

Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - FCBA
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade - PPGECB

Análise da ação da entomofauna em carcaças de suínos (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) contaminados com inseticida e uso de evidências entomológicas em um caso de homicídio no centro-oeste

Aylyson Dailson Medeiros de Moura Eulalio

Dourados-MS
Março de 2019

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Aylyson Dailson Medeiros de Moura Eulalio

ANÁLISE DA AÇÃO DA ENTOMOFAUNA EM CARCAÇAS DE
SUÍNOS (*Sus scrofa* LINNAEUS, 1758) CONTAMINADOS COM
INSETICIDA E USO DE EVIDÊNCIAS ENTOMOLÓGICAS EM UM
CASO DE HOMICÍDIO NO CENTRO-OESTE

Dissertação apresentada à Universidade Federal
da Grande Dourados (UFGD), como parte dos
requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.
Área de Concentração: Biodiversidade e
Conservação

Orientador(a): Prof. Dr. William Fernando Antonialli Junior.
Coorientador(a): Dra. Michele Castro de Paula

Dourados-MS
Março de 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

E88a Eulalio, Aylson Dailson Medeiros De Moura

Análise da ação da entomofauna em carcaças de suínos (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) contaminados com inseticida e uso de evidências entomológicas em um caso de homicídio no centro-oeste [recurso eletrônico] / Aylson Dailson Medeiros De Moura Eulalio. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: William Fernando Antonialli Junior.

Coorientadora: Michele Castro de Paula.

Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Entomologia Forense. 2. Carcaças. 3. Inseticida. 4. Relato de Caso. 5. Centro-oeste. I. Antonialli Junior, William Fernando . II. Paula, Michele Castro De. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).


©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**"ANÁLISE DA AÇÃO DA ENTOMOFAUNA EM CARÇAÇAS DE SUÍNOS (*Sus Scrofa*
LINNAEUS, 1758) CONTAMINADOS COM INSETICIDA E USO DE EVIDÊNCIAS
ENTOMOLÓGICAS EM UM CASO DE HOMICÍDIO NO CENTRO-OESTE".**


Por

AYLSON DAILSON MEDEIROS DE MOURA EULÁLIO

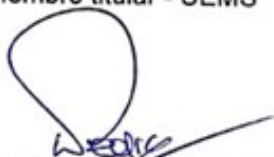
Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação



Dr. William Fernando Antonialli Junior
Orientador/Presidente - UEMS



Dr.ª Juliana Toledo Lima
Membro titular - UEMS



Dr. Wedson Desidério Fernandes
Membro titular - UFGD

Aprovada em: 01 de março de 2019

BIOGRAFIA DO ACADÊMICO

Aylson Dailson Medeiros de Moura Eulalio, natural de Caxias – Maranhão, nascido aos 27 de março de 1995, filho de Maria Doreuci Medeiros de Moura e José Antônio Eulalio.

Cursou o Ensino Fundamental (2001 a 2009) na Escola Municipal Nossa Senhora Aparecida no Município de Campo Novo do Parecis/MT, na Escola Estadual São Francisco no Município de Jaciara/MT e na Escola Municipal Loide Bonfim Andrade no Município de Dourados/MS. Cursou todo o Ensino Médio (2010 a 2012) na Escola Estadual Antônia da Silveira Capilé no Município de Dourados/MS.

Possui graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura pela Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, de 2013 a 2017, sendo membro do Laboratório de Ecologia comportamental desde 2014, desenvolvendo trabalho relacionados a entomologia forense, especificamente, “utilizando os hidrocarbonetos cuticulares de moscas e besouros como ferramenta quimitaxonômica para identificar espécies e estágios de desenvolvimento de espécies de importância forense”.

Atualmente desenvolve trabalhos relacionados a ação de inseticidas neonicotinóides sobre moscas e besouros de interesse forense, com o objetivo de conhecer os efeitos de substâncias tóxicas no desenvolvimento de dípteros e coleópteros e sobre a decomposição de carcaças e cadáveres.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha família, em especial agradeço a minha mãe Maria Doreuci Medeiros de Moura por todo o apoio aos estudos, pela constante luta, pelo amor, carinho, toda sua força me inspira a continuar minha trajetória de vida acadêmica e pessoal. Ao meu pai Jose Antonio Eulalio, pelo amor, carinho e por sempre acreditar em mim.

À minha coorientadora, Dra. Michele Castro de Paula por todo o ensinamento passado a mim, pela parceria nos diversos trabalhos em conjunto e por ter sido tão acolhedora comigo e atenciosa comigo. A nossa relação se tornou realmente algo de mãe e filho, com uma ótima cumplicidade formada pela confiança e por todas as experiências divertidas e enriquecedoras que passamos durante esses anos de orientação. Irei levar isso comigo para sempre.

Ao meu orientador, Professor Dr. William Fernando Antonialli Junior pela orientação e dedicação, pelo apoio durante a realização deste trabalho, pela paciência e sugestões que me tornaram um pesquisador melhor, enriquecendo minha formação profissional.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, em especial a Dra. Cláudia Andréa Lima Cardoso, pelos auxílios e ensinamentos relacionados a química, e ao Dr. Sidnei Eduardo Lima Júnior, pelos auxílios e ensinamentos estatísticos.

Aos amigos e parceiros de “coleta” Andrelle Caroline de Souza Brum, Kamylla Balbena Michelutti e Fabiane Cassari de Oliveira por terem me ajudado tanto a desenvolver este trabalho e por sempre estarem dispostas a me auxiliar. Após muito trabalho, muitos “sufocos” nas coletas em dias chuvosos, concluímos este estudo. Obrigado pela compreensão, por todo apoio, companheirismo, amizade, disposição e ajuda, vocês com certeza tornaram este processo mais agradável, divertido e possível.

Aos meus amigos de longa data Higor Andrade Centurion, Maria Luiza Herculano Torres e Taynara Martins Cavalheiro por todo amor e carinho, por estarem sempre junto comigo, apesar da distância muitas vezes, pelo apoio, força, incentivo e conselhos que sempre me deram. Agradeço especialmente ao meu amigo Rodrigo Caetano dos Santos, por estar sempre disposto a me ajudar, se envolvendo no projeto e por todos os momentos de descontração durante esse período, que se tornaram muito

importante para essa conquista. Vocês, meus amigos, são a família que a vida me permitiu escolher.

Aos meus colegas e irmãos de laboratório Angélica, Anitta, Dayana, Denise, Eva, Giovanna, Ingrid, Ivana, Juliana, Junior, Kamylla, Márlon, Nathan e Poliana que depois de tanto convívio e troca de experiências se tornaram a minha família científica ao longo dessa jornada, sempre me apoiando.

À Universidade Federal da Grande Dourados.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul.

À Capes pela bolsa concedida.

Ao CNPQ pelo financiamento concedido.

À todos vocês, o meu mais sincero “obrigado”.

“Ao verme que primeiro roeu as frias carnes do meu cadáver dedico como saudosas lembranças estas memórias póstumas”.

Brás Cubas - Memórias Póstumas de Brás Cubas de Machado de Assis

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Maria Doreuci Medeiros de
Moura e José Antonio Eulalio
Dedico.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	1
GENERAL ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO GERAL.....	3
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
Entomologia Forense.....	6
Relatos de caso.....	7
Entomotoxicologia.....	9
OBJETIVOS.....	11
HIPÓTESES.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11

CAPÍTULO I

Efeito do tiametoxam em insetos de interesse forense: implicações na decomposição de carcaças de suínos

CAPÍTULO I.....	17
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	26
DISCUSSÃO.....	27
FIGURAS E TABELAS.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

CAPÍTULO II

Primeiro relato do uso de insetos para estimar intervalo pós- morte em caso de homicídio no interior de residência no centro-oeste do Brasil

CAPÍTULO II.....	45
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAL E MÉTODOS.....	48
RESULTADOS.....	50
DISCUSSÃO.....	51
FIGURAS E TABELAS.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

* A Dissertação de Mestrado está formatada de acordo com as normas da revista Neotropical Entomology

ANÁLISE DA AÇÃO DA ENTOMOFAUNA EM CARÇAÇAS CONTAMINADAS COM INSETICIDA E USO DE EVIDÊNCIAS ENTOMOLÓGICAS EM UM CASO DE HOMICÍDIO NO CENTRO-OESTE

Resumo Geral

A entomologia forense utiliza os dados acerca da biologia e comportamento dos insetos como a sucessão entomológica em carcaças, as taxas de desenvolvimento das espécies de importância forense, seus padrões comportamentais e de outros dados obtidos de evidências entomológicas para elucidar questões judiciais como o tempo de morte, a natureza do crime, a detecção de entorpecentes ou de materiais biológicos na cena de crime e outros casos que ocorrem durante as investigações. Deve-se também levar em consideração fatores que podem influenciar estas informações como a temperatura, umidade, o microambiente em que estava a vítima ou até mesmo contaminações por entorpecentes, fármacos ou defensivos agrícolas. No capítulo I, avaliando os efeitos da aplicação de inseticida sobre a ação de insetos de interesse forense e o tempo de decomposição em carcaças de suíno, nossos resultados apontam que a contaminação pode levar ao aumento no tempo total e das fases de decomposição, ao atraso no desenvolvimento de insetos de importância forense e até a morte destes indivíduos, além de diferenças na composição e abundância de espécies em carcaças contaminadas quando comparadas as carcaças não contaminadas. No capítulo II, relatando pela primeira vez o uso de insetos como evidências em caso criminal na região centro-oeste, utilizamos dados entomológicos coletados em um caso de homicídio em Dourados, MS, Brasil, e obtivemos informações relevantes para as investigações criminais, na qual foi possível estimar o Intervalo Pós-Morte mínimo (IPM_{min}) e também inferir sobre a possível causa da morte. Nossos resultados mostram que a aplicação de defensivos agrícolas em carcaças deve ser levada em consideração no momento do uso de dados entomológicos como vestígios em investigações, pois alteram principalmente a abundância, composição e colonização dos insetos nas carcaças, além de alterar o tempo de decomposição. Além disso, os resultados demonstram o potencial da entomologia forense como uma ferramenta complementar para desvendar casos reais, na região centro-oeste do Brasil.

Palavras-chave: Entomologia Forense; Intervalo Pós-Morte; Tiametoxam; Decomposição; Diptera; Coleoptera; Relato de Caso; Mato Grosso do Sul.

**ANALYSIS OF THE ACTION OF ENTOMOFAUNA IN CARCASSES
CONTAMINATED WITH INSECTICIDE AND THE USE OF
ENTOMOLOGICAL EVIDENCES IN A HOMICIDE CASE IN BRAZILIAN
MIDWEST**

Abstract

Forensic entomology uses data on the biology and behavior of insects such as entomological succession in carcasses, development rates of forensic important species, their behavioral patterns and other data obtained from entomological evidence to elucidate legal issues such as time of death, the nature of crime, the detection of narcotics or biological materials at the crime scene and other cases occurring during investigations. Some important factors that may influence this information must be taken into account such as temperature, humidity, microenvironment in the carcass or even contaminations by narcotic substances, medicine drugs or agricultural pesticides. In Chapter I, evaluating the effects of insecticide contamination on the action of forensic interest insects and the time of decomposition in pig carcasses, our results indicate that the contamination can lead to the increase in the total time and the phases of decomposition, the delay in the development of forensic importance insects or even the death of these individuals, besides differences in the composition and abundance of species in contaminated carcasses and control carcasses. In Chapter II, reporting for the first time the use of insects as evidence in a criminal case in the Brazilian midwest, we used entomological data collected in a homicide case in Dourados, MS, Brazil, and obtained relevant information for criminal investigations, in which it was possible to estimate the minimum Postmortem Interval (minPMI) and also to infer about the possible cause of death. Our results show that the contamination of agricultural pesticides in carcasses must be taken into account when using entomological data as vestiges in investigations, since they mainly change the abundance, composition and colonization of insects in carcasses, besides altering the decomposition time. In addition, the results demonstrate the potential of forensic entomology as a complementary tool to uncover real cases in the Brazilian midwest.

Keywords: Forensic Entomology; Post-mortem Interval; Thiamethoxam; Decomposition; Diptera; Coleoptera; Case Report; Mato Grosso do Sul.

Introdução Geral

Os insetos são representados por uma grande variedade de espécies, que desempenham diversas funções no meio ambiente, tais como a decomposição de matéria orgânica de origem animal (Ruppert & Barnes, 1996). Neste ecossistema cadavérico os insetos são geralmente os primeiros a localizarem a carcaça e utiliza-la como fonte proteica para a alimentação dos adultos e dos imaturos, ou como sítio de oviposição/larviposição de sua prole, sendo estes conhecidos como insetos necrófagos (Oliveira-Costa, 2013). Há também insetos que predam adultos e/ou imaturos como recurso alimentar, sendo estes categorizados como insetos predadores (Keh 1985).

Desta maneira, devido a esta associação com o ambiente cadavérico, alguns grupos de insetos podem ser úteis como vestígios entomológicos, sendo importantes evidências para as investigações criminais, sobretudo porque de forma geral ocorrem durante todas as fases de decomposição (Oliveira-Costa 2013). De acordo com Goff (2000) a decomposição de um cadáver ou carcaça passa por cinco fases, que apresentam características distintas durante todo o processo, sendo denominadas como fresco, inchamento, deterioração, pós-deterioração e esqueletização.

Estes insetos podem auxiliar na elucidação de uma série de questões em uma investigação criminal, como “quando”, “onde” e “como” a morte ocorreu (Hall, 1990). A estimativa do Intervalo Pós-Morte (IPM), ou seja, o tempo decorrido desde a morte até o achado do corpo, por meio dos insetos, é geralmente baseada em dois dados entomológicos: as taxas de desenvolvimento das larvas ou nos padrões de sucessão dos insetos (Villet & Amendt 2011). Cada uma das utilizações será mais precisa em determinados momentos, sendo a idade dos espécimes imaturos coletados nos cadáveres mais precisa para estabelecer o limite mínimo de IPM, e a análise do padrão de colonização dos insetos, juntamente ao processo de sucessão ecológica sobre um corpo, para o limite máximo do IPM (Catts & Goff 1992, Bajerlein *et al* 2018).

Dentre a fauna de insetos visitantes de carcaça, duas ordens são muito importantes e são sempre citadas em trabalhos como as mais representativas: Diptera e Coleoptera (Smith 1986, Goff & Lord 1994, Pujol-Luz *et al* 2008a). A ordem Diptera, representada pelas moscas, é considerada a de maior relevância para a entomologia forense, devido ao fato de ser a primeira a localizar e colonizar um cadáver em decomposição (Smith 1986, Goff & Lord 1994). Dentro desta ordem, as famílias que são comumente utilizadas devido à alta ocorrência em corpos em putrefação estão

Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae, seguindo esta ordem de importância (Greenberg, 1985).

A família Calliphoridae, cujos os representantes são conhecidos comumente como moscas varejeiras, é a mais utilizada como vestígio entomológico nas investigações criminais, pois são os primeiros colonizadores pós-morte do corpo (Smith 1986, Wall & Warnes 1994, Goff & Lord 1994), principalmente devido ao seu olfato aguçado (Erzinçlioglu 1996, Gomes *et al* 2007). Esta rapidez na colonização faz com que as estimativas do IPM se tornem mais precisas, uma vez que a colonização ocorreu logo após a morte (Carvalho & Linhares, 2001). A família Sarcophagidae é outro grupo que possui relevância na entomologia forense, sendo a segunda família de moscas de maior importância forense (Byrd & Castner, 2010). Além destes dois grupos, a família Muscidae também é muito utilizada como uma evidência entomológica no processo de investigação, possuindo vasta distribuição geográfica, e sendo considerada a terceira família de Diptera de maior importância para a entomologia forense (Byrd & Castner 2010).

Já a ordem Coleoptera é considerada a segunda de maior importância dentro da entomologia forense, servindo também de vestígios entomológicos para responder diversas questões, auxiliando nas perícias criminais (Pujol-Luz *et al* 2008a). Os besouros apresentam diversos hábitos alimentares, podendo ser necrófagos, predadores e onívoros, sendo encontrados em quase todos os tipos de ambiente (Borror & DeLong 1988). Algumas famílias de predadores, como Histeridae e Staphylinidae, chegam pouco tempo após a morte, a fim de se alimentar de imaturos e adultos de outros insetos, principalmente de dípteros (Kulshrestha & Satpathy 2001). Outros representantes de coleópteros, como Dermestidae, evitam a competição interespecífica e colonizam a carcaça nos estágios mais avançados, se alimentando dos tecidos em decomposição mais desidratados (Smith 1986, Kulshrestha & Satpathy 2001).

Cada um dos grupos de insetos de interesse forense pode apresentar preferência por determinada fase de decomposição, na qual cada uma irá proporcionar condições ideais para seu desenvolvimento, observando assim um padrão de ocorrência das espécies, que é conhecido como sucessão ecológica (Smith 1986). Os padrões de ocorrência e recorrência dos insetos em uma carcaça em decomposição podem ser úteis para a estimativa do IPM, pois esta sucessão dos táxons de insetos indica em qual momento da decomposição ocorreu determinada colonização, podendo, desta forma, se

basear nos táxons que colonizam a carcaça nas fases iniciais ou finais da decomposição (Matuszewski *et al* 2010, Bajerlein *et al* 2018).

Entretanto, alguns fatores podem alterar os padrões de colonização dos insetos e a decomposição da carcaça, como por exemplo a contaminação por qualquer tipo de substância tóxica (Zou *et al* 2013). Neste sentido, uma subárea da entomologia forense, a entomotoxicologia, vem estudando a utilização dos insetos necrófagos na análise toxicológica com o propósito de detectar e identificar drogas e toxinas presentes em tecido de cadáveres (Goff & Lord 1994). Por meio destes vestígios é possível inferir sobre as possíveis causas da morte, uma vez que as pistas entomológicas podem ser as únicas evidências viáveis em uma cena de crime para análises toxicológicas (Nolte *et al* 1992). Além disso, a entomotoxicologia também investiga o efeito causado por substâncias tóxicas ingeridas pelos insetos no cadáver, no desenvolvimento destes artrópodes para aumentar a precisão na estimativa do tempo de morte (Introna *et al* 2001, Zou *et al* 2013).

O crescente número de casos de mortes relacionadas ao consumo acidental ou proposital de drogas, venenos ou de outras substâncias tóxicas (Introna *et al* 2001) e o aumento no número de casos de achados de corpos em plantações na tentativa de ocultação de cadáver (Campo Grande News 2018, G1 Piracicaba e Região 2018, G1 Triângulo Mineiro 2018), torna este novo ramo da entomologia forense relevante para as investigações criminais, principalmente a fim de avaliar o efeito de inseticidas, pesticidas e outros agrotóxicos em insetos de interesse forense.

Alguns trabalhos avaliaram as taxas de mortalidade, padrões morfológicos e químicos de besouros de importância agrícola sobre os efeitos da contaminação por substâncias como Tiametoxam (Golic *et al* 2016, Di Ilio *et al* 2018), Clotianidina (Di Ilio *et al* 2018), Deltametrina e Bifentrina (Golic *et al* 2016). Entretanto, no campo da entomologia forense apenas duas substâncias, o pesticida Paration (Wolff *et al* 2004) e o inseticida Malation (Yan-Wei *et al* 2010), já foram testadas sobre as taxas de desenvolvimento, bem como na sucessão faunística de moscas e besouros em carcaças de suínos. Dados como estes apontam a importância de novos estudos utilizando substâncias tóxicas como os defensivos agrícolas, sendo necessário considerar o efeito destas substâncias presentes em corpos em decomposição ao estimar o IPM com base em evidências entomológicas.

Revisão Bibliográfica

Entomologia Forense

A Entomologia Forense utiliza informações sobre a biologia e comportamento de insetos a fim de serem empregadas em processos investigativos, auxiliando a responder questões do âmbito judicial como a natureza da morte, uso de entorpecentes, danos em bens ou imóveis, contaminação de materiais ou produtos estocados, além de vários outros casos que se apresentam à investigação (Oliveira-Costa 2013).

O uso da entomologia forense foi negligenciado durante décadas após sua primeira utilização em processos criminais, realizada pelo médico francês Bergeret (1855), estimando pela primeira vez o tempo decorrido desde a morte até o achado do corpo, conhecido como Intervalo Pós-Morte (IPM). O primeiro livro sobre o tema foi publicado apenas 40 anos após este acontecimento, por de Mégnin (1894), intitulado “La faune de cadavres”. Neste livro, Mégnin incluiu descrições dos insetos, fundamentação teórica sobre o assunto e relatos de casos reais estudados por ele e colaboradores. Ao longo de um pouco mais de cem anos a entomologia forense evoluiu com base nas observações de autores de distintos países, contribuindo assim para a abordagem atualmente empregada. Após isso, Leclercq publicou seu livro “Entomology Patology” em 1969, seguido por Smith (1986), publicando “A Manual of Forensic Entomology” (Pujol-Luz *et al* 2008a).

No Brasil, a entomologia forense teve início em 1908 com os trabalhos de Edgard Roquete Pinto e Oscar Freire, que estudaram a fauna de insetos necrófagos que ocorrem em área de Mata Atlântica (Pujol-Luz *et al* 2008a). Outros trabalhos surgiram após este (Lüderwaldt 1911, Pessôa 1941), descrevendo a fauna de escarabeídeos necrófagos do estado de São Paulo (Pujol-Luz *et al* 2008a). Apenas nos anos 2000, foi publicado o primeiro livro no Brasil, de Janyra Oliveira-Costa em 2003, que compilou as informações sobre a entomologia forense, contribuindo principalmente para a utilização deste conhecimento por pesquisadores e peritos criminais. Em seguida, Miranda *et al* (2006) publicaram um manual de coleta de amostras de insetos em locais de crimes.

Como abordado anteriormente e também descrito por Oliveira-Costa (2013), a Entomologia Médico Legal baseia-se e utiliza dados entomológicos para auxiliar investigações criminais baseando-se na biologia e desenvolvimento dos insetos necrófagos que utilizam a carcaça como fonte de alimento e reprodução. De acordo com Mendes & Linhares (1993) os insetos necrófagos necessitam da matéria orgânica em

decomposição de cadáveres, pois seus imaturos e adultos utilizam este recurso para alimentação e desenvolvimento, como fonte de proteína para maturação dos ovários de fêmeas adultas e também para oviposição.

A ordem Diptera é considerada a mais atuante, uma vez que apresenta uma participação significativa no processo de decomposição, sendo, portanto, de maior importância para a Entomologia Forense (Smith 1986). Outro grupo que também se destaca é Coleoptera, considerada a segunda ordem de maior importância para as investigações e para o processo de decomposição, possuindo representantes necrófagos e que geralmente são encontrados nas últimas fases de decomposição (Mise *et al* 2007).

De forma geral, durante a colonização das carcaças ocorre um processo de sucessão entomológica, na qual as espécies associadas ao processo de decomposição são substituídas ou aumentam de acordo com as fases de putrefação, pois é possível que cada etapa apresente condições ideais para o desenvolvimento de uma determinada espécie (Oliveira-Costa 2013). Assim, é possível inferir por meio de uma relação entre as fases de decomposição e as espécies que nela ocorrem, a quanto tempo o corpo se encontra exposto em um dado local (Oliveira-Costa 2013).

Entretanto, para que todos os dados obtidos por meio dos insetos sejam úteis é necessário conhecer outras informações, relacionadas a sua distribuição geográfica, sazonalidade e outros parâmetros comportamentais, que possam auxiliar principalmente na determinação do IPM (Benecke 1998, Benecke & Lessig 2001).

Relatos de caso

A interação entre a academia e a polícia até o ano de 2008 havia sido pouco relatada, com poucas publicações de estudos de casos reais no Brasil (Pujol-Luz *et al* 2008a). Estudos como estes, que demonstram a interação dos trabalhos acadêmicos com a realidade da demanda da polícia judiciária, são de extrema importância para a consolidação da Entomologia Forense. Apesar de ainda serem escassos, atualmente é possível encontrar relatos de casos em diversas regiões do Brasil (Oliveira-Costa & Mello-Patiu 2004, Andrade *et al* 2005, Pujol-Luz *et al* 2006, Pujol-Luz *et al* 2008b, Kosmann *et al* 2011, Vasconcelos *et al* 2014, Vairo *et al* 2015, Thyssen *et al* 2018).

A região sudeste do Brasil apresenta uma sólida relação entre a polícia e a academia, consolidada principalmente pelas pesquisadoras Patrícia Thyssen no estado de São Paulo, por Janyra Oliveira-Costa no estado do Rio de Janeiro e também por Cecília Kosmann em Minas Gerais. Em trabalho publicado por Oliveira-Costa & Mello-

Patiu (2004), foi possível estimar o IPM utilizando os dados de desenvolvimento da espécie *Chrysomya megacephala* coletada em cadáver, auxiliando assim as investigações. Já em Minas Gerais, Kosmann *et al* (2011) conseguiram estimar o IPM e relataram pela primeira vez o uso de *Hemilucilia segmentaria* em um caso forense. Além destes, Thyssen *et al* (2018), publicaram um relato descrevendo 5 casos distintos que ocorreram em São Paulo, nos quais foi possível inferir sobre a natureza da morte, o autor do crime e a associação de suspeitos ao ato criminoso, baseado na idade de larvas de Diptera e em seu comportamento.

Pesquisas apontam o uso da entomologia forense para a região Norte (Pujol-Luz *et al* 2006, Pujol-Luz *et al* 2008b) e Sul (Vairo *et al* 2015) do Brasil. Trabalhos realizados por Pujol-Luz *et al* (2006, 2008b), demonstram a utilização da entomologia como ferramenta auxiliar em investigações criminais. Em ambos os casos, os dados entomológicos foram utilizados para a estimativa do IPM, porém utilizando espécies de moscas diferentes, sendo em um dos casos *Paralucilia fulvinota* e em outro *Hermetia illucens*. Em contrapartida, Vairo *et al* (2015) utilizaram pela primeira vez na região Sul dados entomológicos de duas espécies diferentes para estimar um IPM mais preciso em um caso no Paraná, utilizando *Chrysomya albiceps* e *Sarconesia chlorogaster*, sendo esta última endêmica do Sul do Brasil.

Em adição a isso, Vasconcelos *et al* (2014) descreveram a colonização de múltiplas espécies em cadáver humano em Pernambuco, região Nordeste do Brasil. Estes autores relataram as primeiras evidências do uso de cadáveres humanos como substrato para desenvolvimento das espécies *Fannia trimaculata* e *Peckia (Peckia) chrysostoma*, relatando também pela primeira vez a colonização em cadáveres por *Chrysomya putoria* e *Megaselia scalaris* no nordeste brasileiro. Ainda nesta mesma região, Andrade *et al* (2005) relataram a colonização de diversas espécies de importância forense, da família Calliphoridae, em cadáveres humanos no estado do Rio Grande do Norte.

Apesar de diversos relatos de caso, o Brasil ainda carece de trabalhos demonstrando a interação dos trabalhos acadêmicos realizados nas universidades com a realidade da demanda da polícia científica, principalmente para a região Centro-Oeste, onde ainda não há registros publicados do uso da entomologia forense auxiliando em casos criminais. Além disso, são necessários trabalhos apontando o uso de dados entomológicos como vestígios em análises toxicológicas ou até mesmo avaliando os

efeitos de substâncias tóxicas em insetos de importância forense e suas implicações para as investigações criminais, no Brasil.

Entomotoxicologia

A entomotoxicologia é um ramo relativamente novo da entomologia forense que lida com a determinação qualitativa ou quantitativa de substância (metais, drogas ilícitas, fármacos, defensivos agrícolas e outros) presentes em insetos (imaturos e adultos) que se alimentaram de restos humanos (Gagliano-Candela & Aventaggiato 2001). Sabe-se que há inúmeras técnicas e metodologias para a análise toxicológica, porém muitas vezes podem existir algumas dificuldades para aquisição de amostras, e assim os insetos cada vez mais estão sendo utilizados como recurso alternativo para estas análises (Kintz *et al* 1990, Pounder 1991).

Nas últimas décadas, tem sido registrado um aumento do número de casos de morte devido ao consumo de drogas em vários países (Introna *et al*,2001). Kintz *et al* (1990) demonstraram o potencial da entomotoxicologia quando avaliaram amostras de tecidos humanos (coração, pulmão, fígado e rim), bem como de larvas de califórídeos, e encontraram a presença de benzodiazepínicos, barbitúricos e outros antidepressivos em todas as amostras, incluindo as entomológicas.

Vários estudos para determinar o potencial dos insetos como forma alternativa para análise toxicológica mostraram resultados positivos, principalmente em casos nos quais só havia restos de tecidos ou o corpo estava esqueletizado (Oliveira-Costa 2013). A substância tóxica pode ser detectada na larva quando a taxa de absorção excede a taxa de excreção, mas não é bem conhecido exatamente como as larvas bioacumulam ou eliminam tais substâncias e como isso afeta o desenvolvimento larval (Introna *et al* 2001). O efeito das drogas e outros produtos tóxicos sobre a taxa de desenvolvimento de insetos de importância forense é um parâmetro que deve ser tomado antes da estimativa do IPM por meio de dados entomológicos (Oliveira-Costa 2013). Para Campobasso *et al* (2004), a substância distribuída nos tecidos humanos pode alterar a taxa metabólica dos imaturos de moscas, o que pode levar a diferentes padrões de distribuição capazes de gerar diferenças na fisiologia e, conseqüentemente no metabolismo destes insetos. Por exemplo, Goff *et al* (1991) demonstraram que larvas de moscas da família Sarcophagidae que se desenvolveram em fígado de coelhos contendo doses de cocaína, apresentam sua taxa de desenvolvimento acelerado.

De fato, vários estudos já demonstraram a alteração no processo de desenvolvimento e crescimento das moscas quando expostas a diferentes concentrações de drogas ou outras substâncias e que isto pode afetar a estimativa do IPM (Goff *et al* 1989, Goff *et al* 1991, Goff *et al* 1992, Goff *et al* 1997, Bourel *et al* 1999). Tais resultados demonstram que o efeito de substâncias químicas sobre a taxa de desenvolvimento de moscas, por exemplo, é uma questão fundamental para a estimativa IPM (Yan-Wei *et al* 2010).

Ainda quanto à contaminação por substâncias químicas, Wolff *et al* (2004), avaliaram qualitativamente a presença do pesticida Paration em insetos necrófagos coletados em carcaças de coelhos, conseguindo detectar o pesticida em várias espécies de insetos que as visitaram e constaram ainda que o Paration causou efeitos na atratividade destes animais necrófagos, repelindo-os da região oral, sendo um fator importante uma vez que normalmente os dípteros ovipõem nas cavidades naturais do corpo (Oliveira-Costa 2013).

Gunatilake & Goff (1989) encontraram diferenças nas taxas de oviposição e no padrão sucessional dos insetos que se alimentaram de carcaças contendo o inseticida Malation. Yan-Wei *et al* (2010) pesquisaram o efeito do Malation em carcaças de coelhos em condições naturais e constataram que o inseticida alterou as taxas de decomposição e a diversidade de espécies de insetos, além disso também encontraram diferenças na taxa de desenvolvimento suficientes para alterar as estimativas do IPM com base no desenvolvimento de larvas.

Os besouros também podem sofrer com a ação de inseticidas, porém, sendo principalmente demonstrada em trabalhos com espécies de importância agrícola. Müller *et al* (2017) encontraram alterações distintas nos perfis químicos de machos e fêmeas de adultos de *Phaedon cochleariae*, além de assimetria nas antenas das fêmeas da prole, tratados com doses subletais do inseticida lambda-cialotrina. Já Di Ilio *et al* (2018) demonstraram que a ação dos inseticidas tiametoxam e clotianidina é dependente das concentrações, apresentando taxas de mortalidade distintas em ovos e adultos de uma espécie de Curculionidae.

Estes dados mostram a importância de novos estudos utilizando substâncias tóxicas, como inseticidas, especialmente em grupos de interesse forense, sendo necessário considerar o efeito de inseticidas presentes em corpos em decomposição ao estimar o IPM com base em evidências entomológicas (Yan-Wei *et al* 2010).

Objetivos

O capítulo I teve como objetivo avaliar se a aplicação do inseticida tiametoxam em carcaças de suínos (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) influenciará os parâmetros utilizados nas investigações criminais como o tempo de decomposição, composição e colonização faunística. Além disso, o objetivo do capítulo II foi demonstrar o potencial uso de evidências entomológicas para elucidar casos reais na região centro-oeste do Brasil.

Hipóteses

A hipótese levantada no capítulo I é que a contaminação com tiametoxam em cadáveres ocultados em plantações de cana-de-açúcar irá influenciar os parâmetros apresentados pelos insetos como abundância, riqueza e composição, que utilizados em investigações criminais.

A hipótese testada para o capítulo II é a de o cálculo do IPM pode ser realizado utilizando moscas coletadas em cadáveres localizados em ambientes de difícil acesso pelos insetos, além de terem potencial para elucidar outras questões de âmbito criminal.

Referências Bibliográficas

- Andrade HT, Varela-Freire AA, Batista MA, Medeiros JF (2005) Calliphoridae (Diptera) coletados em cadáveres humanos no Rio Grande do Norte. *Neotrop Entomol* 34(5): 855-856. doi: 10.1590/S1519-566X2005000500021
- Bajerlein D, Taberski D, Matuszewski, S (2018) Estimation of postmortem interval (PMI) based on empty puparia of *Phormia regina* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and third larval stage of *Necrodes littoralis* (L.) (Coleoptera: Silphidae) – Advantages of using different PMI indicators. *J Forensic Leg Med* 55: 95-98. doi: 10.1016/j.jflm.2018.02.008
- Benecke M (1998) Six forensic entomology cases: description and commentary. *J Foren Sci* 43(4): 797-805. doi: 10.1520/JFS14309J
- Benecke M, Lessig R (2001) Child neglect and forensic entomology. *Foren Sci Int*, 120(1-2): 155-159. doi: 10.1016/S0379-0738(01)00424-8
- Bergeret M (1855) Infanticide. Momification naturelle du cadavre. *Annales d'Hygiène Publique et de Médecine Légale* 4: 442–452.
- Borrer, DJ, DeLong DM (1988) Introdução ao estudo dos insetos. 1 Edição. Edgard Blucher. São Paulo, p 653.

Bourel B, Hédouin V, Martin-Bouyer L, Bécart A, Tournel G, Deveaux M, Gosset D (1999) Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). J Foren Sci 44(2): 354-358. doi: 10.1520/JFS14463J

Byrd JH, Castner JL (2010) Insects of forensic importance. Byrd y Castner (Eds.). Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. Second edition. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. doi: 10.1201/9781420036947

Campo Grande News (2018). *Moradora da reserva indígena é encontrada morta em milharal na Panambizinho.* <https://www.campograndenews.com.br/cidades/interior/moradora-da-reserva-indigena-e-encontrada-morta-em-milharal-na-panambizinho>. Acesso em 06 de fev de 2019.

Campobasso CP, Disney RHL, Introna F (2004) A case of *Megaselia scalaris* (Loew)(Dipt., Phoridae) breeding in a human corpse. Aggs Int J Foren Med Tox, 5(1): 3-5.

Carvalho LML, Linhares AX (2001) Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastern Brazil. J Forensic Sci 46(3): 604-608. doi: 10.1520/JFS15011J

Catts EP, Goff ML (1992) Forensic entomology in criminal investigations. Annu Rev Entomol., 37(1): 253-272. doi: 10.1146/annurev.en.37.010192.001345

Di Ilio V, Metwaly N, Saccardo F, Caprio E (2018) Adult And Egg Mortality of *Rhynchophorus ferrugineus* Oliver (Coleoptera: Curculionidae) Induced By Thiamethoxam And Clothianidin. J Agric Vet Sci 11: 59-67. doi: 10.9790/2380-1102025967

Erzinçlioglu Z (1996) Blowflies. The Richmond Publishing Co. Ltd., Slough, United Kingdom.

G1 Piracicaba e Região (2018) Homem de 22 anos é encontrado morto em canalial de Santa Bárbara d'Oeste. <https://g1.globo.com/sp/piracicaba-regiao/noticia/2018/10/13/homem-de-22-anos-e-encontrado-morto-em-canavial-de-santa-barbara-doeste.ghtml>. Acesso em 06 de fev de 2019.

G1 Triângulo Mineiro (2018) Corpo de idoso desaparecido é encontrado em canalial na cidade de Delta. <https://g1.globo.com/mg/triangulo-mineiro/noticia/2018/12/17/corpo-de-idoso-desaparecido-e-encontrado-em-canavial-na-cidade-de-delta.ghtml>. Acesso em 06 de fev de 2019.

Gagliano-Candela R, Aventaggiato L (2001) The detection of toxic substances in entomological specimens. Int J Legal Med 114(4-5): 197-203. doi: 10.1007/s004140000

- Goff ML (2000) A fly for the prosecution: how insect evidence helps solve crimes. Harvard University Press, Cambridge, MA, pp 225
- Goff ML, Brown WA, Hewadikaram KA, Omori AI (1991) Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera, Sarcophagidae) and implications of this effect on estimation of postmortem intervals using arthropod development patterns. J Forensic Sci 36(2): 537-542. doi: 10.1520/JFS13055J
- Goff ML, Brown WA, Omori AI (1992) Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on the estimations of postmortem intervals. J Forensic Sci 37(3): 867-872. doi: 10.1520/JFS11999J
- Goff ML, Lord WD (1994) Entomotoxicology. A new area for forensic investigation. Am J Forensic Med Path 15(1): 51-57.
- Goff ML, Miller ML, Paulson JD, Lord WD, Richards E, Omori AI (1997) Effects of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver tissue, larvae, and puparia. J Forensic Sci 42(2): 276-280. doi: 10.1520/JFS14110J
- Goff ML, Omori AI, Goodbrod JR (1989) Effect of cocaine in tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). J Med Entomol 26(2): 91-93. doi: 10.1093/jmedent/26.2.91
- Golić MP, Andrić G, Kljajić P (2016) Combined effects of contact insecticides and 50° C temperature on *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) in wheat grain. J Stored Prod Res 69: 245-251. doi: 10.1016/j.jspr.2016.09.004
- Gomes, L., Gomes, G., Casarin, F. E., Silva, I. M. D., Sanches, M. R., Von Zuben, C. J., Fowler HG (2007) Visual and olfactory factors interaction in resource-location by the blowfly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius)(Diptera: Calliphoridae), in natural conditions. Neotrop Entomol 36(5): 633-639. doi: 10.1590/S1519-566X2007000500001
- Greenberg B (1985) Forensic entomology: case studies. Am Entomol 31(4): 25-28. doi: 10.1093/besa/31.4.25
- Gunatilake K, Goff ML (1989) Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae. J Forensic Sci 34(3): 714-716. doi: 10.1520/JFS12698J

- Hall RD (1990) Medicocriminal entomology. Entomology and death: a procedural guide. Joyce's Print Shop, Clemson, SC, p 1-8
- Introna F, Campobasso CP, Goff ML (2001) Entomotoxicology. Foren Sci Int 120(1): 42-47. doi: 10.1016/S0379-0738(01)00418-2
- Keh B (1985) Scope and applications of forensic entomology. Annu Rev Entomol 30(1): 137-154. doi: 10.1146/annurev.en.30.010185.001033
- Kintz P, Tracqui A, Ludes B, Waller J, Boukhabza A, Mangin P, Lugnier AA, Chaumont AJ (1990) Fly larvae and their relevance in forensic toxicology. Am J Forenc Med Path 11(1): 63-65.
- Kosmann C, Macedo MP, Barbosa TAF, Pujol-Luz JR (2011) *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) and *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) used to estimate the postmortem interval in a forensic case in Minas Gerais, Brazil. Rev Bras Entomol 55(4): 621-623. doi: 10.1590/S0085-56262011000400022
- Kulshrestha P, Satpathy DK (2001) Use of beetles in forensic entomology. Forensic Sci Int 120(1-2): 15-17. doi: 10.1016/S0379-0738(01)00410-8
- Leclercq M (1969) Entomological Parasitology. The Relations between Entomology and the Medical Sciences. New York, Pergamon, p 158.
- Lüderwaldt G (1911) Os insetos necrófagos paulistas. Revista do Museu Paulista 8: 414-433.
- Matuszewski S, Bajerlein D, Konwerski S, Szpila K (2010) Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 2: composition and residency patterns of carrion fauna. Foren Sci Int 195(1-3): 42-51. doi: 0.1016/j.forsciint.2009.11.007
- Mégnin J (1894) La faune des cadavres: application del'entomologie a la medecine legale. Encyclopedie Scientifique des Aides Memoires. Masson et Gauthiers-Villars, Paris, p 214.
- Mendes J, Linhares AX (1993) Atratividade por iscas e estágios de desenvolvimento ovariano em várias espécies sinantrópicas de Calliphoridae (Diptera). Rev Bras Entomol 37(1): 157-166.
- Miranda G, Jacques G, Almeida MP, Silva MSB (2006) Coleta de amostras de insetos para fins forenses. Brasília, Ministério da Justiça, iv + p 11
- Mise KM, Almeida LD, Moura MO (2007) Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. Rev Bras Entomol 51(3): 358-368. doi: 10.1590/S0085-56262007000300014

- Müller T, Prosche A, Müller C (2017) Sublethal insecticide exposure affects reproduction, chemical phenotype as well as offspring development and antennae symmetry of a leaf beetle. *Environ Pollut* 230: 709-717. doi: 10.1016/j.envpol.2017.07.018
- Nolte KB, Pinder RD, Lord WD (1992) Insect larvae used to detect cocaine poisoning in a decomposed body. *J Foren Sci* 37(4): 1179-1185. doi: 10.1520/JFS13304J
- Oliveira-Costa J (2003) *Entomologia forense: quando os insetos são vestígios*. 1rd ed, Millennium, p 257.
- Oliveira-Costa J, Mello-Patiu CA (2004) Application of forensic entomology to estimate of the postmortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police Department in Brazil. *Agg Int J Foren Med Tox* 5(1): 40-44.
- Oliveira-Costa, J. (2013). *Entomologia forense: quando os insetos são vestígios*, 3rd ed, Millenium, São Paulo.
- Pessôa SB (1941) *Coleópteros necrófagos de interêsse médico-legal; ensáio monográfico sôbre a família Scarabaeidae de S. Paulo e regiões vizinhas (Vol. 2)*. Imprensa oficial do Estado.
- Pounder DJ (1991) Forensic entomo-toxicology. *J Foren Sci Soc* 31(4): 469-472. doi: 10.1016/S0015-7368(91)73189-7
- Pujol-Luz JR, Arantes LC, Constantino R (2008a) Cem anos da entomologia forense no Brasil (1908-2008). *Rev Bras Entomol* 52(4): 485-492. doi: 10.1590/S0085-56262008000400001
- Pujol-Luz JR, Francez PADC, Ururahy-Rodrigues A, Constantino R (2008b) The Black Soldier-fly, *Hermetia illucens* (Diptera, Stratiomyidae), Used to Estimate the Postmortem Interval in a Case in Amapá State, Brazil. *J Foren Sci* 53(2): 476-478. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00659.x
- Pujol-Luz JR, Marques H, Ururahy-Rodrigues A, Rafael JA, Santana FH, Arantes LC, Constantino R (2006) A forensic entomology case from the Amazon rain forest of Brazil. *J Foren Sci* 51(5): 1151-1153. doi: 10.1111/j.1556-4029.2006.00217.x
- Ruppert EE, Barnes RD (1996) *Zoologia de Invertebrados*. 6ª ED. Ed. Rocca LTDA. Cap. 16, p 803.
- Smith KGV (1986) *A Manual of Forensic Entomology*. London/Ithaca, NY: British Museum (Natural History).

- Thyssen PJ, Aquino MF, Purgato NC, Martins E, Costa AA, Lima CG, Dias CR (2018) Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil. *J Foren Sci Res* 2: 1-8. doi: 10.29328/journal.jfsr.1001013
- Vairo KP, Corrêa RC, Lecheta MC, Caneparo MF, Mise KM, Preti D, Carvalho CJB, Almeida LM, Moura MO (2015). Forensic use of a subtropical blowfly: the first case indicating minimum postmortem interval (mPMI) in southern Brazil and first record of *Sarconesia chlorogaster* from a human corpse. *J Foren Sci* 60: S257-S260. doi: 10.1111/1556-4029.12596
- Vasconcelos SD, Soares TF, Costa DL (2014) Multiple colonization of a cadaver by insects in an indoor environment: first record of *Fannia trimaculata* (Diptera: Fanniidae) and *Peckia (Peckia) chrysostoma* (Sarcophagidae) as colonizers of a human corpse. *Int J Legal Med* 128(1): 229-233. doi: 10.1007/s00414-013-0936-2
- Villet MH, Amendt J (2011) Advances in entomological methods for death time estimation. *Forensic Pathol Rev* . Humana Press, pp 213-237
- Wall R, Warnes ML (1994) Responses of the sheep blowfly *Lucilia sericata* to carrion odour and carbon dioxide. *Entomol Exp Appl* 73(3): 239-246. doi: 10.1111/j.1570-7458.1994.tb01861.x
- Wolff M, Builes A, Zapata G, Morales G, Benecke M (2004) Detection of Parathion (O, O diethyl O (4-nitrophenyl) Phosphorothioate) by HPLC in insect of Forensic importance in Medellin Colombia. *Ann Aggr Int J Foren Med Tox* 5: 6-11.
- Yan-Wei S, Xiao-Shan L, Hai-Yang W, Run-Jie Z (2010) Effects of malathion on the insect succession and the development of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in the field and implications for estimating postmortem interval. *Am J Foren Med Path* 31(1): 46-51. doi: 10.1097/PAF.0b013e3181c215b4
- Zou Y, Huang M, Huang R, Wu X, You Z, Lin J, Huang X, Qiu X, Zhang S (2013) Effect of ketamine on the development of *Lucilia sericata* (Meigen)(Diptera: Calliphoridae) and preliminary pathological observation of larvae. *Foren Sci Int* 226(1-3): 273-281. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.01.042

CAPÍTULO I

Efeito do tiametoxam em insetos de interesse forense: implicações na decomposição de carcaças de suínos

ADMM Eulalio^{a,b}, MC Paula^{b,c}, ACS Brum^b, KB Michelutti^{b,c}, FC Oliveira^{a,b}, SE Lima-Junior^c, CAL Cardoso^c, WF Antonialli-Junior^{a,b,c}

^aPrograma de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil; ^bCentro de Estudos em Recursos Naturais, Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, MS, Brazil; ^cCentro de Estudos em Recursos Naturais, Laboratório de Análise Instrumental, Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, MS, Brazil.

Resumo

A entomofauna associada a carcaças em decomposição pode ser útil em investigações criminais, seja por meio do desenvolvimento dos imaturos de moscas e besouros ou da sucessão entomológica em cadáveres. Estes fatores podem variar caso os insetos entrem em contato com substâncias tóxicas, que devem ser levadas em consideração no momento das investigações. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da aplicação do inseticida tiametoxam no padrão esperado de decomposição e de colonização de moscas e besouros em carcaças de suínos. O experimento foi realizado em Dourados - MS, Brasil, em plantação de cana-de-açúcar próxima a Fazenda Experimental de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (FAECA-UFGD), durante a estação quente/úmida, de dezembro de 2017 a maio 2018. Para tanto, foram utilizados suínos contaminados com inseticida tiametoxam, os quais foram denominados de grupo contaminado, além de suínos não contaminados, os quais compreendem o grupo controle. Foram coletados e identificados 2872 indivíduos, 18 espécies e morfospécies de dípteros e 17 espécies e morfospécies de coleópteros. A composição de espécies do grupo contaminado foi estatisticamente diferente do controle ($p= 0,031$). O tempo de decomposição no grupo contaminado foi significativamente maior, provavelmente por conta desta substância interferir na ação e desenvolvimento dos insetos que agem sobre a carcaça. Portanto, nossos resultados mostram que caso um cadáver seja contaminado com este inseticida, a ação de insetos de interesse forense será alterada levando a mudanças significativas de colonização e decomposição da carcaça, causando efeito direto sobre as investigações criminais.

Palavras-chave: Entomotoxicologia; Intervalo Pós-Morte; Monocultura; Entomofauna; Inseticida; Neonicotinóide.

Effect of thiamethoxam on forensic interest insects: implications on pig carcasses decomposition

Abstract

The entomofauna associated with decaying carcasses may be useful in criminal investigations, either through the development of immature flies and beetles or entomological succession in corpses. These factors may vary if insects come into contact with toxic substances, which should be taken into account at the time of the investigations. In this sense, the objective of this study was to evaluate the effects of the insecticide thiamethoxam on the expected pattern of decomposition and colonization of flies and beetles in pig carcasses, placed in a monoculture. The experiment was carried out in a sugarcane plantation near the Fazenda Experimental de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (FAECA-UFGD) in Dourados, MS, Brazil, using swine contaminated with insecticide thiamethoxam and a control group. Were collected and identified 2872 individuals belonging to 35 taxa, being 18 Diptera and 17 Coleoptera. The composition of species in the contaminated and control carcasses were significantly different ($p= 0,031$). However, species richness did not show differences between treatments. The time of decomposition in contaminated carcasses was significantly higher due to the action of thiamethoxam in insects, which compromises the nervous system and prevents individuals from developing or performing other vital functions to their life cycle. Through the results, it can be inferred that the neonicotinoid insecticide thiamethoxam has toxic effects on flies and beetles, mainly altering their abundance, composition and colonization in carcasses, important factors for criminal investigations.

Keywords: Entomotoxicology; Postmortem Interval; Monoculture; Entomofauna; Insecticide; Neonicotinoid.

1. Introdução

A fauna entomológica associada a carcaças em decomposição é diversa e estes insetos buscam neste recurso fontes essenciais para o seu desenvolvimento e reprodução (Santos 2014). Normalmente os insetos são classificados de acordo com seus hábitos alimentares, podendo ser predadores, necrófagos, onívoros e acidentais (Keh 1985, Daly *et al* 1998).

As moscas são consideradas como o grupo de maior importância para a entomologia forense, pois suas atividades têm muita relevância no processo de decomposição (Mann *et al* 1990). Isto porque geralmente elas são as primeiras a localizar e utilizar matéria em decomposição para seu desenvolvimento, seja para a maturação de seus ovários ou como sítio de oviposição/larviposição (Goff & Lord 1994). Já Coleoptera é a segunda ordem mais frequente e abundante em carcaças, sendo importante principalmente durante os estágios finais da decomposição (Smith 1986, Kulshrestha & Satpathy 2001), podendo ocorrer também no início da colonização a fim de preda outros insetos (Castro *et al* 2013).

A preferência apresentada por alguns grupos de insetos por estágios específicos da decomposição leva a uma sucessão dos grupos de insetos que pode ser útil para a determinação do Intervalo Pós Morte (IPM), pois cada grupo apresenta padrões de ocorrência e recorrência em uma carcaça em decomposição que podem ser similares em relação ao número de intervalos de recorrência, mas sempre ocorrendo em momentos diferentes da decomposição (Matuszewski *et al* 2010). Além disso, outros fatores são importantes e úteis para as investigações criminais, como a ocorrência, abundância e repetibilidade de um táxon usado para se estimar o IPM, que podem sofrer alterações devido à sazonalidade em que foi encontrada, ao estágio de decomposição ou de acordo com outro estado particular da carcaça (Matuszewski *et al* 2010).

Por outro lado, carcaças que possam estar contaminadas por qualquer tipo de substância tóxica possivelmente terão os padrões utilizados nas investigações criminais alterados (Zou *et al* 2013, Trivia & Carvalho-Pinto 2018). O efeito de substâncias tóxicas sobre a taxa de desenvolvimento de moscas e besouros, por exemplo, é uma questão fundamental para a estimativa do IPM (Yan-Wei *et al* 2010). Foi demonstrado por Carvalho (2004) que substâncias como diazepam, cocaína, anfepramona e maconha podem acelerar o crescimento e/ou o ganho de peso de larvas de moscas, em relação ao controle. Já a droga conhecida como “ecstasy”,

mesmo em baixas concentrações, pode retardar o desenvolvimento dos imaturos de espécies de moscas utilizadas na entomologia forense (Goff *et al* 1997). Portanto, se a presença de drogas ou toxinas não for considerada, é possível que ocorram erros na estimativa do IPM (Yan-Wei *et al* 2010).

O estudo dos efeitos e da detecção de substâncias tóxicas em amostras entomológicas é um novo ramo da medicina forense, conhecida como entomotoxicologia, e tem se tornado cada vez mais relevante, devido ao crescente número de casos de morte, ainda mais ligados ao consumo acidental ou proposital de venenos ou substâncias tóxicas (Introna *et al* 2001). Esta é uma subárea da entomologia forense que estuda a aplicação dos insetos necrófagos na análise toxicológica a fim de identificar drogas e toxinas presentes em um tecido (Introna *et al* 2001).

Além de drogas ilícitas, a entomotoxicologia também considera o efeito da contaminação de cadáveres e carcaças por outras substâncias, como inseticidas, visto que há casos documentados de intoxicação por ingestão deste tipo de substância (Wolff *et al* 2004, Yan-Wei *et al* 2010, Zhou *et al* 2011). Neste sentido, o estudo desenvolvido por Wolff *et al* (2004) investigaram e detectaram qualitativamente a presença do pesticida paration em insetos necrófagos coletados em carcaças de coelhos. Este organofosforado causa efeitos na atratividade dos insetos, repelindo-os da região oral da carcaça, sendo um fator importante no processo de decomposição e investigação de IPM, uma vez que normalmente os dípteros depositam ovos nas cavidades naturais do corpo (Wolff *et al* 2004, Oliveira-Costa 2013).

Foram encontradas diferenças nas taxas de oviposição e no padrão sucessional dos insetos que se alimentaram de carcaças contaminadas com malation (Gunatilake & Goff 1989). Também foram detectados traços químico da presença de malation em larvas de duas espécies de moscas de importância forense, que consumiram a matéria orgânica de cadáver contaminado, determinando um IPM de cinco dias, sendo que a vítima tinha sido vista viva pela última vez, oito dias antes de ser encontrado seu corpo, portanto a contaminação pode ter atrasado a oviposição (Gunatilake & Goff 1989). O efeito do malation em carcaças de coelhos em condições naturais altera as taxas de decomposição e a diversidade de espécies de insetos em carcaças, além disso, ocorre alterações na taxa de desenvolvimento, suficientes para alterar as estimativas do IPM com base no desenvolvimento de larvas de moscas (Yan-Wei *et al* 2010).

Carcaças contaminadas por inseticidas afetam a ocorrência, taxa de mortalidade e até mesmo o perfil químico cuticular e a morfologia de diferentes espécies de besouros (Müller *et al* 2017, Di Ilio *et al* 2018). Os efeitos dos inseticidas neonicotinóides tiametoxam e clotianidina sobre a taxa de mortalidade em ovos e adultos de uma espécie de Curculionidae de importância agrícola, é dependente das concentrações, sendo o tiametoxam mais letal para os indivíduos (Di Ilio *et al* 2018).

Doses subletais do inseticida lambda-cialotrina no perfil químico cuticular e na simetria das antenas de adultos de *Phaedon cochleariae*, causam alterações distintas nos perfis químicos de machos e fêmeas, além de assimetria nas antenas das fêmeas da prole tratada com o inseticida, o que poderia causar uma dificuldade de comunicação entre indivíduos da mesma espécie (Müller *et al* 2017).

Todos estes dados mostram que substâncias tóxicas, como inseticidas e pesticidas, podem afetar significativamente os insetos que agem sobre carcaças em decomposição, alterando, portanto, vários parâmetros usados pela perícia forense. O tiametoxam, em particular, faz parte de uma nova geração de inseticidas, os neonicotinóides, que são registrados para uso em uma ampla variedade de culturas, resultando em uma comercialização crescente em todo o mundo (Maienfisch *et al* 2001, Fairbrother *et al* 2014). Este é um inseticida sistêmico que age por meio do contato ou ingestão (Di Ilio *et al* 2018), podendo ser encontrado comercialmente em diversas concentrações.

Uma vez que está claro que qualquer tipo de contaminação de um corpo pode alterar o padrão normal de colonização por insetos de interesse forense, é preciso considerar que, no Brasil, frequentemente são encontrados cadáveres em plantações de cana-de-açúcar, na tentativa de ocultá-los pelo maior tempo possível, atrapalhando assim as investigações criminais (Campo Grande News 2018, G1 Piracicaba e Região 2018, G1 Triângulo Mineiro 2018). Deve-se considerar também que a aplicação de inseticidas pode ocorrer no período noturno, devido às vantagens no que se refere as condições climática (Antuniassi & Boller 2011), sendo assim mais difícil para os trabalhadores identificarem a presença de ocultações de cadáveres em meio as plantas.

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que, se um corpo for ocultado em uma plantação de cana-de-açúcar e contaminado pela aplicação do inseticida, todo o padrão esperado de decomposição e a ação de moscas e besouros

de interesse forense será significativamente alterado, tendo importante consequência para a perícia criminal.

2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados com o intuito de simular a contaminação de um cadáver em plantação de cana-de-açúcar, a fim de avaliar a influência da contaminação por tiametoxam em carcaças de suínos (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758), no tempo de decomposição, na riqueza e composição de espécies colonizadoras de cadáveres.

Para realizar o estudo, todos os experimentos foram executados em uma área de plantação de cana-de-açúcar, no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil (22°14'08"S; 54°59'13"W), altitude de 434 m. Os experimentos foram iniciados a partir do momento em que as plantas de cana-de-açúcar estavam com mais de 1.50 m de altura, sendo possível simular uma ocultação de cadáver. Foram utilizadas 6 carcaças de suínos (*Sus scrofa*) de aproximadamente 7.95 ± 0.19 Kg cada, como modelo para comparação com cadáveres humanos (Payne 1965).

Foram realizados 3 experimentos (N= 3), todos na estação “quente e úmida”, entre os meses de dezembro a maio, uma vez que, em geral, a atividade dos insetos e de outros microrganismos é maior em períodos mais quentes devido aos fatores mais favoráveis como altas temperatura e umidade relativa (Catts & Haskell 1991). A sazonalidade foi determinada utilizando a classificação de Marcuzzo (2014), o qual sugere que a região sul do Mato Grosso do Sul apresenta clima sub-tropical úmido, com duas estações bem definidas, a “quente e úmida”, que compreende os meses de setembro a maio, e “fria e seca”, que dura de junho a agosto.

Os suínos foram sacrificados com um golpe na região occipital da cabeça, evitando o sofrimento dos animais e exposição de ferimento que causa sangramento externo. A proposta #13/2017 foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal da Grande Dourados, respeitando sempre as normas de biossegurança durante sua execução.

Os pontos de exposição das carcaças foram definidos a fim de evitar o efeito de borda, instalando-as sempre a 30 m da borda da plantação. Em cada coleta foram expostas na plantação duas carcaças, 50 m distante uma da outra. Cada carcaça foi acondicionada em uma embalagem plástica (53x37x9 cm), seguindo a metodologia de Moretti (2006), cuja base foi substituída por uma tela de arame com malha reduzida entre nós, a qual permitia o fluxo de água e a ação dos insetos terrestres e/ou

subterrâneos. Uma armação de ferro (1x1x1 m) revestida por tela de arame com malha de uma polegada foi fixada no solo sobre a embalagem plástica, por meio de quatro ganchos de ferro, um em cada lado da base da gaiola, permitindo acesso de artrópodes, mas impedindo o acesso de animais carnívoros de grande porte.

Os suínos foram sacrificados às 13:00 h e as coletas de dados se iniciaram as 13:30 h, logo após o surgimento dos primeiros insetos e se estendeu até as 15:00 hr, padronizando estes horários em todos os experimentos. As coletas continuaram nos dias seguintes no mesmo horário, até as carcaças passarem por todas as fases de decomposição descritas por Goff (2000), sendo: (1) fresco, (2) inchamento, (3) deterioração, (4) pós-deterioração e (5) esqueletização. O fim dos experimentos em campo se deu quando as carcaças já haviam passado pelas cinco fases de decomposição e aparentemente não eram mais atrativas para os insetos, assim como descrito por Rosa *et al* (2009).

Para avaliar o efeito da contaminação por inseticida nas carcaças, foi aplicado inseticida contendo tiametoxan (25%) com o auxílio de um Pulverizador Costal Manual Bomba de Veneno de 20 L, imediatamente após a exposição das carcaças no canavial, sendo este denominado de grupo contaminado. A aplicação foi padronizada em todos os experimentos, realizando movimento longitudinal em relação ao corpo do suíno, sempre iniciando da cabeça até a porção final das carcaças, com o bico de pulverização a 50 cm de distância. Este processo foi repetido duas vezes. O produto comercial utilizado é do grupo químico neonicotinóide, seu principal reagente é o tiametoxam ($C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$), contém a concentração de 25% deste ingrediente ativo e é comumente utilizado em canaviais (Di Ilio *et al*, 2018). O inseticida foi aplicado a proporção de 20 g de tiametoxam (25%) para 1 L de água, e aplicado 1000 g/ha (0,1 g/m²), conforme recomendação do fabricante. Como grupo controle, outra carcaça foi exposta sob as mesmas condições sem a aplicação do inseticida.

Para capturar a entomofauna foram executadas coletas manuais, utilizando pinças e rede de varredura aérea. Para a coleta dos insetos do solo foram instaladas 8 armadilhas do tipo pitfall, utilizando recipientes plásticos de 200 mL, ao redor da armação de ferro, a uma distância de 50 cm das carcaças, duas em cada extremidade da gaiola. Os recipientes foram preenchidos com uma solução de água e detergente, e não foram utilizados conservantes e/ou fixadores devido ao curto período entre uma coleta e outra (Sutherland 1996, Almeida *et al* 2003). A solução do recipiente foi trocada diariamente.

Os dados de temperatura e umidade relativa do ar de todos os dias de coleta foram obtidos por meio de dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) da estação de medição #86858 (Dourados, MS), localizada a latitude 22° 11'38.11" S e longitude 54° 54'40.88" W, a cerca de 9 Km dos locais de coleta. A fim de avaliar a progressão de todo o processo de decomposição, antes de cada coleta foram fotografadas as carcaças para documentar a atividade dos insetos e os estágios de decomposição, tanto no grupo contaminado, quanto no controle, como descrito por Goff (2000).

Os insetos da ordem Diptera e Coleoptera foram os principais grupos de amostragem para estabelecer os parâmetros de composição e residência da entomofauna sob o efeito do tiametoxam. Os Diptera foram identificados com o auxílio de chaves de identificação de Carvalho & Mello-Patiu (2008) e os Coleoptera com a chave de Almeida & Mise (2009) e Vaz-de-Mello *et al* (2011). Além disso, para confirmar a identificação das espécies, foram consultados especialistas dos grupos e realizadas comparações com os padrões da Coleção Entomológica de Referência do Programa de Mestrado e Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Análises estatísticas

Os dados de temperatura e umidade obtidos durante os experimentos foram avaliados por meio de uma Análise de Variância (ANOVA) para testar se houve diferenças significativas destes fatores ao longo dos meses de coleta e assim avaliar se todos os experimentos estavam sob efeito das mesmas variáveis climáticas, podendo ser considerados réplicas. Com o objetivo de avaliar se existe influência significativa do inseticida e da fase de decomposição sobre a riqueza de espécies de moscas e besouros ocupando as carcaças, foi realizada uma Análise de Variância Two-Way (ANOVA Two-Way). Para avaliar se existe diferença significativa entre tempo de decomposição do grupo contaminado e controle foi realizado um Teste T de Student. Todas essas análises foram executadas utilizando-se do software Statistica 13.3 (Tibco 2017).

Foi realizada uma Análise Multivariada de Variância Permutacional (PERMANOVA) para avaliar a mudança na composição de espécies entre os grupos contaminado e controle e nas diferentes fases de decomposição, utilizando a abundância das espécies e o coeficiente de Bray-Curtis. Por fim, também foi realizada uma Análise de Correspondência Destendenciada (DCA), utilizando a abundância média das

espécies. O gráfico obtido a partir desta análise demonstra a distribuição das espécies e morfoespécies de acordo com sua abundância nos grupos contaminado e controle, na qual as espécies mais representativas de cada um dos tratamentos estão mais próximas de seus pontos no gráfico. Os números intermediários representam a composição de espécies que ocorreram nos dois tipos de carcaças. Já essas análises foram realizadas com o software Past 3.20 (Hammer 1999).

3. Resultados

As fases de decomposição, nos grupos contaminado e controle podem ser observadas na Figura 1. O grupo contaminado chegou ao final da decomposição, após 23.33 ± 4.15 dias. Já o grupo controle teve seu processo de decomposição finalizado após 12.67 ± 2.5 dias (Tabela 1, Figura 2). Os grupos contaminado e controle apresentaram diferenças significativas entre o tempo total de decomposição ($p= 0,024$), no entanto quando se comparou cada fase de decomposição em relação aos grupos experimentais, contaminado e controle, apenas deterioração ($p= 0,037$) e pós-deterioração ($p= 0,018$) apresentam diferenças significativas, tendo maior duração no grupo contaminado ($4,33 \pm 0,58$ e $7,33 \pm 1,53$) do que no controle ($2,33 \pm 1,54$ e $2,33 \pm 0,57$) respectivamente (Tabela 1, Figura 2).

A temperatura média dos dias foi de $25,8 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$ para controle, com umidade de $75,1 \pm 10,6\%$ Rh e de $25,3 \pm 1,9^{\circ}\text{C}$ para contaminado, com umidade de $75,1\% \pm 11,3\%$ Rh. A análise ANOVA, para avaliar a padronização das condições climáticas em todo o experimento, constatou que não houve diferenças significativas entre os valores de temperatura ($p= 0,366$) e umidade ($p= 0,591$), durante todo o período do experimento.

As ocorrências das espécies e morfoespécies das 17 famílias coletadas nos grupos contaminados e controle durante as fases de decomposição, são apresentadas na Tabela 2. Foram coletados e identificados no total 2872 espécimes, 2208 indivíduos da ordem Diptera e 664 de Coleoptera (Tabelas 3 e 4). No grupo contaminado foram coletados 1844 insetos, destes 1536 indivíduos da ordem Diptera e 279 indivíduos da ordem Coleoptera. No grupo controle foram coletados 1058 insetos, 672 dípteros e 385 coleópteros.

Foram coletadas 18 espécies e morfoespécies de Diptera, que ocorreram nos dois tipos de carcaças, sendo que duas ocorreram exclusivamente no grupo contaminado e duas no grupo controle (Tabela 3). Em relação à ordem Coleoptera foram coletadas 17

espécies e morfoespécies nos dois tipos de carcaças (Tabela 4), destas, três ocorreram apenas no grupo contaminado e uma no controle.

Não houve diferenças significativas entre as riquezas de espécies que foram capturadas nos dois grupos experimentais (contaminado e controle) ($p=0,386$), apresentando um padrão similar de curvatura no gráfico (Figura 3). Entretanto, houve diferença significativa entre as riquezas de espécies capturadas entre as 5 fases de decomposição ($p<0,0001$) (Figura 3), nos dois grupos experimentais.

A análise PERMANOVA mostra que existem diferenças significativas entre a composição de espécies de dípteros e coleópteros entre as amostras dos grupos contaminado e controle ($p= 0,031$). Além disso, observamos diferenças significativas na composição de espécies entre as fases de decomposição dos grupos contaminado ($p= 0,0001$) e controle ($p= 0,0004$), mesmo ocorrendo uma sobreposição de ocorrência de espécies em várias fases. Os resultados mostram que existe uma separação consistente na composição das espécies entre os grupos contaminado e controle, com uma sobreposição de ocorrência de algumas espécies entre os dois tipos de carcaças (Figura 4). As espécies mais características para o grupo contaminado foram: *Lucilia cuprina*, *Ornidia obesa*, *Ontherus appendiculatus*, *Sulcophaneus menelas*, *Omorgus persuberosus*, Syrphidae e Tenebrionidae. Já para o grupo controle, as espécies e morfoespécies responsáveis por esta separação significativa foram: *Lucilia eximia*, *Diabroticus mimas*, *Dichotomius bos*.

4. Discussão

Este é o primeiro estudo que investigou os efeitos da contaminação de inseticida sobre a ação de insetos de interesse forense e o padrão de decomposição em carcaças de suíno. Apesar de outros estudos realizados no Brasil terem investigado a fauna de insetos em carcaças localizadas em matas (Carvalho & Linhares 2001, Mise *et al* 2007, Paula *et al* 2016), em campos abertos (Faria *et al* 2013) e até mesmo em plantação de cana-de-açúcar (Gomes *et al* 2009), este é único estudo sobre a fauna visitante de carcaças em monocultura, na estação quente e úmida do ano. Além disto, apenas outros dois estudos realizados na China e Colômbia (Wolff *et al* 2004, Yan-Wei *et al* 2010) avaliaram a sucessão de insetos em carcaças de coelhos contaminadas com o inseticida malation e o pesticida paration. Além disto, Gunatilake & Goff (1989) detectaram a presença do inseticida malation em larvas de duas espécies de mosca encontradas em cadáver humano em decomposição.

As médias de temperatura e umidade obtidas durante período de decomposição dos grupos contaminado e controle, apontam uma diferença mínima destes fatores abióticos entre os grupos estudados. De fato, a ANOVA não apresentou diferenças significativas entre estes valores. Assim podemos afirmar que os três experimentos realizados são réplicas (N=3), pois estavam sob as mesmas condições abióticas, apresentando características de uma mesma estação climática. Dessa forma, os resultados encontrados em nosso estudo não são resultantes de variações nos fatores abióticos.

Nossos resultados corroboram com os apresentados por Gomes *et al* (2009), também realizado em plantação de cana-de-açúcar, que encontraram maior abundância e riqueza da ordem Diptera, quando comparada com à ordem Coleoptera. Outros estudos realizados em diferentes regiões geográficas apresentaram padrões semelhantes, indicando estas duas ordens como os grupos mais representativos nos resultados (Anderson & VanLaerhoven 1996, Wolff *et al* 2001).

A contaminação de inseticida provocou diferenças significativas entre o tempo total e das fases de decomposição, composição e abundância de espécies nos dois tipos de carcaças. As famílias predominantes de moscas e besouros que ocorreram nos dois tipos de carcaças foram: Calliphoridae e Muscidae (Diptera); e Staphylinidae e Histeridae (Coleoptera), nesta ordem de importância.

O inseticida tiametoxam alterou a colonização da fauna associada ao grupo contaminado. Enquanto que no grupo controle as famílias de moscas de maior importância forense, Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae colonizaram as carcaças normalmente e realizaram a oviposição/larviposição, as mesmas famílias não conseguiram realizar seu ciclo de desenvolvimento completamente no grupo contaminado. Devido à presença de tiametoxam, as espécies de moscas destas famílias não conseguiam colonizar o recurso e quando conseguiam ovipositar, a maioria dos ovos não eclodiam ou até mesmo as larvas não se desenvolviam até a fase adulta. O inseticida malation retarda o desenvolvimento das moscas nas carcaças em até 24 dias, atrasando o desenvolvimento das larvas e das pupas, portanto, interferindo no processo de decomposição e atrasando a emergência dos adultos, fatos que podem gerar erros no cálculo do grau-dia/ grau-hora acumulado e na estimativa do IPM (Yan-Wei *et al* 2010). O tiametoxam também possui efeitos ovicidas e adulticidas em curculionídeos da espécie *Rhynchophorus ferrugineus* que são contaminados por meio da dieta, apresentando também uma redução na eclosão de ovos deste besouro (Di Ilio *et al* 2018).

De fato, o estudo de Tooming *et al* (2017) indica a hiperatividade e hipoatividade locomotora do besouro *Platynus assimilis*, submetidos a diferentes concentrações do tiametoxam, que são características recorrentes do estresse tóxico do inseto, indicando uma redução no seu desempenho e uma redução notável na alimentação. A redução a longo prazo da alimentação causada por intoxicação com doses subletais de tiametoxam também pode afetar negativamente a aptidão ecológica dos besouros, como por exemplo, a fecundidade e a longevidade de indivíduos (Tooming *et al* 2017), resultando em menor número de espécimes coletados e também contribuindo para um possível atraso na decomposição da carcaça.

No grupo controle houve maior abundância de espécies e morfoespécies de Coleoptera (Tabela 4) do que no grupo contaminado, enquanto que no grupo contaminado ocorreu uma maior abundância das espécies e morfoespécies de Diptera (Tabela 3). Os gases exalados durante a decomposição podem ter tido papel importante para a atração da entomofauna, colaborando para a abundância das espécies e morfoespécies em nossos experimentos. Por conta do atrasado nas fases da decomposição das carcaças, causada pela contaminação com o inseticida (Tabela 1, Figura 2), pode ter ocorrido a liberação dos gases durante um maior período de tempo das fases de decomposição intermediárias, que são mais atrativas para as moscas. Em adição a isso, os coleópteros não são atraídos pelos odores destas fases, e sim pelos odores do processo final da decomposição, além de haver pouco recurso alimentar para os besouros predadores, como as larvas de moscas que ocorrem nas fases iniciais. Isto poderia justificar a maior abundância de coleópteros no grupo controle e de dípteros coletados no grupo contaminado, como apresentado na Tabela 3 e 4.

O odor é fundamental para a atração dos insetos até as carcaças, sendo que as moscas são mais atraídas pelos compostos exalados durante os processos iniciais da decomposição e os besouros pelos odores resultantes dos processos finais (Verheggen *et al* 2017). Além do mais, a composição faunística de cadáveres também é fundamental para a liberação de odores atrativos, por exemplo, espécies de moscas e besouros liberam feromônios que atraem os indivíduos para a reprodução e alimentação nestas carcaças (von Hoermann *et al* 2012, Fockink *et al* 2015).

A riqueza de espécies coletadas que exploraram as carcaças não variou significativamente entre os tratamentos, apresentando o mesmo padrão de riqueza. Porém, no geral, houve variação durante as diferentes fases de decomposição nos dois tratamentos. É possível observar que nos grupos contaminado e controle, a riqueza de

espécies teve uma variação significativa ($p < 0,0001$) entre as fases de decomposição, tendo uma variação maior entre as fases de inchamento e deterioração (Figura 3). A riqueza de espécies presentes em cada fase de decomposição pode não ser necessariamente a mesma, uma vez que as carcaças suportam apenas um número limitado de espécies realizando poucas interações entre as fases (Paula *et al* 2016). Além disso, ao início da fase de deterioração, a carcaça se torna mais atrativa para a colonização de moscas necrófagas, por exemplo, uma vez que os tecidos moles ficam expostos (Goff 2000, Oliveira-Costa 2013), atraindo uma maior quantidade de representantes deste grupo e de outros insetos predadores, como os besouros.

A ação do inseticida utilizado alterou a composição de espécies de moscas e besouros. A DCA mostra uma variação consistente na composição de espécies de moscas e besouros que visitaram os dois tipos de carcaças, mesmo ocorrendo uma sobreposição de espécies entre os dois grupos experimentais, com um número grande de espécies ocorrendo mais no centro como observado na Figura 4. Algumas espécies e morfoespécies como *Hemilucilia semidiaphana*, Sirphidae, Asilidae, *Coprophaneus horus*, *Diabroticus mimas* e *Canthidium hyla*, ocorreram exclusivamente no grupo contaminado, mesmo em baixa abundância (Tabelas 2 e 3). Portanto, é provável que estas espécies possam ser menos sensíveis ao inseticida, colonizando as carcaças mesmo estando contaminadas. Além disso, a ausência destas espécies nas carcaças sem inseticida pode ter acontecido a fim de evitar a competição, uma vez que havia uma grande quantidade de indivíduos utilizando este recurso.

Entretanto, a composição dos insetos em relação a abundância e riqueza de espécies, não se diferenciou completamente ao decorrer das fases de decomposição nos grupos contaminado e controle, ou seja, não apresentaram uma sucessão entomológica bem definida. Houve diferenças significativas na composição da fauna como um todo, porém não entre todas as fases da decomposição, mostrando que a sucessão não pode ser completamente definida pelo processo de decomposição. Já foi comprovado, por meio de testes estatísticos de 11 trabalhos de sucessão entomológica, que o padrão de sucessão não pode ser sustentado significativamente, se for baseado nas fases de decomposição (Schoenly & Reid 1987). Além disto, estes autores demonstram que até mesmo dentro de uma mesma fase de decomposição, a fauna de insetos pode mudar, não possuindo grupos específicos que caracterizem etapas pelas quais cadáveres e carcaças passam durante o processo de decomposição.

Por outro lado, a contaminação das carcaças levou a alterações na composição, colonização e desenvolvimento dos insetos, o que pode ter influenciado o tempo de decomposição, já que este parâmetro diferiu significativamente entre os dois grupos experimentais, sendo maior no grupo contaminado (Figura 2, Tabela 1). O grupo contaminado com tiametoxam demorou, em média, 11 dias a mais para chegar ao último estágio de decomposição, e além disto, as carcaças mantiveram-se nos estágios de deterioração e pós-deterioração por mais tempo, comparadas às outras fases e, sobretudo, às carcaças controle.

As fases fresco e inchamento são mais afetadas por bactérias, principalmente do intestino, que consomem o corpo em decomposição, produzindo gases como o gás carbônico (Goff 2000, Oliveira-Costa 2013). Na fase de deterioração ocorre o rompimento da pele devido aos gases produzidos pela ação dos microrganismos e os orifícios naturais se abrem, e a fase de pós-deterioração é caracterizada pela liberação dos fluidos corporais no solo (Goff 2000, Oliveira-Costa 2013). Nestas duas últimas fases a ação dos insetos, principalmente das larvas de Diptera, se torna mais importante para o processo de putrefação de cadáveres e carcaças (Oliveira-Costa 2013). É possível observar na Figura 1.C, que o padrão de decomposição apresentado pelos grupos contaminado e controle é completamente diferente a partir da fase de deterioração. Há um grande número de larvas de Diptera, principalmente da espécie *Chrysomya albiceps*, se alimentando da carcaça do grupo controle enquanto que isto não pode ser visto na carcaça do grupo contaminado (Figura 1.D).

A ação dos insetos é essencial para o processo de decomposição de cadáveres, no qual muitas espécies estão envolvidas, utilizando o material apodrecido para se alimentar (Bajerlein *et al* 2018). Além disso, os inseticidas do grupo neonicotinóide, como o tiametoxam, que foram projetados para agir sobre invertebrados específicos (Blacquiere *et al* 2012) agem sobre o sistema nervoso de outros insetos, como os visitantes de carcaças, ligando-se aos receptores nicotínicos de acetilcolina destes artrópodes (Matsuda *et al* 2001). Dessa forma, o dano pode acumular-se e assim os efeitos tóxicos podem ser reforçados (Tennekes & Zillweger 2010). Esta ação impede que o inseto realize algumas funções vitais, ocorrendo um bloqueio dos receptores, paralisia e morte dos indivíduos contaminados (Goulson 2013). Em alguns casos, afetam ainda o comportamento e a aptidão de diferentes espécies sob diferentes maneiras (Barbieri *et al* 2013).

Neste sentido, o padrão de alimentação dos insetos também foi alterado. No grupo contaminado foram encontrados mais insetos colonizando e se alimentando da superfície da carcaça que estava em contato com o solo e que não recebeu as aplicações de tiametoxam diretamente. Devido a isto, as carcaças do grupo contaminado se decomposeram a partir da superfície em contato com o solo, não havendo significativa ação de insetos na parte superior, onde foi pulverizado o inseticida. Pode-se observar na Figura 1, principalmente nas fases finais da decomposição (Figura 1.C, 1.D e 1.E), que os tecidos da região superior não foram afetados na carcaça do grupo contaminado em relação à carcaça do controle. No entanto, as moscas buscam quaisquer locais protegidos e que possibilitem o desenvolvimento de sua prole para realizar sua oviposição (Smith 1986), utilizando pistas olfativas para buscar regiões da carcaça que sirvam para o desenvolvimento da próxima geração (Erzinçlioglu 1996, Gomes *et al* 2007).

Todas as carcaças contaminadas com o inseticida tiametoxam apresentaram uma fase de mumificação, próximo ao fim da decomposição (Figuras 1.D e 1.E). Neste processo toda a água da pele é eliminada, tornando o tecido dessecado, porém os órgãos internos continuam se decompondo (Gennard & Kelly 1997). Inferimos que isto tenha ocorrido uma vez que os tecidos da região lateral da carcaça, na qual houve a aplicação do inseticida tiametoxam, ficaram expostos por um período maior de tempo aos fatores ambientais, que podem causar a mumificação, como as altas temperaturas (Dix & Graham 1999). Isto porque ocorreu pouca ação dos insetos nesta região, não sendo utilizada como recurso alimentar pelas espécies necrófagas. Em trabalho realizado por Wolff *et al* (2004), avaliando a sucessão de insetos em carcaças de coelhos contaminados com o pesticida paration, também há relato de que a mumificação ocorreu em um de seus experimentos.

A estimativa do IPM por meio dos insetos baseia-se nas taxas de desenvolvimento das larvas ou nos padrões de sucessão destes animais (Villet & Amendt 2011). Ambos podem ser úteis em ocasiões distintas e apresentar vestígios importantes para a investigação (Bajerlein *et al* 2018). Porém, de acordo com os resultados apresentados aqui, estes dois métodos podem ser alterados em carcaças contaminadas por tiametoxam, uma vez que torna inviável o desenvolvimento de larvas e pupas necessárias para os cálculos de estimativa do IPM e altera os padrões de colonização da carcaça.

A ação das ordens Diptera e Coleoptera é afetada de forma significativa pela contaminação do tiametoxam. Houve alteração na abundância e na composição destes insetos, bem como da própria viabilidade deles após a contaminação. Também de acordo com os nossos resultados deve-se ter atenção quando cadáveres são encontrados em ambiente de monocultura de cana de açúcar, ou qualquer outro local no qual possa haver contaminação do corpo por este inseticida. Por conta disto, as carcaças contaminadas tiveram seu tempo de decomposição alterado em relação ao grupo controle, demorando mais para se decompor, inclusive, alterando seus aspectos ao término do processo.

Desse modo é possível concluir que, caso um corpo seja ocultado em uma plantação de cana de açúcar e, acidentalmente contaminado por inseticida, seu padrão de decomposição e ação de insetos de interesse forense será significativamente alterado. Dados como este devem ser levados em consideração no momento das investigações criminais e no uso da entomologia forense como ferramenta para elucidar crimes, uma vez que os padrões podem levar a estimativas equivocadas.

5. Figuras e Tabelas

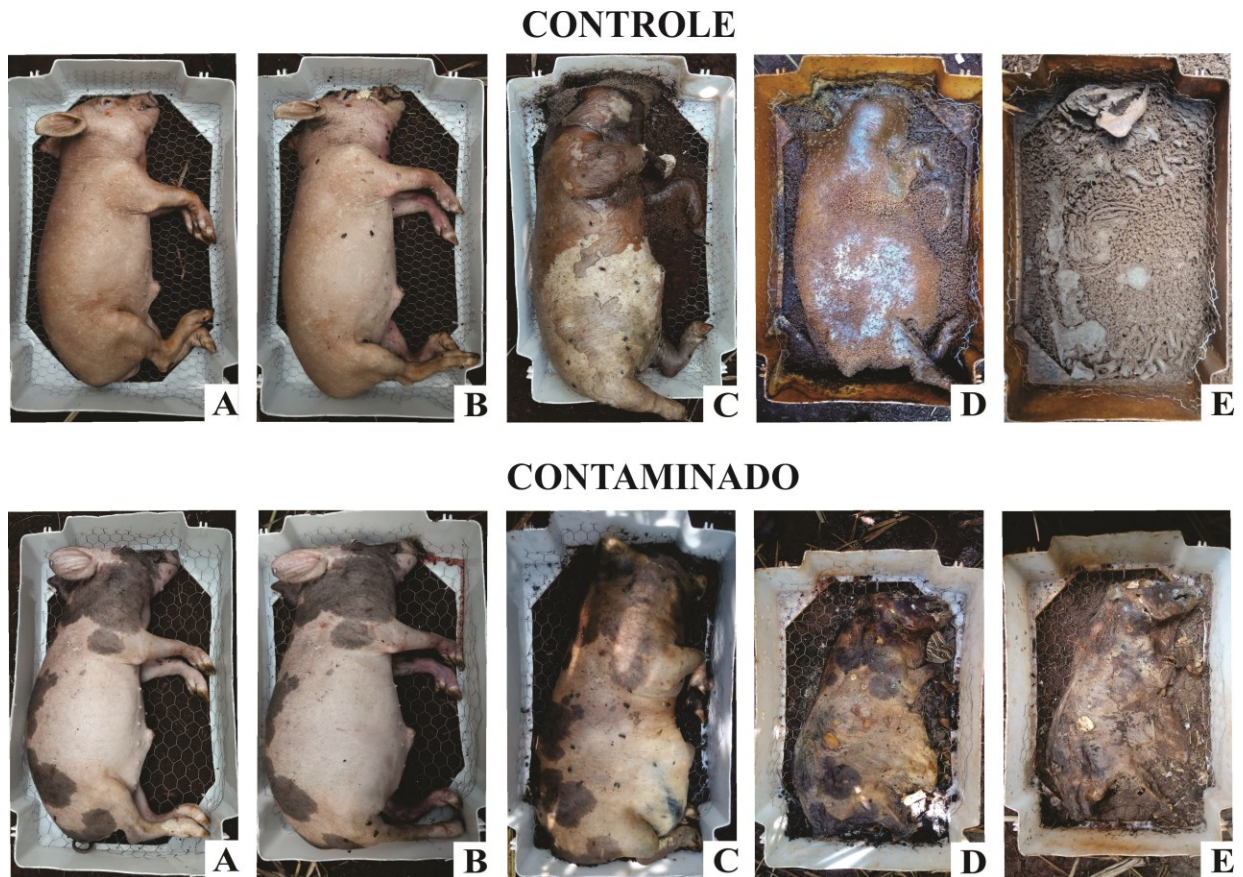


Figura 1. Fases da decomposição nas carcaças do grupo contaminado e controle com tiametoxam. **A,** Fresco; **B,** Inchamento; **C,** Deterioração; **D,** Pós-deterioração; **E,** Esqueletização.

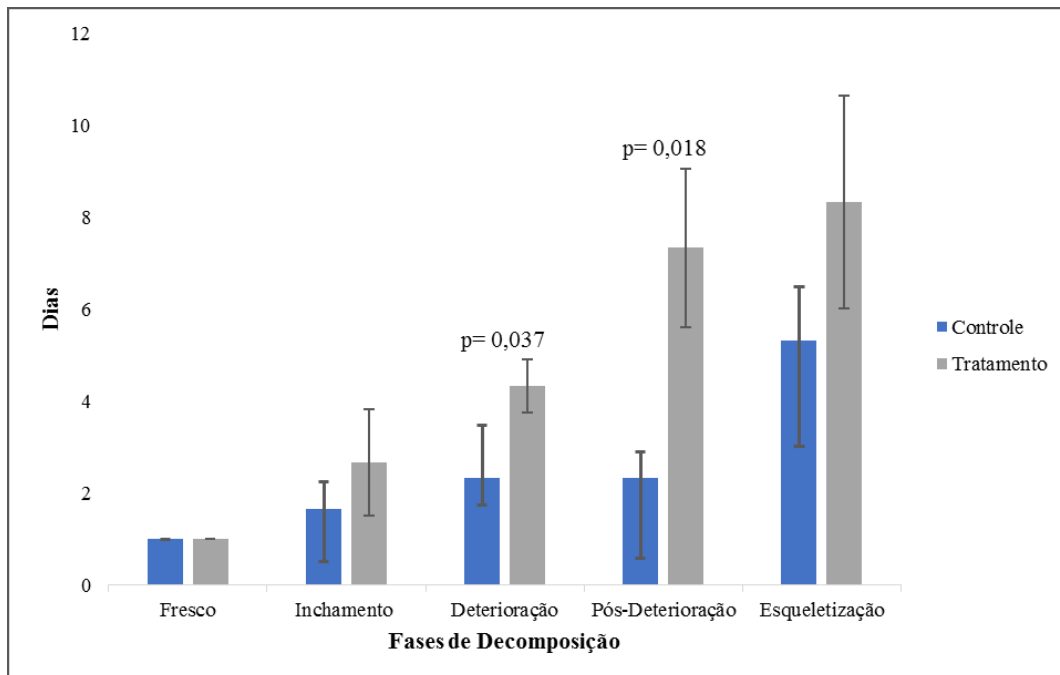


Figura 2. Tempo médio de duração dos diferentes estágios de decomposição das carcaças de suínos *Sus scrofa*, nos dois tipos de tratamentos em que foram realizados os experimentos.

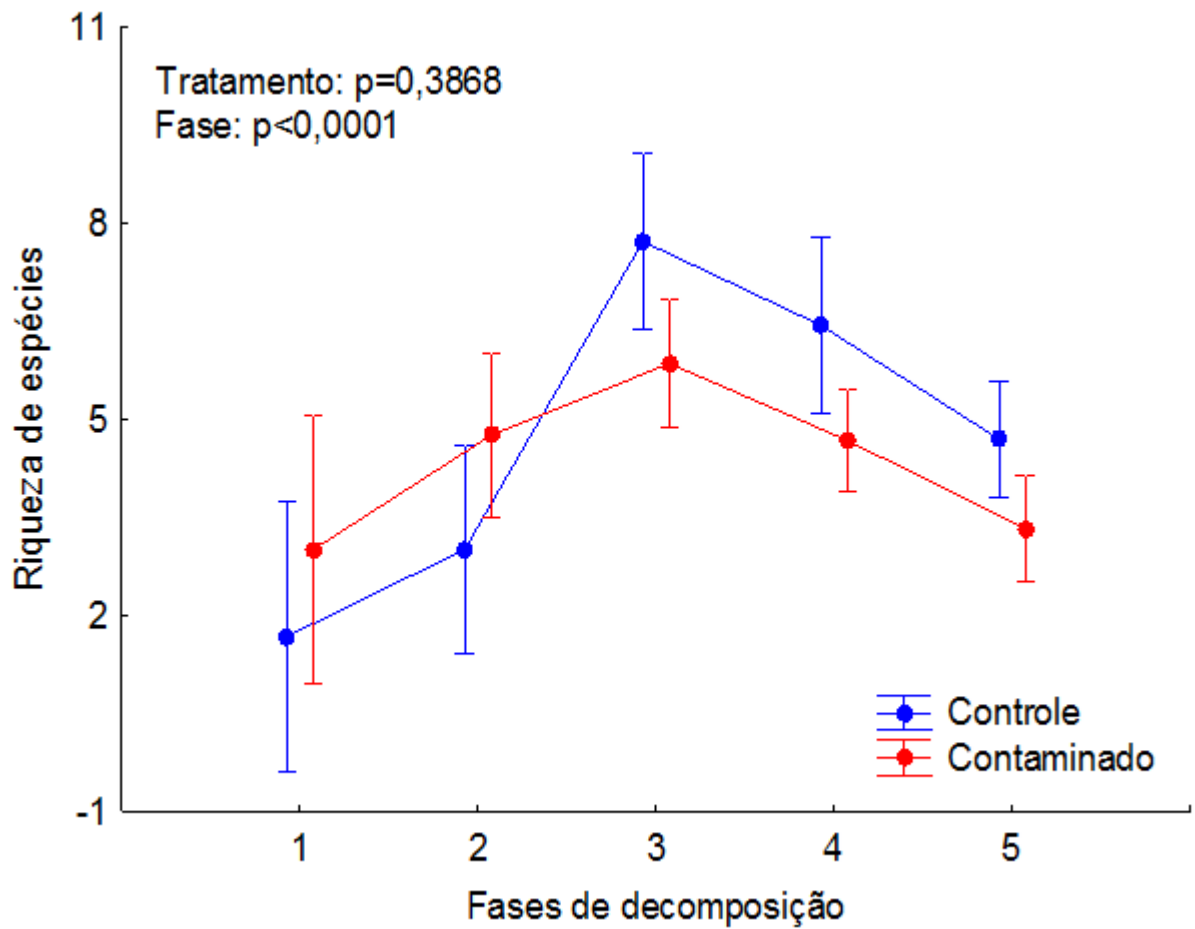


Figura 3. Análise de Variância Two-Way, para avaliar se há relação ou diferença significativa entre a riqueza de espécie de moscas e besouros coletados nos dois tipos de tratamentos ($p<0.0001$) que foram realizados nos experimentos, e entre a riqueza de espécies nas diferentes fases de decomposição das carcaças ($p=0.386$).

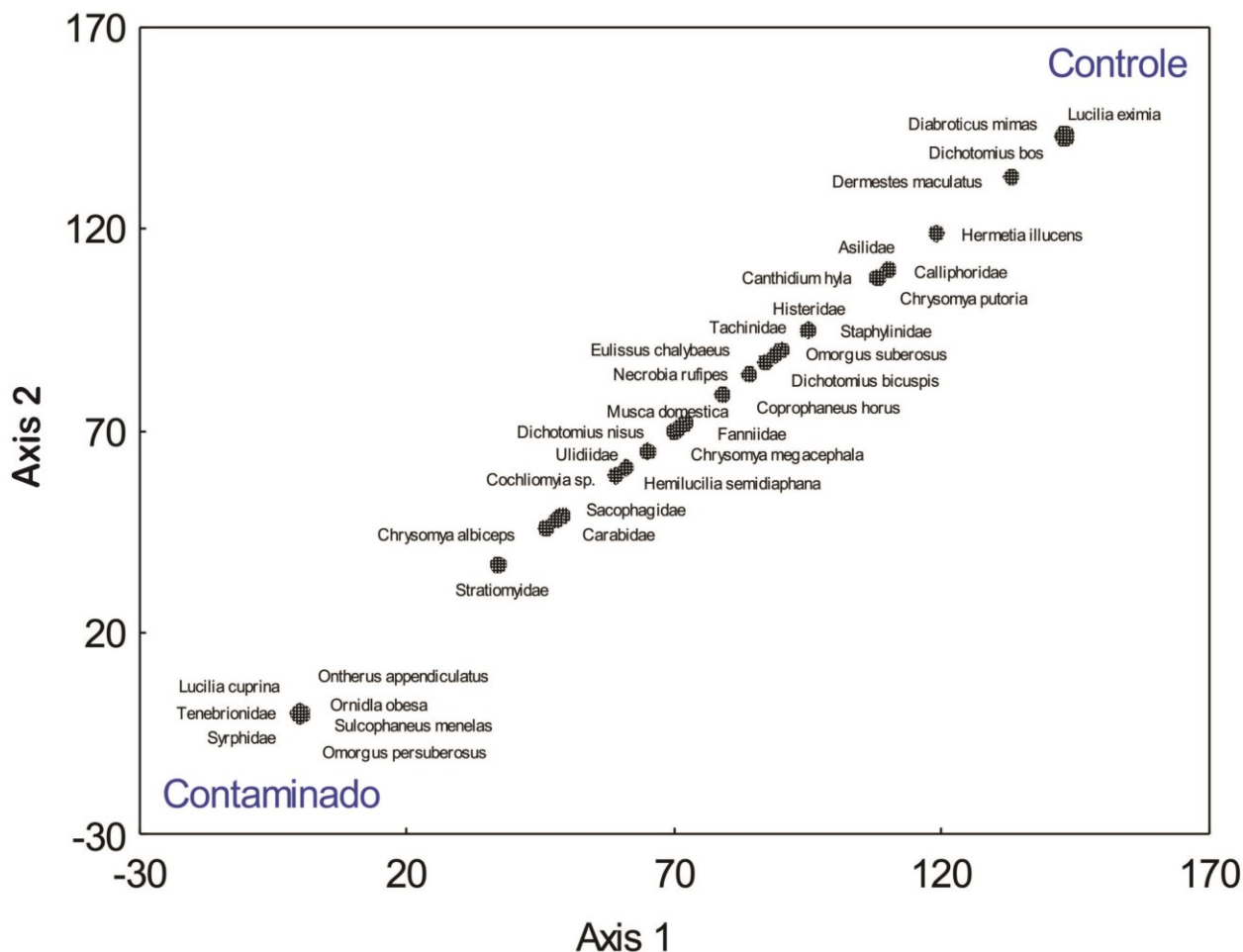


Figura 4. Análise de Correspondência Destendenciada (DCA), utilizando a abundância média de espécies e o coeficiente de Bray-Curtis, visando avaliar a mudança na composição de espécies de moscas e besouros nas carcaças de suínos em plantação de cana-de-açúcar, na região de Dourados, MS.

Tabela 1. Tempo de decomposição total e de cada fase de decomposição segundo Goff *et al* (2000), nas amostras dos grupos contaminado e controle, e valores de p segundo Teste T.

Fases de Decomposição	Tempo de Decomposição (Dias)		Teste T (Valores De P)
	Controle	Contaminado	
(I) Fresco	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	NS
(II) Inchamento	1,67 ±0,58	2,67 ±1,15	NS
(III) Deterioração	2,33 ±1,54	4,33 ±0,58	0,03709
(IV) Pós-Deterioração	2,33 ±0,57	7,33 ±1,53	0,018875
(V) Esqueletização	5,33 ±1,15	8,33 ±1,15	NS
Total	12,67 ±0,58	23,67 ±3,78	0,02428

NS= Não Significativo

Tabela 2. Díptera e Coleoptera de importância forense coletados nas carcaças dos grupos contaminado e controle, e sua ocorrência ao decorrer das fases de decomposição.

Ordem	Família	Gênero e Espécie	Controle					Contaminado					
			Ia	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	
Diptera	Sarcophagidae	Não identificado	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Muscidae	<i>Musca domestica</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Calliphoridae	<i>Chrysomya albiceps</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X	
		<i>Chrysomya megacephala</i>		X			X		X				X
		<i>Chrysomya putoria</i>											
		<i>Lucilia eximia</i>	X		X				X	X	X		
		<i>Lucilia cuprina</i>		X									
		<i>Hemilucilia semidiaphana</i>									X		
		Não identificado		X	X		X	X	X	X	X	X	X
		<i>Cochliomyia</i> spp.				X	X			X			
	Stratiomyidae	<i>Hermetia illucens</i>			X	X	X			X	X	X	
		Não identificado			X	X					X		
	Fanniidae	Não identificado	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
	Ulidiidae	Não identificado	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Tachinidae	Não identificado			X					X			X
	Syrphidae	<i>Ornidia obesa</i>					X						X
		Não identificado						X		X			
Asilidae	Não identificado										X		
Coleoptera	Staphylinidae	Não identificado		X	X	X	X		X	X	X	X	
		<i>Eulissus chalybaeus</i>			X	X	X			X	X	X	
	Histeridae	Não identificado			X	X	X		X	X	X	X	
	Dermestidae	<i>Dermestes maculatus</i>			X	X	X			X	X	X	
	Cleridae	<i>Necrobia rufipes</i>			X	X	X				X		
	Carabidae	Não identificado			X	X	X		X	X	X	X	
	Trogidae	<i>Omorgus suberosus</i>			X	X	X		X	X	X	X	
		<i>Omorgus persuberosus</i>					X				X		
	Scarabaeidae	<i>Coprophaneus horus</i>											X
		<i>Dichotomius bicuspis</i>			X		X			X			X
		<i>Dichotomius bos</i>				X						X	
		<i>Dichotomius nisus</i>			X	X							
		<i>Sulcophaneus menelas</i>			X		X		X	X	X	X	
		<i>Diabrotibus mimas</i>											X
		<i>Ontherus appendiculatus</i>			X	X							
		<i>Canthidium hyla</i>						X					
	Tenebrionidae	Não identificado	X	X	X	X		X	X				

^a Número correspondente as fases de decomposição. Fresco (I), Inchamento (II), Deterioração (III), Pós-Deterioração (IV), Esqueletização (V).

Tabela 3. Abundância total de cada espécie/morfoespécie de Diptera coletada nas carcaças dos grupos contaminado e controle.

Espécies/morfoespécies	Contaminado	Controle	Total de indivíduos
Sarcophagidae	65	22	87
<i>Musca domestica</i>	389	226	615
<i>Chrysomya albiceps</i>	521	153	674
<i>Chrysomya megacephala</i>	5	2	7
<i>Chrysomya putoria</i>	-	1	1
<i>Lucilia eximia</i>	3	6	9
<i>Lucilia cuprina</i>	-	1	1
<i>Hemilucilia semidiaphana</i>	8	-	8
<i>Hemilucilia</i> spp.	53	32	85
<i>Cochliomyia</i> spp.	24	1	25
<i>Hermetia illucens</i>	12	5	17
Stratiomyidae	1	3	4
Fanniidae	140	29	169
Ulidiidae	307	187	494
Tachinidae	4	2	6
<i>Ornidia obesa</i>	2	2	4
Syrphidae	1	-	1
Asiilidae	1	-	1
Total	1536	672	2208

Tabela 4. Abundância total de cada espécie/morfoespécie de Coleoptera coletada nas carcaças dos grupos contaminado e controle.

Espécies/morfoespécies	Contaminado	Controle	Total de indivíduos
Staphylinidae	70	48	118
<i>Eulissus chalybaeus</i>	13	13	26
Histeridae	74	70	144
<i>Dermestes maculatus</i>	15	30	45
<i>Necrobia rufipes</i>	4	36	40
Carabidae	35	28	63
<i>Omorgus suberosus</i>	23	7	30
<i>Omorgus persuberosus</i>	1	1	2
<i>Coprophaneus horus</i>	5	-	5
<i>Dichotomius bicuspis</i>	8	6	14
<i>Dichotomius bos</i>	1	1	2
<i>Dichotomius nisus</i>	-	2	2
<i>Sulcophaneus menelas</i>	10	6	16
<i>Diabrotibus mimas</i>	1	-	1
<i>Ontherus appendiculatus</i>	-	3	3
<i>Canthidium hyla</i>	1	-	1
Tenebrionidae	18	34	52
Total	279	385	664

6. Referências Bibliográficas

- Almeida LM, Mise KM (2009) Diagnosis and key of the main families and species of South American Coleoptera of forensic importance. *Revista Brasileira de Entomologia* 53(2). doi: 10.1590/S0085-56262009000200006
- Almeida LMD, Costa CSR, Marinoni L (2003) Manual de coleta, conservação, montagem e identificação de insetos. In *Manual de coleta, conservação, montagem e identificação de insetos*. Holos, Ribeirão Preto, p 78
- Anderson GS, VanLaerhoven SL (1996) Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Science*, 41(4), 617-625. doi: 10.1520/JFS13964J
- Antuniassi UR, Boller W (2011) Tecnologia de aplicação para culturas anuais. Passo Fundo: Aldeia Norte/FEPAF, p 279
- Bajerlein D, Taberski D, Matuszewski, S (2018) Estimation of postmortem interval (PMI) based on empty puparia of *Phormia regina* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and third larval stage of *Necrodes littoralis* (L.) (Coleoptera: Silphidae) – Advantages of using different PMI indicators. *J Forensic Leg Med* 55: 95-98. doi: 10.1016/j.jflm.2018.02.008
- Barbieri RF, Lester PJ, Miller AS, Ryan KG (2013) A neurotoxic pesticide changes the outcome of aggressive interactions between native and invasive ants. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 280 (1772): 20132157. doi: 10.1098/rspb.2013.2157
- Blacquiere T, Smaghe G, Van Gestel CA, Mommaerts V (2012) Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* 21(4), p 973-992
- Campo Grande News (2018). *Moradora da reserva indígena é encontrada morta em milharal na Panambizinho*. <https://www.campograndenews.com.br/cidades/interior/moradora-da-reserva-indigena-e-encontrada-morta-em-milharal-na-panambizinho>. Acesso em 06 de fev de 2019.
- Carvalho CJBD, Mello-Patiu CAD (2008) Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Rev Bras Entomol* 52(3): 390-406. doi: 10.1590/S0085-56262008000300012
- Carvalho LML, Linhares AX (2001) Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastern Brazil. *J Forensic Sci* 46(3): 604-608. doi: 10.1520/JFS15011J

- Castro CP, García MD, Silva PM, Silva IF, Serrano A (2013) Coleoptera of forensic interest: a study of seasonal community composition and succession in Lisbon, Portugal. *Forensic Science International*, 232(1-3): 73-83. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.06.014
- Catts EP, Haskell NH (1991) *Entomological and Death: A procedural guide*. Joyce's Printshop, Clemsom, v 182
- Cruise A, Watson DW, Schal C (2018) Ecological succession of adult necrophilous insects on neonate *Sus scrofa* domesticus in central North Carolina. *PloS one* 13(4): e0195785. doi: 10.1371/journal.pone.0195785
- Daly HD, Doyen JT, Purcell AH (1998) *Introduction to Insect Biology and Diversity*. Oxford University Press, Oxford, p 675.
- Di Ilio V, Metwaly N, Saccardo F, Caprio E (2018) Adult And Egg Mortality of *Rhynchophorus ferrugineus* Oliver (Coleoptera: Curculionidae) Induced By Thiamethoxam And Clothianidin. *J Agric Vet Sci* 11: 59-67. doi: 10.9790/2380-1102025967
- Dix J, Graham M (1999) *Time of death, decomposition and identification: an atlas*. CRC press, p 120. doi: 10.1201/9781420048285
- Erzinçlioglu Z (1996) *Blowflies*. The Richmond Publishing Co. Ltd., Slough, United Kingdom.
- Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, Fell R (2014). Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33(4): 719-731. doi: 10.1002/etc.2527
- Faria LS, Paseto ML, Franco FT, Perdigão VC, Capel G, Mendes J (2013) Insects breeding in pig carrion in two environments of a rural area of the state of Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Entomology*, 42(2): 216-222. doi: 10.1007/s13744-012-0099-8
- Fockink DH, Martins CB, Zarbin PH (2015) Identification and synthesis of the male produced volatiles of the carrion beetle, *Oxelytrum erythrurum* (Coleoptera: Silphidae). *Tetrahedron letters*, 56(39): 5353-5356. doi: 10.1016/j.tetlet.2015.08.004
- G1 Piracicaba e Região (2018) Homem de 22 anos é encontrado morto em canal de Santa Bárbara d'Oeste. <https://g1.globo.com/sp/piracicaba-regiao/noticia/2018/10/13/homem-de-22-anos-e-encontrado-morto-em-canavial-de-santa-barbara-doeste.ghtml>. Acesso em 06 de fev de 2019.
- G1 Triângulo Mineiro (2018) Corpo de idoso desaparecido é encontrado em canal na cidade de Delta. <https://g1.globo.com/mg/triangulo-mineiro/noticia/2018/12/17/corpo-de-idoso-desaparecido-e-encontrado-em-canavial-na-cidade-de-delta.ghtml>. Acesso em 06 de fev de 2019.

- Gennard J, Kelly J (1997). The unimportance of labels: the diffusion of the personnel/HRM function. *Industrial Relations Journal*, 28(1), 27-42.
- Goff ML, Lord WD (1994) Entomotoxicology. A new area for forensic investigation. *Am J Forensic Med Pathol* 15(1): 51-57
- Goff ML, Miller ML, Paulson JD, Lord WD, Richards E, Omori AI (1997) Effects of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver tissue, larvae, and puparia. *J Foren Sci* 42(2): 276-280. doi: 10.1520/JFS14110J
- Goff ML (2000) *A Fly for the Prosecution: How Insects Evidence Helps Solve Crimes*. Harvard University Press, Cambridge, p 240
- Gomes L, Gomes G, Casarin FE, Silva IMD, Sanches MR, Von Zuben CJ, Fowler HG (2007) Visual and olfactory factors interaction in resource-location by the blowfly, *Chrysomya megacephala* (Fabricius)(Diptera: Calliphoridae), in natural conditions. *Neotrop Entomol*, 36(5), 633-639. doi: 10.1590/S1519-566X2007000500001
- Gomes L, Gomes G, Desuó IC (2009) A preliminary study of insect fauna on pig carcasses located in sugarcane in winter in southeastern Brazil. *Med Vet Entomol*, 23(2), 155-159. doi: 10.1111/j.1365-2915.2009.00796.x
- Goulson D (2013) An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4), 977-987. doi: 10.1111/1365-2664.12111
- Gunatilake K, Goff ML (1989) Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae. *J Foren Sci* 34(3): 714-716. doi: 10.1520/JFS12698J
- Introna F, Campobasso CP, Goff ML (2001) Entomotoxicology. *Foren Sci Int* 120(1): 42-47. doi: 10.1016/S0379-0738(01)00418-2
- Keh B (1985) Scope and applications of forensic entomology. *Annu Rev Entomol* 30(1): 137-154. doi: 10.1146/annurev.en.30.010185.001033
- Kulshrestha P, Satpathy DK (2001) Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Sci Int* 120(1-2): 15-17. doi: 10.1016/S0379-0738(01)00410-8
- Maienfisch P, Angst M, Brandl F, Fischer W, Hofer D, Kayser H, Widmer H (2001) Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest management science*, 57(10), 906-913. doi: 10.1002/ps.365
- Mann KG, Nesheim ME, Church WR, Haley P, Krishnaswamy S (1990) Surface-dependent reactions of the vitamin K-dependent enzyme complexes. *Blood*, 76(1): 1-16.

- Marcuzzo FFN (2014) Distribuição espacial da sazonalidade da precipitação pluviométrica no Mato Grosso do Sul e estudo de anomalias interanual. *Acta Geográfica (UFRR)*, 8, p. 22-39. doi: 10.5654/acta.v8i16.1366
- Matsuda K, Buckingham SD, Kleier D, Rauh JJ, Grauso M, Sattelle DB (2001) Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in pharmacological sciences*, 22(11), 573-580. doi: 10.1016/S0165-6147(00)01820-4
- Matuszewski S, Bajerlein D, Konwerski S, Szpila K (2010) Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 2: composition and residency patterns of carrion fauna. *Foren Sci Int* 195(1-3): 42-51. doi: 0.1016/j.forsciint.2009.11.007
- Mise KM, Almeida LD, Moura MO (2007) Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. *Rev Bras Entomol* 51(3): 358-368. doi: 10.1590/S0085-56262007000300014
- Moretti TDC (2006) Artrópodes associados às carcaças de pequenos roedores expostas em área de formação vegetal secundária no município de Campinas, SP. *Biota Neotropica*.
- Müller T, Prosche A, Müller C (2017) Sublethal insecticide exposure affects reproduction, chemical phenotype as well as offspring development and antennae symmetry of a leaf beetle. *Environ Pollut* 230: 709-717. doi: 10.1016/j.envpol.2017.07.018
- Oliveira-Costa JA (2013) *Entomologia forense: quando os insetos são os vestígios*, 3rd ed. Editora Millenium, São Paulo.
- Paula MC, Morishita GM, Cavarson CH, Gonçalves CR, Tavares PR, Mendonça A, Suárez YR, Antonialli-Junior WF (2016) Action of ants on vertebrate carcasses and blow flies (Calliphoridae). *J Med Entomol* 53(6): 1283-1291. doi: 10.1093/jme/tjw119
- Payne JA (1965) A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology*, 46(5), 592-602. doi: 10.2307/1934999
- Rosa TA, Babata ML, Souza CD, Sousa DD, Mello-Patiu CD, Mendes J (2009) Dípteros de interesse forense em dois perfis de vegetação de cerrado em Uberlândia, MG. *Neotropical Entomology* 38(6): 859-866
- Santos WE (2014) Papel dos besouros (Insecta, Coleoptera) na Entomologia Forense. *Revista Brasileira de Criminalística*, 3(2). doi: 10.15260/rbc.v3i2.71
- Schoenly K, Reid W (1987) Dynamics of heterotrophic succession in carrion arthropod assemblages: discrete seres or a continuum of change?. *Oecologia*, 73(2), 192-202. doi: 10.1007/BF00377507

- Smith KGV (1986) A Manual of forensic entomology. Trustees of the British Museum (Natural History), London, England, p 205
- Sutherland WJ (Ed.) (1996) Ecological census techniques: a handbook. Cambridge University Press, , Cambridge: 111-138
- Tennekes H, Zillweger AB (2010) The systemic insecticides: a disaster in the making. ETS Nederland BV.
- Tibco Software Inc. 2017. Tibco Statistica. Quick Reference software release 13.3. p.205. Retrieved from: https://docs.tibco.com/pub/stat/13.3.1/doc/pdf/TIB_stat_13.3_quick_ref.pdf
- Tooming E, Merivee E, Must A, Merivee MI, Sibul I, Nurme K, Williams IH (2017). Behavioural effects of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam on the predatory insect *Platynus assimilis*. *Ecotoxicology* 26(7): 902-913. doi: 10.1007/s10646-017-1820-5
- Trivia AL, Carvalho-Pinto CJ (2018) Analysis of the Effect of Cyclophosphamide and Methotrexate on *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of forensic sciences* 63(5): 1413-1418. doi: 10.1111/1556-4029.13740
- Vaz-de-Mello FZ, Edmonds W, Ocamp FC, Schoolmeesters P (2011) A multilingual key to the genera and subgenera of the subfamily Scarabaeinae of the New World (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zootaxa* 2854(1): 1-73.
- Verheggen F, Perrault KA, Megido RC, Dubois LM, Francis F, Haubruge E, Forbes SL, Focant JF, Stefanuto PH (2017) The odor of death: an overview of current knowledge on characterization and applications. *Bioscience*, 67(7), 600-613. doi: 10.1093/biosci/bix046
- Villet MH, Amendt J (2011) Advances in entomological methods for death time estimation. *Forensic Pathol Rev* . Humana Press, pp 213-237
- von Hoermann C, Ruther J, Ayasse M (2012) The attraction of virgin female hide beetles (*Dermestes maculatus*) to cadavers by a combination of decomposition odour and male sex pheromones. *Frontiers in zoology*, 9(1), 18. doi: 10.1186/1742-9994-9-18
- Wolff M, Bules A, Zapata G, Morales G, Benecke M (2004) Detection of Parathion (O, O diethyl O (4-nitrophenyl) Phosphorothioate) by HPLC in insect of Forensic importance in Medellin Colombia. *Ann Aggr Int J Foren Med Tox* 5: 6-11
- Wolff M, Uribe A, Ortiz A, Duque P (2001) A preliminary study of forensic entomology in Medellin, Colombia. *Forensic Science International*, 120(1-2), 53-59. doi: 10.1016/S0379-0738(01)00422-4

Yan-Wei S, Xiao-Shan L, Hai-Yang W, Run-Jie Z (2010) Effects of malathion on the insect succession and the development of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in the field and implications for estimating postmortem interval. *Am J Foren Med Path* 31(1): 46-51. doi: 10.1097/PAF.0b013e3181c215b4

Zhou L, Liu L, Chang L, Li L (2011) Poisoning deaths in Central China (Hubei): a 10-year retrospective study of forensic autopsy cases. *Journal of forensic sciences*, 56, S234-237. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01625.x

Zou Y, Huang M, Huang R, Wu X, You Z, Lin J, Huang X, Qiu X, Zhang S (2013) Effect of ketamine on the development of *Lucilia sericata* (Meigen)(Diptera: Calliphoridae) and preliminary pathological observation of larvae. *Foren Sci Int* 226(1-3): 273-281. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.01.042

CAPÍTULO II

Primeiro relato do uso de insetos para estimar intervalo pós- morte em caso de homicídio no interior de residência no centro-oeste do Brasil

ADMM Eulalio^{a;b*}, MC Paula^{b;c}, KB Michelutti^{b,c}, FC Oliveira^{a;b}, ACS Brum^b, AK Harada^d, GV Gomes^d, WF Antonialli-Junior^{a;b;c}

^aPrograma de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil; ^bCentro de Estudos em Recursos Naturais, Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, MS, Brazil; ^cCentro de Estudos em Recursos Naturais, Laboratório de Análise Instrumental, Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, MS, Brazil; ^dUnidade Regional de Perícia e Identificação – URPI Dourados, Dourados, MS, Brazil.

Resumo

As moscas são o grupo que possui maior importância para a entomologia forense, sendo o primeiro grupo a colonizar o cadáver e também o mais representativo durante o processo de decomposição. Estes insetos são usados principalmente para estimar o Intervalo Pós Morte (IPM), mas não menos importante, como vestígio para responder se houve morte natural ou violenta. Desta forma, o objetivo deste estudo foi relatar, pela primeira vez na região centro-oeste do Brasil, a utilização de vestígios entomológicos como ferramenta auxiliar na resolução de uma investigação criminal. Neste caso de homicídio foram coletadas e identificadas 5 espécies de Diptera e pertencentes a duas famílias (Calliphoridae e Muscidae). O cálculo do Grau Hora Acumulado (GHA) foi realizado a partir de dados referentes a taxa de desenvolvimento da espécie *Chrysomya megacephala*, os quais foram obtidos de trabalhos realizados em laboratório no Brasil, sob as mesmas condições de temperatura em que a espécie e o corpo estavam submetidos. Os resultados baseados na idade das larvas e no seu padrão de alimentação permitiu estimar o IPM_{min} e inferir sobre a natureza do crime. Nossos resultados mostram que as moscas podem ser utilizadas como evidências em investigações criminais, demonstrando o potencial da Entomologia Forense para a região.

Palavras-Chave: Intervalo Pós-Morte; Diptera; Calliphoridae; Estágios de desenvolvimento; Grau Hora Acumulado; Causa da Morte.

First report of insect use to estimate time of death in an indoor case in the Brazilian midwest

Abstract

Flies are the most important group for forensic entomology, because, in addition to being the first to colonize the body, they are the most representative during the decomposition process. These insects are mainly used for the Post-Mortem Interval (PMI) estimation, and not less importantly, as vestige to respond whether it was a natural or violent death. Thus, the aim of this study was to report for the first time in the Brazilian midwest, the use of entomological data as a complementary tool to assist in the elucidation of a criminal investigation in the State of Mato Grosso do Sul. In this homicide case, five species of Diptera were collected and identified, belonging to two families (Muscidae and Calliphoridae). The Accumulated Degree Hour (ADH) calculation was made using the specie *Chrysomya megacephala* rate of development obtained from research carried out at the laboratory in Brazil, under the same temperature conditions in which the species and the body were submitted. The results based on the age of the larvae and their feeding pattern, allowed to estimate the IPMmin and to infer about the nature of the crime. Our results show that flies can be used as evidence in criminal investigations, demonstrating the potential of forensic entomology for the region.

Keywords: Post-Mortem Interval; Diptera; Development stage; Accumulated Degree Hour; Cause of death.

1. Introdução

Os califorídeos, conhecidos como moscas varejeiras, são considerados como o grupo de maior importância para a Entomologia Forense, pois localizam o corpo logo após a morte e em seguida realizam a oviposição (Goff & Lord 1994). Isso permite que os cálculos para determinar o IPM se tornem mais precisos, pois os indivíduos coletados se encontram na cena de crime desde o início da decomposição (Carvalho & Linhares 2001). Outro grupo muito utilizado como evidência entomológica são as moscas da família Muscidae (Byrd & Castner 2010). Este grupo tem ampla distribuição geográfica, encontra-se associado aos seres humanos nos mais diversos ambientes e é considerado a terceira família de Diptera de maior importância para a entomologia forense (Byrd & Castner 2010).

Para uma estimativa mais precisa do IPM, leva-se em consideração a duração do ciclo de desenvolvimento da espécie encontrada no cadáver, portanto, sua identificação correta é de extrema relevância, uma vez cada espécie possui um padrão de desenvolvimento diferente (Amendt *et al* 2004, Jordaens *et al* 2013, Oliveira-Costa *et al* 2013). Além disto, também é necessário levar em conta fatores abióticos presentes no local do crime, como temperatura e umidade (Amendt *et al* 2004). Estes fatores podem influenciar significativamente o tempo de desenvolvimento das espécies de moscas, uma vez que altas temperaturas aceleram o seu ciclo de vida, e baixas temperaturas o atrasam (Ames & Turner 2003). Em adição a isso, para realizar a estimativa do IPM é necessário que sejam coletados na cena do crime os estágios mais avançados, ou seja, os que foram postos na primeira onda de oviposição e, portanto, podem fornecer o tempo de exposição do cadáver (Oliveira-Costa 2013).

A entomologia forense também vem sendo aplicada para apontar a natureza do crime, visto que principalmente as moscas apresentam preferências por determinados sítios de oviposição (Haskell & Catts 1990). Portanto é comum encontrar oviposições e massas larvais nos orifícios naturais como olhos, boca, nariz, orifício anal e genital (Charabidze *et al* 2015). Por outro lado, quando um cadáver apresenta ferimentos, estes locais também são favoráveis para a oviposição e alimentação larval devido a exposição dos tecidos moles (Smith 1986). Assim, a oviposição pelos dípteros ocorrerá primeiramente nos orifícios ou feridas do cadáver (Amendt *et al* 2004).

O acesso ao cadáver pelos insetos também tem um papel importante na decomposição e conseqüentemente nas investigações criminais (Bugelli *et al* 2015). É possível observar diferenças na composição da fauna em carcaças que se encontram em locais fechados comparado à ambientes abertos, seja pela riqueza ou abundância de

espécies de moscas e/ou de ovos depositados. (Smith 1986, Reibe & Madea 2010, Anderson 2011). Não somente a fauna será distinta entre estes dois locais, mas também o microclima, a acessibilidade, ciclo de vida, entre outros fatores que devem ser considerados no momento da utilização de dados entomológicos em casos de achados de corpos em ambientes fechados (Bugelli *et al* 2015).

No Brasil, a entomologia forense é pouco utilizada pelos especialistas criminais, sendo, muitas vezes menosprezada, mesmo em casos onde as informações fornecidas pelos insetos possam indicar dados importantes para as investigações (Vairo *et al* 2015). Poucos casos reais são publicados no Brasil utilizando os insetos como uma ferramenta para as investigações, fazendo com que a área ainda seja pouco aceita (Pujol-Luz *et al* 2008a). Contudo, o uso de pistas fornecidas pelos insetos é interessante e pode se tornar muito útil no momento das investigações, principalmente em países como o Brasil, que possui uma grande extensão territorial com climas e condições geográficas tão distintas de uma região para outra (Pujol-Luz *et al* 2008a), fato que torna a diversidade da fauna associada a carcaça muito rica.

As investigações que utilizam a fauna de insetos são determinantes na compreensão e elucidação de diversos casos (Greenberg 1985). Desta forma, a fim de demonstrar a importância do uso da entomologia forense como uma ferramenta complementar para desvendar casos reais, apresentamos aqui o primeiro relato de caso realizado no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, utilizando dados fornecidos por moscas de interesse forense para solucionar aspectos importantes na investigação de um crime.

2. Material e Métodos

As coletas foram realizadas pelo grupo de pesquisa em entomologia forense do Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO/UEMS). A temperatura no local da morte foi medida por meio de um aparelho Medidor Multifunção ITMP-600. Foi obtida também a temperatura média do dia 06 e dos dias 05, 04 e 03/09 por meio de dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) da estação de medição #86858 (Dourados, MS), localizada a latitude 22° 11'38.11" S e longitude 54° 54'40.88" W. A temperatura da massa larval no corpo foi tomada por meio de Termômetro Infravermelho MT-350PG.

Devido à grande abundância da massa larval não foi possível quantificá-la *in situ*, sendo assim foram fotografadas todas as regiões do corpo para serem categorizadas por ordem de abundância de acordo as massas larvais, seguindo a metodologia de Vasconcelos

et al (2014) que propõe as seguintes categorias: até 1.000 larvas, 1.000 a 3.000, >3.000. Os membros inferiores e superiores, assim como o tórax e o abdômen não foram categorizados.

Foram coletados, com auxílio de pinça e rede entomológica, todos os estágios de desenvolvimento presentes no cadáver, dentre eles: massas de ovos, larvas de diferentes instares e adultos de diferentes espécies de Diptera. Os espécimes imaturos foram coletados, separados por local de coleta no corpo e em seguida acondicionados em recipientes plásticos de 250 mL, contendo carne moída fresca e transportados ao Laboratório de Ecologia Comportamental (UEMS). No laboratório as larvas foram separadas por estágios de desenvolvimento em potes de 250 mL, onde foram mantidos até a fase adulta para possibilitar sua identificação. Os adultos coletados no local foram acondicionados em gaiolas de criação de 30 cm³. Cerca de 50 larvas de cada instar foram fixados em álcool 70% como voucher e o restante foi criado em incubadora sob temperatura controlada de 32 °C, com fotoperíodo de 12:12 (L:D). Os espécimes coletados foram identificados utilizando chave de identificação de Carvalho & Mello-Patiu (2008).

Para o cálculo do intervalo pós-morte foram utilizadas as equações apresentadas por Goff (2000) e realizado o cálculo do Grau Hora Acumulado (GHA) por meio da multiplicação da temperatura e do tempo, como já realizado por Goff (2000) e Ramos-Pastrana & Wolff (2017). O IPMmin foi estimado utilizando o instar larval mais avançado, no caso, larvas de terceiro instar. A fim de evitar erros no cálculo, a temperatura utilizada foi baseada no estágio de desenvolvimento das larvas, como proposto por Higley & Haskell (2001). Assim utilizamos as temperaturas da massa larval para os instares finais (2° e 3° instar) e a temperatura ambiente para os estágios iniciais (ovo e 1° instar larval) obtidas neste caso.

Utilizamos para o cálculo do IPM as larvas da espécie *Chrysomya megacephala*, que estava no 3° instar, uma vez que Reibe *et al* (2010) sugerem que não sejam utilizadas larvas no período de pós-alimentação e pupa para estimar o Grau Dia ou Hora Acumulado por meio do modelo linear, pois o tempo de desenvolvimento destes estágios é altamente dependente da temperatura, sendo mais sensível às oscilações de temperatura do que os estágios iniciais.

Foi utilizado o Grau Hora Acumulado esperado já calculado de 1.920,00 (GHA) apresentado por Oliveira-Costa (2013), adaptado de Milward de Azevedo *et al* (1996), por empregar dados realizados no Brasil e que mais se assemelham a este caso. Este valor representa as horas necessárias para que a espécie *C. megacephala* se desenvolva nestas condições. Como proposto por Higley & Haskell (2001) foi realizado um cálculo retroativo

que vai do estágio de desenvolvimento da espécie encontrado no corpo até o período de oviposição.

3. Resultados

No dia 06 de setembro de 2017, o corpo de um homem de 53 anos foi encontrado dentro de uma residência em avançado estágio de decomposição na cidade de Dourados, no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. A residência era de alvenaria de 4 cômodos com aproximadamente 45 m² de construção. O corpo estava no chão do quarto entre a cama e o guarda-roupa, vestindo uma camiseta, shorts e chinelo. Na sala ao lado havia uma janela do tipo basculante que estava aberta e este possivelmente foi o único acesso dos insetos ao corpo. O corpo estava em posição supinada, com os braços abertos. Em sua mão direita havia um cigarro parcialmente consumido entre os dedos indicador e médio. Devido ao estágio de decomposição em que o corpo foi encontrado, ele exalava forte odor, apresentava regiões do corpo que tinham perdido a rigidez cadavérica, desprendimento da epiderme, face com aspecto negroide e gigantismo.

Sob o cadáver e em seu entorno havia uma grande quantidade de larvas de dípteros, onde era possível observar massas larvais nos orifícios naturais do corpo, como olhos, boca, nariz, região genital e ânus além de uma massa significativa de larvas na região do pescoço. Foram observadas larvas de diferentes tamanhos e/ou instares incluindo algumas no piso já se afastando do cadáver, possivelmente em fase de pós-alimentação, procurando um local para pupação.

A temperatura no interior da residência no momento em que chegamos no local foi de 30°C ± 1 e a temperatura da massa larval foi de 32°C ± 1. Já as temperaturas médias obtidas a partir da estação meteorológica para os dias 06 (seis), 05 (cinco), 04 (quarto), 03 (três) foram de 24.4 °C ± 6.3, 24.8 °C ± 4.5, 26.6 °C ± 4.9 e 26.3 °C ± 4.5 respectivamente.

Durante o exame do corpo no local do crime e por meio de comparações fotográficas, categorizamos as regiões do corpo com maior abundância de massas larvais na seguinte ordem segundo a metodologia de Vasconcelos *et al* (2014): pescoço (>3.000), cabeça (boca, olhos, nariz) (1.000 a 3.000), região genital (até 1.000). Não havia grande número de larvas se alimentando de outras regiões do corpo como tórax, abdômen e membros.

Foram identificadas cinco espécies pertencentes a duas famílias: *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1974), *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) (Calliphoridae) and *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Muscidae). Dentre estas, as larvas coletadas estavam

nos seguintes estágios de desenvolvimento: 1º instar (*C. albiceps*), 2º instar (*M. domestica*, *C. putoria* e *C. albiceps*), 3º instar (*C. megacephala*) e pós-alimentação (*L. eximia*). Não foram encontrados insetos de outras ordens no cadáver.

Os valores de GHA obtidos a cada dia calculados por meio das temperaturas e das horas de desenvolvimento estão apresentadas na Tabela 2. Até o dia 04 de setembro de 2017 foi de 1.854.4 (Tabela 1). Entretanto, ainda restaram 65.6 GHA mínimo para *C. megacephala* completar o seu ciclo e por isso foi necessário dividir este valor restante com a média de temperatura do dia seguinte, neste caso: $65.6 \text{ GHA} / 26.2 \text{ }^\circ\text{C} \pm 4.5$ (média do dia 03/09/2017). Obtendo assim 2.5 hr, concluindo que a primeira ovipostura das moscas desta espécie ocorreu por volta das 21:30 hr do dia 03 de setembro de 2017 (Figura 1).

4. Discussão

O uso dos insetos nas investigações criminais no Brasil tem se tornado cada vez mais comum, entretanto este é o primeiro relato de caso no estado do Mato Grosso do Sul. Por meio dos dados entomológicos obtidos neste estudo conseguimos estimar o IPMmin e também inferir sobre a possível causa da morte. Além disso, apresentamos aqui pela primeira vez, um levantamento de espécies de moscas de interesse forense coletadas em cadáver humano na região Centro-Oeste. Outros trabalhos experimentais realizados nesta mesma região demonstram seu possível uso para a perícia, especialmente para determinar o intervalo pós-morte (Luiz *et al* 2012, Paula *et al* 2016, Paula *et al* 2017).

O IPM mínimo de 2.68 dias é congruente com os relatos das testemunhas que disseram ter visto a vítima pela última vez no dia 03 de setembro, ou seja, 3 dias antes da perícia encontrar o cadáver. A precisão de dados climáticos, como a temperatura, coletados em estações meteorológicas próximas ao local da morte para o cálculo do IPM pode ser questionada, pois variam entre os micro-habitats que são influenciados por diversos outros fatores (Catts 1992). Deste modo, a temperatura ambiente não representaria com exatidão a condição em que as larvas estavam no corpo (Amendt *et al* 2004, Reibe *et al* 2010). Massas de larvas apresentam temperaturas mais elevadas do que as encontradas na cena do crime, já que seu metabolismo durante a alimentação aumenta suas condições de temperatura (Wells & LaMotte 1995). Portanto, caso tivéssemos utilizado apenas a temperatura média obtida a partir da estação meteorológica o tempo de morte obtido seria maior, chegando a mais de 3 dias, o que geraria falhas na interpretação de todo o restante dos aspectos da investigação.

Esta estimativa foi feita baseada em dados encontrados sobre o ciclo de *C. megacephala* em estudos desenvolvidos no Brasil (Milward de Azevedo *et al* 1996), uma

vez que as informações sobre o ciclo de vida da espécie de estudos realizados em outros países podem ser incompatíveis, levando a uma estimativa errada, já que as variações climáticas são diferentes e até mesmo dentro de um país com uma área geográfica extensa, como o Brasil, as condições ambientais mudam de uma região para outra (Vairo *et al* 2015).

Além de *C. megacephala*, foram coletadas larvas de mais 4 espécies de moscas no cadáver, o que mostra a riqueza da diversidade associada a cadáveres em decomposição da região, mesmo considerando que o corpo estava dentro de uma residência, restringindo assim o seu acesso. Em casos onde são encontrados corpos no interior de residências, a diversidade de espécies colonizando o cadáver é relativamente escassa (Anderson 2011, Vairo *et al* 2015). É importante ressaltar aqui que o único ponto de acesso ao cadáver pelos insetos era uma janela que estava parcialmente aberta. Este é um fator muito relevante em casos que ocorrem no interior de residências, já que pode alterar o padrão de colonização da entomofauna cadavérica e diminuir a ocorrência de insetos (Bugelli *et al* 2015) e, por isto não encontramos insetos de outras ordens. Como todas as espécies encontradas são comuns em ambientes urbanos, algumas delas já estariam no interior da casa, em lixos ou em outra matéria orgânica decomposta presente no local, justificando a diversidade encontrada ali.

As evidências entomológicas encontradas no local também ajudaram a inferir a causa morte. As investigações em cenas de crime no estado do Mato Grosso do Sul são feitas em duas etapas, similar ao que acontece ao estado de São Paulo (Thyssen *et al* 2018). Na primeira etapa o perito criminal realiza um exame pericial no local do crime em busca de evidências, também denominada como perinecropsia. Já a segunda etapa ocorre no Instituto de Medicina Legal (IML) no qual o médico legista realiza a autópsia do corpo. Neste caso, durante a primeira etapa foi constatada a possível causa da morte como sendo consequência de um corte feito por instrumento perfuro-cortante na região do pescoço. Entretanto, antes do exame perinecropsia, foi possível observar uma grande quantidade de larvas nesta região do corpo, sendo esta a primeira evidência de que a morte não havia sido natural. Assim, por meio das evidências entomológicas, inferimos que a causa da morte foi violenta.

Imaturos de moscas se alimentam dos tecidos moles do corpo, sendo incapazes de se alimentar dos tecidos mais rígidos uma vez que seu aparelho bucal é pouco esclerotizado (Hobson 1931, Hobson 1932). Dessa forma, caso haja ferimentos no cadáver, a oviposição ocorrerá próximo a estas regiões (Amendt *et al* 2004). Autores como Campobasso & Introna (2001), já discutiram sobre a utilização do padrão de alimentação de larvas de moscas em cadáveres em decomposição, para localizar regiões onde possam haver

ferimentos. Além disso, no estudo de caso de Oliveira-Costa & Carneiro (2002), os autores apontaram a morte como sendo natural, uma vez que foram encontradas evidências entomológicas apenas próximas aos orifícios naturais.

Deste modo, utilizando a entomologia forense, foi possível chegar a conclusões importantes sobre este caso, dentre eles, quando provavelmente ocorreu o crime e a possível causa da morte. Assim como demonstrado já em outros trabalhos realizados no Brasil, as evidências entomológicas podem auxiliar as investigações criminais (Pujol-Luz *et al* 2006, Pujol-Luz *et al* 2008b, Vairo *et al* 2015, Thyssen *et al* 2018). No entanto, as diferenças climáticas de cada região do território brasileiro tornam as pesquisas em entomologia forense necessárias, devido à grande diversidade de insetos necrófagos encontrados (Vairo *et al* 2015), que variam entre diferentes regiões do país. Os poucos trabalhos existentes com dados da região centro-oeste tornam evidente a necessidade de mais pesquisas na área. Desta forma, poderemos confirmar a importância dos insetos para as investigações, como aqui demonstrado, e tornar as parcerias entre polícia científica e universidade mais frequentes no estado, agilizando e aumentando as chances de se solucionar as investigações criminais, sobretudo em casos de crimes violentos.

5. Figuras e Tabelas

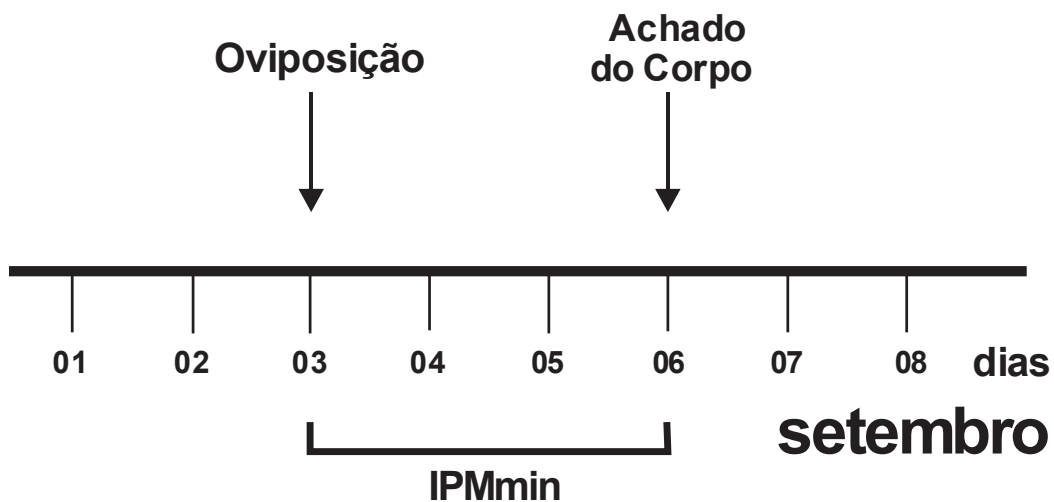


Figura 1. Linha temporal mostrando os acontecimentos. Data do achado de corpo; Data da provável morte baseada na Estimativa do Intervalo Pós-Morte mínimo.

Tabela 1. Cálculo do Grau Hora Acumulado (GHA) do caso estudado para a espécie *Chrysomya megacephala* no decorrer dos estágios de desenvolvimento.

Data	Horas/ Temperatura Média dos Dias		GHA
06/09/2017	14h x 32 °C (±1)	=	448
05/09/2017	24h x 32 °C (±1)	=	768
04/09/2017	24h x 26.6 °C (±4,9)	=	638,4
GHA Total		=	1.854,4

6. Referências Bibliográficas

- Amendt J, Krettek R, Zehner R (2004) Forensic entomology. *Naturwissenschaften* 91(2): 51-65. doi: 10.1007/s00114-003-0493-5
- Ames C, Turner B (2003) Low temperature episodes in development of blowflies: implications for postmortem interval estimation. *Med Vet Entomol* 17(2): 178-186. doi: 10.1046/j.1365-2915.2003.00421.x
- Anderson GS (2011) Comparison of decomposition rates and faunal colonization of carrion in indoor and outdoor environments. *J Forensic Sci* 56(1): 136-142. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01539.x
- Bugelli V, Forni D, Bassi LA, Di Paolo M, Marra D, Lenzi S, Toni C, Giusiani M, Domenici R, Gherardi M, Vanin S (2015) Forensic entomology and the estimation of the minimum time since death in indoor cases. *J Forensic Sci* 60(2): 525-531. doi: 10.1111/1556-4029.12647.21
- Byrd JH, Castner JL (2010) Insects of forensic importance. Byrd y Castner (Eds.). *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. 2nd edition. CRC Press, Boca Raton, FL, USA
- Campobasso CP, Introna F (2001) The forensic entomologist in the context of the forensic pathologist's role. *Forensic Sci Int*, 120(1-2): 132-139. doi: 10.1016/S0379-0738(01)00425-X
- Carvalho CJBD, Mello-Patiu CAD (2008) Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Rev Bras Entomol* 52(3): 390-406. doi: 10.1590/S0085-56262008000300012
- Carvalho LML, Linhares AX (2001) Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastern Brazil. *J Forensic Sci* 46(3): 604-608. doi: 10.1520/JFS15011J
- Catts EP (1992) Problems in estimating the postmortem interval in death investigations. *J Agricult Entomol* 9(4): 245-255
- Charabidze D, Depeme A, Devigne C, Hedouin V (2015) Do necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) lay their eggs in wounds? Experimental data and implications for forensic entomology. *Forensic Sci Int* 253: 71-75. doi: 10.1016/j.forsciint.2015.05.025
- Goff ML (2000) *A Fly for the Prosecution: How Insects Evidence Helps Solve Crimes*. Harvard University Press, Cambridge, 240p
- Goff ML, Lord WD (1994) Entomotoxicology. A new area for forensic investigation. *Am J Forensic Med Pathol* 15(1): 51-57

- Greenberg B (1985) Forensic entomology: case studies. *Am Entomol* 31(4): 25-28. doi: 10.1093/besa/31.4.25
- Hammer, Ø. (1999). PAST paleontological statistics version 3.0: reference manual. University of Oslo.
- Haskell N, Catts EP (1990) Entomology and death: a procedural guide. Joyce's Print Shop. Clemson
- Higley LG, Haskell NH (2001) Insect development and forensic entomology. In: Byrd JH, Castner JL (eds) Forensic entomology – the utility of arthropods in legal investigations. CRC Press, Boca Raton. pp. 287–302
- Hobson RP (1931) Studies on the nutrition of blow-fly larvae: I. Structure and function of the alimentary tract. *J Exp Biol* 8(2): 109-123
- Hobson RP (1932) Studies on the nutrition of blow-fly larvae. In: Hobson R.P., eds. The liquefaction of muscle. *J Exp Biol* 9(4): 359-365
- Jordaens K, Sonet G, Richet R, Dupont E, Braet Y, Desmyter S (2013) Identification of forensically important Sarcophaga species (Diptera: Sarcophagidae) using the mitochondrial COI gene. *Int J Legal Med* 127(2): 491-504. doi: 10.1007/s00414-012-0767-6
- Luiz HL, Taira TL, Koller WW (2012) New records of Muscidae (Diptera) in Campo Grande, MS, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 21(4): 412-414
- Milward de Azevedo EMV, Carraro VM, Martins C, Moreira OI, Cruz M, Serafin I (1996) Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) em diferentes temperaturas, sob condições experimentais. *Arq Biol Tecnol* 39(4): 793-798
- Oliveira-Costa J (2013) Entomologia Forense - Quando os insetos são vestígios. Campinas, Millennium; 257
- Oliveira-Costa J, Carneiro MM (2002) Caso de estudo – Evidências entomológicas associadas à causa jurídica da morte e o intervalo *post mortem*. Porto Alegre: Resumos do Brasil Forense.
- Oliveira-Costa J, Oliveira RGD, Bastos CDS (2013) Diptera Calliphoridae de importância forense no município do Rio de Janeiro. *Revista Eletrônica Novo Enfoque*. 16(16): 41-52
- Paula MC, Antonialli-Junior WF, Mendonça A, Michelutti KB, Eulalio ADMM, Cardoso CAL, Lima TT, Von Zuben CJ (2017) Chemotaxonomic profile and intraspecific variation in the blow fly of forensic interest *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *J Med Entomol* 54(1): 14-23. doi: 10.1093/jme/tjw142

- Paula MC, Morishita GM, Cavarson CH, Gonçalves CR, Tavares PR, Mendonça A, Suárez YR, Antonioli-Junior WF (2016) Action of ants on vertebrate carcasses and blow flies (Calliphoridae). *J Med Entomol* 53(6): 1283-1291. doi: 10.1093/jme/tjw119
- Pujol-Luz JR, Arantes LC, Constantino R (2008a) One hundred years of forensic entomology in Brazil (1908-2008). *Rev Bras Entomol* 52(4): 485-492. doi: 10.1590/S0085-56262008000400001
- Pujol-Luz JR, Francez PADC, Ururahy-Rodrigues A, Constantino R (2008b) The Black Soldier- fly, *Hermetia illucens* (Diptera, Stratiomyidae), Used to Estimate the Postmortem Interval in a Case in Amapá State, Brazil. *J Forensic Sci* 53(2): 476-478. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00659.x
- Pujol-Luz JR, Marques H, Ururahy-Rodrigues A, Rafael JA, Santana FH, Arantes LC, Constantino R (2006) A forensic entomology case from the Amazon rain forest of Brazil. *J Forensic Sci* 51(5): 1151-1153. doi: 10.1111/j.1556-4029.2006.00217.x
- Ramos-Pastrana Y, Wolff M (2017) Postmortem interval estimation based on *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) in a forensic case in the Andean Amazon, Caquetá, Colombia. *Acta Amazon* 47(4): 369-374
- Reibe S, Doetinchem PV, Madea B (2010) A new simulation-based model for calculating post-mortem intervals using developmental data for *Lucilia sericata* (Dipt.: Calliphoridae). *Parasitol Res* 107(1): 9-16. doi: 10.1007/s00436-010-1879-x
- Reibe S, Madea B (2010) How promptly do blowflies colonise fresh carcasses? A study comparing indoor with outdoor locations. *Forensic Sci Int* 195(1-3): 52-57. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.11.009
- Smith KGV (1986) A Manual of forensic entomology. Trustees of the British Museum (Natural History), London, England, p 205
- Thyssen PJ, Aquino MF, Purgato NC, Martins E, Costa AA, Lima CG, Dias CR (2018) Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil. *J Forensic Sci Res* 2: 001-008. doi: 10.29328/journal.jfsr.1001013
- Vairo KP, Corrêa RC, Lecheta MC, Caneparo MF, Mise KM, Preti D, Carvalho CJB, Almeida LM, Moura MO (2015) Forensic use of a subtropical blowfly: the first case indicating minimum postmortem interval (mPMI) in southern Brazil and first record of *Sarconesia chlorogaster* from a human corpse. *J Forensic Sci* 60, 1-4. doi: 10.1111/1556-4029.12596
- Vasconcelos SD, Soares TF, Costa DL (2014) Multiple colonization of a cadaver by insects in an indoor environment: first record of *Fannia trimaculata* (Diptera: Fanniidae) and

Peckia (*Peckia*) *chrysostoma* (Sarcophagidae) as colonizers of a human corpse. Int J Legal Med 128(1): 229-233. doi: 10.1007/s00414-013-0936-2

Wells JD, LaMotte LR (1995) Estimating maggot age from weight using inverse prediction. J Forensic Sci 40(4): 585-590