Análise da colonização da fauna de dípteros em ambiente aberto e fechado em carcaças de Or*yctolagus cuniculus*

Franciellen Mouradian Emidio Teixeira[1]; Ana Beatriz Carollo Rocha Lima[1]

[1]Curso de Ciências Biológicas. Universidade Paulista - UNIP, *campus* Jundiaí, Instituto de Ciências da Saúde. Avenida Armando Giassetti, 577 - Vila Hortolândia - Trevo Itu/Itatiba - Jundiaí – SP, CEP 13214-525.

Resumo: Os insetos da ordem díptera são muito utilizados para solução de crimes pela entomologia forense, dado que o seu ciclo de vida pode ser afetado por fatores bióticos e abióticos, e através da análise destes fatores é possível determinar o intervalo pós-morte (IPM). O presente estudo teve o objetivo de determinar a incidência e colonização de insetos necrófagos da ordem díptera nas carcaças em ambiente *indoor* e *outdoor* na região de Campo Limpo Paulista e Jarinú, e desta forma contribuir com informações que possam auxiliar em investigações forenses na região. Para isso, duas carcaças de coelho (*Oryctolagus cuniculus*) de médio porte (aproximadamente 2 kg) foram dispostas em local aberto e fechado, dentro de uma armadilha para coletar os dípteros. A coleta de dípteros maduros e imaturos nas carcaças foi realizada diariamente e os espécimes coletados foram fixados em álcool 70%. As amostras foram levadas ao laboratório Charles Darwin na Universidade Paulista – UNIP, *campus* Jundiaí, onde ocorreu o processo de triagem e identificação. O experimento teve duração de 18 dias, sendo que no ambiente interno houve a esqueletização da carcaça no décimo oitavo dia e no ambiente externo a esqueletização ocorreu em cinco dias. Foram identificadas dez espécies, sendo 5 da família Calliphoridae e 4 da família Fannidae. De acordo com a literatura, a colonização de famílias Calliphoridae e Fannidae ocorre principalmente na estação quente e na região sudoeste. Os resultados do presente estudo podem contribuir para futuras investigações forenses na região.

Palavras-chave: Entomologia forense; *Indoor*; *Outdoor*.

Analysis of the colonization and ecological succession of diptera fauna indoor and outdoor environment using *Oryctolagus cuniculus* carcasses

Abstract: Insects of the order Diptera are widely used for the solution of crimes by forensic entomology, since their life cycle can be affected by biotic and abiotic factors, and through the analysis of these factors it is possible to determine the postmortem interval (PMI). This study aimed to determine the incidence and colonization of carrion insects of the order Diptera in carcasses in indoor and outdoor environment in the region of Campo Limpo Paulista and Jarinú, and thus contribute with information that may assist in forensic investigations in the region. For this, two medium-sized rabbit carcasses (*Oryctolagus cuniculus*) (approximately 2 kg) were arranged in an open and closed place, inside a trap to collect dipterans. The collection of mature and immature dipterans in the carcasses was performed daily and the specimens collected were fixed in 70% alcohol. Samples were taken to the laboratory Charles Darwin at Universidade Paulista - UNIP Jundiaí *campus*, where there was the process of screening and identification. The experiment had a duration of 18 days, and in the internal environment skeletonization of the carcass occurred on the eighteenth day and in the external environment skeletonization occurred in five days. Ten species were identified,

5 of the Calliphoridae family and 4 of the Fannidae family. According to the literature, the colonization of Calliphoridae and Fannidae families occurs mainly in the hot season and in the southwest region. The results of the present study may contribute to future forensic investigations in the region.

Keywords: Forensic Entomology; *Indoor*; *Outdoor*.

Introdução

A entomologia forense é a ciência que aplica o estudo de insetos e sua colonização em procedimentos legais. Esta ciência divide-se em: (1) entomologia urbana, que estuda interações entre os insetos e o ambiente urbano; (2) entomologia de produtos estocados, que estuda relações entre insetos e infestação de produtos estocados; e (3) entomologia médico-legal, que estuda insetos úteis nas investigações criminais[1].

As pesquisas na área de entomologia médico-legal são realizadas desde 1850, e nas últimas décadas vem obtendo grande progresso. No início havia uma certa resistência quanto à sua aplicação, mas com o passar do tempo ela foi sendo aceita, e hoje traz grandes avanços nas investigações, apesar de ser utilizada por poucas instituições criminais[2].

A metodologia mais usada em entomologia forense é a determinação do IPM (intervalo pós-morte). Os estudos para determinar o IPM se utilizam da determinação da idade das larvas ou pupas de diferentes espécies coletadas no local da morte. O IPM é calculado de acordo com a temperatura local, características do ambiente, condições bióticas e sucessão das espécies colonizadoras. Cada fator acarreta em um intervalo *post-mortem* diferente[3].

Para que especialistas consigam realizar investigações forenses para fins de determinação de IPM, é necessário que os pesquisadores identifiquem as larvas ou pupas comparando os exemplares coletados com a bibliografia específica ou com exemplares depositados em coleções, existentes na sua maioria em museus e universidades. Estas coleções são subdivididas em (1) coleções de pesquisa, consideradas grandes coleções preservadas provenientes das várias regiões zoogeográficas; (2) coleções de identificação, aquelas que servem de apoio a rotina de identificação de materiais para diversas finalidades e (3) coleções de tipo, que reúnem exemplares que auxiliam na descrição das espécies encontradas[2].

A colonização cadavérica ocorre por meio da sucessão ecológica de diversas ordens de insetos que chegam no cadáver em seus diferentes estágios de decomposição (legiões). Existem oito ondas de legiões durante todo o processo, sendo que na primeira e segunda legião são encontrados somente dípteros, já na terceira até a oitava são encontrados coleópteros. As ordens cronológicas dessas legiões ocorrem de acordo com fatores abióticos e bióticos[4]. Barros *et al.*[5] e Pantaleão *et al.*[6] afirmam que a família Sarcophagidae é pioneira na colonização dos cadáveres, por proliferar em estações mais frias, enquanto a família Calliphoridae prefere os estágios iniciais de decomposição.

A colonização ocorre logo após a morte caso a carcaça esteja em temperatura ambiente. As espécies colonizadoras podem ser classificadas de acordo com sua disposição ecológica[7] em (1) necrófagas, que além de se alimentar diretamente dos tecidos da carcaça, também a utilizam como um substrato de criação; (2) parasitoides

e/ou predadoras das espécies necrófagas, espécies onívoras que se alimentam de mais de um tipo de matéria orgânica; e (3) espécies que visitam a carcaça em busca de refúgio ou por ser um microambiente propício para a postura dos ovos ou imaturos, com temperatura e umidade elevadas e com uma quantidade de matéria orgânica suficiente para suprir a necessidade por recursos pelos imaturos[8].

De acordo com Bornemissza[9] e Payne[10], as espécies de dípteros necrófagos pertencentes à família Calliphoridae desempenham importante papel ecológico, pois auxiliam na decomposição da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. Considerando-se as fases de decomposição de uma carcaça animal e a composição das espécies visitantes, possivelmente pode-se estimar uma sequência de colonização dos insetos nas carcaças. Alguns gêneros dessa família são abundantes durante o processo de decomposição, podendo ocorrer alterações sucessivas entre estes.

Objetivos

O objetivo geral do presente estudo foi determinar a incidência e colonização de insetos necrófagos da ordem Diptera em carcaças na região das cidades de Jarinú e Campo Limpo Paulista, situadas no interior do estado de São Paulo (Brasil), e verificar as alterações em diferentes condições experimentais, e dessa forma auxiliar em futuros estudos na região sobre colonização e sucessão ecológica. Os objetivos específicos foram: verificar a incidência e colonização dos adultos; comparar a colonização indoor e outdoor; auxiliar em futuros estudos sobre colonização e sucessão ecológica.

Materiais e métodos

A etapa de campo (disposição das cobaias) foi realizada em uma chácara de propriedade particular, situada entre as cidades de Campo Limpo Paulista e Jarinu no km 60 da rodovia Edgar Máximo Zamboto, na Via São Francisco,120, Estância São Paulo, Campo Limpo Paulista - SP (coordenadas -23.200047, -46.731863). A pesquisa foi feita em dois locais da chácara: um cômodo de alvenaria externo desabilitada pelos moradores, e um campo perto de um lago (Figura 1).



Figura 1. Locais onde foram dispostas as carcaças: (A) cômodo em alvenaria e (B) campo aberto.
Fonte: Adaptado de Google Earth.

Foram utilizados dois coelhos de 6 meses de vida, cada um pesando 1.5 kg (Família Leporidae, espécie *Oryctolagus cuniculus*) dispostas no local do experimento em duas situações, uma em local abrigado (cômodo em alvenaria - *indoor*), e outra em local exposto (no ambiente - *outdoor*). Ambos foram comprados no dia 24 de janeiro de 2018, já abatidos por traumatismo craniano com objeto contundente e sem exsanguinação em estabelecimento comercial (criadouro de coelhos para consumo alimentício caseiro). No mesmo dia as carcaças foram dispostas nos locais em que ocorreu o experimento. A aquisição das carcaças foi realizada conforme instruções fornecidas pelo Comitê de Ética lei 11.794/2008, que permite a utilização de carcaças de animais, órgãos etc. comprados em frigorífico, não devendo osmesmos serem submetidos à CEUA.

Para a confecção da armadilha foram utilizados os seguintes materiais: caixa de verduras, garrafa pet 2L, arame, pano de algodão e tela escaline. A caixa de verdura foi invertida para servir de base para a armadilha. A estrutura foi construída em forma de pirâmide com arames e tela escaline, com uma armadilha para coletar os dípteros na parte superior feita de garrafa pet invertida. Em volta da caixa de verdura, foi colocado pano de algodão para que os dípteros não pudessem sair por lá (Figura 2).



Figura 2. Armadilhas de coleta de dípteros adultos dispostas nos locais fechado (A) e aberto (B).
Fonte: Do autor.

As carcaças foram avaliadas e monitoradas a cada três dias e no mesmo horário quanto à presença de ovos, larvas e dípteros adultos, e a temperatura do ambiente foi aferida. Para a coleta dos imaturos e adultos de dípteros nas carcaças foram utilizados os seguintes materiais: pinça para coletar as larvas, álcool etílico hidratado 70° INPM para conservar as amostras, álcool em gel para captura dos dípteros na armadilha e potes plásticos para armazenar as coletas.

Os espécimes adultos foram identificados a partir de seus caracteres taxonômicos (características morfológicas) com o auxílio de chaves de identificação e a partir da comparação com os espécimes identificados na literatura em experimentos semelhantes. Os parâmetros utilizados para identificação das famílias foi baseado nos seguintes aspectos morfológicos: olhos compostos, aristas, apêndices, coloração e formato das asas, mesonoto, tergito e esternito (Figura 3).

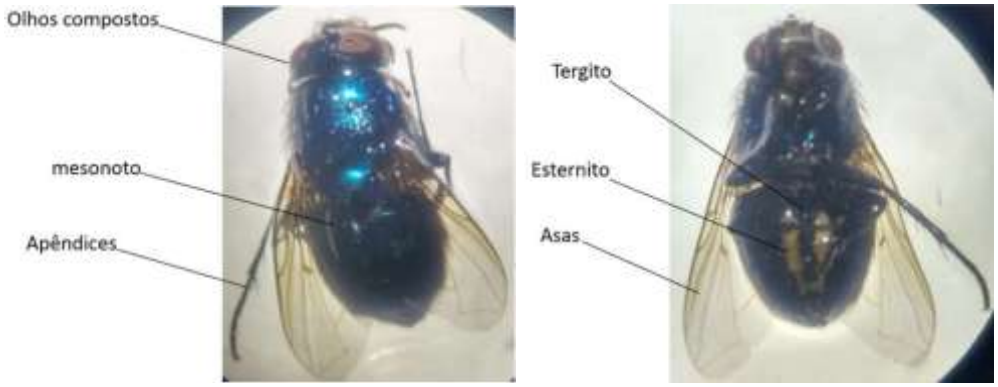

Figura 3. Díptero adulto (família Calliphoridae), destacando-se os caracteres morfológicos utilizados para a identificação taxonômica.
Fonte: Do autor.

Os espécimes foram preservados em álcool 70% e posteriormente analisados em lupas para melhor visualização dos caracteres taxonômicos.

A identificação taxonômica foi realizada nas dependências da Universidade Paulista - UNIP, *campus* Jundiaí, no Laboratório Museu Darwin.

Resultados

A carcaça disposta em local fechado (*indoor*) levou dezoito dias para atingir a esqueletização, enquanto a carcaça disposta em local aberto (*outdoor*) levou cinco dias (Figura 4). Foi possível observar que a massa larval *outdoor* foi bem maior do que *indoor*.



Figura 4. Representação dos estágios de decomposição das carcaças em local fechado (**A**) e aberto (**B**) em diferentes períodos do experimento.
Fonte: Do autor.

Os dados referentes à presença de ovos, larvas e dípteros adultos, além da verificação da temperatura do ambiente encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Características do processo de colonização

Data Experimento (dia)	Características	Ambiente Aberto	Ambiente Fechado
24/01/2018 (Dia 1)	Presença ovo	-	-
	Presença larva	-	-
	Presença adulto	-	-
	Temperatura ambiente	26°C	26°C
27/01/2018 (Dia 4)	Presença ovo	X	-
	Presença larva	X	X
	Presença adulto	X	X
	Temperatura ambiente	20°C	23°C
30/01/2018 (Dia 7)	Presença ovo	-	-
	Presença larva	-	X
	Presença adulto	-	X
	Temperatura ambiente	-	24°C
02/02/2018 (Dia 10)	Presença ovo	-	
	Presença larva	-	X
	Presença adulto	-	-
	Temperatura ambiente	-	23°C
05/02/2018 (Dia 13)	Presença ovo	-	-
	Presença larva	-	X
	Presença adulto	-	-
	Temperatura ambiente	-	24°C
08/02/2018 (Dia 16)	Presença ovo	-	-
	Presença larva	-	X
	Presença adulto	-	-
	Temperatura ambiente	-	22°C
10/02/2018 (Dia 18)	Presença ovo	-	-
	Presença larva	-	X
	Presença adulto	-	-
	Temperatura ambiente	-	24°C

Houve diferença na colonização entre os ambientes *indoor* e *outdoor*. As espécies e famílias encontradas em cada ambiente estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Identificação taxonômica das espécies

Família	Espécie	Ambiente Aberto	Ambiente Fechado
Calliphoridae	*Lucilia spp*	x	
	Lucilia versicolor	x	
	Lucilia sericata	x	x
	Calliphora lopesi	x	
	Paralucilia fulvinota	x	
Fannidae	*Fannia canicularis*	x	
	Fannia punctipennis	x	
	Fannia obscurinervis	x	
	Fannia pusio	x	
Muscidae	Spp. não identificada		x

Discussão

No presente estudo ocorreu uma diferença em relação ao tempo de decomposição nos ambientes *indoor* e *outdoor*. Em ambiente fechado, o processo de decomposição possivelmente ocorreu de forma mais lenta pelo fato de a carcaça estar disposta em local que dificultou o acesso dos dípteros, insetos necrófagos que contribuem significativamente para que este processo ocorra. O fato de a massa larval *outdoor* ter sido maior do que *indoor* reforça esta hipótese; além disso, apenas duas espécies ocorreram em local *indoor*, o que evidencia a dificuldade que esses dípteros têm para chegar até a carcaça, enquanto em local *outdoor* ocorreram nove espécies. Em estudos semelhantes envolvendo ambientes *indoor* e *outdoor*, a colonização de fauna foi semelhante em relação ao número de espécies, porém, assim como no presente estudo, houve diferença em relação à abundância de espécimes que se criaram na carcaça: em ambiente *indoor* houve maior abundância da família Calliphoridae, enquanto em ambiente *outdoor* a família Muscidae foi mais abundante[11].

A ocorrência de dípteros adultos em local *indoor* ocorreu a partir do quarto dia. Este dado corrobora com um estudo feito no sudoeste da Finlândia, no qual o aparecimento tardio de adultos em local fechado e em número menor de indivíduos levou cerca de quatro dias, devido aos fatores abióticos dificultarem sua chegada até a disposição da carcaça[12].

As famílias Calliphoridae e Fannidae são comumente encontradas por serem famílias necrófagas. As espécies catalogadas no presente estudo já foram relatadas em estudos semelhantes. Um estudo realizado por Baltazar e colaboradores [13] na região de Atibaia encontrou *Fannia cannicularis, F. pusio,* e *Lucilia sericata*. Já Moura e colaboradores[14,15] descreveram em carcaças de ratos (*Rattus norvergicus*) o aparecimento de espécies como *F. punctipennis* e *F obscurinervis* na região de Curitiba, Paraná. As mesmas espécies também foram identificadas no presente estudo.

Não foi possível comparar a quantidade de indivíduos de cada família nos locais *indoor* e *outdoor*, pois alguns indivíduos apresentaram danificação em estruturas necessárias para sua identificação taxonômica no nível de família e espécie e, portanto, foram excluídos do estudo.

Ordens de insetos como Coleoptera e Hymenoptera, consideradas espécies oportunistas, também foram excluídas do presente estudo. Embora este parâmetro contribua para as análises de decomposição, o mesmo não foi adotado no presente estudo pelo fato de o aparecimento dos coleópteras ser tardio nas carcaças. O presente estudo também não acompanhou o processo de desenvolvimento de ovos, larvas e pupas até o desenvolvimento de dípteros adultos, embora estes poderiam contribuir para o cálculo de IPM em futuras investigações forenses e na eventual identificação de espécies adicionais. Portanto, sugere-se que estudos posteriores realizem investigações complementares sobre a fauna associada de coleópteros e himenópteros, bem como realize o cultivo dos ovos e larvas de dípteros encontrados nas carcaças na região.

Conclusão

O experimento teve duração de 18 dias, sendo que no ambiente interno

houve a esqueletização da carcaça no décimo oitavo dia e no ambiente externo a esqueletização ocorreu em cinco dias. Foram identificadas dez espécies no total, sendo 5 da família Calliphoridae e 4 da família Fannidae.

No presente estudo houve uma diferença em relação ao tempo de decomposição nos ambientes *indoor* e *outdoor* possivelmente devido à diferença entre os fatores bióticos e abióticos em cada um dos ambientes, o que contribui para que o processo de decomposição ocorra de uma forma mais lenta ou mais rápida. Também houve diferença na quantidade de espécies nos ambientes *indoor* e *outdoor*.

Os resultados do presente estudo podem contribuir para futuras investigações forenses na região.

Referências

1- Gomes, L. Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais. Rio de Janeiro (RJ): Technical Books Editora; 2010.

2- Oliveira-Costa, J. Entomologia forense: quando os insetos são os vestígios. In:Tratado de perícias criminalísticas. 3º ed. Campinas (SP): Millennium; 2008.

3- Byrd, J. H. & Castner, J. L. Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. Florida (FL) CRC press: Boca Raton; 2002. [3]

4- Mégnin, J. La Faune dês cadáveres: applicationde l'entomologie a la medicine legale. Paris (FR): Encyclopedie Scientifique dos Aides, Memoires Masson; 1894.

5- Barros, R. D., Mello-Patiu, C. D., & 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. 2008, 52(4), 606-609.

6- Pantaleão, A. C. V., Silva, J. B., Pereira, S. S., & Silva, V. Fauna cadavérica coletada em 3 biocenoses para aplicação em entomologia forense- [Dissertação de Graduação]. Ourinhos: Faculdades Integradas de Ourinhos; 2005.

7- De Carvalho, L. M. L., & Linhares, A. X. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastern Brazil. Journal of Forensic Science. 2001; 46(3), 604-608.

8- Anjos, V. A. Ocorrência de muscóideos necrófagos em carcaças de animais silvestres no município de Capão do Leão [trabalho de conclusão de curso]. Rio Grande do Sul (RS): Instituto de Biologia – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas; 2009.

9- Bornemissza, G. F. An analysis of Arthropod succession in Carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. Australian Journal of Zoology. 1957; 5(1), 1-12.

10- Payne, J. A., & King, E. W. Insect succession and decomposition of pig carcasses in water. Journal of Georgia Entomological Society. 1972; 7(3), 153-162.

11- Neves, J. A. Análise da decomposição e sucessão ecológica relacionada ao sexo e a ambiente indoor e outdoor em carcaças de suínos (Sus Scrofa L.) expostas no litoral norte do Estado de São Paulo [dissertação de Mestrado]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2009.11.

12- Pohjoismäki, J. L., Karhunen, P. J., Goebeler, S., Saukko, P., & Sääksjärvi, I. E. Indoors forensic entomology: colonization of human remains in closed environments by specific species of

sarcosaprophagous flies. Forensic Science International 199. 2010; (1-3): 38-42.

13- Baltazar, F. N., Cavallari, M. L., Avelar, R. R. F., Kobori, R., Muñoz, D. R. & Tolezano, J. E. Caracterização da entomofauna cadavérica em região central do município de São Paulo. Boletim Instituto Adolfo Lutz. 2012; 22(1):60-62.

14- 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. 1997; 92: 269-274.

15- Moura, M. O., Carvalho, C. J. B., & Monteiro-Filho, E. L. A. Estrutura de comunidades necrófagas: efeito da partilha de recursos na diversidade. Revista Brasileira de Zoologia. 2005; 22: 1134-1140.