peckia* (*Sarcodexia*) *lambens* (Wiedemann, 1830) e *Sarcophaga* (*Liopygia*) *ruficornis* (Fabricius, 1794), este último foi o único a analisar espécies da fauna brasileira.

Segundo Oliveira-Costa (2011), há a necessidade de se estimular estudos taxonômicos amparados por várias técnicas para a montagem de um banco de dados das espécies que

participam do processo de degradação cadavérica no Brasil, em todos os estágios de vida (larval, pupal e adulto). Desta forma, este estudo teve como objetivo a análise quimiotaxonômica de várias espécies de sarcófagídeos de importância para a entomologia forense, com vistas à formação de um banco de dados.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Descrever, através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, os perfis dos hidrocarbonetos cuticulares dos adultos de nove espécies da família Sarcophagidae, considerando o sexo e a distribuição geográfica, além de comparar os perfis resultantes com os de outras espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae e Stratiomyidae.

2.2 Objetivos Específicos

1) Descrever, através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, os perfis cromatográficos dos hidrocarbonetos cuticulares dos machos e/ou fêmeas das espécies *Malacophagomyia filamenta* (Dodge, 1964), *Oxysarcodexia fringidea* (Curran & Walley, 1934), *Oxysarcodexia inflata* Lopes, 1975, *Oxysarcodexia intona* (Curran & Walley, 1934), *Oxysarcodexia terminalis* (Wiedemann, 1830), *Oxysarcodexia thornax* (Walker, 1849), *Peckia (Peckia) pexata* (Wulp, 1895), *Peckia (Squamatodes) ingens* (Walker, 1849) e *Ravinia belforti* (Prado & Fonseca, 1932), com o intuito de detectar possíveis oscilações qualitativas e/ou quantitativas nos perfis.

2) Comparar os hidrocarbonetos dos machos de *O. thornax* oriundos de três diferentes estados do Brasil (Amapá, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro), a fim de detectar possíveis oscilações qualitativas e/ou quantitativas significativas dos perfis analisados e descrevê-las quimiotaxonomicamente.

3) Descrever quimiotaxonomicamente e comparar, através da análise de cluster, os hidrocarbonetos cuticulares das espécies de quatro diferentes famílias, sendo elas:

I - Calliphoridae *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775), *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805) e *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830);

II - Muscidae – *Graphomya maculata* (Scopoli, 1763), *Musca domestica* Linnaeus, 1758 e *Synthesiomya nudiseta* (Wulp, 1883);

III - Sarcophagidae – *M. filamenta*, *O. fringidea*, *O. inflata*, *O. intona*, *O. terminalis*, *O. thornax*, *P. (P.) pexata*, *P. (S.) ingens* e *R. belforti*;

IV - Stratiomyidae – *Hermetia illucens* Linnaeus, 1758.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 – Os Hidrocarbonetos Cuticulares (HCs)

Os HCs formam a camada lipídica que recobre a epicutícula dos insetos, em conjunto com outros compostos, tais como ésteres, álcoois, ácidos graxos, parafinas, acilglicerídios, fosfolipídios e glicolipídios (Lockey, 1988). Os HCs mais comuns se dividem em duas classes (Figura 1): os saturados, que são representados pelos alcanos lineares (*n*-alcanos) e alcanos metil-ramificados, e os insaturados, que são representados por alcenos e, raramente, por alcenos metil-ramificados (Warthen & Uebel, 1980; Howard *et al.*, 1990; Carlson & Schlein, 1991; Blomquist, 2010).

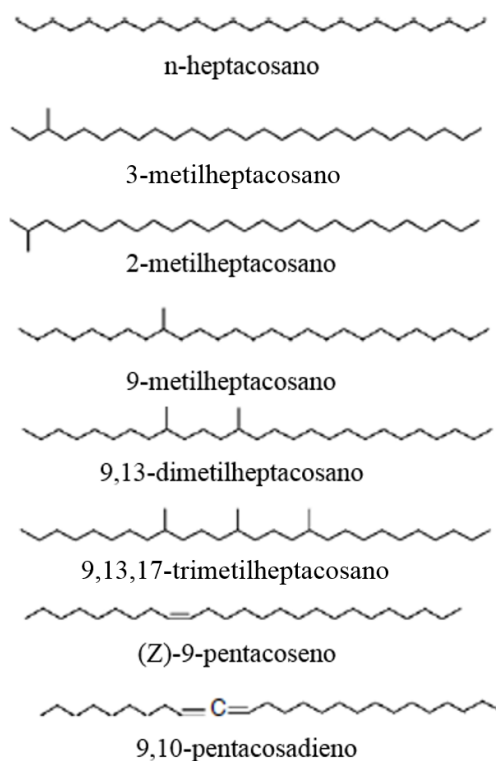


Figura 1 - Estruturas dos principais hidrocarbonetos presentes na epicutícula dos insetos (adaptado de Blomquist, 2010).

Primariamente, os HCs têm como função a prevenção à dessecação (desidratação) e, ao mesmo tempo, oferecer uma barreira de proteção contra patógenos (Lockey, 1988). Ao longo do processo de evolução dos insetos, os hidrocarbonetos, além da função primária, também

passaram a ser utilizados na comunicação química, atuando como feromônios, cairomônios e alomônios (Ebbs & Amrein, 2007). De maneira geral, os alcanos têm uma função mais direcionada à prevenção da dessecação, por conta de seus altos pontos de fusão, diferente dos alcenos, que estão mais relacionados à comunicação química (Gibbs, 2002).

Os HCs são sintetizados por grandes células epidérmicas chamadas enócitos (Lockey, 1965), a partir dos precursores acetil-CoA e malonil-CoA, os quais iniciam um processo de descarboxilação (Bagnères & Blomquist, 2010). Chino *et al.* (1981) propõem que uma lipoproteína presente na hemolinfa chamada lipoforina transporte os hidrocarbonetos recém-sintetizados dos enócitos para o local de deposição. No entanto, a maneira pela qual os hidrocarbonetos são transferidos para a superfície do inseto e como se dá o arranjo de hidrocarbonetos ainda é desconhecido (Bagnères & Blomquist, 2010).

Os HCs estão presentes desde ovo até adultos e sua biossíntese é regulada por diversos fatores, tais como ambientais (temperatura e umidade), comportamentais (tipo de dieta) e fisiológico (estado reprodutivo, estágio de desenvolvimento e idade) (Hadley, 1977; Toolson, 1982; Gebre-Michael *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 2001; Dietemann *et al.*, 2003, Rouault *et al.*, 2004). Devido à espécie-especificidade resultante da descendência comum, os perfis de HCs variam entre espécies, mas também podem variar entre machos e fêmeas, entre os estágios de desenvolvimento (ovo, larva, pupa, pupário e adultos, no caso de holometábolos) e também entre populações (Brown *et al.*, 1992; Vaničková *et al.*, 2012; Getahun *et al.*, 2014).

3.1.1 – Considerações para o uso dos Hidrocarbonetos Cuticulares em quimiotaonomia

A delimitação correta de espécie é importante para o conhecimento da biodiversidade e para todos os campos da entomologia (agrícola, médica, forense etc.), mas, para garantir a precisão taxonômica, precisamos contar com as ferramentas confiáveis para separá-las. Os taxonomistas dispõem de uma série de caracteres para a delimitação de espécies (genéticos, morfológicos, químicos, fisiológicos e ecológicos).

A taxonomia química baseada em perfis de HCs de insetos foi reconhecida na década de 1970, com os primeiros estudos de Jackson (1970) e Jackson & Baker (1970), sendo aprimorada e padronizada por Lockey (1980) e Carlson & Service (1979, 1980) que reconheceram a função taxonômica dos HCs devido ao caráter espécie-específico dos perfis.

Desde então, os HCs se tornaram mais populares entre os taxonomistas de insetos e têm ajudado a delimitar muitas espécies (Bagnères & Wicker-Thomas, 2010). Apesar do crescimento no número de trabalhos sobre quimiotaxonomia, há de se estabelecer o quão confiável é a técnica, as vantagens em comparação a outras técnicas e suas limitações.

Os HCs permanecem estáveis quando são expressos na epicutícula e podem ser facilmente distinguidos em um cromatograma e identificados pelos seus respectivos espectros de massas (Kaib *et al.*, 1991). Eles são sintetizados pelo próprio indivíduo e codificados por uma série de genes responsáveis pela sua expressão na epicutícula, sendo, então, um mecanismo ligado à hereditariedade (Ishii *et al.*, 2001). Sendo hereditária, a expressão dos HCs na epicutícula é passada de geração em geração e, conseqüentemente, é compartilhada por indivíduos da mesma espécie e, em algumas situações, nas espécies filogeneticamente próximas (Ross *et al.*, 1987).

O uso da quimiotaxonomia baseada em perfis de HCs é particularmente interessante à medida em que a identificação de espécies crípticas com sinais de isolamento reprodutivo é facilitada. Os HCs são provavelmente melhores indicadores de eventos de especiação e isolamento reprodutivo que outras ferramentas taxonômicas como, por exemplo, a biologia molecular, que exige mais tempo para detectar alterações de ordem genômica em um processo de especiação (Kather & Martin, 2012).

As espécies crípticas são um problema comum na taxonomia, uma vez que são morfologicamente idênticas (Winston, 1978). Um exemplo de como os HCs puderam ser úteis é no caso dos indivíduos de *Pachycondyla villosa* (Fabricius, 1804), que, morfologicamente, pareciam pertencer a esta espécie, mas tinham comportamentos distintos de nidificação nos formigueiros analisados (Lucas *et al.*, 2002). Os autores do estudo, utilizando os HCs, descobriram que, na verdade, *P. villosa* era composta por um complexo de três espécies. Pode, no entanto, acontecer o inverso, principalmente no caso de insetos sociais, quando uma mesma espécie possui uma variedade de tipos morfológicos (castas). Em *Reticulitermes* Holmgren, 1913, por exemplo, os cupins forrageiros são bem maiores que os mantenedores de ninho, mas, uma análise dos HCs permite dizer que seus perfis cromatográficos os agrupam na mesma espécie (Nelson *et al.*, 2001).

Há, no entanto, algumas poucas limitações que, como qualquer técnica, podem impedir ou dificultar o uso dos HCs na quimiotaxonomia. Todas as ferramentas taxonômicas esbarram na problemática da definição de espécie e da convergência evolutiva (Kather & Martin, 2012).

Ainda há uma incerteza sobre o quão diferente é diferente o suficiente para se considerar uma espécie (Sites & Crandall, 1997). Eventos de especiação podem resultar em diferenças na morfologia ou no número de cromossomos e, portanto, essas variáveis podem distinguir duas espécies de forma confiável; desta forma, o mesmo argumento pode ser aplicado à quimiotaxonomia baseada em HCs. No entanto, quando duas populações apenas diferem nas quantidades dos HCs, não é um indicativo de que se trata de duas espécies, mas uma variação geográfica regulada, possivelmente, (além de outros fatores a serem considerados) por fatores ambientais (Haverty *et al.*, 1990; Broza *et al.*, 1998).

Como mencionado, fatores ambientais podem modular a composição HCs, pois em climas quentes e secos há uma maior produção de *n*-alcanos de cadeia longa (prevenção à dessecação) (Chapman *et al.*, 1995; Wagner *et al.*, 2001). Em climas temperados, cujas estações são mais bem definidas, as condições climáticas podem também causar alterações sazonais na composição de HCs (Haverty *et al.*, 1996). Quanto à dieta, há de se considerar que alguns insetos podem exprimir em sua epicutícula HCs que são comuns aos alimentos que eles ingerem (plantas e outros insetos) (Espelie *et al.*, 1994; Liang & Silverman, 2000). Um exemplo disso ocorre com *Drosophila serrata* Malloch (1927), pois quando suas larvas são desenvolvidas em arroz ou milho em vez de levedura (dieta habitual), os perfis de HCs, tanto dos imaturos quanto dos adultos são alterados (Rundel *et al.*, 2005).

Em alguns insetos sociais, a função dentro da colônia depende da idade e a maneira de se detectar a idade é a produção de algum tipo de HC que passa e se expressar na epicutícula (Bartelt *et al.*, 1986; Haverty *et al.*, 1990; Chapman *et al.*, 1995). Outros insetos (não sociais) também têm seus perfis de HCs modificados com a idade, principalmente porque apenas os indivíduos sexualmente maduros produzem feromônios sexuais e, quando apenas um dos sexos produz esses feromônios, resulta em dimorfismo sexual relacionado ao perfil dos HCs o que leva a diferenças significativas entre machos e fêmeas (Sledge *et al.*, 2004; Lommelen *et al.*, 2006).

3.1.2 – Hidrocarbonetos cuticulares como marcadores filogenéticos

Os HCs podem ser utilizados em análises filogenéticas, mas com certo cuidado, pois ainda há pouco conhecimento sobre sua evolução e, como consequência, as homoplasias podem ser facilmente confundidas com homologias (Page *et al.*, 1997). A inferência de descendência

comum a partir de perfis de HCs semelhantes tem que ser feita com cautela, já que a existência de certos compostos é dependente das condições ambientais a que alguns insetos são submetidos. Espécies que utilizam o mesmo habitat podem ter quantidades semelhantes de *n*-alcanos (impedem a dessecação), mas isso não significa que haja uma relação filogenética próxima (Chapman *et al.*, 1995). O contrário também precisa ser considerado, pois se duas espécies diferem na quantidade de certos compostos, não significa que são distantes filogeneticamente, mas pode ser que vivam em condições climáticas diferentes ou utilizem diferentes dietas (Wagner *et al.*, 2001). Desta forma, uma das maneiras de se demonstrar se há HCs homólogos entre duas ou mais espécies é examinar os compostos no sítio de sua biossíntese (Hefetz *et al.*, 1993).

Se a expressão de alguns HCs na cutícula é dependente de fatores exógenos, então não há a necessidade de se analisar todos os compostos identificados no inseto. Pode ser indicado considerar apenas os HCs que são utilizados na comunicação e, portanto, com um maior grau de certeza de serem específicos para a espécie analisada. Segundo Lommelen *et al.* (2006), alcenos (insaturados) e metil-alcanos (saturados ramificados) têm uma conformação tridimensional, o que torna mais fácil a comunicação química entre os membros de uma população, diferente dos alcanos lineares (*n*-alcanos) que são sabidamente utilizados na impermeabilização e, portanto, com grande possibilidade de serem homoplásticos.

Martin *et al.* (2008) utilizando HCs de 33 espécies de *Formica* Linnaeus, 1758, descobriram, ao excluirmos os *n*-alcanos das análises, que a filogenia permaneceu a mesma quando feita com morfologia, o que pode indicar um papel menos importante desses compostos como marcadores filogenéticos. Isso reforça que há a necessidade de se distinguir HCs influenciados por fatores ambientais daqueles que podem significar diferenças reais entre espécies.

Estrada-Peña *et al.* (1994) utilizaram a composição de HCs para construir filogenias hipotéticas entre populações simpátricas e alopátricas dos carrapatos *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787), *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) e *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758). Em seus resultados os autores discutem a utilidade dos HCs como marcadores filogenéticos, pois alguns compostos parecem ser modificados apenas por pressões do ambiente. Eles concluem que a interpretação das semelhanças ou diferenças nos perfis de HCs como consequência da evolução permanece provisória até que estudos genéticos da herança destes compostos como fenótipos estejam disponíveis.

Há de se considerar também que utilização de HCs numa abordagem filogenética tem de levar em conta que, durante a ontogenia, os perfis destes compostos podem variar quantitativamente e qualitativamente, assim é preciso saber qual a melhor fase para considerá-los como marcadores filogenéticos. Roux *et al.* (2006) analisaram compostos cuticulares de três espécies de califorídeos: *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758), *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 e *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830) de ovo a adulto com oito dias de idade. Os autores compararam as filogenias morfológicas e moleculares anteriormente realizadas com as de HCs propostas por eles e descobriram que a melhor congruência filogenética entre os métodos foi encontrada em fêmeas adultas jovens.

Alguns trabalhos foram realizados com sucesso, como o de Jacob & Hansen (1986) que, ao analisarem os HCs de 37 espécies de coleópteros (12 de Adepfaga e 25 de Polyphaga), encontraram uma boa correlação entre os estudos filogenéticos morfológicos e quimotaxonômicos para Tenebrionidae, mas não para Cucujidae, que possui espécies mais heterogêneas. Page *et al.* (1997) construíram uma filogenia com base em HCs para espécies de *Ips* De Geer, 1775 (Coleoptera, Scolytidae) que também corroboraram as análises filogenéticas com bases morfológicas e moleculares, além de separar espécies crípticas (*Ips paraconfusus* Lanier, 1970, *Ips confusus* (LeConte, 1876) e *Ips hoppingi* Lanier, 1970).

Um outro exemplo para ilustrar a utilidade da análise de HCs em filogenia envolve as espécies havaianas de *Laupala* Otte, 1994 (Orthoptera, Gryllidae), que representam um dos grupos de animais com especiação mais recente identificada. Mullen *et al.* (1984) demonstram uma evolução rápida da composição de HCs entre as espécies neste gênero, diferenças significativas entre machos e fêmeas, além de uma redução significativa na complexidade do perfil de HCs em comparação com duas espécies usadas como grupo externo.

3.1.3 – Uso da quimiotaxonomia baseada em perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares em insetos de importância forense

A entomologia forense depende de uma identificação precisa dos insetos coletados em uma cena de crime para determinar, dentre outras variáveis, a estimativa do intervalo pós-morte (IPM). A tarefa de identificação com base em critérios morfológicos pode ser um desafio, devido à complexidade das chaves, aos recursos de diagnóstico limitados nos estágios imaturos e também à má conservação de amostras entomológicas. Apesar de ainda existirem poucos

trabalhos relacionados à quimiotaxonomia de insetos de importância forense, esta técnica, que usa perfis de HCs, se mostra muito promissora, principalmente porque possibilita a datação do IPM em casos criminais (Drijfhout, 2010).

O primeiro estudo com dípteros de importância forense foi realizado por Goodrich (1970) com o califorídeo *L. cuprina*, onde foram identificadas as ceras cuticulares (não só HCs) de machos, fêmeas e pupários. O autor utilizou a técnica de cromatografia em camada fina e indicou que os lipídeos compreendem HCs, ésteres triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos e ácidos graxos livres. Segundo o autor, os HCs desta espécie se assemelhavam aos dos grilos (Baker *et al.*, 1960) e contrastavam com os da barata (Baker *et al.*, 1963) devido à ausência de alcenos.

Brown *et al.* (1992), com *Chrysomya bezziana* Villeneuve, 1914, observaram que as composições de HCs de machos e fêmeas recém-emergidos são semelhantes e são caracterizados principalmente por alcanos e, à medida que as moscas envelheceram, as quantidades dos HCs foram alteradas e as diferenças entre os sexos apareceram. Além de as composições de hidrocarbonetos dos estágios imaturos serem notadamente diferentes dos adultos, grande parte das mudanças ocorreram no terceiro e quinto dia pós-emergência.

Trabalon *et al.* (1992) analisaram os hidrocarbonetos cuticulares de adultos de *C. vomitoria* com relação à idade e sexo. Utilizando Análise de Componentes Principais (Principal Component Analysis - PCA), foram capazes de distinguir diferentes grupos com base nas proporções relativas de hidrocarbonetos do sexo masculino e do sexo feminino, além de distinguir também adultos recém-emergidos dos mais antigos. Os HCs identificados foram *n*-alcanos, mono e dimetilalcanos de 20 a 31 átomos, sendo os alcenos detectados apenas nas fêmeas.

Apesar de não ter um contexto forense, Carlson *et al.* (2001) descreveram o perfil de HCs do muscídeo de importância forense *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann, 1830) oriundo de populações de quatro diferentes localidades (Chile, Dinamarca, Estados Unidos e Hungria). As análises de agrupamento discriminaram machos e fêmeas e as populações das quatro localidades contempladas devido às diferenças encontradas nas quantidades dos compostos identificados.

Zhu *et al.* (2006) analisaram o potencial do uso de HCs para determinarem as idades das larvas e as mudanças em seus perfis no desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya rufifacies* (Macquart, 1842). Os HCs encontrados foram aqueles tipicamente

encontrados em insetos (*n*-alcanos, alcanos meti-ramificados e alcenos de 21 a 31 carbonos). A estatística mostrou que as razões entre os picos de *n*-C29 e outros oito picos (compostos) aumentaram significativamente com a idade. Os resultados sugerem que a composição de HCs é um indicador útil para determinar a idade das larvas de *C. rufifacies*, especialmente no estágio imaturo.

Ye *et al.* (2007), utilizando CG-MS, analisaram os HCs extraídos de pupários de seis espécies de dípteros necrófagos (*Aldrichina grahami* (Aldrich, 1930), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Achoetandrus rufifacies* (Macquart, 1843), *B. peregrina* e *P. crassipalpis*). Um modelo de análise discriminante que incluía os compostos como variáveis independentes foi construído, o que permitiu uma separação completa dos pupários das seis espécies.

Zhu *et al.* (2007) analisaram os HCs para determinarem as alterações relacionadas ao tempo de desgaste dos pupários de *C. megacephala* em condições de laboratório. Os resultados demonstraram que os HCs, formados por uma mistura de *n*-alcanos e alcanos metil-ramificados, tinham comprimento da cadeia que variou de 21 a 35 carbonos. Os autores constataram que os perfis de HCs apresentaram mudanças significativas em função do tempo de desgaste, o que significa que esses compostos são potenciais indicadores forenses para *C. megacephala*, com possibilidade serem utilizados para datação do IPM.

Roux *et al.* (2008) foram os primeiros a realizar um estudo completo de ontogenia de três espécies de Calliphoridae (*C. vicina*, *C. vomitoria* e *P. terraenovae*) utilizando cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC). Os resultados mostraram um grande potencial para se utilizar HCs em uma aplicação na entomologia forense, pois a análise discriminante realizada permitiu diferenciações claras entre os estágios de vida (larval, pupal, pupários e adulto).

Butcher *et al.* (2013) utilizaram um instrumento estatístico utilizado em química analítica chamado “rede neural de dados” para a analisarem perfis de HCs em larvas de *L. sericata*, com intuito de estimar a idade das larvas. Esta ferramenta estatística se mostrou útil na datação da idade das larvas, apesar de não conseguir diferenciar larvas de um e dois dias, o que era esperado. No entanto, após dois dias de idade, os perfis de HCs puderam ser estimados com uma confiabilidade que variou entre 89 e 97,5% de precisão.

Moore *et al.* (2013) extraíram HCs, diariamente, de larvas recém-eclodidas até a fase de pupa de *L. sericata*. As amostras, analisadas por CG-EM, mostraram características distintivas dentro do perfil de HCs durante os períodos do ciclo de vida das larvas, com alterações químicas significativas que ocorrem a partir de neolarvas até a fase pós-alimentar. Além disso, a análise de PCA revelou uma forte correlação entre as quantidades de determinados compostos e a idade das larvas, o que sugere uma evolução sistemática dos perfis em função do tempo.

Moore *et al.* (2014) examinaram os HCs em larvas de 1º instar três espécies de califórídeos de importância forense (*L. sericata*, *C. vicina* e *C. vomitoria*) usando a técnica de CG-EM. Os resultados baseados na análise de PCA mostram que cada uma das espécies realiza uma "impressão digital", permitindo a identificação precisa em larvas de um dia de idade, o que seria muito difícil se fossem examinadas morfológicamente. Esta técnica se mostrou muito útil, pois poderia acelerar o processo de identificação, não só para as espécies de importância forense, mas também para outros ramos da entomologia.

Pechal *et al.* (2014) identificaram os perfis de HCs dos adultos de duas espécies de califórídeos de importância forense *C. macellaria* e *C. rufifacies*. Nos resultados os autores observaram que apenas dez compostos foram compartilhados entre as espécies e que os perfis de HCs obtiveram diferenças significativas detectadas entre as moscas recém-emergidas. Esses resultados podem servir para melhorar as estimativas de IPM e também aumentar o uso de insetos adultos durante investigações criminais.

Xu *et al.* (2014) estudaram a influência da idade no perfil de HCs das larvas do califórídeo *A. grahmi*. Os resultados mostraram que a maioria dos alcanos com menos de 25 carbonos e quase todos os alcenos diminuíram em abundância com o desenvolvimento larval. No entanto, a abundância dos alcanos com mais de 25 carbonos aumentou gradualmente com a idade. Um modelo matemático derivado da análise de regressão linear múltipla foi desenvolvido para determinar a idade das larvas com base nas alterações dos HCs dependentes da idade. Os resultados indicaram que os HCs têm um grande potencial para determinar não só a idade das larvas de moscas, mas também para a estimativa do IPM em investigações criminais.

O único estudo feito exclusivamente com sarcófagídeos, foi também o único realizado com insetos coletados no Brasil (Braga *et al.*, 2013a). Neste trabalho, os autores identificaram os HCs dos pupários das espécies *P. (P.) chrysostoma*, *P. (P.) intermutans*, *P. (S.) lambens* e *S. (L.) ruficornis*. Os compostos identificados foram principalmente *n*-alcanos, mono e dimetilalcanos de 23 a 33 carbonos na cadeia linear, com apenas dois alcenos encontrados.

Através da análise de cluster, os autores confirmaram a íntima relação filogenética entre as duas espécies de *Peckia*, incluindo-as em um mesmo ramo.

3.2 – Família Sarcophagidae

A família Sarcophagidae, também conhecida como “flesh flies”, está globalmente distribuída e está dividida em aproximadamente 170 gêneros e 3.000 espécies (Pape *et al.*, 2011). São moscas de tamanho em sua maioria médio, geralmente acinzentadas e com a arista variando de nua à plumosa. O escuto contém três fortes listras escuras longitudinais e o abdômen é ornamentado com padrões enxadrezados em cinza e preto. As fêmeas são larvíparas, ou seja, depositam no substrato larvas de primeiro instar, pois são vivíparas obrigatórias (Lopes, 1969; Guimarães & Papavero, 1999).

Os Sarcophagidae, antes tratados como uma subfamília de Calliphoridae, estão divididos em três subfamílias: Miltogramminae, Paramacronychiinae e Sarcophaginae (Pape, 1996). Os Miltogramminae, em sua grande maioria, são representados por cleptoparasitas de abelhas e vespas solitárias, mas também podem se alimentar de ovos de lagartos e de tartarugas (Lopes, 1982; Mullen *et al.*, 1984). Os Paramacronychiinae podem ser predadores (ou parasitoides) de lepidópteros, de imaturos de abelhas, mas também podem preda insetos adultos e produzirem miíases em mamíferos (Lopes, 1973; Pape, 1996).

Os Sarcophaginae são os mais diversos, especialmente no Novo Mundo, onde exibem uma enorme variedade de comportamentos. Algumas espécies estão frequentemente associadas a fezes e outras podem produzir miíases em vertebrados, também podem ser parasitoides de insetos e outros e artrópodes ou podem se desenvolver em cupinzeiros ou formigueiros (Pape, 1996). Nesta subfamília estão os representantes de importância para a entomologia forense, pois muitas espécies são frequentemente coletadas em carcaças de animais e cadáveres humanos (Smith, 1986; Catts & Haskell, 1991; Oliveira-Costa, 2011).

3.2.1 – Sarcófagídeos de importância forense

O hábito de frequentarem e se desenvolverem em carcaças e cadáveres humanos (necrofagia) lhes deu grande importância no campo da entomologia forense, pois suas formas imaturas podem ser utilizadas como ferramenta para o cálculo do IPM, principalmente nos

estágios mais avançados da decomposição ou quando os métodos tradicionais de cronotanatognose não forem possíveis (Smith, 1986; Oliveira-Costa, 2011). Podem dar informações sobre a causa da morte, como, por exemplo, envenenamento e overdose, pois é possível a detecção de drogas e outras substâncias químicas nas larvas que se alimentaram dos tecidos em decomposição (Goff *et al.*, 1989; Introna *et al.*, 2001).

Informações sobre deslocamento de cadáveres da cena do crime podem ser dadas quando forem encontradas, sobre o cadáver, espécies que não são comuns na região em que o corpo foi encontrado, para isso é necessário um estudo exaustivo sobre a ecologia e distribuição geográfica dos insetos necrófagos (Catts & Haskell, 1991; Pujol-Luz *et al.*, 2008). Podem também dar informações sobre episódios de maus tratos em crianças e idosos, já que suas formas imaturas podem se desenvolver nas fezes acumuladas, durante os dias sem higiene, em roupas e fraldas utilizadas pelo negligenciado (Benecke, 2001; Benecke & Lessig, 2001). No Brasil, aspectos bioecológicos de sarcófagídeos necrófagos foram muito bem estudados nas últimas três décadas (d'Almeida, 1984; Dias *et al.*, 1984; d'Almeida, 1994; d'Almeida & Lima, 1994; d'Almeida & Almeida, 1996; Leandro & d'Almeida, 2005). Em adição, foram publicadas chaves de identificação de sarcófagídeos de interesse forense para o Brasil, uma para a região sul e outra para o estado do Amazonas (Carvalho & Mello-Patiu, 2008; Vairo *et al.*, 2011 2014).

Desde o início dos estudos da fauna cadavérica brasileira (Roquette-Pinto, 1908; Freire, 1914a; 1914b; 1923) os Sarcophagidae são apontados como uma das famílias com maior importância forense. A seguir, os principais trabalhos realizados nos últimos 30 anos mostram as espécies relacionadas à degradação cadavérica. Em Campinas, dois estudos relacionados à fauna de insetos em carcaças de ratos e cadáveres humanos (Monteiro-Filho & Penereiro, 1987; Carvalho *et al.*, 2000) registraram a espécie *P. (P.) intermutans* e sua importância na decomposição como indicadora de IPM. Foram também coletadas sete espécies de *Peckia*, uma de *Engelmyia* Lopes, 1975 e uma de *Oxysarcodexia*.

Um levantamento da fauna necrófaga foi feito por Moura *et al.* (1997), em Curitiba, com o objetivo de identificar os insetos com potencial uso forense e para criação de uma base de dados para o sul do Brasil. Para isso, foram utilizadas carcaças de *Rattus norvegicus* (Berkenhout 1769). Entre os sarcófagídeos, os autores apontaram apenas *Peckia (Pattonella) resona* Lopes, 1935 como indicadora de IPM, salientando que esta espécie foi restrita à área de floresta e em meses mais quentes. No estado do Rio de Janeiro, Oliveira-Costa *et al.* (2001) encontraram adultos e imaturos de *P. (P.) chrysostoma*, *P. (S.) lambens* e

S. (L.) ruficornis se desenvolvendo em cadáveres humanos nos municípios de São João de Meriti e Duque de Caxias.

O estudo de Barros *et al.* (2008) apresenta uma lista de dípteros sarcófagos adultos coletados em carcaça de porco doméstico em uma área de Cerrado no Distrito Federal, sendo um importante estudo sobre a composição da dipterofauna na região. O trabalho acompanhou o processo de decomposição da carcaça e coletou 4.626 indivíduos divididos em 28 espécies, sendo 16 novos registros para a região estudada. Os gêneros mais representativos foram *Oxysarcodexia* e *Peckia* (oito espécies cada) e *Dexosarcophaga* Townsend 1917 (seis espécies), com a espécie *Peckia (Squamatodes) trivittata* (Curran, 1927) como indicadora de IPM.

No Rio Grande do Sul, Souza *et al.* (2008) coletaram insetos necrófagos durante todas as estações climáticas em carcaças de coelho (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) para possível uso na medicina-legal. A partir da criação de imaturos coletados na carcaça, foram identificadas 20 espécies com importância forense para o cálculo do IPM, estando, dentre os sarcófagos, as espécies *P. (P.) resona* e *Sarcophaga (Lyopygia) crassipalpis* (Macquart, 1839). Gomes *et al.* (2009) analisaram a sucessão de insetos em carcaças de porcos domésticos em decomposição em um canavial, em Itapeúna, São Paulo. Foram coletados adultos e larvas das espécies de sarcófagos *S. (L.) ruficornis* e *P. (P.) chrysostoma*, confirmando a importância desses insetos para o cálculo do IPM.

Ocorrência de *Microcerella halli* (Engel, 1931) em uma carcaça de cobra foi relatada por Moretti *et al.* (2009) em Morungaba, São Paulo. Os autores encontraram 27 larvas de segundo instar em uma carcaça de urutu *Bothrops alternatus* (Duméril, Bibron & Duméril, 1854). Descrições de colonização em carcaças de répteis por insetos e dados gerais da biologia são escassos, sendo o comportamento necrófago desta espécie descrito pela primeira vez na literatura.

Os trabalhos de Barbosa *et al.* (2009; 2010), no Rio de Janeiro, deram ênfase aos dípteros calíptros coletados em carcaças de porcos domésticos, com vistas à formação de um banco de dados para o município. Um total de 44 espécies foram identificadas, sendo 23 de Sarcophagidae. Os estudos obtiveram novos registros forenses para o Brasil e para o estado do Rio de Janeiro. Os principais sarcófagos associados à decomposição das carcaças foram espécies do gênero *Oxysarcodexia* (11 espécies), *Peckia* (quatro espécies), *Sarcophaga*

Meigen, 1826 e *Helicobia* Coquillett, 1895 (duas espécies cada). Apenas *P. (P.) intermutans* foi considerada útil ao cálculo do IPM.

Rosa *et al.* (2011) estudaram a sucessão de artrópodes associados a carcaças de suínos em dois perfis de vegetação de Cerrado no Estado de Minas Gerais e relataram que Sarcophagidae foi o grupo com maior riqueza de espécies. Os autores identificaram cerca de 50 espécies de sarcófagídeos, inclusive algumas não descritas, sendo as mais representativas as do gênero *Oxysarcodexia* (18 espécies) e *Peckia* (nove espécies). Três espécies foram consideradas indicadoras de IPM: *P. (P.) intermutans*, *P. (S.) trivittata* e *P. (S.) lambens*.

Em Brasília, Ledo *et al.* (2012) coletaram dípteros associados às carcaças de *Rhinella schneideri* (Werner, 1894) (Anura, Bufonidae), *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Reptilia, Serpentes) e *Mabuya frenata* (Cope, 1862) (Reptilia, Lacertilia), encontrados em áreas de matas de galeria e de cerrado *sensu stricto* em unidades de conservação. Foram identificadas cinco espécies de sarcófagídeos, sendo três de *Peckia*, uma de *Oxysarcodexia* e uma de *Dexosarcophaga* e apenas *P. (P.) intermutans* foi encontrada em estágio larval.

Um inventário de insetos necrófagos foi feito por Vasconcelos *et al.* (2012) para a região nordeste do Brasil. As espécies foram coletadas em diferentes tipos de substratos, como iscas à base de fígado de galinha, sardinha, carcaças de cachorro, porco e rato e também cadáveres humanos. As espécies de sarcófagídeos associadas a esses substratos pertencem principalmente aos gêneros *Oxysarcodexia* (sete espécies) e *Peckia* (quatro espécies). As espécies associadas a cadáveres humanos e úteis à estimativa do IPM foram *Oxysarcodexia riograndensis* Lopes, 1946 e *R. belforti*.

O estudo de Mello-Patiu *et al.* (2014) teve como objetivo identificar apenas sarcófagídeos associados à decomposição de carcaças de porcos domésticos em uma área de cerrado de Minas Gerais. Um total de 85.694 espécimes pertencentes a 57 espécies foram coletadas de todas as carcaças (áreas de pastagens e floresta semidecidual). Novos registros de nove espécies foram fornecidos, incluindo as dos gêneros *Blaesoxipha* Loew, 1861, *Malacophagomyia* Lopes, 1966, *Nephoaetopteryx* Townsend, 1934, *Oxysarcodexia*, *Ravinia* Robineau-Desvoidy, 1863 e *Sarcophaga*.

No Rio de Janeiro, Oliveira-Costa *et al.* (2014) compararam o padrão de sucessão entomológica de uma carcaça carbonizada com outra não carbonizada, utilizando carcaças de porcos domésticos. Novamente a família Sarcophagidae se mostrou a mais diversa, com 15

espécies identificadas, representadas principalmente por *Oxysarcodexia* (cinco espécies) e *Peckia* (duas espécies). As espécies *P. (P.) intermutans* e *P. (P.) chrysostoma* foram consideradas indicadoras de IPM.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Coleta dos espécimes

A captura de todos os dípteros utilizados neste estudo foi realizada com armadilhas do tipo Shannon (Figura 2). Em seu interior foram colocadas iscas à base de carne bovina putrefata, vísceras de peixe ou carcaças de porcos domésticos (*Sus scrofa* L.).



Figura 2 – Armadilha Shannon utilizada para captura dos sarcófagídeos.

Os espécimes foram coletados individualmente em tubos de ensaio (vidro) e conservados em freezer (-1 °C). Os locais de coleta contemplaram três fisiografias distintas (Mata Atlântica, Cerrado e Cerrado Amazônico), sendo coletadas as espécies de interesse para a entomologia forense previamente encontradas por outros autores em carcaças de animais em decomposição ou em cadáveres humanos (Figura 3). Foram coletas e analisadas as seguintes espécies:

Família Sarcophagidae - *Malacophagomyia filamenta* (Dodge, 1964), *Oxysarcodexia fringidea* (Curran & Walley, 1934), *Oxysarcodexia inflata* Lopes, 1975, *Oxysarcodexia intona* (Curran & Walley, 1934), *Oxysarcodexia terminalis* (Wiedemann, 1830), *Oxysarcodexia thornax* (Walker, 1849), *Peckia* (*Peckia*) *pexata* (Wulp, 1895), *Peckia* (*Squamatodes*) *ingens* (Walker, 1849) e *Ravinia belforti* (Prado & Fonseca, 1932).

Família Calliphoridae - *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775), *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805) e *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830).

Família Muscidae - *Graphomya maculata* (Scopoli, 1763), *Musca domestica* Linnaeus, 1758 e *Synthesiomya nudiseta* (Wulp, 1883).

Família Stratiomyidae - *Hermetia illucens* Linnaeus, 1758.

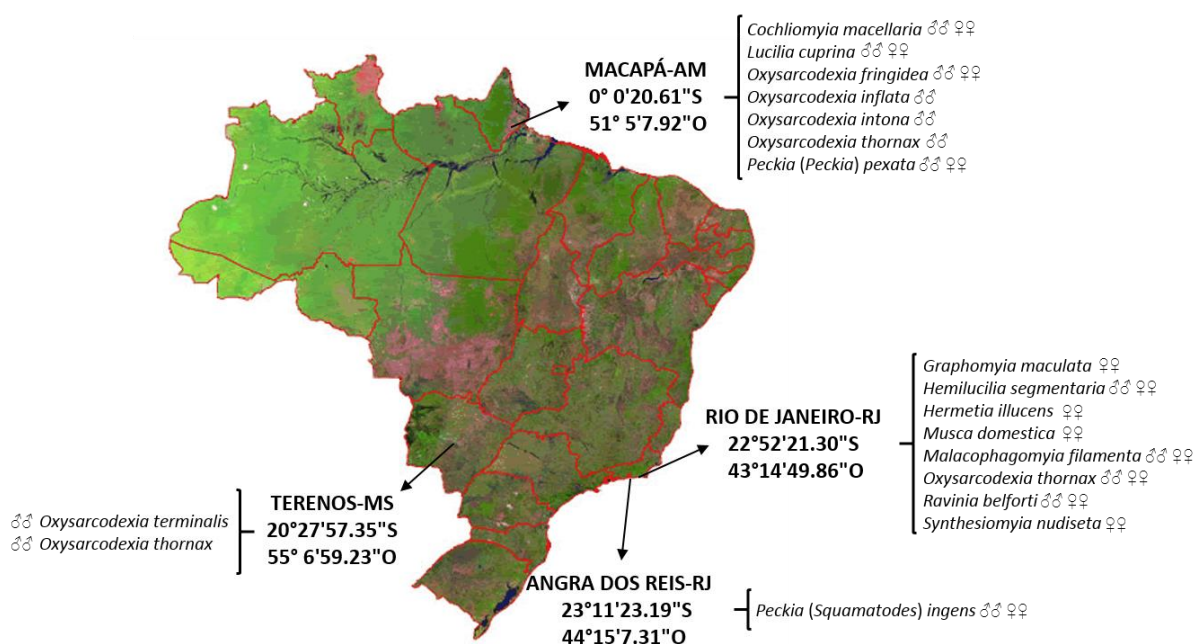


Figura 3 – Municípios de coleta, coordenadas geográficas de referência e espécies analisadas com os respectivos sexos referentes às localidades.

4.2 – Extração dos Hidrocarbonetos Cuticulares (HCs)

As amostras foram separadas por espécie/sexo/região em triplicata, sendo cada réplica contendo de cinco a dez indivíduos, dependendo do tamanho. Cada amostra foi imersa em hexano, um solvente orgânico polar, em recipientes de vidro durante dez minutos. Após este tempo, os HCs dissolvidos no hexano foram retirados com auxílio de pipetas Pasteur de vidro e passados por uma coluna de cromatografia rápida com Florisil®, um adsorvente polar. Este processo foi repetido, mas com as amostras imersas em hexano durante apenas um minuto (Figura 4).

As colunas de Florisil foram confeccionadas da seguinte forma: no fundo de uma pipeta Pasteur (início da parte afunilada) inseriu-se um pouco de lã de vidro e preencheu-se $\frac{2}{3}$ da

pipeta com Florisil. Os extratos de HCs diluídos no hexano foram retirados com uma pipeta Pasteur de vidro de cada frasco em que foram feitas as extrações e despejados em colunas individuais (para cada grupo separadamente) (Figura 5). A função da coluna é de separar os HCs de outros componentes lipídicos da epicutícula (ácidos graxos, acilglicerídeos, glicolipídeos etc.). Ao final da passagem dos extratos pela coluna, apenas os HCs misturados ao hexano foram reservados em frascos de 1,5 µL próprios para cromatografia. Esses foram, então, alocados dentro de capelas de exaustão químicas, onde permaneceram até a evaporação do hexano. Toda a etapa de extração foi realizada no Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Setor de Entomologia Médica e Forense do Instituto Oswaldo Cruz, da Fundação Oswaldo Cruz (LTL/SEMEF/IOC-FIOCUZ).

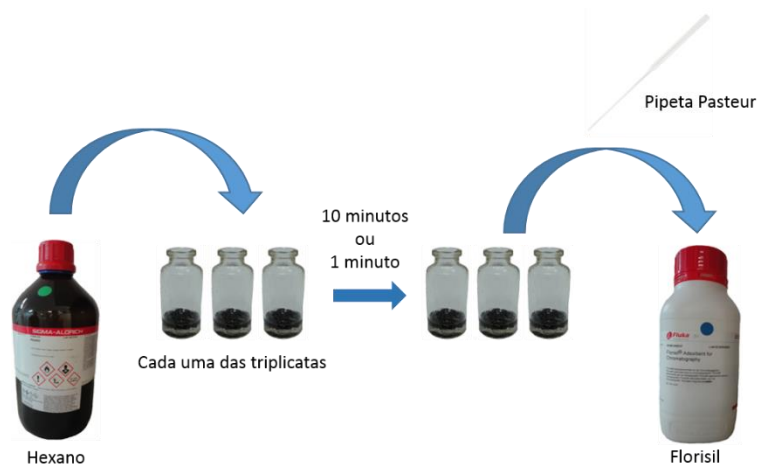


Figura 4 – Esquema das etapas de extração dos HCs.

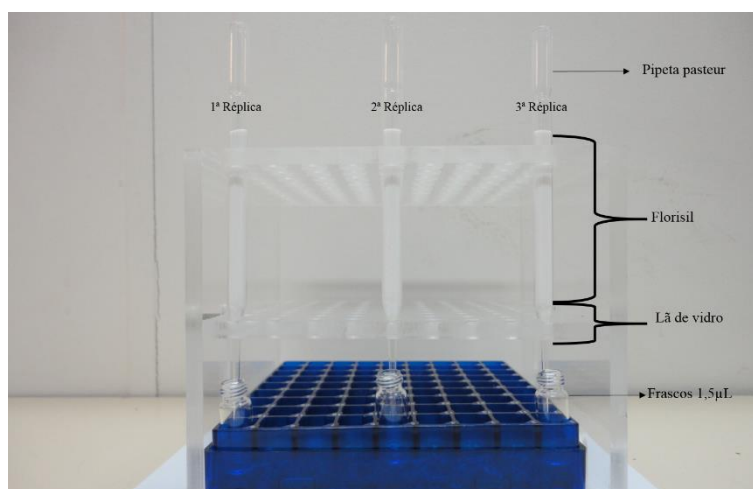


Figura 5 – Esquema da coluna de Florisil®.

4.3 – Injeção das amostras no Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas

Os frascos, após a evaporação completa do hexano, continham HCs aderidos em suas paredes internas. Assim, antes da injeção no CG-EM, injetou-se, com auxílio de seringas de vidro (microseringas Hamilton de 10 μ L), 10 μ L de hexano no interior de cada frasco para lavagem das paredes dos frascos e ressuspensão dos extratos. Após esta etapa, injetou-se 1 μ L no CG-EM (Figura 6).

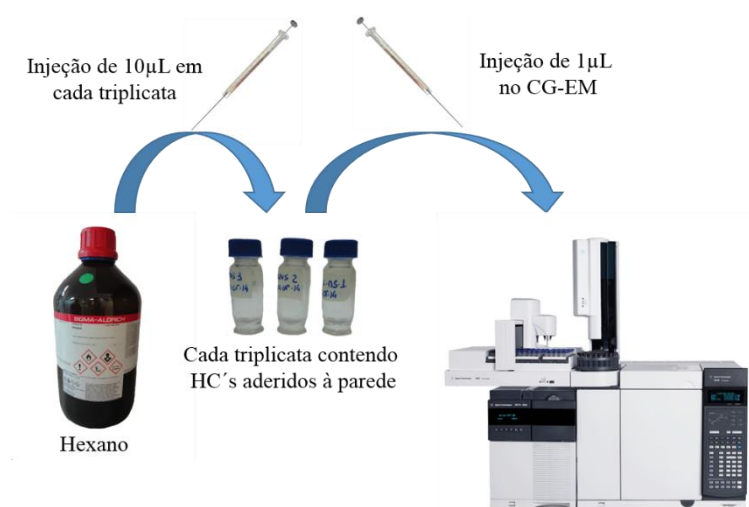


Figura 6 – Esquema dos procedimentos pré-injeção no Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas.

Em cada amostra uma alíquota de 1 μ L foi injetada pelo modo splitless em uma coluna capilar DB-5 (30m de comprimento, 0,25mm de diâmetro, e filme de 0,25 μ m de espessura). A temperatura inicial do forno foi de 150°C e aumentada até a temperatura final de 320°C, a uma taxa de 5°C/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 290 e 325°C, respectivamente. Hélio foi usado como o gás de arraste. Um esquema deste processo está ilustrado na Figura 7.

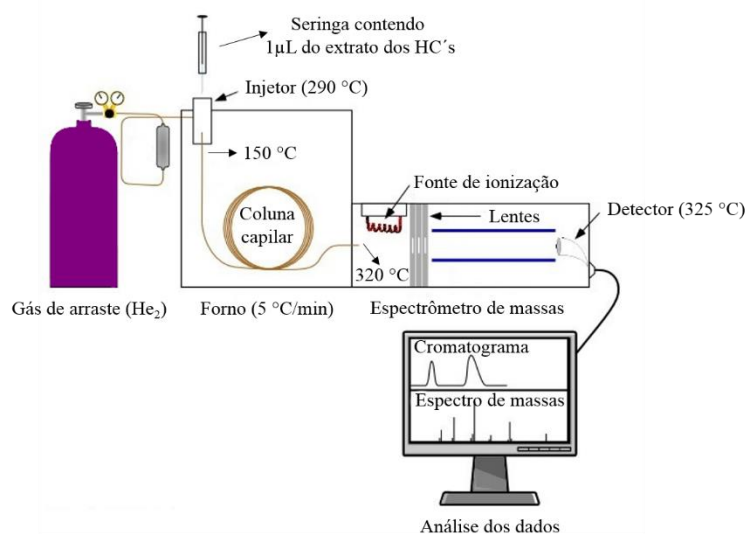


Figura 7 – Esquema geral de funcionamento do Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas.

As etapas de injeção e análise dos HCs no CG-EM foram realizadas no Setor de Agrotóxicos do Laboratório de Toxicologia, Centro de Estudo da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Escola Nacional de Saúde Pública da FIOCRUZ (CESTEH/ENSP). O equipamento utilizado foi um Agilent Technologies 6890N-5793 Network GC-MS system.

4.4 – Interpretação dos espectros de massas

Antes da corrida das alíquotas com as amostras, foi injetado 1 µL de uma mistura padrão, contendo *n*-alcanos de 21 a 40 carbonos (Alkane Standard Solution C₂₁-C₄₀, Fluka) (Figura 8), para que fosse possível reconhecer nas amostras os tempos de retenção destes compostos de cadeia linear (*n*-alcanos), que também servem como base de cálculo dos Tamanhos Equivalentes de Cadeia (TEC) (descrição no próximo parágrafo) que auxiliam na interpretação dos outros compostos. A identificação dos hidrocarbonetos foi feita de acordo com seus espectros de massas, sendo cada pico calculado como uma porcentagem da área total dos picos de todos os componentes das amostras de cada espécie/sexo/região, como descritos em Blomquist *et al.* (1987) e Braga *et al.* (2013a e b).

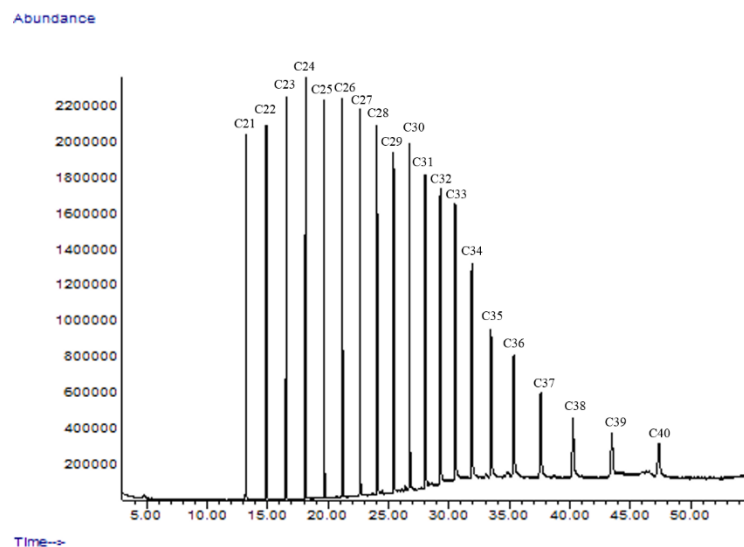


Figura 8 – Cromatograma de uma mistura padrão contendo *n*-alcanos de 21 a 40 carbonos.

O Tamanho Equivalente de Cadeia (TEC), ferramenta adicional à interpretação dos espectros de massas para a identificação da classe dos hidrocarbonetos (*n*-alcano, alceno e alcanos metil-ramificados), dos compostos e da existência de isômeros, é calculado da seguinte forma:

$$\frac{TR_{n\text{-alcano de maior cadeia}} - TR_{\text{composto analisado}}}{TR_{n\text{-alcano de maior cadeia}} - TR_{n\text{-alcano de menor cadeia}}}$$

Onde: $TR_{n\text{-alcano de maior cadeia}}$ = tempo de retenção do *n*-alcano com número de carbono maior do que o composto em análise; $TR_{n\text{-alcano de menor cadeia}}$ = tempo de retenção do *n*-alcano com número de carbonos menor do que o composto em análise; $TR_{\text{composto analisado}}$ = tempo de retenção do composto que está sendo analisado. Uma tabela de referência foi criada para auxiliar na identificação dos compostos.

O HCs foram representados da seguinte forma: C_{xx} descreve o número total de carbonos do composto. A posição do grupo metil é indicada por x-Me em monometilalcanos, x,y-DiMe em dimetilalcanos, e x,y,z-TriMe em trimetilalcanos, quando um, dois ou três grupos metil compõem a molécula, respectivamente. Para os alcenos, a nomenclatura é C_{xx}:y com y indicando o número de duplas ligações. A Tabela 1 mostra a nomenclatura relacionada às representações químicas das estruturas lineares.

Tabela 1 – Nomenclatura relacionada às representações químicas dos hidrocarbonetos cuticulares.

Nº de carbonos na cadeia linear	Prefixo	Nº de carbonos na cadeia linear	Prefixo
21	Henicos	31	Hentriacont
22	Docos	32	Dotriacont
23	Tricos	33	Tritriacont
24	Tetracos	34	Tetratriacont
25	Pentacos	35	Pentatriacont
26	Hexacos	36	Hexatriacont
27	Heptacos	37	Heptatriacont
28	Octacos	38	Octatriacont
29	Nonacos	39	Nonatriacont
30	Triacont	40	Tetracont

4.5 – Estabelecimento dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares

Os perfis de cada espécie/sexo/região analisados neste estudo foram estabelecidos através da média e desvio padrão das abundâncias de cada composto identificado em comum entre as réplicas de cada triplicata. Apenas os HCs com cadeia linear entre 21 e 40 carbonos e com a média da abundância relativa de 0,5% ou mais foram considerados.

4.6 – Análises estatísticas

Para se estabelecer a existência de diferenças significativas entre perfis de HCs de *O. thornax* das três regiões (Macapá-AP, Rio de Janeiro-RJ e Terenos-MS) foi realizada uma análise de variância (ANOVA) com as significâncias determinadas pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Esta espécie foi escolhida devido à facilidade de captura e por estar distribuída por todo território brasileiro.

Para se estabelecer a semelhança entre os perfis das espécies das quatro famílias analisadas foi realizada uma análise de agrupamento (cluster) baseada no índice de similaridade

de Bray-Curtis (Bray & Curtis, 1957), que analisa a presença ou ausência de cada hidrocarboneto e a variação das suas abundâncias relativas. Nesta análise, dois dendrogramas foram gerados: um com a inclusão de todos os HCs identificados na análise e um com a exclusão dos *n*-alcanos, como preconizado por Martin *et al.* (2008).

A espécie *H. illucens* pertence a uma família basal de Brachycera e foi escolhida para simular a existência de um grupo externo, apesar de esta análise não ter significado filogenético.

5. RESULTADOS

5.1 – Descrição dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares

5.1.1 – Família Sarcophagidae

5.1.1.1 - *Malacophagomyia filamenta*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 9, Tabela 2)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 40 compostos entre 27 e 39 carbonos na cadeia linear.

Macho – 38 compostos entre 27 e 39 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – nonacosano (9,98%), 3-metilnonacosano (8,86%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (7,62%), mistura de 11- e 9-metilnonacosano (6,88%) e 13,17,23-trimetilheptatriacontano (5,59%).

Macho – nonacosano (13,27%), 3-metilnonacosano (8,69%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (7,56%), mistura de 11- e 9-metilnonacosano (6,79%) e heptacosano (5,21%).

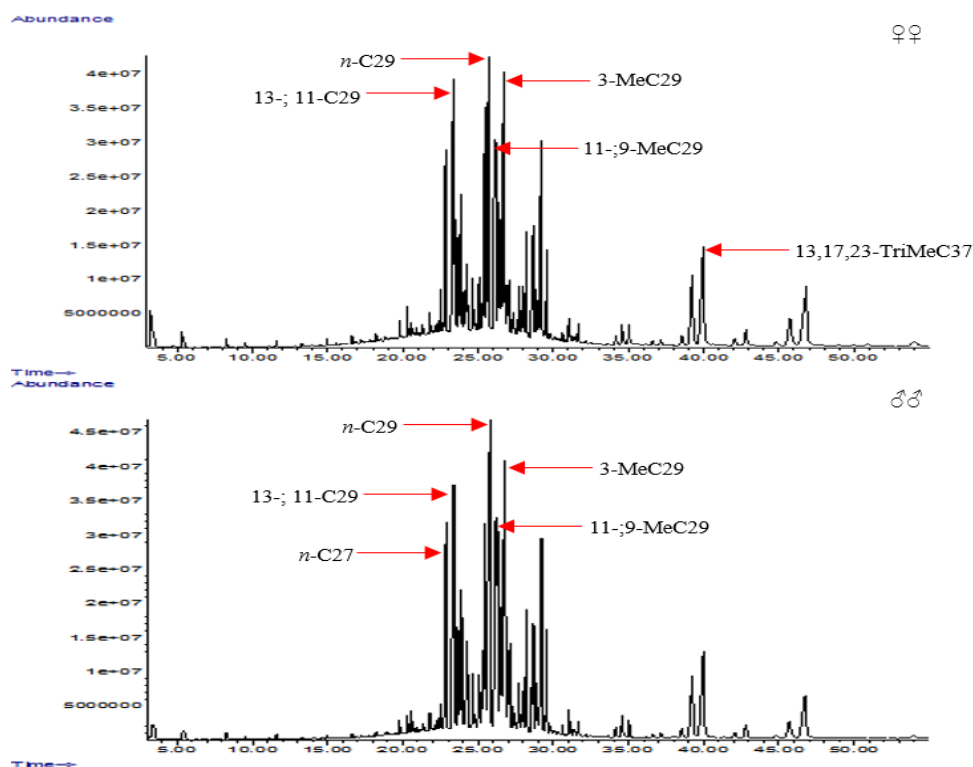


Figura 9 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Malacophagomyia filamenta*, Rio de Janeiro-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 2 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de *Malacophagomyia filamenta*, Rio de Janeiro-RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
C27:1	26,8	0,59 ± 0,10	0,55 ± 0,13
<i>n</i> -C27	27,0	4,00 ± 0,15	5,21 ± 0,43
13;11-MeC27*	27,4	7,61 ± 0,77	7,55 ± 0,12
7-MeC27	27,4	1,08 ± 0,11	0,98 ± 0,01
5-MeC27	27,5	1,25 ± 0,11	1,16 ± 0,09
11,15-DiMeC27	27,6	2,14 ± 0,14	2,24 ± 0,19
3-MeC27	27,8	2,31 ± 0,07	2,31 ± 0,15
5,9-DiMeC27	27,8	0,54 ± 0,06	0,72 ± 0,08
<i>n</i> -C28	28,0	1,23 ± 0,06	1,70 ± 0,25
15-MeC28	28,1	0,73 ± 0,06	0,74 ± 0,21
14-;13-;12-MeC28	28,3	1,05 ± 0,19	1,44 ± 0,31
2-MeC28	28,5	1,43 ± 0,15	1,73 ± 0,33
C29:1	28,6	0,53 ± 0,06	0,52 ± 0,04
C29:1	28,8	4,88 ± 0,78	4,89 ± 0,24
<i>n</i> -C29	29,0	9,98 ± 0,37	13,27 ± 0,87
11-; 9-MeC29*	29,3	6,88 ± 0,43	6,78 ± 0,53
7-MeC29	29,4	2,05 ± 0,23	1,60 ± 0,23
5-MeC29	29,5	1,60 ± 0,08	1,81 ± 0,38
13,19-DiMeC29	29,5	3,00 ± 0,11	nd
11,17-DiMeC29	29,6	nd	1,68 ± 0,05
5,13-DiMeC29	29,6	nd	1,63 ± 1,02
3-MeC29	29,9	8,86 ± 0,23	8,69 ± 0,93
5,13,23-TriMeC29	29,9	0,65 ± 0,04	0,61 ± 0,01
<i>n</i> -C30	30,0	0,50 ± 0,06	0,55 ± 0,07
8-MeC30	30,1	1,21 ± 0,09	1,51 ± 0,09
12-MeC30	30,3	0,54 ± 0,17	nd
2-MeC30	30,6	0,99 ± 0,11	0,80 ± 0,25
C31:1	30,8	0,70 ± 0,03	0,68 ± 0,11
<i>n</i> -C31	31,0	1,52 ± 0,15	1,66 ± 0,22
13-;11-Me31*	31,3	2,23 ± 0,28	2,15 ± 0,05
7-MeC31	31,5	1,47 ± 0,17	1,15 ± 0,06
13,17-DiMeC31	31,6	1,12 ± 0,11	0,99 ± 0,01
3-MeC31	31,9	4,11 ± 0,52	3,70 ± 0,30
11,15,21-TriMeC31	31,9	0,51 ± 0,05	0,51 ± 0,01
8-MeC32	32,2	1,60 ± 0,10	1,57 ± 0,12
15,19-DiMeC35	35,5	0,60 ± 0,06	0,55 ± 0,02
13,17,23-TriMeC35	35,8	0,54 ± 0,06	nd
15,19-DiMeC37	37,6	3,39 ± 0,45	2,55 ± 0,12
13,17,23-TriMeC37	37,9	5,59 ± 0,55	4,18 ± 0,21

(continuação)			
17,21,27-TriMeC38	38,7	0,66 ± 0,12	nd
15,19-DiMeC39	39,5	1,43 ± 0,38	0,83 ± 0,11
13,17,27- ;13,19,29-TriMeC39*	39,8	3,67 ± 0,79	2,29 ± 0,33

*Mistura de; nd= não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.2 - *Oxysarcodexia fringidea*, Macapá-AP (Figura 10, Tabela 3)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 40 compostos entre 25 e 39 carbonos na cadeia linear.

Macho – 41 compostos entre 23 e 39 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – nonacosano (6,83%), 3-metilnonacosano (5,47%), heptacosano (5,19%), 11,23-dimetilpentatriacontano (5,12%) e mistura de 15-; 13- e 11-metilhentriacontano (4,70%).

Macho – nonacosano (6,83%), heptacosano (6,54%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (5,05%), 3-metilnonacosano (4,94%) e 11-metilpentacosano (4,08%).

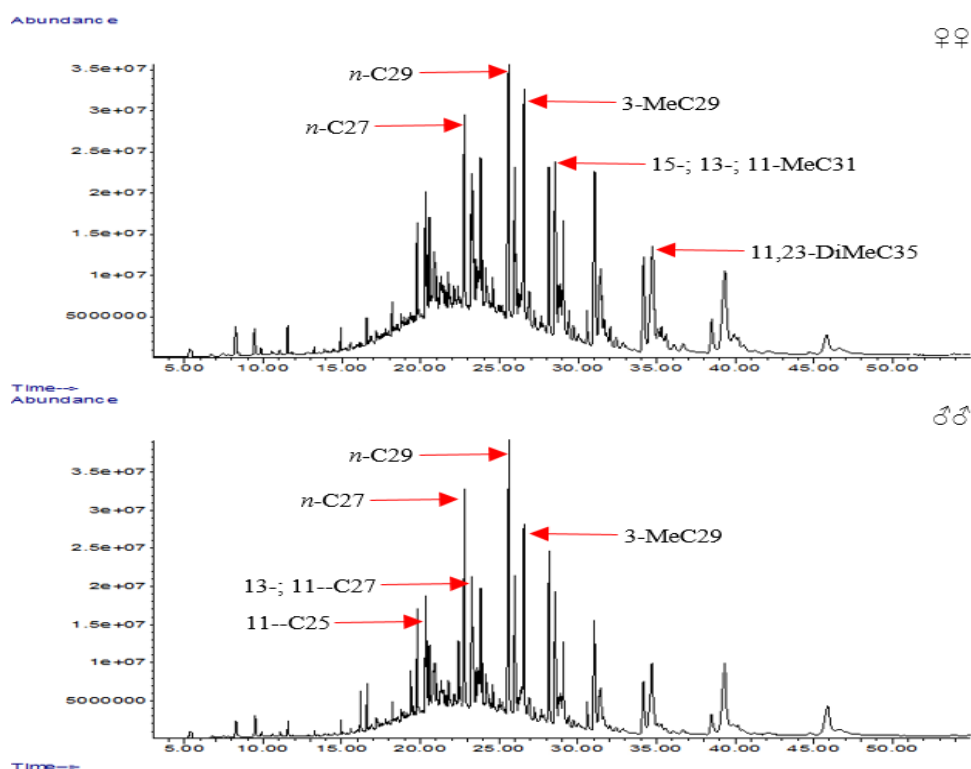


Figura 10 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Oxysarcodexia fringidea*, Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 3- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de *Oxysarcodexia fringidea*, Macapá-AP.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)			
		Fêmea		Macho	
<i>n</i> -C23	23,0	nd		0,58 ± 0,14	
C25:1	23,8	nd		0,71 ± 0,19	
<i>n</i> -C25	25,0	1,55 ± 0,41		2,22 ± 0,36	
11-MeC25	25,4	2,01 ± 0,47		4,07 ± 1,95	
7-MeC25	25,4	0,86 ± 0,26		1,53 ± 0,49	
5-MeC25	25,5	1,82 ± 0,44		1,98 ± 0,55	
3-MeC25	25,7	1,97 ± 0,73		3,02 ± 0,70	
x,y-DiMeC25	25,8	0,73 ± 0,38		1,11 ± 0,31	
<i>n</i> -C26	26,0	1,59 ± 1,32		1,02 ± 0,22	
12-MeC26	26,3	1,34 ± 0,63		1,72 ± 0,57	
4-MeC26	26,6	1,66 ± 0,85		nd	
C27:1	26,7	0,91 ± 0,30		1,48 ± 0,28	
C27:1	26,8	nd		0,94 ± 0,54	
<i>n</i> -C27	27,0	5,18 ± 1,00		6,53 ± 0,85	
13-; 11-MeC27*	27,3	3,52 ± 0,51		5,04 ± 0,78	
7-MeC27	27,4	1,86 ± 0,17		1,78 ± 0,31	
5-MeC27	27,5	0,83 ± 0,16		0,98 ± 0,23	
11,15-DiMeC27	27,6	1,86 ± 0,31		1,91 ± 0,67	
3-MeC27	27,8	2,98 ± 0,36		3,48 ± 0,89	
5,13-DiMeC27	27,8	1,08 ± 0,29		1,32 ± 0,29	
<i>n</i> -C28	28,0	2,68 ± 0,74		1,26 ± 0,36	
14-; 12-MeC28*	28,3	nd		1,49 ± 0,65	
13-; 11-MeC28*	28,4	nd		1,72 ± 0,97	
11-MeC28	28,4	1,86 ± 0,42		nd	
4-MeC28	28,6	nd		1,17 ± 0,79	
<i>n</i> -C29	29,0	6,83 ± 0,61		6,83 ± 1,97	
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	3,62 ± 0,12		3,93 ± 0,37	
7-MeC29	29,4	1,05 ± 0,14		0,90 ± 0,12	
5-MeC29	29,5	0,90 ± 0,14		0,55 ± 0,15	
3-MeC29	29,8	5,46 ± 0,65		4,93 ± 1,30	
12-MeC30	30,3	1,10 ± 0,36		1,21 ± 0,67	
Desconhecido	30,4	0,67 ± 0,26		0,58 ± 0,28	
<i>n</i> -C31	31,0	2,49 ± 0,37		2,44 ± 1,25	
15-; 13-; 11-MeC31*	31,4	4,70 ± 0,73		3,52 ± 1,02	
5-MeC31	31,6	0,82 ± 0,04		nd	
9,13-DiMeC31	31,7	1,38 ± 0,34		1,10 ± 0,33	
3-MeC31	31,8	2,09 ± 0,32		1,33 ± 0,59	
16-; 14-; 12-MeC32*	32,1	0,63 ± 0,11		nd	
17-; 15-; 13-; 11-MeC33*	33,4	4,42 ± 1,62		2,81 ± 1,22	
11,21-DiMeC33	33,7	3,03 ± 1,05		1,61 ± 0,92	
11,15-DiMeC33	33,8	0,71 ± 0,15		nd	

(continuação)					
17-; 15-; 13-; 11-MeC35*	35,4	2,92 ±	1,466	1,50 ±	0,87
11,23-DiMeC35	35,7	5,12 ±	2,45	2,95 ±	1,37
19-; 17-; 15-; 13-MeC37*	37,3	1,18 ±	0,61	0,64 ±	0,51
11,25-DiMeC37	37,7	4,68 ±	2,35	3,47 ±	2,15
11,27-DiMeC39	39,6	1,17 ±	0,59	1,61 ±	1,21

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.3 - *Oxysarcodexia thornax*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 11, Tabela 4)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 40 compostos entre 23 e 39 carbonos na cadeia linear.

Macho – 36 compostos entre 23 e 39 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – heptacosano (10,46%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (9,08%), nonacosano (6,74%), mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (5,97%) e 3-metilheptacosano (5,59%).

Macho – mistura de 11- e 9-metilpentacosano (13,19%), heptacosano (12,69%), pentacosano (9,02%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (9,01%) e 3-metilheptacosano (5,26%).

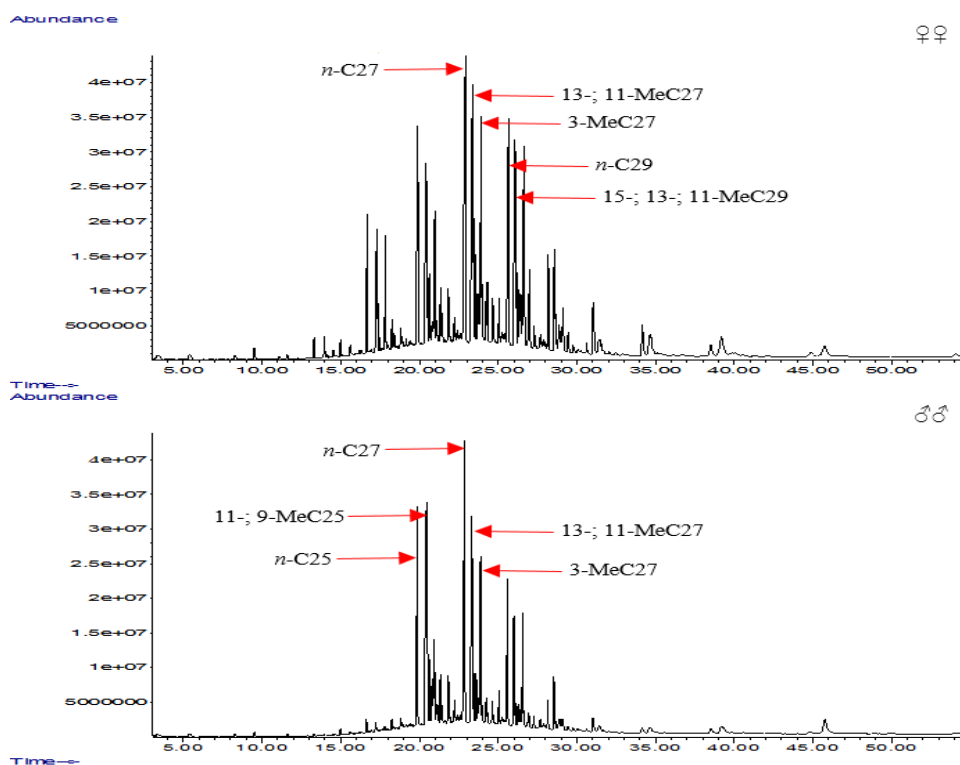


Figura 11 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Oxysarcodexia thornax*, Rio de Janeiro-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 4- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de *Oxysarcodexia thornax*, Rio de Janeiro-RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
<i>n</i> -C23	23,0	2,94 ± 1,23	0,55 ± 0,19
11-; 9-MeC23*	23,4	2,70 ± 1,35	0,76 ± 0,32
3-MeC23	23,7	1,63 ± 0,80	nd
<i>n</i> -C24	24,0	0,50 ± 0,14	0,58 ± 0,31
11-; 10-; 9-MeC24*	24,3	nd	0,72 ± 0,56
<i>n</i> -C25	25,0	5,14 ± 0,20	9,01 ± 0,23
13-; 11-; 9-MeC25*	25,3	5,47 ± 0,37	nd
11-; 9-MeC25*	25,3	nd	13,19 ± 1,83
7-MeC25	25,4	0,87 ± 0,08	2,30 ± 0,21
5-MeC25	25,5	1,10 ± 0,07	1,63 ± 0,27
11,15-DiMeC25	25,6	0,78 ± 0,06	1,56 ± 0,40
3-MeC25	25,7	2,16 ± 0,17	3,41 ± 0,52
5,9-DiMeC25	25,8	nd	0,58 ± 0,29
<i>n</i> -C26	26,0	0,80 ± 0,09	1,39 ± 0,28
17-MeC26	26,1	0,57 ± 0,02	nd
17-; 16-MeC26*	26,1	nd	0,86 ± 0,53
13-; 11-MeC26*	26,3	1,21 ± 0,11	nd

(continuação)					
11-; 10-MeC26*	26,4	nd		2,10 ± 0,72	
2-MeC26	26,5	nd		0,68 ± 0,30	
C27:1	26,8	nd		0,65 ± 0,31	
<i>n</i> -C27	27,0	10,45 ± 1,70		12,69 ± 1,92	
13-; 11-MeC27*	27,3	9,07 ± 0,99		9,00 ± 0,53	
7-MeC27	27,4	1,16 ± 0,03		1,18 ± 0,04	
5-MeC27	27,5	0,96 ± 0,17		1,11 ± 0,09	
11,15-DiMeC27	27,6	1,24 ± 0,07		1,58 ± 0,13	
3-MeC27	27,8	5,59 ± 0,91		5,25 ± 0,62	
5, <i>y</i> -DiMeC27	27,8	0,57 ± 0,06		0,66 ± 0,20	
<i>n</i> -C28	28,0	0,69 ± 0,09		0,56 ± 0,02	
17-MeC28	28,1	1,13 ± 0,14		0,76 ± 0,11	
14-; 13-; 12-MeC28*	28,3	0,97 ± 0,05		0,85 ± 0,09	
2-MeC28	28,6	0,89 ± 0,14		0,95 ± 0,18	
<i>n</i> -C29	29,0	6,73 ± 0,60		4,22 ± 1,50	
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	5,97 ± 0,32		3,74 ± 1,29	
7-MeC29	29,4	0,68 ± 0,09		nd	
5-MeC29	29,5	0,66 ± 0,08		nd	
13,19-DimeC29	29,6	nd		0,51 ± 0,16	
3-MeC29	29,8	3,94 ± 0,53		3,13 ± 1,15	
19-; 17-MeC30*	30,1	1,69 ± 0,14		nd	
15-; 14-MeC30*	30,3	0,53 ± 0,03		nd	
<i>n</i> -C31	31,1	1,74 ± 0,25		0,72 ± 0,22	
15-; 13-; 11-MeC31*	31,4	2,75 ± 0,19		2,06 ± 1,07	
11,15-DiMeC31	31,6	0,55 ± 0,04		nd	
3-MeC31	31,8	0,92 ± 0,07		nd	
17-; 15-; 13-; 11-MeC33*	33,3	1,95 ± 0,24		0,87 ± 0,34	
17-; 15-; 13-; 11-MeC35*	35,3	1,24 ± 0,24		0,51 ± 0,25	
11,17-DiMeC35	35,6	0,75 ± 0,29		nd	
13,17-DiMeC37	37,6	1,18 ± 0,40		nd	
13,17-DiMeC39	39,5	0,97 ± 0,57		1,43 ± 0,46	

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.4 - *Peckia (Squamatodes) ingens*, Angra dos Reis-RJ (Figura 12, Tabela 5)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 26 compostos entre 25 e 35 carbonos na cadeia linear.

Macho – 29 compostos entre 27 e 35 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (14,37%), 3-metilnonacosano (13,60%), nonacosano (10,39%), mistura de 15- e 13-metilhentriacontano (7,34%) e mistura de 13- e 11-metilheptacosano (6,89%).

Macho – mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (17,19%), 3-metilnonacosano (16,82%), nonacosano (12,88%), mistura de 15- e 13-metilhentriacontano (6,51%) e mistura de 13- e 11-metilheptacosano (5,06%).

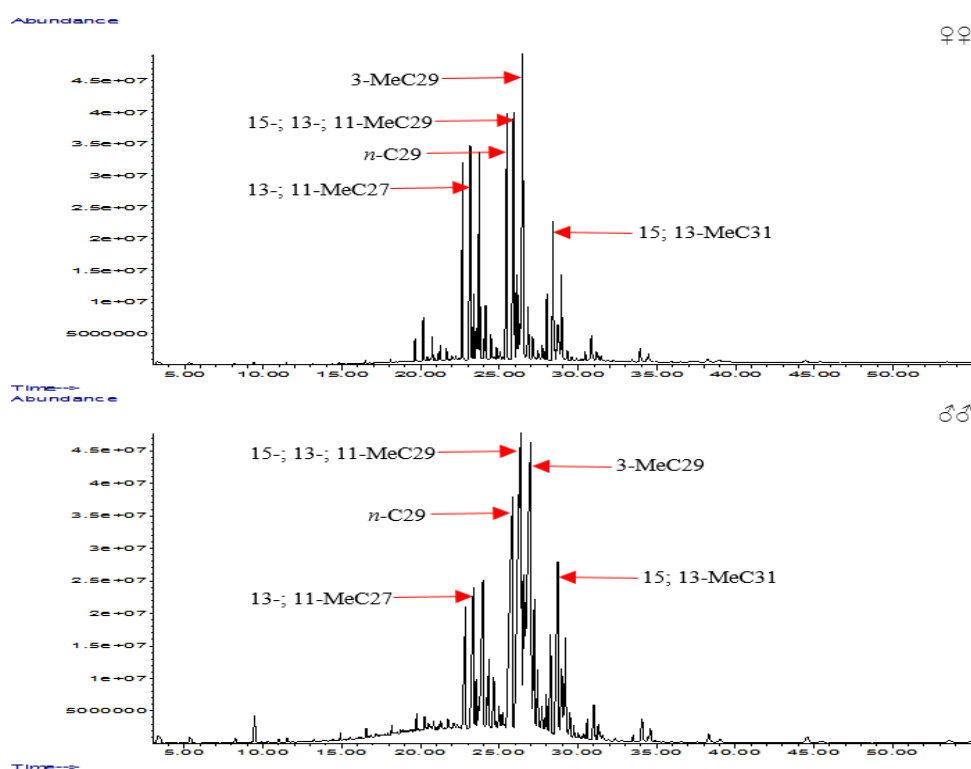


Figura 12 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Peckia (Squamatodes) ingens*, Angra dos Reis-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 5 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de *Peckia (Squamatodes) ingens*, Angra dos Reis-RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
13-; 11-MeC25*	25,4	0,65 ± 0,52	nd
n-C27	27,0	5,09 ± 1,34	3,58 ± 0,19
13-; 11-MeC27*	27,3	6,88 ± 2,19	5,06 ± 0,45
5-MeC27	25,5	1,21 ± 0,38	0,74 ± 0,13
9,15-; 11,17-DiMeC27*	27,6	nd	0,58 ± 0,16

(continuação)					
3-MeC27	27,7	6,14 ± 1,17	4,82 ± 0,41		
5,9-; 5,11-; 5,13-DiMeC27*	27,8	nd	0,55 ± 0,04		
<i>n</i> -C28	28,0	0,68 ± 0,10	0,61 ± 0,16		
19-; 17-MeC28*	28,1	1,43 ± 0,41	1,27 ± 0,13		
14-; 13-; 12-MeC28*	28,3	1,15 ± 0,22	1,17 ± 0,24		
2-MeC28	28,6	0,59 ± 0,14	0,60 ± 0,19		
C29:1	28,8	0,62 ± 0,27	0,56 ± 0,34		
<i>n</i> -C29	29,0	10,36 ± 1,10	12,88 ± 0,68		
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	14,37 ± 1,93	17,18 ± 1,15		
7-MeC29	29,4	nd	1,25 ± 0,65		
5-MeC29	29,5	2,54 ± 0,37	3,15 ± 0,19		
11,17-DiMeC29	29,6	2,26 ± 0,42	2,50 ± 0,71		
3-MeC29	29,7	13,60 ± 0,98	16,82 ± 0,81		
<i>n</i> -C30	30,0	nd	0,50 ± 0,09		
21-; 19-MeC30*	30,1	2,50 ± 0,20	2,70 ± 0,90		
15-; 14-; 13-; 12-MeC30*	30,3	1,15 ± 0,33	1,29 ± 0,03		
5, <i>y</i> -DiMeC30	30,6	0,62 ± 0,24	0,68 ± 0,06		
C31:1	30,8	0,71 ± 0,24	0,76 ± 0,09		
<i>n</i> -C31	31,0	2,18 ± 0,50	2,18 ± 0,34		
15-; 13-MeC31*	31,3	7,33 ± 1,69	6,50 ± 0,30		
11,15-; 11,17-; 13-17-; 13,19-DiMeC31*	31,6	nd	1,28 ± 0,13		
11,15-DiMeC31	31,6	2,76 ± 0,46	0,59 ± 0,10		
3-MeC31	31,7	3,25 ± 0,21	2,14 ± 0,25		
17-; 15-; 13-; 11-MeC33*	33,3	1,52 ± 0,33	0,97 ± 0,10		
11,21-DiMeC33	33,6	0,70 ± 0,25	nd		
17-; 15-; 13-; 11-MeC35*	35,3	0,84 ± 0,17	0,68 ± 0,08		

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.5 - *Peckia (Peckia) pexata*, Macapá-AP (Figura 13, Tabela 6)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 35 compostos entre 23 e 37 carbonos na cadeia linear.

Macho – 37 compostos entre 25 e 37 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – nonacosano (11,31%), 3-metilnonacosano (10,08%), heptacosano (10,06%), mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (8,13%) e 3-metilheptacosano (4,46%).

Macho – 3-metilnonacosano (9,38%), 3-metilhentriacontano (8,40%), mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (7,74%), mistura de 15-; 13- e 11-metilhentriacontano (7,28%) e nonacosano (7,01%).

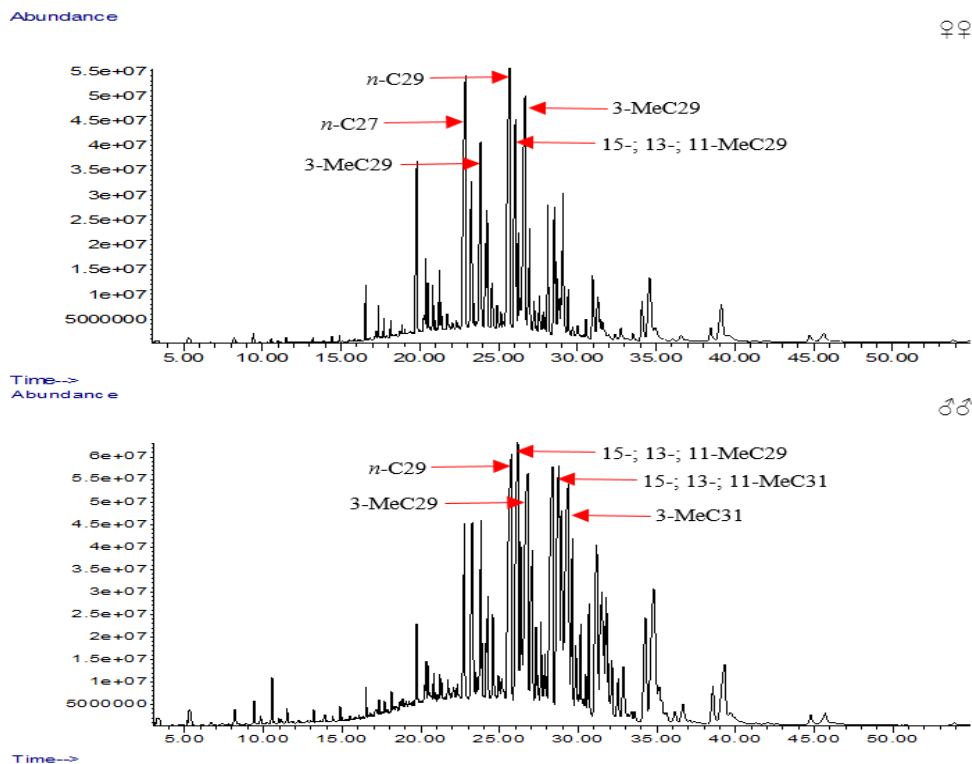


Figura 13 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Peckia (Peckia) pexata*, Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 6- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de *Peckia (Peckia) pexata*, Macapá-AP.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
<i>n</i> -C23	23,0	0,665 ± 0,20	nd
5-MeC23	23,5	0,51 ± 0,13	nd
<i>n</i> -C25	25,0	3,95 ± 0,96	0,64 ± 0,11
7-MeC25	25,4	1,06 ± 0,09	nd
5-MeC25	25,5	0,69 ± 0,21	nd
3-MeC25	25,7	0,60 ± 0,09	nd
<i>n</i> -C26	26,0	0,89 ± 0,07	0,98 ± 0,00
<i>n</i> -C27	27,0	10,05 ± 2,70	2,49 ± 0,58
11-MeC27	27,3	4,18 ± 0,25	2,69 ± 0,74
7-MeC27	27,4	0,55 ± 0,06	nd
3-MeC27	27,7	4,46 ± 0,24	2,56 ± 0,65
5,9-DiMeC27	27,8	0,84 ± 0,08	nd

(continuação)					
<i>n</i> -C28	28,0	1,49 ± 0,06	0,50 ± 0,10		
19-; 17-MeC28*	28,1	2,08 ± 0,07	1,08 ± 0,18		
12-; 10-MeC28*	28,3	1,11 ± 0,16	0,85 ± 0,16		
<i>n</i> -C29	29,0	11,31 ± 2,41	7,00 ± 0,82		
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	8,13 ± 0,36	7,73 ± 2,08		
5-MeC29	29,5	1,26 ± 0,02	1,62 ± 0,24		
9,13-DiMeC29	29,6	0,80 ± 0,08	0,57 ± 0,23		
3-MeC29	29,7	10,07 ± 1,39	9,38 ± 1,80		
<i>n</i> -C30	30,0	nd	0,90 ± 0,44		
21-; 19-; 17-MeC30*	30,1	2,74 ± 0,57	nd		
19-; 17-MeC30*	30,1	nd	1,84 ± 0,27		
14-; 12-MeC30*	30,3	0,88 ± 0,22	1,02 ± 0,24		
4-MeC30	30,6	0,77 ± 0,14	0,71 ± 0,27		
<i>n</i> -C31	31,0	2,24 ± 0,17	4,96 ± 1,56		
15-; 13-; 11-MeC31*	31,3	3,64 ± 0,53	7,27 ± 0,63		
7-MeC31	31,4	0,84 ± 0,00	1,30 ± 0,35		
5-MeC31	31,5	0,98 ± 0,08	2,53 ± 0,73		
9,13-DiMeC31	30,6	nd	0,62 ± 0,24		
7,11-DiMeC31	30,6	0,50 ± 0,17	nd		
3-MeC31	30,7	3,27 ± 0,18	8,40 ± 3,03		
21-; 19-MeC32*	32,1	1,00 ± 0,22	2,38 ± 0,37		
12-MeC32	32,3	nd	0,79 ± 0,14		
4-MeC32	32,6	nd	0,85 ± 0,20		
<i>n</i> -C33	33,0	nd	0,72 ± 0,45		
15-; 13-; 11-MeC33*	33,3	1,74 ± 0,23	4,11 ± 1,49		
11,15-DiMeC33	33,6	1,49 ± 0,30	3,04 ± 0,58		
<i>x,y</i> -DiMeC33	33,6	nd	0,72 ± 0,21		
3-MeC33	33,7	nd	1,61 ± 0,96		
12-MeC34	34,3	nd	0,74 ± 0,16		
17-; 15-; 13-MeC35*	35,3	1,41 ± 0,41	2,28 ± 0,15		
13,17-DiMeC35	35,5	3,62 ± 0,93	4,80 ± 1,96		
17,23-DiMeC35	35,6	nd	1,19 ± 0,40		
13-MeC37	37,3	nd	0,59 ± 0,20		
13,17-DiMeC37	37,6	1,89 ± 0,15	1,91 ± 0,05		

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.6 - *Ravinia belforti*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 14, Tabela 7)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 32 compostos entre 25 e 32 carbonos na cadeia linear.

Macho – 41 compostos entre 23 e 32 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – 3-metilnonacosano (15,58%), nonacosano (11,46%), mistura de 23-; 21- e 19-metiltriacontano (6,57%), mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (6,05%) e 3-metilhentriacontano (4,73%).

Macho – 3-metilnonacosano (10,49%), nonacosano (8,88%), heptacosano (7,38%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (6,94%) e mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (6,41).

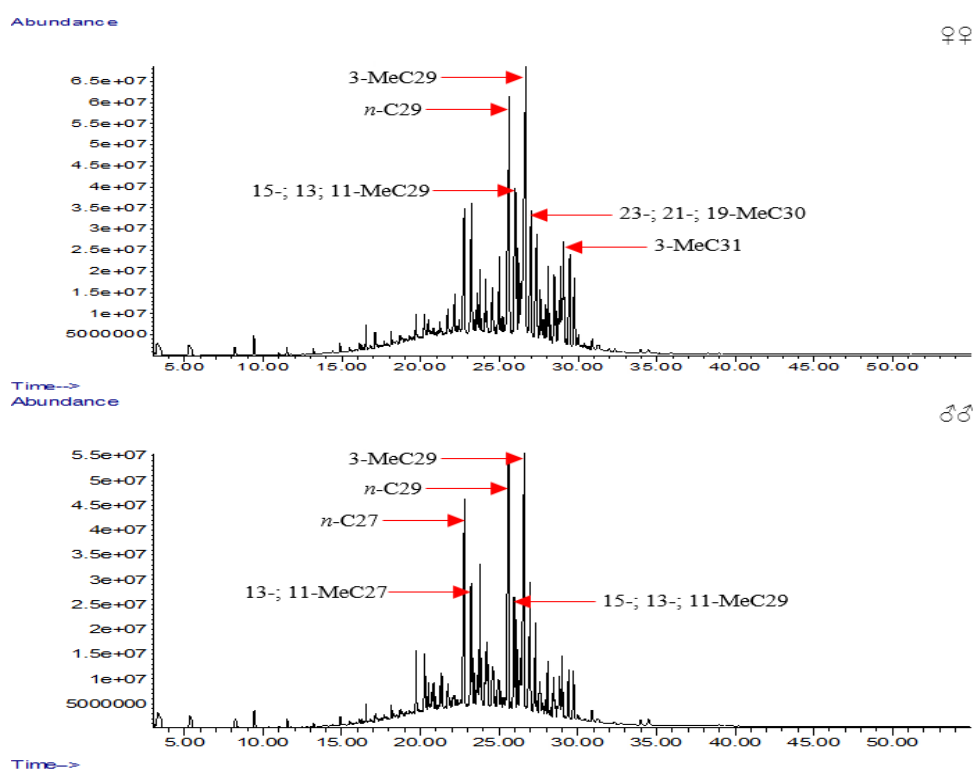


Figura 14 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Ravinia belforti*, Rio de Janeiro-RJ, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 7- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas e machos de *Ravinia belforti*, Rio de Janeiro-RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
<i>n</i> -C23	23,0	nd	0,63 ± 0,32
11-MeC23	23,3	nd	0,51 ± 0,24
<i>n</i> -C24	24,0	nd	0,54 ± 0,20
<i>n</i> -C25	25,0	nd	1,57 ± 0,31
13-;11-MeC25*	25,3	0,50 ± 0,10	2,14 ± 0,47

(continuação)				
Desconhecido	25,5	nd		0,93 ± 0,26
Desconhecido	25,6	nd		0,52 ± 0,14
3-MeC25	25,7	nd		0,90 ± 0,24
<i>n</i> -C26	26,0	nd		0,68 ± 0,13
Desconhecido	26,2	nd		0,92 ± 0,23
11-MeC26	26,3	0,66 ± 0,12		1,21 ± 0,19
2-MeC26	26,6	0,95 ± 0,26		0,94 ± 0,42
<i>n</i> -C27	27,0	3,13 ± 0,88		7,37 ± 0,1
13-; 11-MeC27*	27,3	3,77 ± 1,34		6,94 ± 1,80
7-MeC27	27,4	nd		1,34 ± 0,27
5-MeC27	27,5	nd		0,91 ± 0,13
9,17-DiMeC27	27,6	nd		1,67 ± 0,22
11,15-DiMeC27	27,6	0,87 ± 0,37		nd
3-MeC27	27,7	1,28 ± 0,29		5,18 ± 0,91
5,9-DiMeC27	27,8	nd		1,17 ± 0,14
<i>n</i> -C28	28,0	1,11 ± 0,28		1,69 ± 0,26
19-; 17-MeC28*	28,1	0,64 ± 0,21		2,60 ± 0,19
14-; 13-; 12-MeC28*	28,3	1,32 ± 0,56		2,85 ± 0,18
2-MeC28	28,6	1,72 ± 0,74		1,75 ± 0,81
3-MeC28	28,7	nd		0,89 ± 0,12
C29:1	28,8	0,54 ± 0,23		0,83 ± 0,13
<i>n</i> -C29	29,0	11,45 ± 0,95		8,87 ± 1,80
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	6,05 ± 0,91		6,40 ± 1,59
7-MeC29	29,4	1,53 ± 0,26		1,89 ± 0,27
5-MeC29	29,5	1,65 ± 0,15		1,35 ± 0,04
9,13-DiMeC29	29,6	2,22 ± 0,12		2,14 ± 0,05
3-MeC29	29,8	15,58 ± 1,17		10,48 ± 1,38
23-; 21-; 19-MeC30*	30,1	6,57 ± 0,70		nd
23-; 21-MeC30*	30,1	nd		5,10 ± 1,11
13,21-; 15,23-DiMeC30*	30,5	4,19 ± 0,25		2,61 ± 1,14
2-MeC30	30,6	2,28 ± 0,30		1,05 ± 0,57
<i>x,y</i> -DiMeC30	30,6	0,72 ± 0,17		nd
13,27-DiMeC30	30,8	1,11 ± 0,13		nd
<i>n</i> -C31	31,1	2,50 ± 0,67		1,00 ± 0,36
15-; 13-MeC31*	31,3	2,75 ± 0,25		1,47 ± 0,19
5-MeC31	31,5	0,70 ± 0,12		0,68 ± 0,25
9,13-DiMeC31	31,6	2,28 ± 1,09		1,08 ± 0,51
7,11-; 7,13-DiMeC31*	31,6	1,89 ± 1,56		nd
3-MeC31	31,7	4,73 ± 2,18		1,28 ± 0,56
23-; 21-MeC32*	32,1	4,27 ± 1,03		1,16 ± 0,43
15,23-DiMeC32	32,5	3,37 ± 0,69		0,99 ± 0,53
2-MeC32	32,6	0,56 ± 0,08		nd

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.7 - *Oxysarcodexia inflata*, Macapá-AP (Figura 15, Tabela 8)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – não analisado.

Macho – 36 compostos entre 23 e 33 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – não analisado.

Macho – mistura de 11- e 9-metilpentacosano (14,15%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (13,21%), 3-metilheptacosano (6,84%), heptacosano (6,19%) e mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (4,08%).

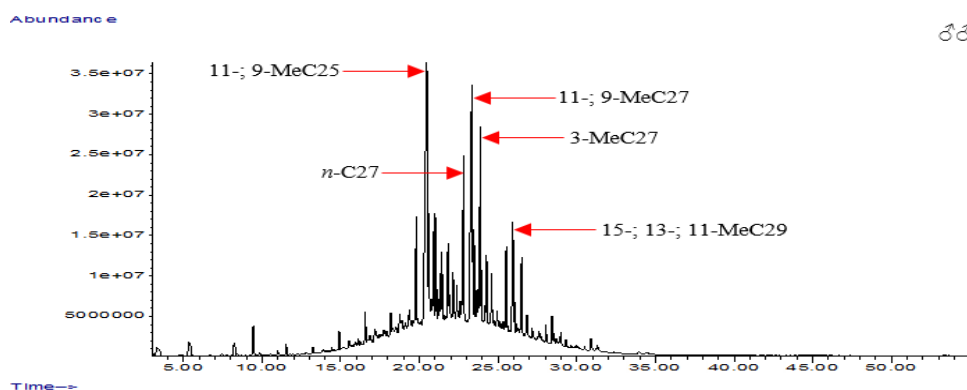


Figura 15 – Cromatograma representativo de machos ($\sigma\sigma$) de *Oxysarcodexia inflata*, Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 8- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos *Oxysarcodexia inflata*, Macapá-AP.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
<i>n</i> -C23	23,0	0,92 ± 0,30
<i>n</i> -C24	24,0	0,70 ± 0,18
10-MeC24	24,3	0,85 ± 0,23
C25:1	24,9	0,84 ± 0,24
<i>n</i> -C25	25,0	3,47 ± 0,68
9-, 11-MeC25	25,3	14,15 ± 2,13
7-MeC25	25,4	2,86 ± 0,20
5-MeC25	25,5	1,71 ± 0,64
11,15-DimeC25	25,6	0,75 ± 0,19
3-MeC25	25,7	3,97 ± 0,46

(continuação)			
5,9-DimeC25	25,8	2,12 ±	0,48
<i>n</i> -C26	26,0	1,27 ±	0,18
19-, 17-MeC26	26,1	2,11 ±	0,20
10-, 12-MeC26	26,3	3,19 ±	0,22
6-MeC26	26,4	0,60 ±	0,13
2-MeC26	26,6	1,73 ±	0,34
C27:1	26,8	1,23 ±	0,11
Desconhecido	26,9	0,78 ±	0,04
<i>n</i> -C27	27,0	6,18 ±	0,57
11-, 13-MeC27	27,3	13,20 ±	1,26
7-MeC27	27,4	1,34 ±	0,13
5-MeC27	27,5	1,78 ±	0,34
9,13-DimeC27	27,6	1,40 ±	0,26
3-MeC27	27,7	6,84 ±	0,54
5,9-DimeC27	27,8	1,24 ±	0,46
<i>n</i> -C28	28,0	0,51 ±	0,11
19-, 17-MeC28	28,1	2,25 ±	0,42
12-, 14-MeC28	28,3	1,61 ±	0,28
2-MeC28	28,6	0,69 ±	0,22
<i>n</i> -C29	29,0	2,42 ±	0,58
11-, 13-, 15-MeC29	29,3	4,10 ±	0,75
7-MeC29	29,4	0,61 ±	0,09
3-MeC29	29,7	2,14 ±	0,31
15-MeC30	30,3	0,89 ±	0,15
13-, 15-MeC31	31,3	0,96 ±	0,28
11-, 13-, 15-, 17-MeC33	33,3	0,54 ±	0,11

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.8 - *Oxysarcodexia intona*, Macapá-AP (Figura 16, Tabela 9)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – não analisado.

Macho – 43 compostos entre 22 e 35 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – não analisado.

Macho – mistura de 13- e 11-metilheptacosano (6,46%), heptacosano (5,98%), 9-metilpentacosano (5,45%), nonacosano (3,97%) e pentacosano (3,79%).

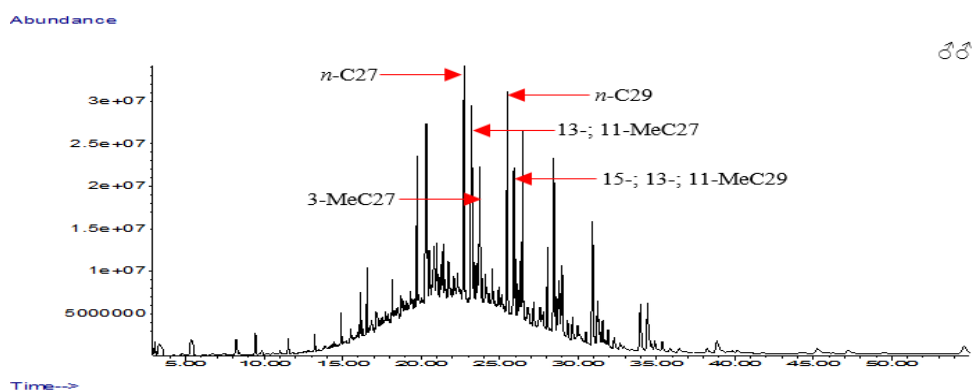


Figura 16 – Cromatograma representativo de machos ($\sigma\sigma$) de *Oxysarcodexia intona*, Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 9- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos *Oxysarcodexia intona*, Macapá-AP.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
<i>n</i> -C22	22,0	0,60 ± 0,24
<i>n</i> -C23	23,0	1,07 ± 0,37
<i>n</i> -C24	24,0	0,99 ± 0,42
2-MeC24	24,4	1,03 ± 0,41
Desconhecido	24,4	1,02 ± 0,31
C25:1	24,7	1,09 ± 0,26
<i>n</i> -C25	25,0	3,79 ± 0,19
9-MeC25	25,3	5,45 ± 0,34
7-MeC25	25,4	2,21 ± 0,27
5-MeC25	25,5	1,96 ± 0,45
3-MeC25	25,7	3,16 ± 0,38
5,9-DiMeC25	25,8	2,19 ± 0,13
<i>n</i> -C26	26,0	1,34 ± 0,30
7,11-DiMeC26	26,1	2,30 ± 0,17
10-MeC26	23,3	2,65 ± 0,59
2-MeC26	26,6	2,72 ± 1,08
C27:1	26,8	1,70 ± 0,18
<i>n</i> -C27	27,0	5,89 ± 1,03
13-; 11-MeC27*	27,3	6,44 ± 0,47
7-MeC27	27,4	1,06 ± 0,42
11,15-DiMeC27	27,6	1,60 ± 0,38
3-MeC27	27,7	3,26 ± 0,65
5,9-DiMeC27	27,8	0,68 ± 0,38
Desconhecido	28,3	1,42 ± 0,66
2-MeC28	28,6	0,98 ± 0,35
<i>n</i> -C29	29,0	3,97 ± 0,91
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	3,37 ± 0,70

(continuação)			
7-MeC29	29,4	0,67 ±	0,16
5-MeC29	29,5	0,51 ±	0,10
9,13-DiMeC29	29,6	1,21 ±	0,23
3-MeC29	29,7	3,41 ±	0,80
14-; 12-MeC30*	30,3	0,59 ±	0,20
Desconhecido	30,6	0,61 ±	0,06
<i>n</i> -C31	31,0	1,22 ±	0,28
15-;13-MeC31*	31,3	3,21 ±	0,90
7-MeC31	31,4	0,52 ±	0,08
5-MeC31	31,5	0,58 ±	0,09
11,15-DiMeC31	31,6	1,44 ±	0,22
3-MeC31	31,7	1,13 ±	0,31
17-; 15-; 13-MeC33*	33,3	2,88 ±	0,88
11,15-DiMeC33	33,6	1,28 ±	0,55
17-; 15-; 13-MeC35*	35,3	1,24 ±	0,43
13,17-DiMeC35	35,5	1,45 ±	0,38

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.9 - *Oxysarcodexia terminalis*, Terenos-MS (Figura 17, Tabela 10)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – não analisado.

Macho – 47 compostos entre 23 e 37 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – não analisado.

Macho – mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (11,44%), nonacosano (7,55%), heptacosano (7,23%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (4,98%) e 3-metilnonacosano (4,20%).

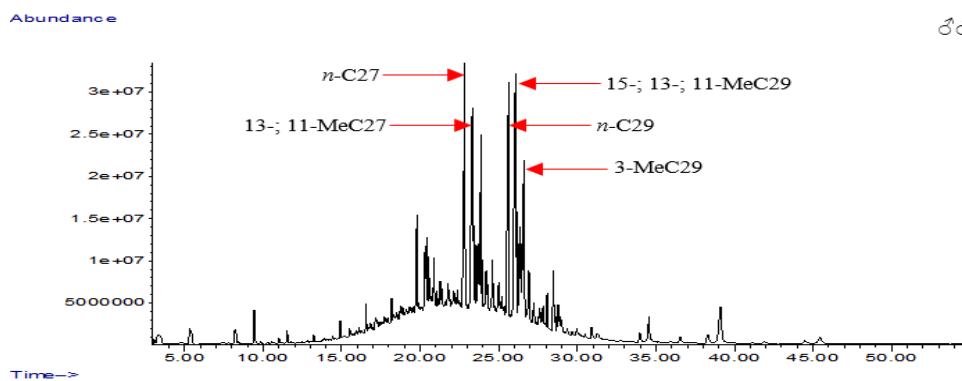


Figura 17 – Cromatograma representativo de machos ($\sigma\sigma$) de *Oxysarcodexia terminalis*, Terenos-MS, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 10- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos *Oxysarcodexia terminalis*, Terenos-MS.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
<i>n</i> -C23	23,0	0,93 ± 0,29
11-; 9-MeC23*	23,3	0,64 ± 0,12
<i>n</i> -C24	24,0	0,80 ± 0,19
10-MeC24	24,3	0,54 ± 0,22
<i>n</i> -C25	25,0	2,66 ± 0,25
13-; 11-MeC25*	25,3	2,24 ± 0,08
7-MeC25	25,4	1,32 ± 0,25
5-MeC25	25,5	1,49 ± 0,22
3-MeC25	25,7	1,41 ± 0,09
<i>n</i> -C26	26,0	0,71 ± 0,10
17- MeC26	26,1	0,65 ± 0,20
11-MeC26	26,3	1,21 ± 0,28
2-MeC26	26,6	1,09 ± 0,69
C27:1	26,8	4,42 ± 4,35
<i>n</i> -C27	27,0	7,22 ± 1,29
13-; 11-MeC27*	27,3	4,97 ± 1,65
9-MeC27	27,3	1,77 ± 0,86
7-MeC27	27,4	0,83 ± 0,49
5-MeC27	27,5	1,34 ± 0,91
11,19-; 15,23-DiMeC27*	27,6	2,13 ± 0,46
3-MeC27	27,7	4,06 ± 1,04
5,9-DiMeC27	27,8	0,63 ± 0,14
<i>n</i> -C28	28,0	0,72 ± 0,15
17-MeC28	28,1	0,83 ± 0,25
14-; 12-MeC28*	28,3	1,71 ± 0,22
2-MeC28	28,6	2,31 ± 1,14

(continuação)			
C29:1	28,9	1,87 ±	1,21
<i>n</i> -C29	29,0	7,55 ±	1,05
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	11,43 ±	1,19
7-MeC29	29,4	0,98 ±	0,24
5-MeC29	29,5	1,11 ±	0,24
11,15-; 13,17-DiMeC29*	29,6	1,61 ±	0,44
9,13-DiMeC29	29,6	1,13 ±	0,28
3-MeC29	29,7	4,19 ±	0,94
5,9-DiMeC29	29,8	0,91 ±	0,14
19-MeC30	30,1	1,10 ±	0,46
15-; 14-MeC30*	30,3	0,66 ±	0,09
2-MeC30	30,6	1,66 ±	0,75
C31:1	30,8	3,34 ±	2,46
<i>n</i> -C31	31,0	0,92 ±	0,16
15-; 13-MeC31*	31,3	2,89 ±	0,93
11,15-; 13,17-DiMeC31	31,6	0,85 ±	0,03
C33:2	32,2	1,20 ±	1,04
C33:2	32,9	0,96 ±	0,83
15-; 13-, 11-MeC33*	33,3	0,80 ±	0,31
11,17-; 13,21-DiMeC35*	35,6	0,94 ±	0,17
11,21-; 13,23-DiMeC37*	37,5	1,86 ±	0,766

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.10 - *Oxysarcodexia thornax*, Macapá-AP (Figura 18, Tabela 11)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – não analisado.

Macho – 43 compostos entre 23 e 39 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – não analisado.

Macho – mistura de 11- e 9-metilpentacosano (9,62%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (9,62%), heptacosano (8,86%), 15-; 13- e 11-metilnonacosano (6,10%) e 3-metilheptacosano (5,49%).

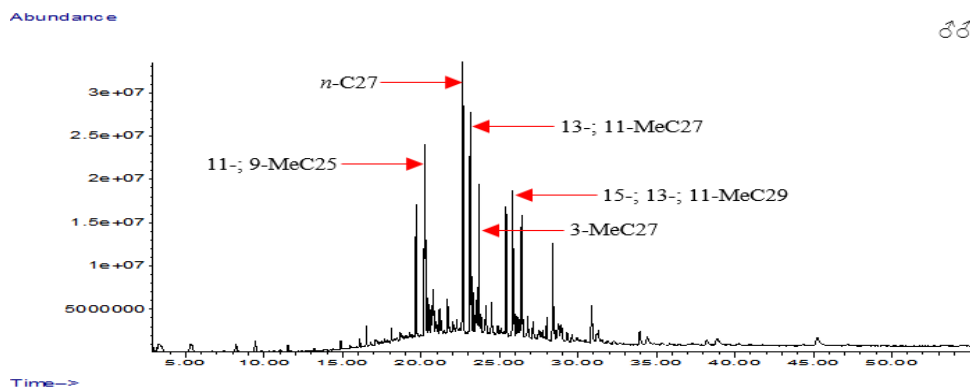


Figura 18 – Cromatograma representativo de machos ($\sigma\sigma$) de *Oxysarcodexia thornax*, Macapá-AP, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 11- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos *Oxysarcodexia thornax*, Macapá-AP.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
n-C23	23,0	0,66 ± 0,10
n-C24	24,0	0,50 ± 0,03
n-C25	25,0	4,26 ± 0,20
11-; 9-MeC25*	25,3	9,62 ± 0,63
7-MeC25	25,4	2,24 ± 0,25
5-MeC25	25,5	1,46 ± 0,24
11,13-DiMeC25	25,6	1,34 ± 0,30
3-MeC25	25,7	2,96 ± 0,37
5,9-DiMeC25	25,8	0,62 ± 0,12
n-C26	26,0	1,07 ± 0,10
17-MeC26	26,1	1,02 ± 0,19
10-MeC26	26,3	2,04 ± 0,13
2-MeC26	26,6	0,69 ± 0,07
C27:1	26,8	1,22 ± 0,17
n-C27	27,0	8,86 ± 0,64
13-; 11-MeC27*	27,3	9,61 ± 0,36
7-MeC27	27,4	1,60 ± 0,25
5-MeC27	27,5	1,33 ± 0,10
11,15-DiMeC27	27,6	1,52 ± 0,23
3-MeC27	27,7	5,48 ± 0,39
5,17-DiMeC27	27,8	1,00 ± 0,20
n-C28	28,0	0,50 ± 0,08
17-MeC28	28,1	1,23 ± 0,36
12-MeC28	28,3	1,35 ± 0,37
n-C29	29,0	4,18 ± 0,23
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	6,10 ± 0,06

(continuação)			
7-MeC29	29,4	0,79 ±	0,02
5-MeC29	29,5	0,70 ±	0,03
13,17-DiMeC29	29,6	0,58 ±	0,08
9,13-DiMeC29	29,6	0,63 ±	0,02
3-MeC29	29,7	4,09 ±	0,57
5,13-DiMeC29	29,8	0,62 ±	0,03
19-MeC30	30,1	0,95 ±	0,09
14-; 12-MeC30*	30,3	0,77 ±	0,02
n-C31	31,0	0,75 ±	0,12
15-; 13-; 11-MeC31*	31,3	3,95 ±	0,04
9,13-DiMeC31	31,6	0,70 ±	0,04
7,11-DiMeC31	31,6	0,61 ±	0,15
16-; 14-; 12-MeC32*	32,3	0,52 ±	0,04
17-; 15-; 13-MeC33*	33,3	2,01 ±	0,10
17-; 15-; 13-MeC35*	35,4	0,92 ±	0,05
13,17-DiMeC35	35,6	0,80 ±	0,12
13,17-DiMeC39	39,5	0,92 ±	0,08

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.1.1.11 - *Oxysarcodexia thornax*, Terenos-MS (Figura 19, Tabela 12)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – não analisado.

Macho – 48 compostos entre 23 e 39 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – não analisado.

Macho – heptacosano (7,83%), mistura de 11- e 9-metilpentacosano (7,06%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (6,57%), mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (5,69%) e nonacosano (4,93%).

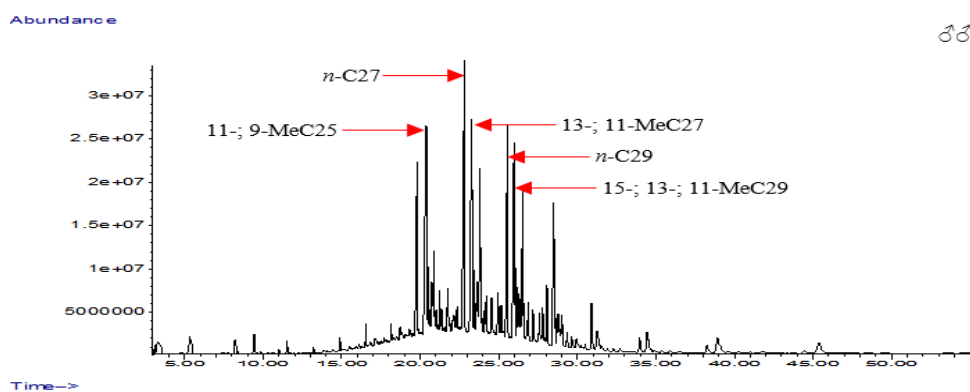


Figura 19 – Cromatograma representativo de machos ($\delta\delta$) de *Oxysarcodexia thornax*, Terenos-MS, mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 12- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos *Oxysarcodexia thornax*, Terenos-MS.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
n-C23	23,0	0,73 ± 0,28
n-C24	24,0	0,89 ± 0,51
10-MeC24	24,3	0,91 ± 0,47
3-MeC24	24,7	0,75 ± 0,40
n-C25	25,0	4,33 ± 0,91
11-; 9-MeC25*	25,3	7,06 ± 2,36
7-MeC25	25,4	1,56 ± 0,28
5-MeC25	25,5	1,40 ± 0,09
11,15-DiMeC25	25,6	1,34 ± 0,02
3-MeC25	25,7	2,32 ± 0,38
5,9-DimeC25	25,8	0,72 ± 0,31
n-C26	26,0	1,18 ± 0,23
17-MeC26	26,1	1,06 ± 0,51
11-MeC26	26,3	1,92 ± 0,61
2-MeC26	26,6	0,93 ± 0,41
C27:1	26,9	0,99 ± 0,66
n-C27	27,0	7,82 ± 2,09
13-; 11-MeC27	27,3	6,56 ± 2,00
7-MeC27	27,4	1,07 ± 0,01
5-MeC27	27,5	1,04 ± 0,10
11,15-DiMeC27	27,6	1,66 ± 0,16
3-MeC27	27,7	3,45 ± 0,77
5,9-DimeC27	27,8	0,76 ± 0,15
n-C28	28,0	0,82 ± 0,26
17-MeC28	28,1	0,94 ± 0,24

(continuação)			
12-MeC28	28,3	1,71 ±	0,92
2-MeC28	28,6	1,52 ±	0,75
C29:1	28,8	0,85 ±	0,26
n-C29	29,0	4,93 ±	1,60
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	5,68 ±	2,19
7-MeC29	29,4	0,73 ±	0,18
5-MeC29	29,5	0,75 ±	0,12
13,17-DiMeC29	29,6	0,72 ±	0,12
9,13-DiMeC29	29,6	0,67 ±	0,12
3-MeC29	29,7	2,80 ±	1,06
5,9-DiMeC29	29,8	0,58 ±	0,11
19-MeC30	30,1	0,82 ±	0,08
14-; 12-MeC30*	30,3	0,83 ±	0,08
2-MeC30	30,6	0,89 ±	0,08
C31:1	30,9	0,70 ±	0,12
n-C31	31,0	0,85 ±	0,40
15-; 13-; 11-MeC31*	31,3	3,37 ±	1,65
11, 15-DiMeC31	31,6	0,71 ±	0,28
17-; 15-; 13-MeC33*	33,3	1,10 ±	0,51
17-; 15-; 13-MeC35*	35,4	0,51 ±	0,12
13,17-DiMeC35	35,5	0,62 ±	0,43
13,17-DiMeC37	37,6	0,76 ±	0,45
13,17-DiMeC39	39,5	0,73 ±	0,32

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.2 – Comparação entre perfis de HCs de machos de *Oxysarcodexia thornax* de três diferentes regiões do Brasil

A análise de variância não mostrou diferença significativa entre os perfis de HCs das três populações (GL= 77; F= 0,556; p= 0,576). No entanto, pode-se notar que a amostra da população de *O. thornax* do Rio de Janeiro se mostrou a mais dissemelhante (Figura 20, Tabela 13). As três amostras apresentaram HCs entre 23 e 39 carbonos na cadeia linear, mas diferenciaram no número de compostos com mais de 0,5% de abundância. Foram identificados 36 HCs na população de *O. thornax* do Rio de Janeiro, 48 HCs na do Mato Grosso do Sul e 43 HCs na do Amapá.

Oxysarcodexia thornax do Rio de Janeiro apresentou alguns HCs exclusivos, sendo eles: mistura de 11- e 9-metiltricosano, mistura de 11- e 9-metiltetracosano, 16-metilhexacosano, 5,y-dimetilheptacosano, mistura de 14- e 13-metiloctacosano, 13,19-dimetilnonacosano, 11-

metiltritriacontano e mistura de 17-; 15-; 13- e 11-metilpentatriacontano. Os HCs exclusivos para *O. thornax* do Mato Grosso do Sul foram 3-metilтетраcontano, 5,9-dimetilheptacosano, nonacoseno, 5,9-dimetilnonacosano, 2-metiltriacontano, hentriaconteno, 11,15-dimetilhentriacontano e 13,17-dimetilheptatriacontano. Finalizando, os HCs exclusivos de *O. thornax* do Amapá foram 5,17-dimetilheptacosano, 5,13-dimetilnonacosano, 9,13-dimetilhentriacontano, 7,11-dimetilhentriacontano e mistura de 16-; 14- e 12 metildotriacontano.

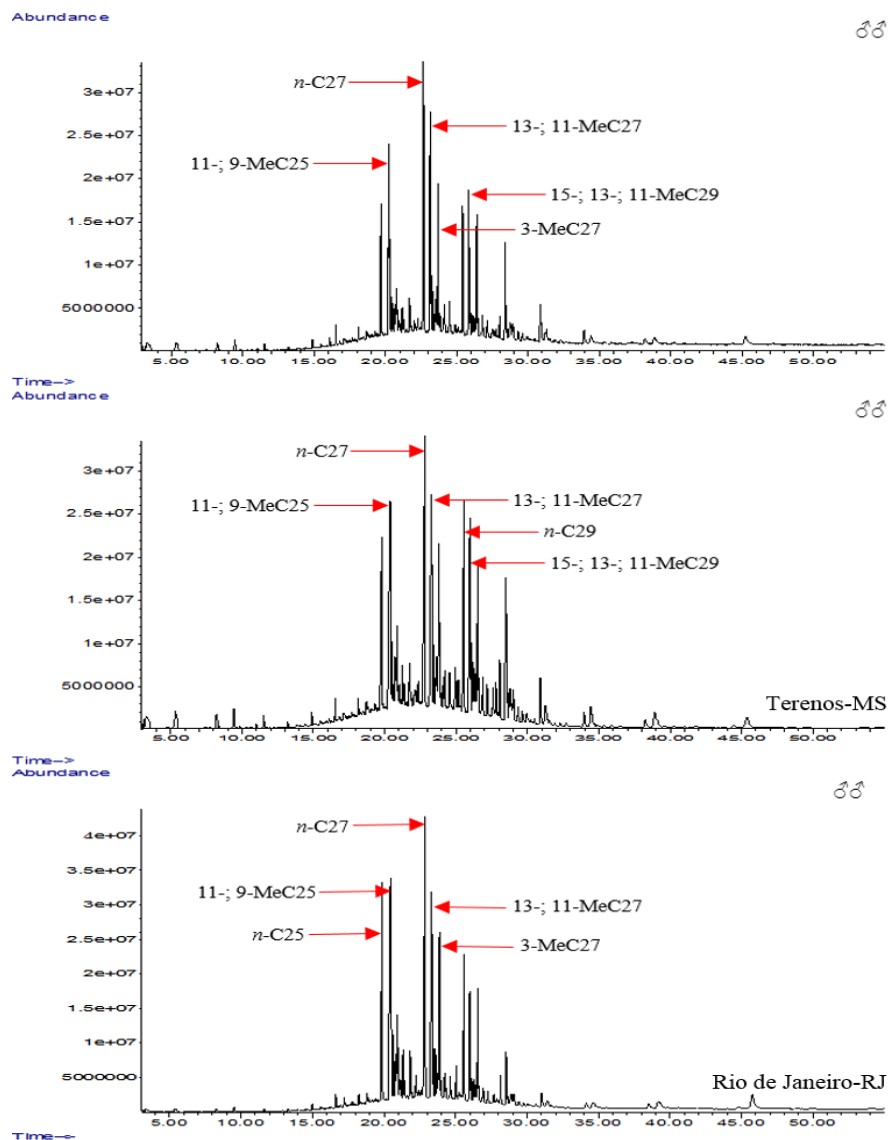


Figura 20 – Comparação entre os cromatogramas representativos dos machos (♂♂) de *Oxysarcodexia thornax* de Macapá-AP, Terenos-MS e Rio de Janeiro-RJ.

Tabela 13- Comparação das média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos *Oxysarcodexia thornax* de Macapá-AP, Terenos-MS e Rio de Janeiro-RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)					
		<i>Oxysarcodexia thornax</i>					
		AP		MS		RJ	
<i>n</i> -C23	23,0	0,66 ± 0,10	0,73 ± 0,28	0,552 ± 0,19			
11-; 9-MeC23*	23,3	nd	nd	0,766 ± 0,32			
<i>n</i> -C24	24,0	0,50 ± 0,03	0,89 ± 0,51	0,585 ± 0,31			
11-; 10-; 9-MeC24*	24,3	nd	nd	0,726 ± 0,56			
10-MeC24	24,3	nd	0,91 ± 0,47	nd			
3-MeC24	24,7	nd	0,75 ± 0,40	nd			
<i>n</i> -C25	25,0	4,26 ± 0,20	4,33 ± 0,91	9,015 ± 0,23			
11-; 9-MeC25*	25,3	9,62 ± 0,63	7,06 ± 2,36	13,194 ± 1,83			
7-MeC25	25,4	2,24 ± 0,25	1,56 ± 0,28	2,301 ± 0,21			
5-MeC25	25,5	1,46 ± 0,24	1,40 ± 0,09	1,632 ± 0,27			
11,15-DiMeC25	25,6	1,34 ± 0,30	1,34 ± 0,02	1,566 ± 0,40			
3-MeC25	25,7	2,96 ± 0,37	2,32 ± 0,38	3,416 ± 0,52			
5,9-DiMeC25	25,8	0,62 ± 0,12	0,72 ± 0,31	0,583 ± 0,29			
<i>n</i> -C26	26,0	1,07 ± 0,10	1,18 ± 0,23	1,397 ± 0,28			
17-; 16-MeC26*	26,1	nd	nd	0,863 ± 0,53			
17-MeC26	26,1	1,02 ± 0,19	1,06 ± 0,51	nd			
11-; 10-MeC26*	26,3	nd	nd	2,104 ± 0,72			
11-MeC26	26,3	nd	1,92 ± 0,61	nd			
10-MeC26	26,4	2,04 ± 0,13	nd	nd			
2-MeC26	26,6	0,69 ± 0,07	0,93 ± 0,41	0,687 ± 0,30			
C27:1	27,8	1,22 ± 0,17	0,99 ± 0,66	0,659 ± 0,31			
<i>n</i> -C27	27,0	8,86 ± 0,64	7,82 ± 2,09	12,691 ± 1,92			
13-; 11-MeC27*	27,3	9,61 ± 0,36	6,56 ± 2,00	9,007 ± 0,53			
7-MeC27	27,4	1,60 ± 0,25	1,07 ± 0,01	1,186 ± 0,04			
5-MeC27	27,5	1,33 ± 0,10	1,04 ± 0,10	1,118 ± 0,09			
11,15-DiMeC27	27,6	1,52 ± 0,23	1,66 ± 0,16	1,586 ± 0,13			
3-MeC27	27,7	5,48 ± 0,39	3,45 ± 0,77	5,256 ± 0,62			
5,17-DiMeC27	27,8	1,00 ± 0,20	nd	nd			
5,9-DiMeC27	27,8	nd	0,76 ± 0,15	nd			
5,y-DiMeC27	27,8	nd	nd	0,669 ± 0,20			
<i>n</i> -C28	28,0	0,50 ± 0,08	0,82 ± 0,26	0,561 ± 0,02			
17-MeC28	28,1	1,23 ± 0,36	0,94 ± 0,24	0,768 ± 0,11			
14-; 13-; 12-MeC28*	28,3	nd	nd	0,852 ± 0,09			
12-MeC28	28,3	1,35 ± 0,37	1,71 ± 0,92	nd			
2-MeC28	28,6	nd	1,52 ± 0,75	0,959 ± 0,18			
C29:1	28,9	nd	0,85 ± 0,26	nd			
<i>n</i> -C29	29,0	4,18 ± 0,23	4,93 ± 1,60	4,223 ± 1,50			

(continuação)						
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	6,10 ± 0,06	5,68 ± 2,19	3,741 ± 1,29		
7-MeC29	29,4	0,79 ± 0,02	0,73 ± 0,18	nd		
5-MeC29	29,5	0,70 ± 0,03	0,75 ± 0,12	nd		
13,17-DiMeC29	29,6	0,58 ± 0,08	0,72 ± 0,12	nd		
9,13-DiMeC29	29,6	0,63 ± 0,02	0,67 ± 0,12	nd		
13,19-DiMeC29	29,6	nd	nd	0,51 ± 0,16		
3-MeC29	29,7	4,09 ± 0,57	2,80 ± 1,06	3,13 ± 1,15		
5,9-DiMeC29	29,8	nd	0,58 ± 0,11	nd		
5,13-DiMeC29	29,8	0,62 ± 0,03	nd	nd		
19-MeC30	30,1	0,95 ± 0,09	0,82 ± 0,08	nd		
14-; 12-MeC30*	30,3	0,77 ± 0,02	0,83 ± 0,08	nd		
2-MeC30	30,6	nd	0,89 ± 0,08	nd		
C31:1	30,8	nd	0,70 ± 0,12	nd		
n-C31	31,0	0,75 ± 0,12	0,85 ± 0,40	0,72 ± 0,22		
15-; 13-; 11-MeC31*	31,3	3,95 ± 0,04	3,37 ± 1,65	2,06 ± 1,07		
11, 15-DiMeC31	31,5	nd	0,71 ± 0,28	nd		
9,13-DiMeC31	31,6	0,70 ± 0,04	nd	nd		
7,11-DiMeC31	31,6	0,61 ± 0,15	nd	nd		
16-; 14-; 12-MeC32*	32,3	0,52 ± 0,04	nd	nd		
17-; 15-; 13-MeC33*	33,3	2,01 ± 0,10	1,10 ± 0,51	nd		
17-; 15-; 13-; 11-MeC33*	33,4	nd	nd	0,87 ± 0,34		
17-; 15-; 13-MeC35*	35,3	0,92 ± 0,05	0,51 ± 0,12	nd		
11-; 13-; 15-; 17-MeC35*	35,4	nd	nd	0,51 ± 0,25		
13,17-DiMeC35	35,6	0,80 ± 0,12	0,62 ± 0,43	nd		
13,17-DiMeC37	37,6	nd	0,76 ± 0,45	nd		
13,17-DiMeC39	39,5	0,92 ± 0,08	0,73 ± 0,32	1,43 ± 0,46		

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.3 – Descrição dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares de espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae e Stratiomyidae

5.3.1 – Família Calliphoridae

5.3.1.1 - *Cochliomyia macellaria*, Macapá-AP (Figura 21, Tabela 14)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 35 compostos entre 23 e 31 carbonos na cadeia linear.

Macho – 34 compostos entre 23 e 31 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – heptacosano (13,16%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (11,54%), 3-metilheptacosano (9,29%), mistura de 13- e 11-metilpentacosano (7,39%) e nonacosano (4,30%).

Macho – heptacosano (14,53%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (11,16%), 3-metilheptacosano (9,32%), mistura de 13- e 11-metilpentacosano (8,41%) e nonacosano (4,25%).

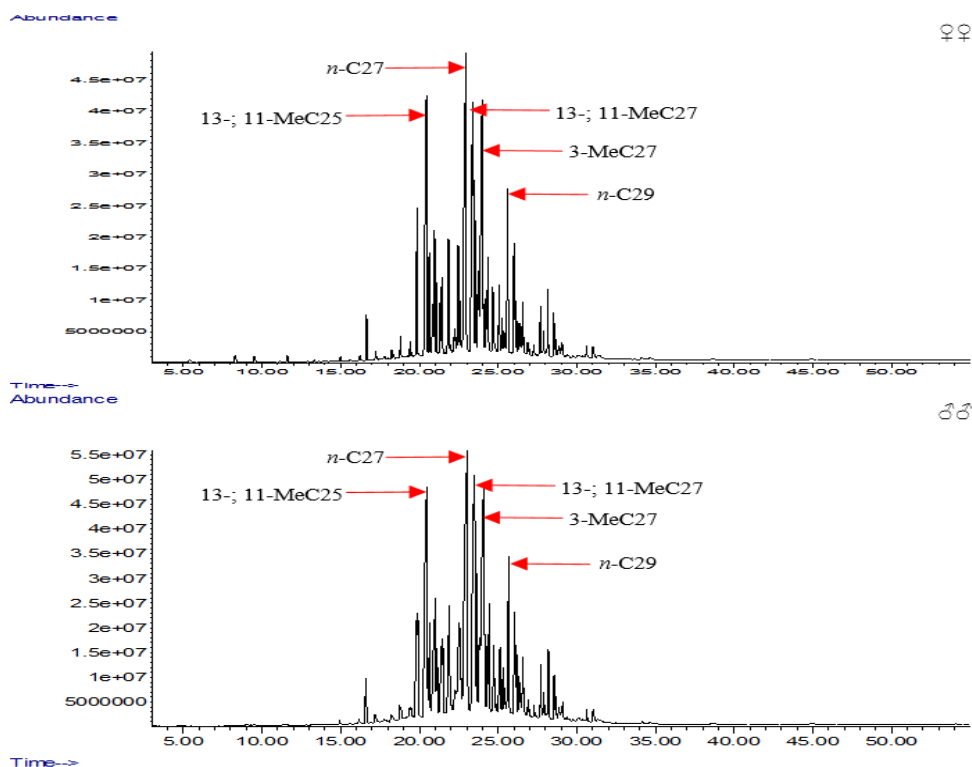


Figura 21 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Cochliomyia macellaria*, Macapá-AP mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 14- Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos e fêmeas de *Cochliomyia macellaria*, Macapá, AP.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
<i>n</i> -C23	23,0	1,00 ± 0,20	0,72 ± 0,22
<i>n</i> -C25	25,0	2,90 ± 0,38	3,12 ± 1,34
13-; 11-MeC25*	25,3	7,39 ± 2,26	8,41 ± 3,28
5-MeC25	25,5	1,28 ± 0,37	1,48 ± 0,69
9,13-DiMeC25	25,6	1,02 ± 0,03	1,18 ± 0,64
3-MeC25	25,7	2,05 ± 0,41	2,11 ± 0,84
5,13-DiMeC25	25,8	0,97 ± 0,16	1,00 ± 0,44

(continuação)					
<i>n</i> -C26	26,0	1,12 ± 0,21	1,27 ± 0,57		
17-; 15-MeC26*	26,2	1,49 ± 0,09	1,44 ± 0,46		
13-; 12-MeC26*	26,3	2,60 ± 0,32	2,80 ± 0,99		
Desconhecido	26,6	1,10 ± 0,32	1,01 ± 0,25		
C27:1	26,8	2,87 ± 0,41	3,66 ± 1,34		
C27:1	26,9	1,18 ± 0,09	nd		
<i>n</i> -C27	27,0	13,15 ± 1,15	14,53 ± 1,03		
13-; 11-MeC27*	27,3	11,54 ± 0,45	11,16 ± 2,59		
7-MeC27	27,4	2,23 ± 0,13	2,91 ± 0,57		
5-MeC27	27,5	2,37 ± 0,29	2,21 ± 0,44		
11,15-DiMeC27	27,6	2,80 ± 0,30	2,56 ± 0,67		
3-MeC27	27,7	9,28 ± 0,24	9,32 ± 1,97		
5,9-DiMeC27	27,8	1,36 ± 0,10	1,85 ± 0,16		
<i>n</i> -C28	28,0	1,20 ± 0,12	1,15 ± 0,25		
Desconhecido	28,2	2,87 ± 0,46	2,74 ± 0,74		
14-; 13-; 12-MeC28*	28,3	1,83 ± 0,28	1,88 ± 0,28		
2-MeC28	28,6	1,95 ± 0,20	1,72 ± 0,08		
C29:1	28,8	0,82 ± 0,12	0,72 ± 0,17		
C29:1	28,9	0,61 ± 0,09	0,60 ± 0,03		
<i>n</i> -C29	29,0	4,30 ± 0,45	4,25 ± 1,69		
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	3,04 ± 0,40	3,10 ± 0,85		
7-Me29	29,4	0,88 ± 0,10	0,80 ± 0,23		
5-MeC29	29,5	0,66 ± 0,13	0,59 ± 0,25		
11,15-DiMeC29	29,6	0,83 ± 0,25	0,83 ± 0,19		
3-MeC29	29,7	1,23 ± 0,06	1,13 ± 0,30		
2-MeC30	30,6	1,12 ± 0,12	0,82 ± 0,06		
<i>n</i> -C31	31,0	1,19 ± 0,02	1,14 ± 0,25		
15-; 13-MeC31*	31,3	0,92 ± 0,11	0,75 ± 0,05		

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.3.1.2 - *Hemilucilia segmentaria*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 22, Tabela 15)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 42 compostos entre 23 e 37 carbonos na cadeia linear.

Macho – 38 compostos entre 23 e 37 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – 2-metiltriacontano (15,85%), mistura de 13- e 11-metilhentriacontano (11,49%), hentriaconteno (6,85%), pentatriacontadieno (4,64%) e 11-metiltricosano (4,14%).

Macho – 2-metiltriacontano (16,49%), mistura de 13- e 11-metilhentriacontano (10,70%), 11-metiltricosano (6,33%), hentriaconteno (6,24%) e pentatriacontadieno (4,68%).

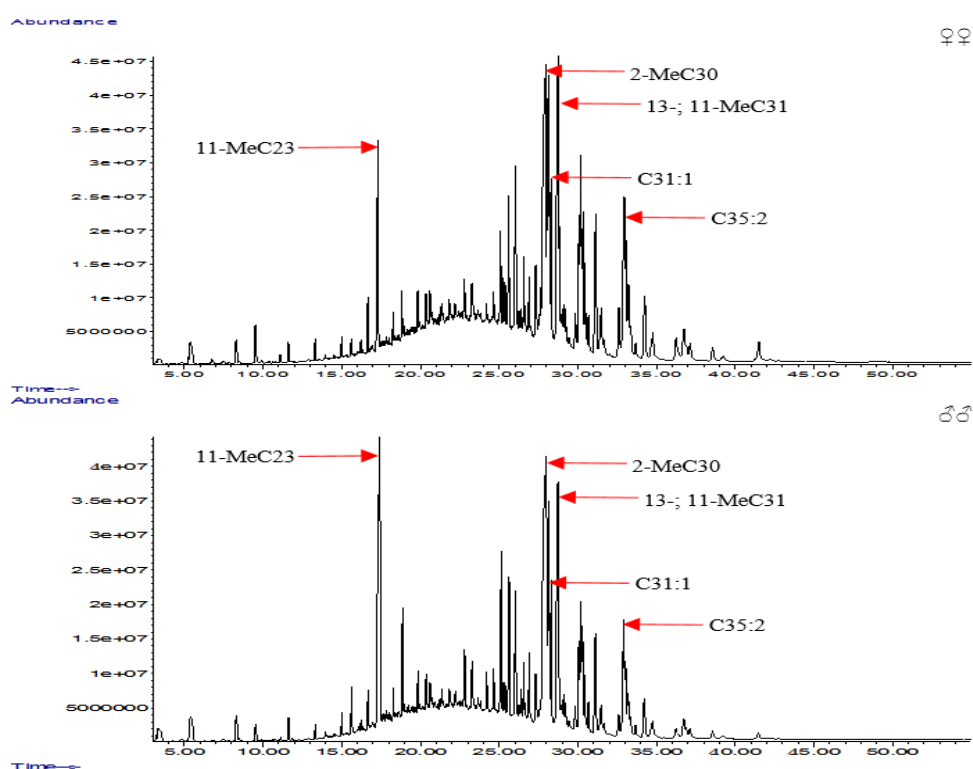


Figura 22 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Hemilucilia segmentaria*, Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 15 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos e fêmeas de *Hemilucilia segmentaria*, Rio de Janeiro-RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
<i>n</i> -C23	23,0	0,87 ± 0,24	0,65 ± 0,10
11-MeC23	23,3	4,13 ± 0,60	6,32 ± 5,08
<i>n</i> -C24	24,0	0,61 ± 0,25	nd
11-MeC24	24,3	0,75 ± 0,21	1,00 ± 0,80
<i>n</i> -C25	25,0	0,80 ± 0,40	0,54 ± 0,07
13-; 11-MeC25*	25,3	0,77 ± 0,39	0,54 ± 0,12
<i>n</i> -C26	26,0	0,53 ± 0,21	nd
Desconhecido	26,6	nd	0,56 ± 0,06
<i>n</i> -C27	27,0	0,57 ± 0,05	0,84 ± 0,18
13-MeC27	27,3	0,97 ± 0,13	1,04 ± 0,16
<i>n</i> -C28	28,0	0,58 ± 0,36	nd
Desconhecido	28,5	0,83 ± 0,22	0,75 ± 0,26

(continuação)					
2-MeC28	28,6	1,65	± 0,11	2,20 ±	1,43
C29:1	28,8	0,61	± 0,07	nd	
C29:1	28,9	0,52	± 0,05	nd	
<i>n</i> -C29	29,0	2,42	± 0,27	2,49 ±	0,30
15-; 13-MeC29*	29,3	3,93	± 0,11	3,37 ±	0,31
3-MeC29	29,7	1,25	± 0,17	1,23 ±	0,22
<i>n</i> -C30	30,0	0,73	± 0,13	1,17 ±	0,06
14-; 12-MeC30*	30,3	1,74	± 0,03	1,54 ±	0,13
C:31:2	30,6	0,60	± 0,12	0,66 ±	0,17
2-MeC30	30,6	15,85	± 1,10	16,48 ±	1,85
C31:1	30,8	6,85	± 0,50	6,23 ±	0,24
C31:1	30,9	2,60	± 0,42	2,12 ±	0,07
<i>n</i> -C31	31,0	2,72	± 0,30	2,56 ±	0,11
13-; 11-MeC31*	31,3	11,48	± 1,01	10,69 ±	1,21
7-MeC31	31,4	0,89	± 0,08	0,51 ±	0,11
13-; 12-; 11-MeC32*	32,3	0,88	± 0,06	0,75 ±	0,12
C33:2	32,6	2,36	± 0,30	2,17 ±	0,35
C33:2	32,6	3,83	± 0,12	3,44 ±	0,72
2-MeC32	32,6	1,44	± 0,12	1,54 ±	0,16
C33:1	32,8	1,97	± 0,06	2,91 ±	0,83
C33:1	32,9	1,32	± 0,03	1,44 ±	0,19
<i>n</i> -C33	33,0	0,54	± 0,03	0,58 ±	0,04
13-; 11-MeC33*	33,3	3,89	± 0,08	3,44 ±	0,55
11,21-DiMeC33	33,5	1,03	± 0,05	0,92 ±	0,12
Desconhecido	33,6	0,73	± 0,14	0,83 ±	0,34
C35:2	35,6	4,63	± 0,13	4,67 ±	1,15
C35:2	35,8	2,20	± 0,16	2,15 ±	0,66
C35:1	33,9	1,16	± 0,13	2,18 ±	1,15
13-; 11-MeC35*	35,3	2,00	± 0,05	1,76 ±	0,36
11,23-DiMeC35	35,6	0,95	± 0,07	0,84 ±	0,12
C37:2	37,6	0,99	± 0,41	1,22 ±	0,32

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.3.1.3 - *Lucilia cuprina*, Macapá-AP (Figura 23, Tabela 16)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 32 compostos entre 24 e 35 carbonos na cadeia linear.

Macho – 29 compostos entre 25 e 35 carbonos na cadeia linear.

Compostos mais representativos:

Fêmea – hentriaconteno (11,55%), nonacoseno (11,49%), nonacosano (8,83%), nonacoseno (7,54%) e 2-metiltricosano (5,68%).

Macho – nonacoseno (10,97%), nonacosano (10,68%), hentriaconteno (10,59%), 2-metiloctacosano (7,20%) e heptacosano (6,55%).

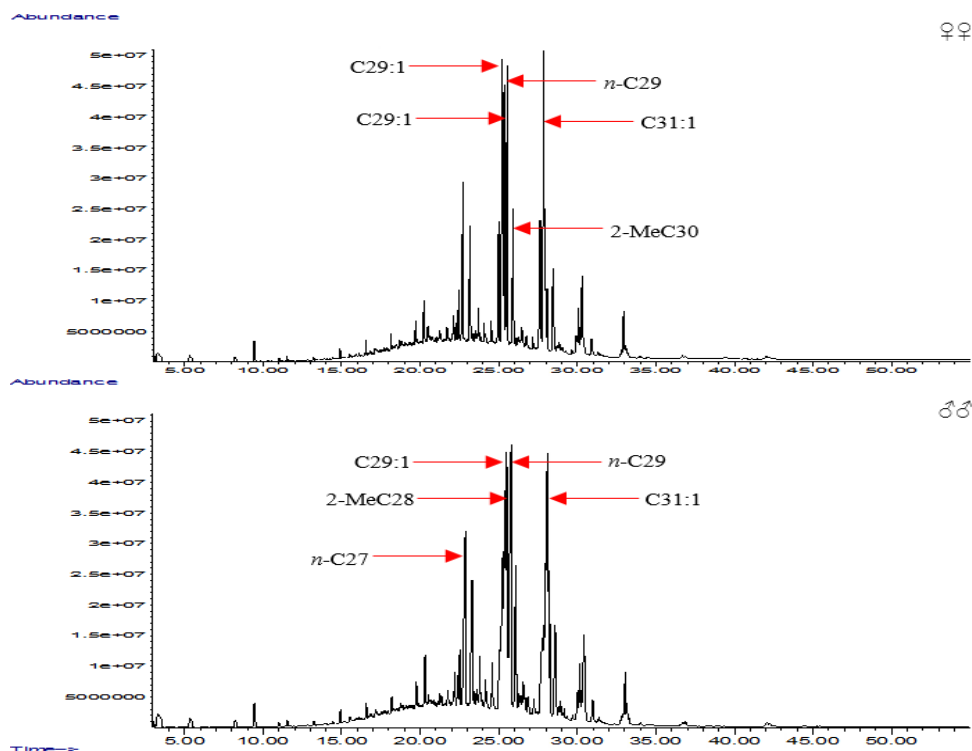


Figura 23 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀) e machos (♂) de *Lucilia cuprina*, Macapá-AP mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 16 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de machos e fêmeas de *Lucilia cuprina*, Macapá, AP.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)	
		Fêmea	Macho
<i>n</i> -C24	24,0	0,55 ± 0,16	nd
<i>n</i> -C25	25,0	0,97 ± 0,45	0,70 ± 0,35
13-; 11-MeC25*	25,3	1,50 ± 0,32	1,22 ± 0,14
<i>n</i> -C26	26,0	0,57 ± 0,25	nd
13-; 12-; 11-MeC26*	26,3	0,94 ± 0,51	0,62 ± 0,27
2-MeC26	26,6	1,50 ± 0,36	1,20 ± 0,33
C27:1	26,8	0,82 ± 0,17	0,69 ± 0,04
C27:1	26,9	1,73 ± 0,20	1,16 ± 0,03
<i>n</i> -C27	27,0	5,16 ± 0,27	6,54 ± 0,27
13-; 11-MeC27*	27,3	4,07 ± 0,18	4,23 ± 0,10

(continuação)					
Desconhecido	27,6	0,73 ± 0,18	0,56 ± 0,01		
3-MeC27	27,7	1,01 ± 0,04	0,98 ± 0,1		
<i>n</i> -C28	28,0	0,53 ± 0,03	nd		
14-; 13-MeC28*	28,3	0,79 ± 0,12	1,09 ± 0,03		
2-MeC28	28,6	5,10 ± 0,24	7,20 ± 1,42		
C29:1	28,8	10,84 ± 0,94	10,97 ± 0,88		
C29:1	28,9	7,54 ± 0,71	5,49 ± 0,26		
<i>n</i> -C29	29,0	8,82 ± 0,14	10,67 ± 0,49		
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	nd	4,76 ± 0,08		
15-; 13-MeC29*	29,3	4,53 ± 0,12	nd		
3-MeC29	29,7	0,69 ± 0,02	0,68 ± 0,02		
C30:1	29,9	0,51 ± 0,03	0,57 ± 0,08		
<i>n</i> -C30	30,0	0,52 ± 0,10	0,51 ± 0,07		
2-MeC30	30,6	5,67 ± 0,45	4,84 ± 0,33		
C31:1	30,8	11,55 ± 0,35	10,59 ± 0,92		
C31:1	30,9	3,51 ± 0,50	4,23 ± 0,37		
<i>n</i> -C31	31,0	1,56 ± 0,01	1,46 ± 0,14		
15-; 13-MeC31*	31,3	3,20 ± 0,08	3,14 ± 0,21		
2-MeC32	32,6	1,33 ± 0,29	1,17 ± 0,12		
C33:2	32,6	0,55 ± 0,19	0,51 ± 0,09		
C33:1	32,9	2,85 ± 0,56	3,50 ± 0,43		
17-; 15-; 13-; 11-MeC33*	33,3	0,76 ± 0,05	0,71 ± 0,03		
C35:2	34,6	1,47 ± 0,13	1,26 ± 0,20		

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.3.2 – Família Muscidae

5.3.2.1 - *Graphomyia maculata*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 24, Tabela 17)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 35 compostos entre 23 e 35 carbonos na cadeia linear.

Macho – não analisado.

Compostos mais representativos:

Fêmea – Mistura de 17-; 15-; 13- e 11-metiltritriacontano (9,41%), mistura de 15-; 13- e 11-metilhentriacontano (6,36%), 2-metilnonacosano (6,09%), 13,21-dimetilpentatriacontano (5,92%) e 11,21-dimetiltritriacontano (5,68%).

Macho – não analisado.

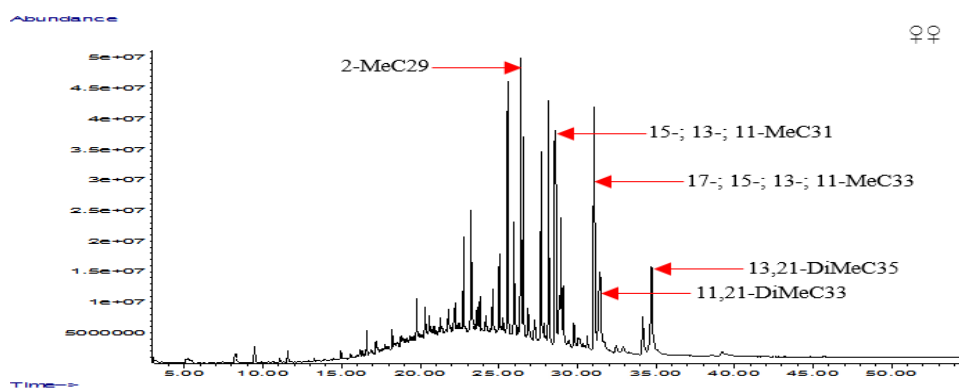


Figura 24 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) e machos (♂♂) de *Graphomyia maculata*, Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 17 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de *Graphomyia maculata*, Rio de Janeiro, RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
<i>n</i> -C23	23,0	0,66 ± 0,06
<i>n</i> -C25	25,0	1,09 ± 0,21
13-; 11-MeC25*	25,3	1,00 ± 0,23
Desconhecido	25,5	0,63 ± 0,05
3-MeC25	25,7	0,60 ± 0,39
<i>n</i> -C26	26,0	0,60 ± 0,25
13-; 12-; 11-MeC26*	26,3	1,18 ± 0,55
2-MeC26	26,6	1,11 ± 0,36
<i>n</i> -C27	27,0	2,16 ± 0,17
13-; 11-MeC27*	27,3	3,82 ± 0,31
11,15-DiMeC27	27,6	1,09 ± 0,50
3-MeC27	27,7	0,82 ± 0,27
<i>n</i> -C28	28,0	0,65 ± 0,39
14-; 13-MeC28*	28,3	1,47 ± 0,42
2-MeC28	28,6	2,30 ± 0,27
C29:1	28,8	0,70 ± 0,31
<i>n</i> -C29	29,0	5,55 ± 0,50
15-; 13-MeC29*	29,3	3,59 ± 0,16
2-MeC29	29,6	6,09 ± 1,01
3-MeC29	29,7	4,64 ± 0,08
<i>n</i> -C30	30,0	1,33 ± 0,27
15-; 14-; 13-; 12-MeC30*	30,3	0,92 ± 0,20
2-MeC30	30,6	5,04 ± 0,91
C31:1	30,8	0,50 ± 0,02
<i>n</i> -C31	31,0	4,77 ± 1,26
15-; 13-; 11-MeC31*	31,3	6,36 ± 0,75

(continuação)			
9-MeC31	31,4	3,82 ±	0,99
13,17-DiMeC31	31,6	1,95 ±	0,20
2-MeC31	31,6	3,11 ±	0,69
3-MeC31	31,7	1,69 ±	0,30
13-; 12-; 11-MeC32*	32,3	1,16 ±	0,10
17-; 15-; 13-; 11-MeC33*	33,3	9,41 ±	1,37
11,21-DiMeC33	33,6	5,58 ±	0,40
17-; 15-; 13-MeC35*	35,3	1,87 ±	0,08
13,21-DiMeC35	35,6	5,91 ±	0,90

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.3.2.2 - *Musca domestica*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 25, Tabela 18)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 30 compostos entre 23 e 33 carbonos na cadeia linear.

Macho – não analisado.

Compostos mais representativos:

Fêmea – nonacosano (24,74%), heptacoseno (10,65%), heptacosano (9,85%), hentriacontano (8,23%) e pentacosano (5,88%).

Macho – não analisado.

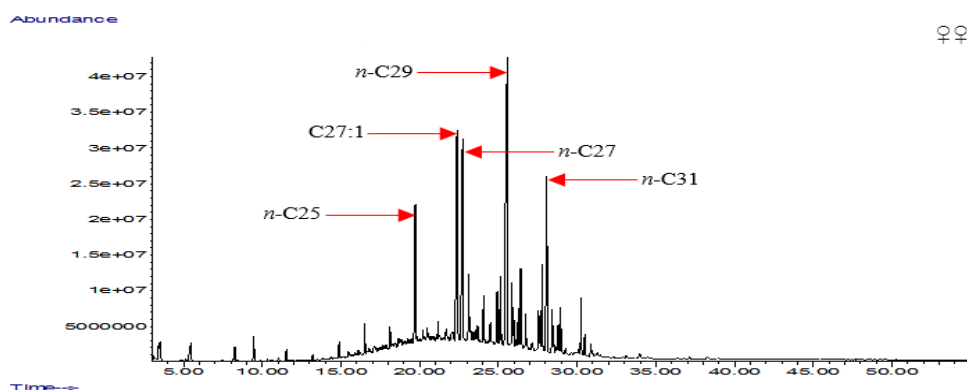


Figura 25 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) de *Musca domestica*, Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 18 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de *Musca domestica*, Rio de Janeiro, RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
<i>n</i> -C23	23,0	0,80 ± 0,25
<i>n</i> -C24	24,0	0,61 ± 0,22
<i>n</i> -C25	25,0	5,88 ± 0,20
11-MeC25	25,3	0,74 ± 0,05
Desconhecido	25,6	0,66 ± 0,02
<i>n</i> -C26	26,0	0,53 ± 0,17
11-MeC26	26,3	0,60 ± 0,06
C27:1	26,8	10,65 ± 0,43
<i>n</i> -C27	27,0	9,85 ± 0,49
13-; 11-MeC27*	27,3	3,24 ± 0,46
13,17-DiMeC27	27,6	0,58 ± 0,12
3-MeC27	27,7	0,71 ± 0,19
<i>n</i> -C28	28,0	1,67 ± 0,07
C30:6	28,5	0,98 ± 0,20
2-MeC28	28,6	2,10 ± 0,20
C29:1	28,8	2,33 ± 0,14
<i>n</i> -C29	29,0	24,73 ± 3,74
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	3,10 ± 0,12
7-MeC29	29,4	0,70 ± 0,04
2-MeC29	29,6	1,05 ± 0,34
3-MeC29	29,7	2,78 ± 0,06
<i>n</i> -C30	30,0	1,42 ± 0,16
2-MeC30	30,6	1,60 ± 0,30
C31:1	30,8	3,19 ± 0,22
<i>n</i> -C31	31,0	8,23 ± 0,37
13-; 11-MeC31*	31,3	2,05 ± 0,34
2-MeC31	31,6	0,80 ± 0,27
3-MeC31	31,7	1,43 ± 0,18
C33:1	32,8	1,72 ± 0,29
<i>n</i> -C33	33,0	0,72 ± 0,17

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.3.2.3 - *Sythesiomyia nudiseta*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 26, Tabela 19)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 39 compostos entre 22 e 33 carbonos na cadeia linear.

Macho – não analisado.

Compostos mais representativos:

Fêmea – heptacosano (8,38%), 3-metilheptacosano (8,15%), mistura de 13- e 11-metilheptacosano (7,840%), mistura de 15-; 13- e 11-metilnonacosano (4,560%) e nonacosano (4,45%).

Macho – não analisado.

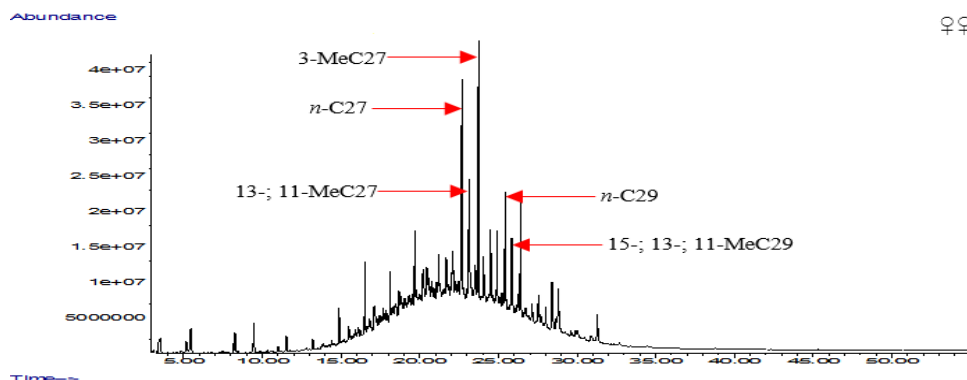


Figura 26 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) de *Synthesiomyia nudiseta*, Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 19 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de *Synthesiomyia nudiseta*, Rio de Janeiro, RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
<i>n</i> -C22	22,0	0,79 ± 0,18
<i>n</i> -C23	23,0	2,15 ± 0,58
12-MeC23	23,3	0,65 ± 0,08
11-MeC23	23,3	1,42 ± 0,22
<i>n</i> -C24	24,0	1,43 ± 0,25
12-; 11-; 10-MeC24*	24,3	1,15 ± 0,32
6-MeC24	24,4	1,05 ± 0,39
4-MeC24	24,5	0,61 ± 0,30
3-MeC24	24,7	0,67 ± 0,25
<i>n</i> -C25	25,0	2,80 ± 0,46
Desconhecido	25,2	0,75 ± 0,53
13-; 11-MeC25*	25,3	2,06 ± 0,43
5-MeC25	25,5	1,86 ± 0,23
4-MeC25	25,6	1,13 ± 0,35
3-MeC25	25,7	1,20 ± 0,35
Desconhecido	25,8	0,98 ± 0,55
<i>n</i> -C26	26,0	1,69 ± 0,60
11-MeC26	26,3	2,80 ± 0,92

(continuação)			
4-MeC26	26,5	1,44 ±	0,37
2-MeC26	26,6	2,24 ±	0,56
C27:1	26,8	1,25 ±	0,35
C27:1	26,9	1,84 ±	0,95
<i>n</i> -C27	27,0	8,38 ±	0,90
13-; 11-MeC27*	27,3	7,83 ±	2,33
11,15-DiMeC27	27,5	2,89 ±	0,43
3-MeC27	27,6	8,15 ±	2,38
<i>n</i> -C28	28,0	2,31 ±	0,16
14-; 13-; 12-; 11-MeC28*	28,3	3,35 ±	0,42
2-MeC28	28,6	4,12 ±	0,52
C29:1	28,8	0,93 ±	0,08
<i>n</i> -C29	29,0	4,45 ±	1,87
15-; 13-; 11-MeC29*	29,3	4,55 ±	0,97
3-MeC29	29,7	3,39 ±	2,10
12-MeC30	30,3	1,15 ±	0,58
2-MeC30	30,6	1,10 ±	0,71
<i>n</i> -C31	31,0	0,79 ±	0,56
13-; 11-MeC31*	31,3	2,65 ±	0,94
13,21; 9,19-DiMeC31*	31,6	1,56 ±	0,61
11,21-DiMeC33	33,6	1,08 ±	0,28

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.3.3 – Família Stratiomyidae

5.3.3.1 - *Hermetia illucens*, Rio de Janeiro-RJ (Figura 27, Tabela 20)

Compostos identificados com mais de 0,5% de abundância:

Fêmea – 27 compostos entre 25 e 39 carbonos na cadeia linear.

Macho – não analisado.

Compostos mais representativos:

Fêmea – Mistura de 15-; 13- e 11-metilhentriacontano (21,63%), mistura de 13- e 11-metilnonacosano (15,07%), heptacosano (10,63%), 11,15-dimetilhentriacontano (7,81%) e nonacosano (7,67%).

Macho – não analisado.

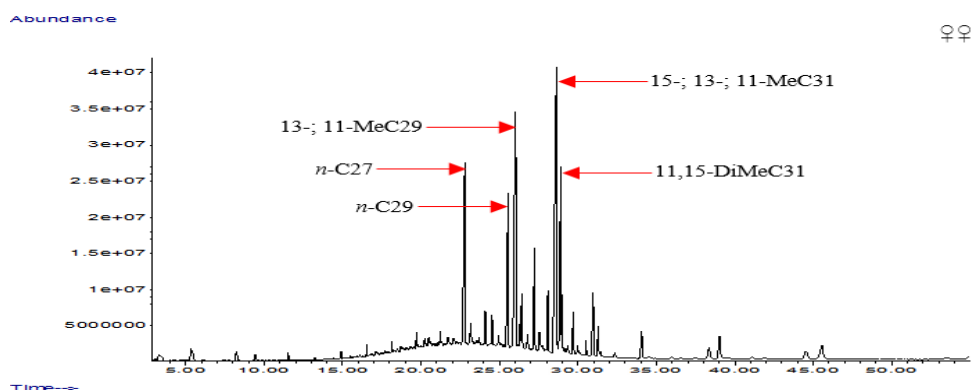


Figura 27 – Cromatogramas representativos de fêmeas (♀♀) de *Hermetia illucens*, Rio de Janeiro-RJ mostrando os hidrocarbonetos mais abundantes.

Tabela 20 - Média e desvio padrão das abundâncias relativas (>0,5%) dos hidrocarbonetos cuticulares de fêmeas de *Hermetia illucens*, Rio de Janeiro, RJ.

Hidrocarboneto	Tamanho Equivalente de Cadeia	Abundância relativa (%)
<i>n</i> -C25	25,0	0,73 ± 0,16
13-; 11-MeC25*	25,3	0,58 ± 0,19
<i>n</i> -C26	26,0	0,57 ± 0,08
11-MeC26	26,3	0,56 ± 0,14
4-MeC26	26,6	0,61 ± 0,27
<i>n</i> -C27	27,0	10,63 ± 1,11
13-; 11-Me27*	27,3	1,30 ± 0,15
<i>n</i> -C28	28,0	1,25 ± 0,14
13-; 11-MeC28*	28,3	1,32 ± 0,33
<i>n</i> -C29	29,0	7,67 ± 0,58
13-; 11-MeC29*	29,3	15,07 ± 1,29
9,13-DiMeC29	29,6	0,74 ± 0,17
7,11-DiMeC29	29,6	1,50 ± 0,29
14-; 12-MeC30*	30,3	4,09 ± 0,18
11,21-DiMeC30	30,5	0,76 ± 0,31
<i>n</i> -C31	31,0	1,98 ± 0,27
15-; 13-; 11-MeC31*	31,4	21,63 ± 1,56
11,15-DiMeC31	31,6	7,80 ± 0,81
7,11-DiMeC31	31,6	1,26 ± 0,18
12-MeC32	32,3	1,45 ± 0,10
13-; 11-MeC33*	33,3	2,76 ± 0,30
11,15-DiMeC33	33,5	1,02 ± 0,11
13-; 11-MeC35*	35,3	1,44 ± 0,12
13-; 11-MeC37*	37,3	1,10 ± 0,16
11,15-DiMeC37	37,6	1,76 ± 0,18
15-; 13-; 11-MeC39*	39,4	1,17 ± 0,19
11,15-DiMeC39	39,6	1,59 ± 0,13

*Mistura de; nd = não detectado ou menos de 0,5 % de abundância.

5.4 – Análise da similaridade dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares entre espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae e Stratiomyidae

As classificações hierárquicas calculadas pela análise de cluster utilizando a distância de similaridade de Bray-Curtis foi realizada para comparar os perfis de HCs das espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae e Stratiomyidae. Dois tipos de análises foram realizados: um com a inclusão dos *n*-alcanos nos perfis de HCs e outro com sua exclusão, o que resultou em dendrogramas diferentes (Figuras 28 e 29).

A inclusão dos *n*-alcanos da análise (Coeficiente de Relação Cofenética= 0,8981) teve como a espécie mais dissemelhante o califorídeo *H. segmentaria*, seguida do estratiomídeo *H. illucens*. Houve a formação de um ramo contendo os muscídeos *M. domestica* e *G. maculata* junto ao califorídeo *L. cuprina*. Em seguida, dois grandes ramos foram formados, onde estão inclusos todos os sarcófagídeos. No primeiro ramo, *M. filamenta* formou um grupo-irmão com *R. belforti* e as duas espécies de *Peckia*. No entanto, *P. (S.) ingens* se mostrou mais relacionada a *R. belforti* que a *P. (P.) pexata*.

No segundo ramo onde estão os sarcófagídeos, estão agrupadas todas as espécies de *Oxysarcodexia*, o muscídeo *S. nudiseta* e o califorídeo *C. macellaria*. Nota-se a formação de um grupo formado por *O. thornax* das três regiões distintas (Amapá, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro), no entanto as amostras de machos e fêmeas do RJ não formaram um ramo único, pois a amostra dos machos do RJ formou um grupo-irmão com as amostras dos machos oriundos do AP e MS.

A exclusão dos *n*-alcanos da análise (Coeficiente de Relação Cofenética= 0,898) obteve uma configuração diferente, pois a espécie mais dissemelhante neste caso foi o estratiomídeo *H. illucens*. Houve a formação de um ramo contendo os muscídeos *M. domestica* e *G. maculata* junto aos califorídeos *L. cuprina* e *H. segmentaria*. Mais uma vez, dois grandes ramos foram formados, onde estão inclusos todos os sarcófagídeos. Também no primeiro ramo, *M. filamenta* formou um grupo-irmão com *R. belforti* e as duas espécies de *Peckia*. No entanto, *P. (S.) ingens* se mostrou mais relacionada a *R. belforti* que a *P. (P.) pexata*.

No segundo ramo onde estão os sarcófagídeos, também estão agrupadas todas as espécies de *Oxysarcodexia*, o muscídeo *S. nudiseta* e o califorídeo *C. macellaria*. Nota-se, no entanto, que nesta análise a amostra de fêmeas de *O. thornax* do RJ forma um grupo-irmão com

as amostras dos machos de *O. thornax* do AP e MS. Nesta análise, a amostra dos machos de *O. thornax* do RJ forma um grupo-irmão com *O. inflata*.

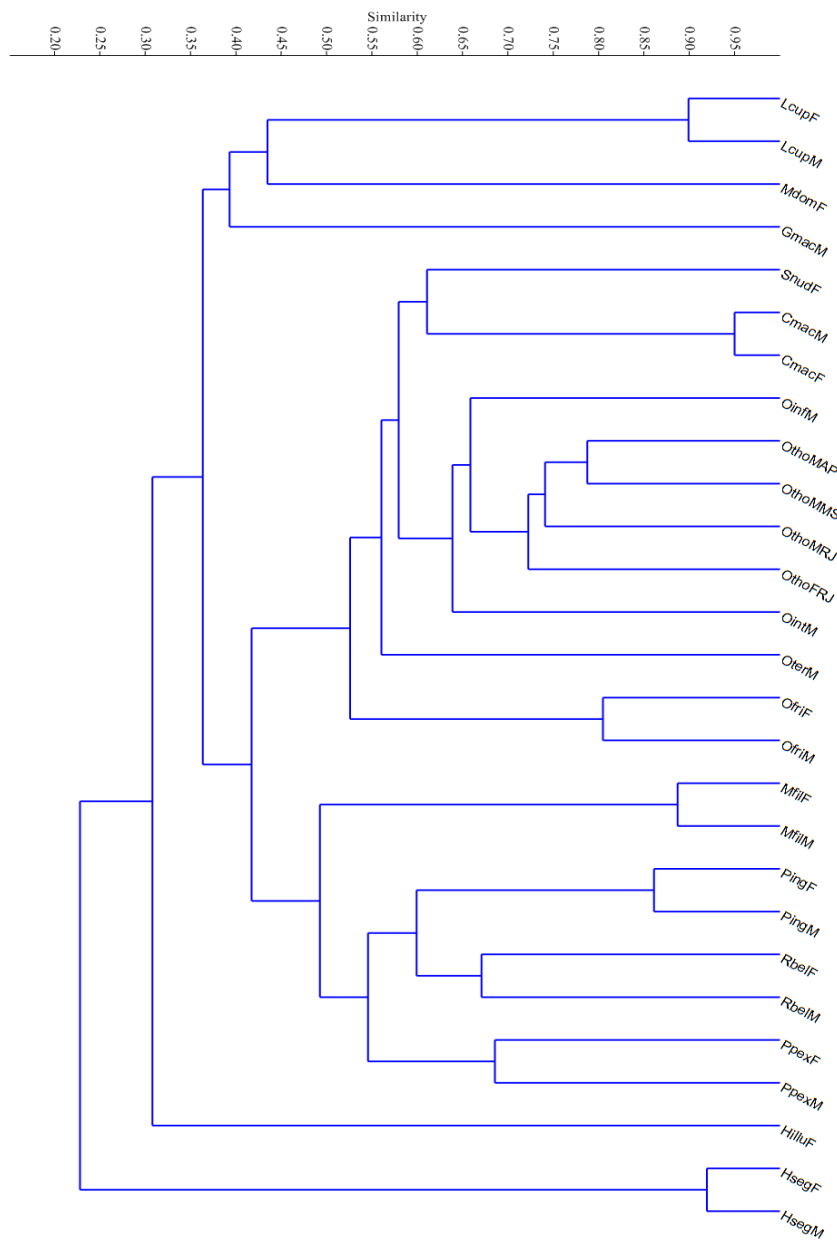


Figura 28 – Dendrograma de similaridade baseado na distância de Bray-Curtis, mostrando as relações de semelhança dos perfis de HCs das espécies das famílias estudadas, incluindo os *n*-alcanos.
Legenda: **HillF**= *Hermetia illucens* fêmea; **SnudF**= *Synthesiomyia nudiseta* fêmea; **CmacM**= *Cochliomyia macellaria* macho; **CmacF**= *Cochliomyia macellaria* fêmea; **OinfM**= *Oxysarcodexia inflata* macho; **OthoMRJ**= *Oxysarcodexia thornax* macho do Rio de Janeiro; **OthoMAP**= *Oxysarcodexia thornax* macho do Amapá; **OthoMMS**= *Oxysarcodexia thornax* macho do Mato Grosso do Sul; **OthoFRJ**= *Oxysarcodexia thornax* fêmea do Rio de Janeiro; **OintM**= *Oxysarcodexia intona* macho; **OterM**= *Oxysarcodexia terminalis* macho; **OfriM**= *Oxysarcodexia fringidea* macho; **OfriF**= *Oxysarcodexia fringidea* fêmea; **MfilM**= *Malacophagomyia filamenta* macho; **MfilF**= *Malacophagomyia filamenta* fêmea; **PingF**= *Peckia (Squamatodes) ingens* fêmea; **PingM**= *Peckia (Squamatodes) ingens* macho; **RbelF**= *Ravinia belforti* fêmea; **RbelM**= *Ravinia belforti* macho; **PpexF**= *Peckia (Peckia) pexata* fêmea; **PpexM**= *Peckia (Peckia) pexata* macho; **GmacF**= *Graphomyia maculata* fêmea; **MdomF**= *Musca domestica* fêmea; **HsegF**= *Hemilucilia segmentaria* fêmea; **HsegM**= *Hemilucilia segmentaria* macho; **LcupF**= *Lucilia cuprina* fêmea; **LcupM**= *Lucilia cuprina* macho.

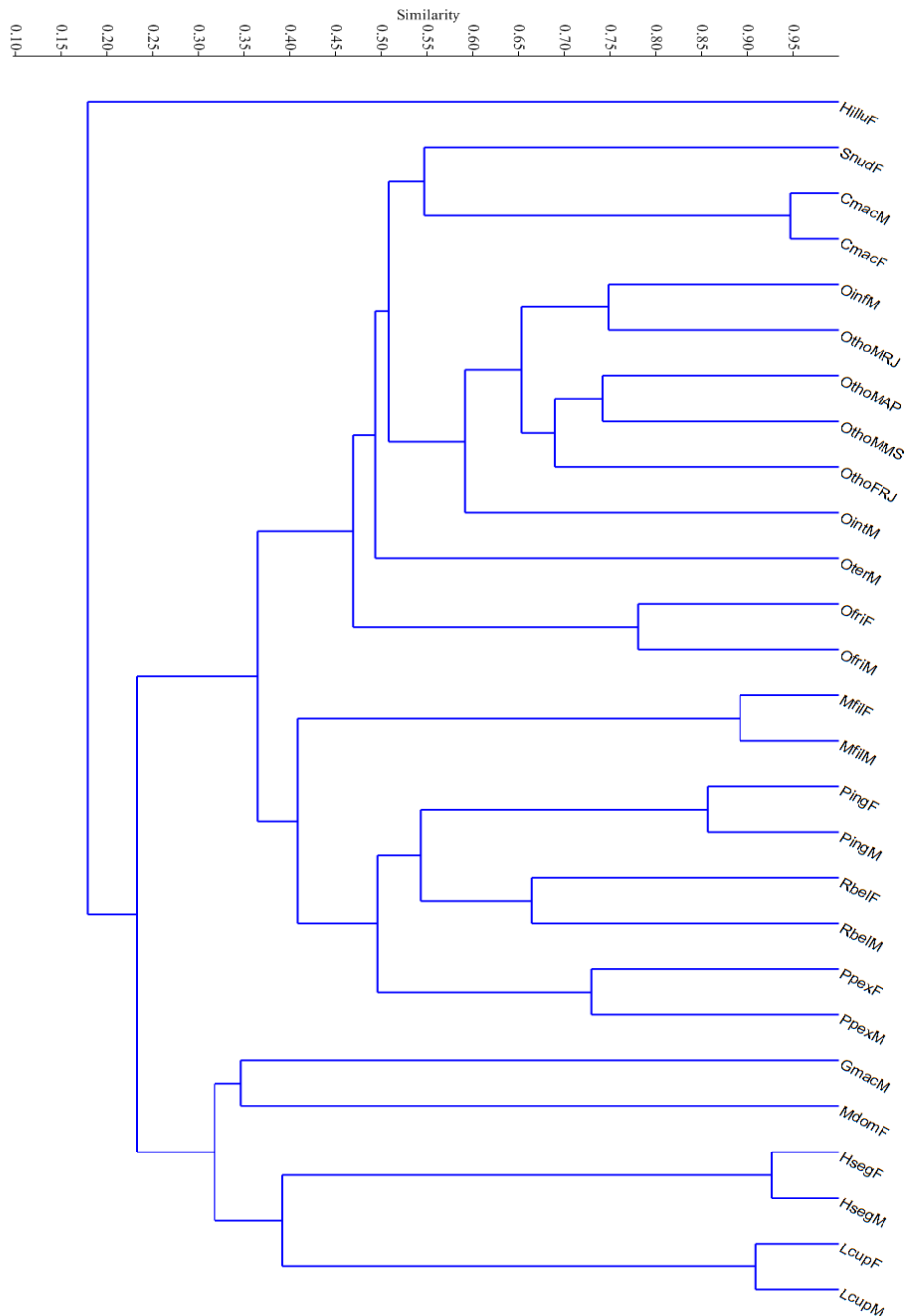


Figura 29 – Dendrograma de similaridade baseado na distância de Bray-Curtis, mostrando as relações de semelhança dos perfis de HCs das espécies das famílias estudadas, excluindo os *n*-alcanos.
Legenda: **HilluF**= *Hermetia illucens* fêmea; **SnudF**= *Synthesiomyia nudiseta* fêmea; **CmacM**= *Cochliomyia macellaria* macho; **CmacF**= *Cochliomyia macellaria* fêmea; **OinfM**= *Oxysarcodexia inflata* macho; **OthoMRJ**= *Oxysarcodexia thornax* macho do Rio de Janeiro; **OthoMAP**= *Oxysarcodexia thornax* macho do Amapá; **OthoMMS**= *Oxysarcodexia thornax* macho do Mato Grosso do Sul; **OthoFRJ**= *Oxysarcodexia thornax* fêmea do Rio de Janeiro; **OintM**= *Oxysarcodexia intona* macho; **OterM**= *Oxysarcodexia terminalis* macho; **OfriM**= *Oxysarcodexia fringidea* macho; **OfriF**= *Oxysarcodexia fringidea* fêmea; **MfilM**= *Malacophagomyia filamenta* macho; **MfilF**= *Malacophagomyia filamenta* fêmea; **PingF**= *Peckia (Squamatodes) ingens* fêmea; **PingM**= *Peckia (Squamatodes) ingens* macho; **RbelF**= *Ravinia belforti* fêmea; **RbelM**= *Ravinia belforti* macho; **PpexF**= *Peckia (Peckia) pexata* fêmea; **PpexM**= *Peckia (Peckia) pexata* macho; **GmacF**= *Graphomyia maculata* fêmea; **MdomF**= *Musca domestica* fêmea; **HsegF**= *Hemilucilia segmentaria* fêmea; **HsegM**= *Hemilucilia segmentaria* macho; **LcupF**= *Lucilia cuprina* fêmea; **LcupM**= *Lucilia cuprina* macho.

6 – DISCUSSÃO

6.1 – Perfil de hidrocarbonetos cuticulares das espécies da família Sarcophagidae

6.1.1 – Número de carbonos na cadeia principal

Os HCs considerados para a quimiotaxonomia, aqueles com mais de 0,5% de abundância, foram representados por compostos entre 22 e 39 carbonos na cadeia principal (CCP). Apenas em *O. intona* foi encontrado HC com 22 CCP, ou seja, os primeiros HCs considerados para quimiotaxonomia têm 22 CCP. No restante das espécies, os primeiros HCs apresentaram 23 *O. fringidea* macho, *O. inflata*, *O. terminalis*, *O. thornax*, *P. (P.) pexata* fêmea e *R. belforti* macho), 25 CCP ((*O. fringidea* fêmea, *P. (S.) ingens* fêmea, *P. (P.) pexata* macho e *R. belforti* fêmea) e 27 CCP (*M. filamenta* e *P. (S.) ingens* macho).

Em adultos de *S. bullata*, Arnold & Regnier (1975) consideraram para quimiotaxonomia HCs a partir de 25 CCP, enquanto que Ye *et al.* (2007) consideraram HCs a partir de 23 CCP para *B. peregrina* e *P. crassipalpis*, e Braga *et al.* (2013a) a partir de 23 CCP para *P. lambens* e 24 CCP para *P. (P.) chrysostoma*, *P. (P.) intermutans* e *S. (L.) ruficornis*. Os dois últimos trabalhos foram realizados apenas com pupários de sarcófagídeos.

Em relação aos compostos com maior número de CCP, as espécies *M. filamenta*, *O. fringidea* e *O. thornax* foram as que apresentaram 39 CCP. As demais espécies apresentaram 37 CCP (*P. pexata*, *O. terminalis*), 35 CCP (*P. ingens*, *O. intona*), 33 CCP (*O. inflata*) e 32 CCP (*R. belforti*). Arnold & Regnier (1975) encontraram 31 CCP em *S. bullata*, Ye *et al.* (2007) 31 CCP em *B. peregrina* e *S. crassipalpis*, e Braga *et al.* (2013a) 33 CCP em *P. (S.) lambens* e 31 CCP em *P. (P.) chrysostoma*, *P. (P.) intermutans* e *S. (L.) ruficornis*.

6.1.2 – Hidrocarbonetos cuticulares considerados para a quimiotaxonomia

Foram identificados 164 compostos entre 22 e 39 CCP. Em ordem decrescente, as espécies com maior número de HCs identificados com abundância relativa acima de 0,5% foram: *O. thornax* macho-MS (48 HCs), *O. terminalis* (47 HCs), *O. intona* e *O. thornax* macho-AP (43 HCs), *O. fringidea* macho e *R. belforti* macho (41 HCs), *M. filamenta* fêmea, *O. fringidea* fêmea e *O. thornax* fêmea-RJ (40 HCs), *M. filamenta* macho (38 HCs), *P. (P.) pexata* macho (37 HCs), *O. thornax* macho-RJ e *O. inflata* (36 HCs), *P. (P.) pexata* fêmea (35 HCs), *R. belforti* fêmea (32 HCs), *P. (S.) ingens* macho (29 HCs) e *P. (S.) ingens* fêmea (26 HCs).

O número de HCs identificados por espécie pode variar, pois sua biossíntese depende de temperatura, umidade, dieta, estado reprodutivo e idade, dentre outros fatores (Hadley, 1977; Martin *et al.*, 2001; Dietemann *et al.*, 2003; Rouault *et al.*, 2004). No entanto, alguns HCs parecem ser espécie-específicos, principalmente aqueles utilizados na comunicação, como os alcenos e os alcanos metil-ramificados (Lommelen *et al.*, 2006). Assim, algumas espécies apresentaram HCs específicos, como *M. filamenta* (15-metiloctacosano, 9-metilnonacosano, 5,13,23-trimetilnonacosano, 8-metiltricosano, 11,15,21-trimetilhentriacontano, 8-metildotriacontano, 15,19-dimetilpentatriacontano, 13,17,23-trimetilpentatriacontano, 15,19-dimetilheptatriacontano, 13,17,23-dimetilheptatriacontano, 17,21,27-trimetiloctatriacontano, 15,19-dimetilnonatriacontano, 13,19,29-trimetilnonatriacontano e 13,17,27-trimetilnonatriacontano).

Dentre todas as espécies analisadas, inclusive de outras famílias, apenas *M. filamenta* apresentou compostos trimetil em seu perfil de HCs. Esta espécie, dentre todas as outras deste estudo, se apresenta como a única a ter comportamento parasitoide (Lopes, 1973; Mulieri & Mello-Patiu, 2013), o que poderia explicar a presença daqueles compostos em sua epicutícula. De qualquer forma, esta espécie foi a que apresentou maior quantidade de HCs específicos (14) dentre as espécies amostradas.

As espécies do gênero *Oxysarcodexia* geralmente estão associadas à decomposição de carcaças e cadáveres humanos (Monteiro-Filho & Penereiro, 1987; Carvalho *et al.*, 2000; Barros *et al.*, 2008; Barbosa *et al.*, 2009), mas seus imaturos são frequentemente coletados em fezes humanas e de animais (Lopes, 1945; Pickens, 1981). Os perfis de HCs das espécies de *Oxysarcodexia* apresentaram semelhanças, mas todas elas mostraram HCs específicos, como mostrado a seguir: *O. fringidea* (4-metiloctacosano, 11,23-dimetilpentatriacontano, 19-; 17- e 15-metilheptatriacontano e 11,27-dimetilnonatriacontano), *O. inflata* (19-metilhexacosano, 6-metilhexacosano e 9,13-dimetilheptacosano), *O. intona* (2-metiltetracosano e 7,11-dimetilhexacosano), *O. terminalis* (9-metilheptacosano, 11,19-dimetilheptacosano, 15,23-dimetilheptacosano, 13,23-dimetilheptatriacontano e 11,21-dimetilheptatriacontano), *O. thornax* (13,17-dimetilnonatriacontano).

O gênero *Oxysarcodexia* apresentou alguns HCs comuns a todas as espécies, são eles (excluindo *n*-alcanos): 7-metilpentacosano, 5-metilpentacosano, 3-metilpentacosano, 13-metilheptacosano, 11-metilheptacosano, 7-metilheptacosano, 3-metilheptacosano, 15-; 13- e 11-metilnonacosano, 3-metilnonacosano, 15- e 13-metilhentriacontano e 15- e 13-

metiltritriacontano). Não se pode afirmar que esses HCs estão presentes em todas as espécies desse gênero, mas estudos suportam a monofilia do grupo com base em caracteres morfológicos e moleculares (Giroux *et al.*, 2010; Stamper *et al.*, 2013).

As espécies do gênero *Peckia* estão agrupadas em cinco subgêneros e são, em sua grande maioria, encontradas na região neotropical (Pape, 1996; Buenaventura & Pape, 2013). As espécies analisadas neste estudo têm hábitos necrófagos e são comumente coletadas em áreas de cerrado (Barros *et al.*, 2008; Rosa *et al.*, 2011; Mello-Patiu *et al.*, 2014). Os HCs específicos para cada espécie foram: *P. (S.) ingens* (9,15-dimetilheptacosano, 11,17-dimetilheptacosano, 5,11-dimetilheptacosano, 11,17-dimetilhentriacontano e 13,19-dimetilhentriacontano) e *P. (S.) pexata* (5-metiltricosano, 10-metiloctacosano, 4-metiltricosano, 19-metildotriacontano, 4-metildotriacontano, 3-metiltritriacontano, 12-metiltetracontano e 17,23-dimetilpentatriacontano).

Segundo Pape (1996), Giroux *et al.* (2010) e Stamper *et al.* (2013), o gênero *Ravinia* forma um grupo monofilético com *Oxysarcodexia*, e suas espécies também estão associadas a decomposição de fezes. A única espécie deste gênero analisada foi *R. belforti* e seus HCs específicos foram 9,17-dimetilheptacosano, 3-metiloctacosano, 23-metiltricosano, 15,23-dimetiltricosano, 13,21-dimetiltricosano, 13,27-dimetiltricosano, 7,13-dimetilhentriacontano, 23-metildotriacontano e 15,23-dimetildotriacontano.

Os alcenos não foram específicos para nenhuma espécie de sarcófago, e em poucos casos apresentou esta classe de HC em abundância. Os alcenos foram abundantes em *M. filamenta* (nonacosano: 4,90% nas fêmeas e 4,89% nos machos) *O. terminalis* (heptacosano: 4,43% e hentriacontano: 3,35%). Nas outras espécies que apresentaram alcenos as abundâncias não ultrapassaram 1%. Segundo Blomquist *et al.* (1987) e Jallon & Wicker-Thomas (2003) alguns Diptera usam alcenos e alcadienos como feromônios, como (Z, Z)-7,11-heptacosadieno em *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830. Para Blomquist (2010), as posições das duplas ligações podem variar consideravelmente, sendo mais comuns aqueles na posição nove (carbono nove).

Ainda não é possível estabelecer se os HCs considerados específicos para as espécies analisadas são de fato espécie-específicos. Não há nenhum estudo realizado com a fauna neotropical de sarcófagos, com exceção de Braga *et al.* (2013a), que não analisaram adultos, mas pupário de três espécies de *Peckia* e uma de *Sarcophaga*. Assim, mais estudos com

espécies da família Sarcophagidae precisam ser realizados para a correta comparação com as espécies aqui amostradas.

6.1.3 – Comparação dos perfis de hidrocarbonetos cuticulares entre machos e fêmeas

Machos e fêmeas de *M. filamenta* foram os mais similares em seus perfis de HCs. Ao todo, 42 compostos foram identificados: 40 nas fêmeas e 38 nos machos. Os HCs 13,19-dimetilnonacosano (3,00%), 12-metiltricosano (0,54%), 13,17,23-trimetilpentatriacontano (0,54%) e 17,21,27-trimetiloctatriacontano (0,66%) foram exclusivos das fêmeas, enquanto que 11,17-dimetilnonacosano (1,68%) e 5,13-dimetilnonacosano (1,63%) foram exclusivos dos machos.

Em *O. fringidea* os perfis de machos e fêmeas também foram similares, sendo identificados 47 compostos (40 para as fêmeas e 41 para os machos). Os HCs 4-metilhexacosano (1,67%), 11-metiloctacosano (1,86%), 5-metilhentriacontano (0,83%), mistura de 16-; 14- e 12-metildotriacontano (0,63%) e 11,15-dimetiltritriacontano (0,71%) foram exclusivos das fêmeas e tricosano (0,59%), pentacosano (0,71%), heptacosano (0,95%), mistura de 14- e 12-metiloctacosano (1,49%), mistura de 13- e 11-metiloctacosano (1,72%) e 4-metiloctacosano (1,17%) foram exclusivos dos machos.

Em machos e fêmeas de *O. thornax* oriundos do Rio de Janeiro foi identificado um total de 49 compostos, sendo 40 nas fêmeas e 36 nos machos. Os HCs exclusivos das fêmeas foram 3-metiltricosano (1,64%), 7-metilnonacosano (0,68%), 5-metilnonacosano (0,66%), mistura de 19- e 17-metiltriacontano (1,69%), mistura de 15- e 14-metiltricosano (0,53%), 11,15-dimetilhentriacontano (0,55%), 3-metilhentriacontano (0,92%), 11,17-dimetilpentatriacontano (0,75%) e 13,17-dimetilheptatriacontano (1,18%).

Em *P. (S.) ingens* foi identificado um total de 31 compostos: 26 nas fêmeas e 29 nos machos. Apenas nas fêmeas foram identificados a mistura de 13- e 11-metilpentacosano (0,66%) e 11,21-dimetiltritriacontano (0,71%), enquanto que apenas nos machos mistura de 9,15 e 11,17-dimetilheptacosano (0,58%), mistura de 5,9-; 5,11- e 5,13-dimetilheptacosano (0,55%), 7-metilnonacosano (1,26%), tricosano (0,50%) e mistura de 11-17-; 13,17- e 13,19-dimetilhentriacontano (1,29%) foram identificados.

Machos e fêmeas de *P. (P.) pexata* foram dissimilares em relação aos seus perfis, sendo identificados 47 compostos no total (35 nas fêmeas e 37 nos machos). Os exclusivos das fêmeas foram tricosano (0,66%), 5-metiltricosano (0,51%), 7-metilpentacosano (1,07%), 5-metilpentacosano (0,70%), 3-metilpentacosano (0,61%), 7-metilheptacosano (0,55%), 5,9-dimetilheptacosano (0,84%) e 7,11-dimetilhentriacontano, enquanto que dos machos foram tricosano (0,91%), mistura de 19- e 17-metiltricosano (1,84%), 9,13-dimetilhentriacontano (0,62%), 12-metildotriacontano (0,79%), 4-metildotriacontano (0,86%), tritriacontano (0,72%), 3-metiltritriacontano (1,62%), 12-metiltetratriacontano (0,75%), 17,23-dimetilpentatriacontano (1,19%) e 13-metilheptatriacontano (0,59%).

Finalmente, fêmeas e machos de *R. belforti* foram os mais dissimilares entre as espécies analisadas. Um total de 47 compostos foram identificados, sendo 32 nas fêmeas e 41 nos machos. Os HCs exclusivos das fêmeas foram 11,15-dimetilheptacosano (0,88%), 13,27-dimetiltricosano (1,11%), mistura de 7,11- e 7,13-dimetilhentriacontano (1,90%) e 2-metildotriacontano. Os HCs exclusivos dos machos foram tricosano (0,64%), 11-metiltricosano (0,51%), tetracosano (0,55%), pentacosano (1,57%), 3-metilpentacosano (0,91%) e hexacosano (0,68%).

O papel dos HCs como feromônios de contato e capaz de induzir o comportamento de corte tem sido descrito num certo número de espécies de insetos não sociais, como em Coleoptera, Diptera e alguns Hymenoptera (Bagnères & Wicker-Thomas, 2010). Diferenças qualitativas e/ou quantitativas nos perfis de HCs têm mostrado estar envolvidas em reconhecimento do sexo. Por exemplo, um ou mais hidrocarbonetos podem ser específicos de um sexo, tais como 3-metilpentacosano e 9-metilpentacosano que estão presentes apenas nas fêmeas de *Xylotrechus colonus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera, Cerambycidae) (Ginzel *et al.*, 2003). Por outro lado, as diferenças sexuais nos padrões de HCs podem ser devido a diferentes proporções de compostos compartilhados entre os sexos, o que implica numa maior capacidade de reconhecimento. Um exemplo disso ocorre em *Musca autumnalis* De Geer, 1776, onde os HCs (Z)-14-nonacoseno, (Z)-13-nonacoseno e (Z)-13-heptacosano ocorrem predominantemente nas fêmeas e em menor quantidade nos machos (Uebel *et al.*, 1975).

Jackson *et al.* (1981), em primeira análise, relataram que não havia nenhuma diferença qualitativa entre os HCs de machos e fêmeas de *D. melanogaster*. No entanto, com o decorrer do experimento, perceberam que de fato existia um dimorfismo sexual, mas era mascarado devido às técnicas de criação, pois em populações selvagens o dimorfismo era pronunciado. Já

Bartelt *et al.* (1986) perceberam que machos e fêmeas das espécies do complexo *Drosophila virilis* Sturtevant, 1916 eram idênticos quando recém-emergidos, mas tornavam-se diferentes à medida que machos e fêmeas amadureciam.

A semelhança de composições de hidrocarbonetos cuticulares entre machos e fêmeas recém-emergidos também ocorreu em *C. bezziana* e *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Pominis, 1989; Brown *et al.*, 1991). Tralalon *et al.* (1992) identificaram mudanças na composição dos HCs a partir de 3 a 120 horas após a emergência em ambos os sexos de *C vomitoria*. Os alcenos foram detectados apenas nas fêmeas e os machos foram caracterizados pela presença de di- e monometilalcanos com 23, 24 e 26 carbonos na cadeia linear, além de terem menos hidrocarbonetos (40 contra 49 nas fêmeas). Carlson *et al.* (2001) analisaram os perfis de HCs de machos e fêmeas do muscídeo *H. aenescens* e também concluíram que o dimorfismo se torna mais pronunciado com a idade. Ao emergirem essa diferença praticamente não é notada, mas a partir de 4 a 8 dias de idade quatro alcenos começam a ser observados em maior quantidade no sexo masculino, evidenciando o dimorfismo.

Em um estudo com a mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830), Vaníčková *et al.* (2012) identificaram que machos e fêmeas virgens diferiram quantitativamente e qualitativamente em seus perfis de HCs. Em machos maduros (com mais de 5 dias de idade), foi identificado um conjunto de 7 alcenos que estão ausentes nas fêmeas e nos machos imaturos. Em contraste, não foi possível detectar HCs específicos nas fêmeas. Como visto, as diferenças dos perfis de de HCs entre machos e fêmeas são, muitas vezes, dependentes da idade e até mesmo pela distância entre eles. No presente estudo, todos os espécimes foram coletados no campo e portanto, não foi possível a determinação da idade.

6.1.4 – Comparação dos perfis de hidrocarbonetos cuticulares entre machos de *Oxysarcodexia thornax* de três diferentes localidades

Embora exista a tendência de os perfis de HCs serem espécie-específicos, as populações geográficas podem sofrer mudanças qualitativas e/ou quantitativa em suas composições dependendo, dentre outros fatores, das condições a que são submetidas (Howard, 1993; & Howard & Blomquist, 2005). Os resultados aqui obtidos seguem este princípio, pois os perfis de HCs de *O. thornax* não apresentaram diferenças significativas entre as amostras. No entanto, a quantidade de compostos identificados com mais de 0,5% de abundância não foi igual.

As amostras de Macapá-AP e Terenos-MS foram mais similares, fato que pode ser explicado pelas condições ambientais semelhantes de seus ambientes. Fatores ambientais interferem na quantidade dos HCs, mas raramente na composição deles, um exemplo disso é uma maior produção de alcanos em climas quentes e secos e menor em climas úmidos (Wagner *et al.*, 2001). Nossos resultados não corroboram esta observação, pois alguns *n*-alcanos foram mais abundantes nas amostras do Rio de Janeiro e menos nas de Terenos, que fica em região de cerrado *stricto sensu* e que possui longos períodos quentes e secos.

Alguns HCs ocorreram com abundância considerável em uma amostra, mas não ocorreram ou tinham abundância menor que 0,5% em outra. Exemplificando, na população de Macapá-AP, 2,05% dos HCs é de 10-metilhexacosano, que está ausente ou com menos de 0,5% na população de Tereno-MS. Em contraste, a população de Terenos-MS possui 1,92% de 11-metilhexacosano, mas não foi detectado na população de Macapá-AP. Complementando, a população do Rio de Janeiro possui ambos os HCs acima mencionados com abundância média de 2,10%. Outros exemplos se referem ao HC 5,17-dimetilheptacosano (1,01%), identificado somente na população de Macapá-AP, 5,9-dimetilheptacosano (0,76%) presente apenas nas amostras de Terenos-MS e um dimetil não identificado (5,y-dimetilheptacosano – 0,67%) identificado apenas na população do Rio de Janeiro.

Em *D. melanogaster*, machos apresentam variação geográfica nos HCs tricoseno e pentacoseno, que aumentam e diminuem, respectivamente, nas populações próximas ao equador (Ferveur & Jallon, 1996). O mesmo resultado foi observado por Rouault *et al.* (2004) com *Drosophila simulans* Sturtevant, 1919. Para se estabelecer se o mesmo ocorre com algum HC em *O. thornax*, mais populações precisam ser verificadas com a inclusão das fêmeas nas análises.

Os HCs de adultos de *Schistocerca gossypi* (Thomas, 1873) de seis localidades diferentes no sudoeste dos Estados Unidos foram analisados por Chapman *et al.* (1995), que observaram que todas as populações tinham os mesmos HCs, mas com abundâncias relativas variadas entre as populações. Segundo os autores, o tipo de alimento teve efeitos mínimos sobre as abundâncias relativas dos compostos e os indivíduos das diferentes populações retiveram as suas identidades, mesmo quando criados em conjunto no laboratório. Observaram, ainda, que os HCs de uma população que vive em uma área com altas temperaturas no verão tiveram maiores proporções de *n*-alcanos que os das demais populações, o que pode significar uma relação direta com o clima.

As diferenças nos perfis de HCs das populações de *O. thornax* podem ter sido influenciadas também pela dieta e, de acordo com Lopes (1945) e Mendes & Linhares (2002) esta espécie tem preferência por fezes. Em Terenos, o local de coleta dos espécimes ocorreu em uma fazenda de gado de corte, o que pode significar que a dieta desses indivíduos se baseava principalmente em fezes bovina, enquanto que em Macapá e no Rio de Janeiro não se sabe ao certo as fezes de quais animais (além de outros substratos) serviam como dieta para eles.

Espelie *et al.* (1994) salientam que a produção de certos HCs pode ser influenciada pelo tipo de dieta, pois ao analisarem os perfis de HCs de dois grupos de uma mesma população de *Schistocerca americana* (Drury, 1773), mas alimentados com diferentes substratos (alface e trigo), perceberam que houve diferenças entre esses grupos na produção de *n*-alcanos. Outros estudos também relataram os efeitos de diferentes alimentos nos perfis de HCs de insetos. Espelie & Bernays (1989) observaram baixas percentagens de alcanos em larvas de *Manduca sexta* (Linnaeus, 1763) criadas em tabaco quando comparadas às criadas com batata ou tomate.

Blomquist (2010) ressalta que até o momento ainda não é possível estabelecer com exatidão a relação de cada uma das diversas variáveis que podem estar associadas à flutuação das abundâncias relativas do HCs no insetos. Da mesma forma, ainda não se pode afirmar com exatidão quais classes de HCs (*n*-alcanos, alcanos metil-ramificados e alcenos) são influenciados por quais variáveis. Assim, apesar de os perfis de HCs parecerem ser espécie-específicos, mais estudos sobre a influência daquelas variáveis precisam ser realizadas, assim como em relação ao seu local de síntese.

Apesar das incertezas sobre o quanto e como uma variável influencia na produção dos HCs, é notório que existe uma assinatura química que é evidenciada pela grande semelhança entre os cromatogramas gerados para cada população de *O. thornax* (figura 20) quando comparados àqueles gerados para as outras espécies analisadas neste estudo.

6.2 – Perfil de hidrocarbonetos cuticulares das espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae e Stratiomyidae

6.2.1 – Família Calliphoridae

Os HCs têm sido utilizados para estimar a idade e identificar larvas de algumas espécies de califorídeos (Zhu *et al.*, 2006; Roux *et al.*, 2008; Moore *et al.*, 2013), bem como identificar

pupários (Ye *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2007), no entanto há pouco conhecimento sobre outras espécies de importância forense e de adultos. Os HCs dos califórídeos variaram entre 23 e 37 CCP, sendo fêmeas e machos de *H. segmentaria* contêm, respectivamente, 42 e 38 compostos identificados com mais de 0,5% de abundância. Em fêmeas e machos de *C. macellaria* foram identificados 35 e 34 compostos, respectivamente, e em *L. cuprina* 32 e 29.

Em *C. macellaria*, os HCs de fêmeas e machos tiveram entre 23 e 31 CCP, os mais abundantes e com abundâncias relativas muito semelhantes foram os mesmos, não sendo observado, portanto, dimorfismo sexual. Além disso, apenas um HC (um isômero de heptacoseno) foi identificado na fêmea e não no macho. Um estudo realizado por Pechal *et al.* (2014) com *C. macellaria* oriundas do México identificaram de 37 compostos variando de 23 a 33 CCP, detectados nos adultos com idades compreendidas entre 1 e 30 após a emergência. Os HCs identificados em *C. macellaria* por Pechal *et al.* (2014) foram basicamente os mesmos desta tese (com algumas poucas diferenças descritas no próximo parágrafo). Ao todo, foram 28 compostos em comum entre as duas populações, mas, como esperado, com variações nas abundâncias relativas.

Pechal *et al.* (2014) traçaram o perfil de HCs de *C. macellaria* com um, cinco, dez, 20 e 30 dias, tendo observado diferenças entre as idades tanto na composição como nas abundâncias relativas. Mesmo não sabendo a idade dos espécimes utilizados nesta tese, observa-se que alguns HCs não foram encontrados por Pechal *et al.* (2014) e vice-versa, como mostrados a seguir: 5,15-dimetilpentacosano, 3,x-dimetilheptacosano, 2-metilhexacosano, 9,13-dimetilheptacosano, 5,x-dimetilheptacosano, 3,x-dimetilheptacosano e x,y-dimetilheptacosano somente foram identificados por Pechal *et al.* (2014). Por outro lado, 11,15-dimetilheptacosano, 5,9-dimetilheptacosano e 11,15-dimetilnonacosano foram identificados apenas nesta tese. É importante ressaltar que em ambos os estudos apenas os HCs com mais de 0,5% de abundância foram considerados, o que pode significar que traços dos compostos não observados podem estar presentes em ambos.

Com relação a *L. cuprina*, os HCs de fêmeas e machos tiveram entre 24 e 35 CCP, e tanto nas fêmeas quanto nos machos os HCs mais abundantes foram alcenos (hentriaconteno e dois isômeros de nonacoseno). Goodrich (1970) realizou um estudo com adultos de *L. cuprina* oriundos da Alemanha, mas não identificou seus HCs, fornecendo apenas o número de carbonos dos compostos detectados (de 23 a 33 CCP). Moore *et al.* (2013; 2014) identificaram HCs de larvas de *Lucilia sericata* e também encontraram grande quantidade de alcenos, mas, no geral,

os HCs não foram os mesmo de *L. cuprina*, pois além de não pertencerem à mesma espécie, são de regiões geográficas distintas e de estágios de vida diferentes. Adicionalmente, a presença de grande quantidade dessa combinação de alcenos (hentriaconteno + dois isômeros de nonacoseno) alceno pode representar uma característica do gênero *Lucilia*.

Com relação à espécie *H. segmentaria*, seus perfis de HCs foram bastante semelhantes, mas diferentes de todas as outras espécies deste estudo, pois o composto mais abundante, tanto na fêmea como no macho foi um HC com 23 CCP (2-metiltriacontano). O restante das espécies obtiveram HCs mais abundantes com 25 CCP. Uma inferência pode ser feita a respeito deste perfil, pois esta é a única das espécies que foi coletada em uma área de mata preservada (Floresta da Tijuca), enquanto todas as outras ou foram coletadas em ambiente urbano ou em áreas de cerrado. Uma outra característica não compartilhada com outras espécies é um dieno (pentatriacontadieno) entre os cinco HCs mais abundantes.

6.2.2 – Famílias Muscidae e Stratiomyidae

O número de CCP nos muscídeos variou entre 22 e 35 CCP, com *G. maculata* apresentando 35 compostos acima de 0,5% de abundância, *M. domestica* com 30 e *S. nudiseta* com 39. Nelson *et. al.* (1981) descreveram o perfil de HCs de *M. domestica* que não se mostrou semelhante às amostras aqui analisadas. Os autores identificaram monometis nas posições 2-, 3- e 4- e dimetilalcanos com ramificações nas posições 3,x e 4,x. No presente estudo não foi identificado nenhum metilalcano na posição 4 ou dimetilalcano com aquela conformação. Em comum entre as observações, apenas uma série de *n*-alcanos de 23 a 33 carbonos. Talvez estas diferenças entre nosso estudo e aquele de Nelson e colaboradores seja devido ao uso de equipamento mais rudimentar em 1981 que utilizava coluna de vidro para a separação dos compostos e era muito menos sensível.

M. domestica apresentou apenas um dimetilalcano (13,17-dimetilheptacosano) e com abundância muito baixa (0,58%), enquanto que *G. maculata* e *S. nudiseta* mostraram maior variedade de dimetilalcanos e em grande abundância. Não se sabe ao certo a função desses compostos em Diptera, mas sabe-se que *M. domestica*, novos compostos aparecem na epicutícula na fase de maturação da fêmea, período em que o nível de 9-tricoseno aumenta e que diminui o de 9-heptacoseno (Mpuru *et al.*, 2001). Talvez pela idade das fêmeas analisadas, não tenha sido possível detectar esses compostos, no entanto, esta espécie foi a única a

apresentar esqualeno (C30:6), um alceno com seis duplas ligações encontrados na maioria dos vertebrados e não produzido por insetos (Blomquist, comunicação pessoal). A presença desse composto em sua epicutícula pode ser ocorrer devido à fonte alimentar de origem animal.

Os HCs mais abundantes de *G. maculata* ocorrem com HCs com mais de 29 CCP, enquanto que em *M. domestica* e *S. nudiseta* ocorre o contrário, ou seja, percebe-se um decréscimo da abundância relativa a partir do nonacosano. Em contraste, *S. nudiseta* é a que possui mais HCs com entre 22 e 25 CCP e o único muscídeo a apresentar docosano em abundância (> 0,5%). Em *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758), Urech *et al.* (2005) encontraram HCs com 21 CCP em machos e fêmeas com mais de 13 dias de idade, a partir de 25 CCP em machos e fêmeas recém-emergidos. O fato de *S. nudiseta* apresentar mais compostos com cadeias menores, pode estar relacionado à idade dos espécimes analisados.

Com relação à espécie *H. illucens*, um padrão pôde ser notado em seu perfil: a ausência de metilalcanos nas posições 2-, 3-, e 5- (4-metilhexacosano ocorreu em baixa abundância relativa (0,61%)). Seus HCs foram representados principalmente por metilalcanos nas posições 11- e 13-, e também por dimetilalcanos com ramificações nas posições 11,15-. Como *H. illucens* pertence a um grupo basal de Diptera Brachycera, pode-se inferir que a ausência desses metilalcanos sejam uma condição primitiva de Brachycera, mas são necessários mais estudos com outras espécies basais.

6.3 Similaridade dos perfis de Hidrocarbonetos Cuticulares entre espécies das famílias Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae e Stratiomyidae

Para uma visão geral da similaridade entre os perfis de HCs das espécies analisadas, foram realizadas duas análises de cluster (com e sem *n*-alcanos). Estas análises não inferem filogenias, mas tendem a agrupar espécies ou outros táxons mais abrangentes e filogeneticamente mais próximos. Ainda não há meios de se inferir com segurança filogenias baseadas em HCs (Kather & Martin, 2012), pois, em primeiro lugar, é necessário reconhecer os compostos simplesiomórficos aos grupos mais abrangentes e os sinapomórficos em nível de abrangência decrescente. Após o estabelecimento desses caracteres será possível polarizá-los e, assim, testar a monofilia de grupos.

Com a inclusão dos *n*-alcanos, é possível observar que as espécies de Calliphoridae não formam ramos em comum, o que discretamente ocorre com Muscidae. Os Sarcophagidae, em

contraste, parecem seguir algum padrão de produção de HCs, pois dois grandes ramos suportam todos eles. Um contém todas as espécies de *Oxysarcodexia* e outro *Malacophagomyia*, *Peckia* e *Ravinia*. No grupo com todas as *Oxysarcodexia* também estão espécies de Calliphoridae e Muscidae (*C. macellaria* e *S. nudiseta*) que formam um ramo único. No outro grupo de sarcófagídeos, as espécies de *Peckia* não formam um ramo único, mas contém apenas sarcófagídeos. Neste dendrograma, *H. segmentaria* foi a espécie mais dissimilar, quando o esperado seria *H. illucens*.

Ao se excluir os *n*-alcanos, a análise se torna mais coerente pois já existe a formação de um ramo com duas espécies de Calliphoridae e um com duas espécies de Muscidae. Além disto, o que era previsto ocorreu, pois *H. illucens* se apresentou muito dissimilar em relação aos dípteros caliptrados. Apesar de se mostrar mais coerente e agrupar espécies de uma mesma família, o arranjo deste dendrograma não corrobora filogenias morfológicas e moleculares.

Exemplificando, as filogenias propostas por McAlpine (1989) e Nirmala *et al.* (2001), baseadas em dados morfológicos e moleculares, respectivamente, reconhecem as superfamílias Oestroidea, que agrupa, dentre outras famílias, Sarcophagidae e Calliphoridae, e Muscoidea, que agrupa Muscidae e outras. Ambas as análises com HCs não corroboraram os estudos filogenéticos, no entanto, como mencionado acima, com a exclusão dos *n*-alcanos, a análise se mostrou mais coerente.

Pode-se também observar que os machos e fêmeas de *C. macellaria* são os mais semelhantes, quando comparado às outras espécies. Na segunda análise, nota-se a formação de um ramo contendo *C. macellaria* e *L. cuprina*, mas de acordo com um estudo filogenético baseado em marcadores moleculares (Marinho *et al.* 2012), espécies dos gêneros *Hemilucilia* e *Cochliomyia* formam um grupo monofilético, sendo, portanto, mais relacionados.

Ravinia belforti não foi agrupada junto a *Oxysarcodexia*, o que contraria Giroux *et al.* (2010) que afirmam que os gêneros *Oxysarcodexia* e *Ravinia* formam um grupo monofilético. Da mesma forma ocorreu com as duas espécies de *Peckia* que, segundo Buenaventura & Pape (2013), formam um grupo monofilético, mas aqui se agrupam com *R. belforti*. Na análise com os *n*-alcanos pode-se observar que as populações de *O. thornax* formaram um ramo com os machos de Terenos e Macapá, que formam um ramo com os machos do Rio de Janeiro e posteriormente com as fêmeas. Com a exclusão dos *n*-alcanos a análise agrupa a amostra das fêmeas do Rio de Janeiro com *O. inflata*.

Desta forma, como sugerido por Martin *et al.* (2008), a exclusão dos *n*-alcanos das análises aumentou o grau de similaridade entre esses resultados e as filogenias morfológicas e moleculares, principalmente pela posição mais externa de *H. illucens* e pelo agrupamento de espécies de Calliphoridae e Muscidae no dendrograma gerado.

7 – CONCLUSÃO

- A quimiotaxonomia baseada em HCs se mostrou uma ferramenta muito útil à separação das espécies, sendo possível visualizar através dos cromatogramas a existência de um padrão cromatográfico ou assinatura química para cada espécie;
- *n*-alcanos, alcanos metil-ramificados e alcenos (monoenos e dienos) são os HCs que compõem a epicutícula das espécies analisadas;
- *n*-alcanos e alcanos metil-ramificados são HCs os mais abundantes;
- Os HCs com menos de 23 e mais de 37 carbonos na cadeia principal são menos abundantes;
- Heptacosano, nonacosano e 13-metilhentriacontano são os HCs comuns entre todas as espécies analisadas, estando sempre associados a altos percentuais de abundância;
- Os *n*-alcanos com números ímpares na cadeia principal são mais frequentes e mais abundantes que os pares;
- Alcenos parecem ser mais comuns a califorídeos e muscídeos que a sarcófagídeos;
- *Musca domestica* possui apenas um dimetilalcano;
- *Ravinia belforti* foi a espécie que apresentou maior dimorfismo sexual, enquanto que *Cochliomyia macellaria* o menor;
- *Malacophagomyia filamenta* foi a única dentre as espécies analisadas a apresentar trimetil na epicutícula;
- As populações de *O. thornax* têm o mesmo padrão cromatográfico e não diferem significativamente nas abundâncias relativas dos HCs
- *Hermetia illucens* não apresenta alcanos metil-ramificados nas posições 2, 3, e 5 e na posição 4 sua abundância é pouco representativa (4-metilhexacosano: 0,61%)
- Não há HCs exclusivos às famílias;
- Todas as espécies apresentaram um ou mais HCs exclusivos;
- A exclusão dos *n*-alcanos da análise de cluster parece ser útil em futuras inferências filogenéticas utilizando HCs.

8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo revelou que a quimiotaxonomia baseada em HCs é uma excelente ferramenta taxonômica para ser utilizada a serviço da entomologia forense. Seu uso em adultos serviu de base para confirmar a validade da técnica e visualizar a biodiversidade em termos bioquímicos. Sem dúvida, sua utilização será de maior valia quando aplicada a imaturos, que já está sendo realizada pela Dra. Marina Vianna Braga com Calliphoridae e Sarcophagidae e futuramente será utilizada em Muscidae. O cálculo da idade das larvas, bem como a identificação de pupários de espécies de importância forense já é realidade em outros países e se torna também objetivo do laboratório no qual desenvolvi minha tese.

Por fim, sua utilização não se restringe aos insetos de importância forense e pode ser utilizada em insetos de importância agrícola e médica, principalmente naqueles grupos com complexos de espécies ainda não resolvidos pela taxonomia morfológica ou molecular.

9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKINO, T. Cuticular hydrocarbons of *Formica truncorum* (Hymenoptera: Formicidae): Description of new very long chained hydrocarbon components. *Applied Entomology and Zoology*, v. 41, p. 667–677, 2006.
- ARMOLD, M. T.; REGNIER, F. E. A developmental study of the cuticular hydrocarbons of *Sarcophaga bullata*. *Journal of Insect Physiology*, v. 21, p. 1827-1833, 1975.
- BAKER, G.; PEPPER, J. H.; JOHNSON, L. H.; HASTINGS, E. Estimation of the composition of the cuticular wax of the Mormon cricket, *Anabrus simplex* Hald. *Journal of Insect Physiology*, v. 5, p. 47-60, 1960.
- BAKER, G. L.; VROMAN, H. E.; PADMORE, J. Hydrocarbons of the American cockroach. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 13, p. 360–365, 1963.
- BAGNÈRES, A. G.; BLOMQUIST, G. J. Site of synthesis, mechanism of transport and selective deposition of hydrocarbons. In: BLOMQUIST, G., J.; BAGNÈRES, A. G. (Org.) *Insect hydrocarbons: biology, chemistry and chemical ecology*, Cambridge University Press, 2010. p. 75–99.
- BAGNÈRES, A. G.; WICKER-THOMAS, C. Chemical taxonomy with hydrocarbons. In: BLOMQUIST, G., J.; BAGNÈRES, A. G. (Org.) *Insect hydrocarbons: biology, chemistry and chemical ecology*, Cambridge University Press, 2010. p. 121-162.
- BARBOSA, R.R; MELLO, R.P.; MELLO-PATIU, C.A.; QUEIROZ, M.M.C. New records of calyprate dipterans (Fanniidae, Muscidae, Sarcophagidae) associated with the decomposition of domestic pigs in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, p. 923-926, 2009.
- BARBOSA, R.R; MELLO-PATIU, C.A.; URURAHY-RODRIGUES, A.; BARBOSA, C.G.; QUEIROZ, M.M.C. Temporal distribution of ten calyprate dipteran species of medicolegal importance in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, p. 191-198, 2010.
- BARROS, R. M.; MELLO-PATIU, C. A.; PUJOL-LUZ, J. R. Sarcophagidae (Insecta, Diptera) associados à decomposição de carcaças de *Sus scrofa* Linnaeus (Suidae) em área de Cerrado do Distrito Federal, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, p. 606-609, 2008.

- BARTELT, R. J.; ARMOLD, M. T.; SCHANER, A. M.; JACKSON, L. L. Comparative analysis of cuticular hydrocarbons in the *Drosophila virilis* species group. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 83, p. 731-742, 1986.
- BENECKE, M. A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International*, v. 120, p. 2-14, 2001.
- BENECKE, M.; LESSIG, R. Child neglect and forensic entomology. *Forensic Science International*, v. 120, p. 155-159, 2001.
- BLOMQUIST, G. J. Structure and analysis of insect hydrocarbons. In: BLOMQUIST, G., J.; BAGNÈRES, A. G. (Org.) *Insect hydrocarbons: biology, chemistry and chemical ecology*, Cambridge University Press, 2010. p. 121-162.
- BLOMQUIST, G. J.; NELSON, D. R.; RENOBALLES, M. D. Chemistry, biochemistry, and physiology of insect cuticular lipids. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, v. 6, p. 227-265, 1987.
- BRAGA, M. V.; BARBOSA, R. R.; QUEIROZ, M. M. C.; BLOMQUIST, G. J. Novas Práticas em Entomologia Forense – Hidrocarbonetos Cuticulares como Ferramenta para Identificação de Espécies de Insetos. In: OLIVEIRA-COSTA, J (Org.) *Insetos Peritos: A Entomologia Forense no Brasil*, Millenium Editora, 2013b. p. 287-307.
- BRAY, J. R.; CURTIS, J. T. An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, v. 27, p. 325-349, 1957.
- BRAGA, M. V.; PINTO, Z. T.; QUEIROZ, M. M. C.; MATSUMOTO, N.; BLOMQUIST, G. J. Cuticular hydrocarbons as a tool for the identification of insect species: puparial cases from Sarcophagidae. *Acta Tropica*, v. 128, p. 479-485, 2013a.
- BROWN, W. V.; MORTON, R.; SPRADBERRY, J. P. Cuticular hydrocarbons of the Old World screw-worm fly, *Chrysomya bezziana* Villeneuve (Diptera: Calliphoridae). Chemical characterization and quantification by age and sex. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 101, p. 665-671, 1992.
- BROZA, M.; BLONDHEIM, S.; NEVO, E. New species of mole crickets of the *Gryllotalpa gryllotalpa* group (Orthoptera: Gryllotalpidae) from Israel, based on morphology, song recordings, chromosomes and cuticular hydrocarbons, with comments on the distribution of the group in Europe and the Mediterranean region. *Systematic Entomology*, v. 23, p. 125-135, 1998.

- BUENAVENTURA, E.; PAPE, T. Revision of the New World genus *Peckia* Robineau-Desvoidy (Diptera: Sarcophagidae). *Zootaxa*, v. 36, p. 001–087, 2013.
- BUTCHER, J. B.; MOORE, H.E.; DAY, C.R.; ADAM, C. D.; DRIJFHOUT, F.P. Artificial neural network analysis of hydrocarbon profiles for the ageing of *Lucilia sericata* for post mortem interval estimation. *Forensic Science International*, v. 232, p. 25–31, 2013.
- CARLSON, D. A.; BERNIER, U. R.; HOGSETTE, J. A.; SUTTON, B. D. Distinctive Hydrocarbons of the Black Dump Fly, *Hydrotaea aenescens* (Diptera: Muscidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, v. 48, p. 167–178, 2001.
- CARLSON, D. A.; SERVICE, M. W. Differentiation between species of the *Anopheles gambiae* Giles complex (Diptera: Culicidae) by analysis of cuticular hydrocarbons. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v. 73, p. 589–592, 1979.
- CARLSON, D. A.; SERVICE, M. W. Identification of mosquitoes of *Anopheles gambiae* species complex A and B by analysis of cuticular components. *Science*, v. 207, p. 1089–1091, 1980.
- CARLSON, D. A.; SCHLEIN, Y. Unusual polymethyl alkenes in tsetse flies acting as abstinon in *Glossina moristans*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 17, p. 267–284, 1991.
- CARVALHO, C. J. B.; MELLO-PATIU, C. A. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, 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, p. 135-138, 2000.
- CATTS, E. P.; HASKELL, N. H. *Entomology and death: a procedural guide*. Clemson Joyce's Print Shop 1991. 182 p.
- CHAPMAN, R. F.; ESPELIE, K. E.; SWORDS, G. A. Use of Cuticular Lipids in Grasshopper Taxonomy: A Study of Variation in *Schistocerca shoshone* (Thomas). *Biochemistry and Systematic Ecology*, v. 23, p. 383-398, 1995.

CHIBNALL, A. C .; PIPER, S. H .; POLLARD, A.; WILLIAMS, E. F.; SAHAI, P. N. The constitution of the priary alcohols, fatty acids and paraffins present in plant and insect waxes. *Biochemical Journal*, v. 28, p. 2189–2208, 1934.

CHINO, H.; DOWNER, R. G. H.; WYATT, G. R.; GILBERT, L. I. Lipophorins, a major class of lipoproteins of insect haemolymph. *Insect Biochemistry*, v. 11, p. 491, 1981.

CVAČKA, J.; JIROŠ, P.; SOBOTNĚK, J.; HANUS, J.; SVATOŠ, A. Analysis of insect cuticular hydrocarbons using matrix-assisted laser desorption/ionization massspectrometry. *Journal of Chemical Ecology*, v. 32, p. 409–434, 2006.

d'ALMEIDA, J. M. Sinantropia de Sarcophagidae (Diptera) na região metropolitana do Rio de Janeiro. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 7, p. 101-110, 1984.

d'ALMEIDA, J. M. Ovipositional substrates used by calyprate Diptera in Tijuca Forest, Rio de Janeiro, RJ. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, p. 261-264, 1994.

d'ALMEIDA, J. M.; LIMA, S. F. Atratividade de diferentes iscas e suas relações com as fases de desenvolvimento ovariano em Calliphoridae e Sarcophagidae (Diptera). *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 11, p. 177-186, 1994.

d'ALMEIDA, J. M.; ALMEIDA, J. R. Longevidade e Curva de Sobrevivência de Oito Espécies de Dípteros Caliptrados (Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae) em Condições de Laboratório. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 56, p. 497-505, 1996.

DIAS, E. S.; NEVES, D. P.; LOPES, H. S. Estudos sobre a fauna de Sarcophagidae (Diptera) de Belo Horizonte, Minas Gerais - II. variação sazonal. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 79, p. 409-412, 1984.

DIETEMANN, V.; CHRISTIAN, P.; JÜRGEN, L.; VIRGINIE, T.; BERT, H. Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and nonreproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 100, p. 10341–10346, 2003.

DRIJFHOUT, F. P. Cuticular Hydrocarbons: A New tool in Forensic Entomology? In: AMENDT, J. (Org.) *Current Concepts in Forensic Entomology*. Springer Science and Business Media, 2010. p. 220-232.

- EBBS, M. L.; AMREIN, H. Taste and pheromone perception in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *European Journal of Physiology*, v. 454, p. 735-747, 2007.
- ESPELIE, K. E.; BERNAYS, E. A. Diet-related differences in the cuticular lipids of *Manduca sexta* larvae. *Journal of Chemical Ecology*, v. 15, p. 2003–2017, 1989.
- ESPELIE, K.; CHAPMAN, R. F.; SWORD, G. A. Variation in the Surface Lipids of the Grasshopper, *Schistocerca americana* (Drury). *Biochemistry and Systematic Ecology*, v. 22, p. 563-575, 1994.
- ESTRADA-PEÑA, A.; CASTELLÁ, J.; MORENO, J. A. Using cuticular hydrocarbon composition to elucidate phylogenies in tick populations (Acari: Ixodidae). *Acta Tropica* v. 58, p. 51-71, 1994.
- FERVEUR, J. F.; JALLON, J. M. Genetic control of male cuticular hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. *Genetic Research*, v. 67, p. 211–218, 1996.
- FREIRE, O. Algumas notas para o estudo da fauna cadavérica da Bahia. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 46, p. 110–125, 1914a.
- FREIRE, O. Algumas notas para o estudo da fauna cadavérica da Bahia. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 46, p. 149–162, 1914b.
- FREIRE, O. Fauna cadavérica brasileira. *Revista de Medicina*, v. 3-4, p. 15–40, 1923.
- GEBRE-MICHAEL, T.; LANE, R. P.; PHILLIPS, A.; MILLIGAN, P.; MOLYNEUX, D. H. Contrast in the cuticular hydrocarbons of sympatric *Phlebotomus* (*Synphlebotomus*) females (Diptera: Phlebotominae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 84, p. 225-231, 1994.
- GETAHUNA, M. N. B; CECCHIC, G.; SEYOUUMA, E. Population studies of *Glossina pallidipes* in Ethiopia: emphasis on cuticular hydrocarbons and wing morphometric analysis. *Acta Tropica*, v. 138, p. 12-21, 2014.
- GIBBS, A. G. Lipid melting and cuticular permeability: news insights into an old problem. *Journal of Insect Physiology*, v. 48, p. 391-400, 2002.
- GINZEL, M. D.; BLOMQUIST, G. J.; MILLAR, J. G.; HANKS, L. M. Role of contact pheromones in mate recognition in *Xylotrechus colonus*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 29, p. 533–545, 2003.

- GIROUX, M.; PAPE, T.; WHEELER, T. A. Towards a phylogeny of the flesh flies (Diptera:Sarcophagidae): morphology and phylogenetic implications of the acrophallus in the subfamily Sarcophaginae. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 158, p. 740–778, 2010.
- GOFF, M. L.; OMORI, A. I.; GOODBROD, J. R. Effect of cocaine in tissue on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 26, p. 91–93, 1989.
- GOODRICH, B. S. Cuticular lipids of adults and puparia of the Australian sheep blowfly *Lucilia cuprina* (Wied.). *Journal of Lipid Research*, v. 11, p. 1-6, 1970.
- GREENBERG, B. Flies as forensic indicators. *Journal of Medical Entomology*, v. 28, p. 565 – 577, 1991.
- GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. *Myiasis in man and animals in the neotropical region*. NY. Ed. Pléiade, 1999. 308 p.
- HADLEY, N. F. Epicuticular lipids of the desert tenebrionid beetle, *Eleodes armatus*: seasonal and acclimatory effects on chemical composition. *Insect Biochemistry*, v. 7, p. 277-283, 1977.
- HAVERTY, M. I.; GRACE, J. K.; NELSON, L. J.; YAMAMOTO, R. T. Intercaste, intercolony, and temporal variation in cuticular hydrocarbons of *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Chemical Ecology*, v. 22, p. 1813-1834, 1996.
- HAVERTY, M. I.; NELSON, L. J.; PAGE, M. Cuticular hydrocarbons of four populations of *Coptotermes formosanus* Shiraki in the United States. Similarities and Origins of Introductions. *Journal of Chemical Ecology*, v. 16, p. 1635-1647, 1990.
- HEFETZ, A. Hymenopteran Exocrine Secretions as a Tool for Chemosystematic Analysis: Possibilities and Constraints. *Biochemistry and Systematic Ecology*, v. 21, p. 163-169, 1993.
- HEY, J. On the failure of modern species concepts. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 21, p. 447–450, 2006.
- HOWARD, R. W.; AKRE, R. D.; GARNETT, W. B. Chemical mimicry in an obligate predator of carpenter ants (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of Entomological Society of America*, v. 83, p. 607–616, 1990.
- HOWARD, R. W.; BLOMQUIST, G. J. Ecological, behavioural, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annual Review of Entomology*. v. 50, p. 371—393, 2005.

- INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C.P.; GOFF, M. L. Entomotoxicology. *Forensic Science International*, v. 15, p. 42-47, 2001.
- ISHII, K.; HIRAI, Y.; KATAGIRI, C; KIMURA, M. T. Sexual isolation and cuticular hydrocarbons in *Drosophila elegans*. *Heredity*, v. 87, p. 392-399, 2001.
- JACKSON, L. L. Cuticular lipids of insects II. Hydrocarbons of the cockroaches *Periplaneta australasiae*, *Periplaneta brunea* and *Periplaneta fuliginosa*. *Lipids*, v. 5, p. 38-41, 1970.
- JACKSON, L. L.; BAKER, G. L. Cuticular lipids of insects. *Lipids*, v. 5, p. 239-246, 1970.
- JACKSON, L.; ARMOLD M. T.; REGNIER F. E. Cuticular lipids of adult flesh flies, *Sarcophaga bullata*. *Insect Biochemistry*, v. 4, p. 369-379, 1974.
- JACKSON, L. L.; ARMOLD, M. T.; BLOMQUIST, G. J. Surface lipids of *Drosophila melanogaster*: comparison of the lipids from female and male wild type and sex linked yellow mutant. *Insect Biochemistry*, v. 11, p. 87-91, 1981.
- JALLON, J. M.; WICKER-THOMAS, C. Genetic studies on pheromone production in *Drosophila*. In: BLOMQUIST, G. J.; VOGT, R. G. (Org.) *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. The biosynthesis and detection of pheromones and plant volatiles*. London: Elsevier, 2003, p 253-281.
- KAIB, M.; BRANDL, R.; BAGINE, R. K. N. Cuticular hydrocarbon profiles: A valuable tool in termite taxonomy. *Naturwissenschaften*, v. 78, p. 176-179, 1991.
- KATHER, R.; MARTIN, S. J. Cuticular hydrocarbon profiles as a taxonomic tool: advantages, limitations and technical aspects. *Physiological Entomology*, v. 37, p. 25-32, 2012.
- LAVINE, B. K.; DAVIDSON, C.; VANDER MEER, R. K.; LAHAV, S.; SOROKER, V.; HEFETZ, A. Genetic algorithms for deciphering the complex chemosensory code of social insects. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 66, p. 51-62, 2003.
- LEANDRO, M. J. F.; d'ALMEIDA, J. M. Levantamento de Calliphoridae, Muscidae, Fanniidae e Sarcophagidae em um fragmento de mata na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, RJ. *Iheringia*, v. 95, p. 377-381, 2005.
- LEDO, R. M. D.; BARROS, R. M.; PUJOL-LUZ, J. R. Sarcophagidae and Calliphoridae related to *Rhinella schneideri* (Anura, Bufonidae), *Bothrops moojeni* (Reptilia, Serpentes) and

Mabuya frenata (Reptilia, Lacertilia) carcasses in Brasília, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 56, p. 377–380, 2012.

LIANG, D.; SILVERMAN, J. “You are what you eat”: Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*, v. 87, p. 412-416, 2000.

LOCKEY, M. Permeability of insect cuticle to water and lipids. *Science*, v. 147, p. 295–298, 1965.

LOCKEY, K. H. Insect cuticular hydrocarbons. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 65, p. 457-462, 1980.

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

LOMMELEN, E.; JOHNSON, C. A.; DRIJFHOUT, F. P.; BILLEN, J.; WENSELEERS, T.; GOBIN, B. Cuticular hydrocarbons provide reliable cues of fertility in the ant *Gnamptogenys striatula*. *Journal Chemical Ecology*, v. 32, p. 2023-2034, 2006.

LOPES, H. S. Contribuição ao conhecimento das espécies do gênero *Oxysarcodexia* Townsend, 1917. *Boletim da Escola Nacional de Veterinária*, v. 1, p. 62-136, 1945.

LOPES, H. S. Contribuição ao conhecimento das espécies do gênero *Paraphrissopoda* Townsend (Diptera, Sarcophagidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 52, p. 83-87, 1954.

LOPES, H. S. Family Sarcophagidae. In: Papavero, N. (Org), *A catalog of the Diptera of the Americas south of the United States* São Paulo; Departamento de Zoologia, Secretaria da Agricultura, 1969. p. 1-88.

LOPES, H.S. Collecting and rearing Sarcophagidae flies (Diptera) in Brazil during forty years. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 45, p. 279-291, 1973.

LOPES, H. S. On *Eumacronychia sternalis* Allen (Diptera, Sarcophagidae) with larvae living on eggs and hatchlings of the East Pacific Green Turtle. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 42, p. 425-429, 1982.

LUCAS, C.; FRESNEAU, D.; KOLMER, K.; HEINZE, J.; DELABIE, J.H.; PHO, D. B. A multidisciplinary approach to discriminating different taxa in the species complex

Pachycondyla villosa (Formicidae). *Biological Journal of Linnean Society*, v. 75, p. 249-259, 2002.

MARINHO, M. A. T.; JUNQUEIRA, A. C. M.; PAULO, D. F.; ESPOSITO, M. C.; VILLET, M. H.; AZEREDO-ESPIN, A. M. L. Molecular phylogenetics of Oestroidea (Diptera: Calyptratae) with emphasis on Calliphoridae: Insights into the inter-familial relationships and additional evidence for paraphyly among blowflies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 65, p. 840–854, 2012.

MARTIN, C.; SALVY, M.; PROVOST, E.; BAGNERES, A. G.; ROUX, M.; CRAUSER, D.; CLEMENT, J. L.; LECONTE, Y. Variations in chemical mimicry by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* according to the developmental stage of the host honey bee *Apis mellifera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 31, p. 365–379, 2001.

MARTIN, S. J.; HELANTERÄ, H.; DRIJFHOUT, F. Evolution of species-specific cuticular hydrocarbon patterns in *Fomica* ants. *Biological Journal of Linnean Society*, v. 95, p. 131-140, 2008.

McALPINE, J.F. Phylogeny and classification of the Muscomorpha. In: McALPINE, J.F. (Org.) *Manual of Nearctic Diptera*. Research Branch, Agriculture Canada, 1989, v. 3, p. 1397–1518.

MELLO-PATIU, C. A.; PASETO, M. L.; FARIA, L. S.; MENDES, J.; LINHARES, A. X. Sarcophagid flies (Insecta, Diptera) from pig carcasses in Minas Gerais, Brazil, with nine new records from the Cerrado, a threatened Neotropical biome. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 58, p. 142–146, 2014.

MENDES, J.; LINHARES, A. X. Cattle Dung Breeding Diptera in Pastures in Southeastern Brazil: Diversity, Abundance and Seasonality. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, p. 37-41, 2002.

MONTEIRO-FILHO, E. L. A.; PENEREIRO, J. L. Estudo da decomposição e sucessão sobre uma carcaça animal numa área do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 47, p. 289-295, 1987.

MOORE, H. E.; ADAM, C. D.; DRIJFHOUT, F. P. Potential use of hydrocarbons for aging *Lucilia sericata* blowfly larvae to establish the postmortem interval. *Journal of Forensic Science*, v. 58, p. 404–412, 2013.

- MOORE, H. E. A.; CRAIG, D.; ADAM, B.; DRIJFHOUT, F. P. Identifying 1st instar larvae for three forensically important blowfly species using “fingerprint” cuticular hydrocarbon analysis. *Forensic Science International*, v. 240, p. 48–53, 2014.
- MORETTI, T. C.; ALLEGRETTI, S. M.; MELLO-PATIU, C. A.; TOGNOLO, A. M.; RIBEIRO, O. B.; SOLIS, D. R. Occurrence of *Microcerella halli* (Engel) (Diptera, Sarcophagidae) in snake carrion in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 53, p. 318–320, 2009.
- MOURA, M. O.; CARVALHO, C. J. B.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. A Preliminary Analysis of Insects of Medico-legal Importance in Curitiba, State of Paraná. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, p. 269-274, 1997.
- MPURU, S.; BLOMQUIST, G. J.; SCHAL, C.; ROUX, M.; KUENZLI, M.; DUSTICIER, G.; CLÉMENT, J. L.; BAGNÈRES, A. G. Effect of age and sex on the production of internal and external hydrocarbons and pheromones in the housefly, *Musca domestica*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 31, p. 139–155, 2001.
- MULIERI, P. R.; MELLO-PATIU, C. A. Revision of the Neotropical genus *Malacophagomyia* (Diptera: Sarcophagidae) with description of a new species. *Zootaxa*, v. 3736, p. 368, 2013.
- MULLEN, G. R.; TRAUTH, S. E.; SELLERS, J. C. Association of a miltogrammine fly, *Eumacronychia nigricornis* Allen (Diptera: Sarcophagidae), with the brood burrows of *Sceloporus undulates* (Latrielle) (Reptilia: Lacertillia). *Journal of Georgia Entomological Society*, v. 19, p. 1-6, 1984.
- NELSON, D. R. ; DILLWITH, J. W.; BLOMQUIST, G. J. Cuticular hydrocarbons of the house fly, *Musca domestica*. *Insect Biochemistry*, v. 11, p. 187–197, 1981.
- NELSON, L. J.; COOL, L. G.; FORSCHLER, B. T.; HAVERTY, M. I. Correspondence of soldier defense secretion mixtures with cuticular hydrocarbon phenotypes for chemotaxonomy of the termite genus *Reticulitermes* in North America. *Journal of Chemical Ecology*, v. 27, p. 1449-1479, 2001.
- NIRMALA, X.; HYPISA, V.; ZUROVEC, M. Molecular phylogeny of Calyptratae (Diptera: Brachycera): the evolution of 18S and 16S ribosomal rDNAs in higher dipterans and their use in phylogenetic inference. *Insect Molecular Biology*, v. 10, p. 475–485, 2001.

OLIVEIRA-COSTA, J. *Entomologia forense: quando os insetos são vestígios*. 3 ed. São Paulo: Editora Millenium, 2011. 502p.

OLIVEIRA-COSTA, J. A.; LAMEGO, C. M. D.; COURI, M. S.; MELLO-PATIU, C. A. Differential Diptera succession patterns onto partially burned and unburned pig carrion in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 74, p. 870-876, 2014.

OLIVEIRA-COSTA, J.; MELLO-PATIU, C. A.; LOPES, S. M. Dipteros muscoides associados com cadáveres humanos na cena da morte no estado do Rio de Janeiro. *Boletim do Museu Nacional*, v. 464, p. 1-6, 2001.

PAGE, M.; NELSON, L. J.; BLOMQUIST, G. J.; SEYBOLD, S. J. Cuticular hydrocarbons as chemotaxonomic characters of pine engraver beetles (*Ips sp.*) in the *grandicolis* subgeneric group. *Journal of Chemical Ecology*, v. 23, p. 1053-1099, 1997.

PAPE, T. *Catalogue of the Sarcophagidae of the world (Insecta: Diptera)*. Memoirs of Entomology, International, 1996. 558 p.

PAPE, T.; BLAGODEROV, V.; MOSTOVSKI, M.B. Order Diptera Linnaeus, 1758. In: ZHANG, Z. Q. (Org.) *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. Zootaxa, 2011, p. 3148-3237.

PECHAL, J. L.; MOORE, H.; DRIJFHOUT, F.; BENBOW, M. E. Hydrocarbon profiles throughout adult Calliphoridae aging: A promising tool for forensic entomology. *Forensic Science International*, v. 245, p. 65-71, 2014.

PHILLIPS, A.; MILLIGAN, P. Cuticular hydrocarbons distinguish sibling species of vectors. *Parasitol Today*, v. 2, p. 180-181, 1986.

PICKENS, L. G. The life history and predatory efficiency of *Ravinia lherminieri* (Diptera: Sarcophagidae) on the face fly (Diptera: Muscidae). *Canadian Entomology*, v. 113, p. 523-526, 1981.

POMONIS, J. G. Cuticular hydrocarbons of the screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) Isolation, identification and quantification as a function of age, sex and irradiation. *Journal of Chemical Ecology*, v. 15, p. 2301-2317, 1989.

PUJOL-LUZ, J. R.; ARANTESI, L. C.; CONSTANTINO, R. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, 2008.

- ROQUETTE-PINTO, E. Nota sobre a fauna cadavérica do Rio de Janeiro. *A Tribuna Médica*, v. 21, p. 413–417, 1908.
- ROSA, T. A.; BABATA, M. L. Y.; SOUZA, C. M.; SOUSA, D.; MELLO-PATIU, C. A.; VAZ-DE-MELLO, F. Z.; MENDES, J. Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 55, p. 424–434, 2011.
- ROSS, K. G.; MEER, R. K. V.; FLETCHER, D. J. C.; VARGO, E. L. Biochemical phenotypic and genetic studies of two introduced fire ants and their hybrid (Hymenoptera: Formicidae). *Evolution*, v. 41, 280-293, 1987.
- ROUAULT, J. D.; MARICAN, C.; WICKER-THOMAS, C.; JALLON, J. M. Relations between cuticular hydrocarbon (HC) polymorphism, resistance against desiccation and breeding temperature; a model for HC evolution in *D. melanogaster* and *D. simulans*. *Genetica*, v. 120, p. 195-212, 2004.
- ROUX, O.; GERS, C.; LEGAL, L. When, during ontogeny, waxes in the blowfly (Calliphoridae) cuticle can act as phylogenetic markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 34, 406-416, 2006.
- ROUX O.; GERS, C.; LEGAL, L. Ontogenetic study of three Calliphoridae of forensic importance through cuticular hydrocarbon analysis, *Medical and Veterinary Entomology*. v. 22, p. 309–317, 2008.
- RUNDEL, H. D., CHENOWETH, S. F.; DOUGHTY, P.; BLOWS, M. W. Divergent Selection and the Evolution of Signal Traits and Mating Preferences. *PLoS Biology*, v. 3, p. 1988-1995, 2005.
- SITES, J. W.; CRANDALL, K. A. Testing species boundaries in biodiversity studies. *Conservation Biology*, v. 11, p. 1289–1297, 1997.
- SLEDGE, M. F.; TRINCA, I.; MASSOLO, A.; BOSCARO, F.; TURILLAZZI, S. Variation in cuticular hydrocarbon signatures, hormonal correlates and establishment of reproductive dominance in a polistine wasp. *Journal of Insect Physiology*, v. 50, p. 73-83, 2004.
- SMITH, K. G. V. *A manual of forensic entomology*. British Museum (Natural History), London & Cornell University Press, 1986. 205 pp.

- SOUZA, A. M.; LINHARES, A. X. Diptera and coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 11, p. 8-12, , 1997.
- SOUZA, A. S. B.; KIRSTI, F. D.; KRÜGER, R. F. Insects of forensic importance from Rio Grande do Sul state in southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, p. 641-646, 2008.
- STAMPER, T.; DAHLEM, G. A.; COOKMAN, C.; DEBRY, R. W. Phylogenetic relationships of flesh flies in the subfamily Sarcophaginae based on three mtDNA fragments (Diptera: Sarcophagidae). *Systematic Entomology*, v. 38, p. 35–44, 2013.
- TOOLSON, E. C. Effects of rearing temperature on cuticle permeability and epicuticular lipid composition in *Drosophila pseudoobscura*. *Journal of Experimental Zoology*, v. 222, p. 249–253, 1982.
- TRABALON, M.; CAMPAN, M.; CLEMENT, J.L.; LANGE, C.; MIQUEL, M.T. Cuticular hydrocarbons of *Calliphora vomitoria* (Diptera): Relation to age and sex. *General and Comparative Endocrinology*, v. 85, p. 208–216, 1992.
- UEBEL, E. C.; SONNET, P. E.; MILLER, R. W.; BEROZA, M. Sex pheromone of the face fly *Musca autumnalis* (Diptera: Muscidae). *Journal of Chemical Ecology*, v. 1, p. 195–202, 1975.
- URECH, R.; BROWN, G. W.; MOORE, C. J.; GREEN, P. E. Cuticular hydrocarbons of buffalo fly, *Haematobia exigua*, and chemotaxonomic differentiation from horn fly, *H. irritans*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 31, p. 2451–2461, 2005.
- VAIRO, K. P.; MELLO-PATIU, C. A.; CARVALHO, C. J. B. Pictorial identification key for species of Sarcophagidae (Diptera) of potential forensic importance in southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 55, p. 333–347, 2011.
- VAIRO, K. P.; MOURA, M. O.; URURAHY-RODRIGUES, A.; MELLO-PATIU, C. A. Sarcophagidae (Diptera) with forensic potential in Amazonas: a pictorial key. *Tropical Zoology*, v. 27, p. 140-152, 2014.
- VANIČKOVÁ, L.; SVATOŠ, A.; KROISS, J.; KALTENPOTH, M.; NASCIMENTO, R.R.; HOSKOVEC, M.; BŘÍZOVÁ, R.; KALINOVÁ, B. Cuticular hydrocarbons of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus*: variability with sex and age. *Journal of Chemical Ecology*, v. 38, p. 1133-42, 2012.

- VASCONCELOS, S. D.; ARAUJO, M. C. S. Necrophagous species of Diptera and Coleoptera in northeastern Brazil: state of the art and challenges for the Forensic Entomologist. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 56, p. 7–14, 2012.
- WAGNER, D.; TISSOT, M.; GORDON, D. Task-related environment alters the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants. *Journal of Chemical Ecology*, v. 27, p. 1805-1819, 2001.
- WARTHEN, J. D. J.; UEBEL, E. C. Comparison of the unsaturated cuticular hydrocarbons of male and female house crickets, *Acheta domesticus* (L.) (Orthoptera: Gryllidae). *Insect Biochemistry*, v. 10, p. 435–439, 1980.
- WINSTON, J. E. *Describing Species: Practical taxonomic procedure for biologists*. New York : Columbia University Press, 1978. 518 p.
- WIGGLESWORTH, V. B. The physiology of the cuticle and of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Triatomidae, Hemiptera); with special reference to the function of the oenocytes and of the dermal glands. *Royal Microscopical Society*, v. 76, p. 269–318, 1933.
- XU, H.; YE, GY.; XU, Y.; HU, C.; ZHU, GH. Age-dependent changes in cuticular hydrocarbons of larvae in *Aldrichina grahmi* (Aldrich) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International*, v. 242, p. 236-41, 2014.
- YE, G.; LI, K.; ZHU, J.; ZHU, G.; HU, C. Cuticular hydrocarbon composition in pupal exuviae for taxonomic differentiation of six necrophagous flies. *Journal of Medical Entomology*, v. 44, p. 450-456, 2007.
- ZHU, G. H.; YE, G. Y.; HU, C.; XU, X. H.; LI, K. Development changes of cuticular hydrocarbons in *Chrysomya rufifacies* larvae: potential for determining larval age, *Medical and Veterinary Entomology*, v. 20, p. 438–44, 2006.
- ZHU, G. H.; XU, X. H.; YU, X. J.; ZHANG, Y.; WANG, J. F. Puparial case hydrocarbons of *Chrysomya megacephala* as an indicator of the postmortem interval. *Forensic Science International*, v. 169, p. 1-5, 2007.

