



CRIAÇÃO DE OVOS DE DIPTERA CALLIPHORIDAE EM DIETA ARTIFICIAL PARA FINS FORENSES.

Fontoura, P.¹

Oliveira - Costa, J.²; Celino, T.B.¹; Costa, C.E.S.¹; Mateini, N.¹; ROSA, D.O.¹

¹Laboratório de Entomologia Forense, Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas, Universidade Castelo Branco, Av. Santa Cruz, 1631, Realengo, Rio de Janeiro, Brasil.

²Universidade Castelo Branco e Instituto de Criminalística Carlos Éboli, Perito Criminal.
priscila_fontoura@oi.com.br

INTRODUÇÃO

A Entomologia Forense tem se consolidado dentro das diversas ciências forenses e tem ganho, ao longo dos anos, um grande destaque devido sua grande contribuição. A aplicação mais comum relaciona - se com a investigação de homicídios, como ferramenta auxiliar na estimativa de intervalo entre a morte e a descoberta do corpo (Byrd & Castner, 2001).

Os dípteros são os insetos mais freqüentes associados ao processo de decomposição de carcaças animais e cadáveres humanos, tanto em estágio adulto, quanto em estágio imaturo, e participam ativamente do processo de decomposição, alimentando - se da matéria orgânica que serve tanto de fonte protéica, como sítio de cópula e estímulo à oviposição (Luederwaldt, 1911).

Pela alta capacidade de perceber odores são os primeiros a chegar em um cadáver, estando presente alguns minutos após a morte de um animal (Smith, 1986). Deslocam - se rapidamente e procuram um lugar com condições ideais para a postura. Muitos utilizam o próprio calor da decomposição para incubar seus ovos (Thyssen, 2005), começando a colonização por orifícios naturais do corpo ou bordas de ferimentos (Smith, 1986).

Os estádios imaturos alimentam - se da carcaça e são os maiores responsáveis pela perda de massa corpórea, sendo Calliphoridae uma das principais famílias envolvidas (Linhares, 1981; Smith, 1986; Carvalho *et al.*, 2000). Como muitas espécies estão presentes em todos os estágios de decomposição cadavérica (Thyssen, 2005), a correta identificação dos insetos é essencial para estabelecer uma acurada estimativa de intervalo pós - morte-IPM (Nuorteva, 1977; Erzincinlioglu, 1983; Marchenko, 2001).

Insetos imaturos são extremamente difíceis de identificar, visto que, não há chaves taxonômicas disponíveis ou caracteres diferenciais muito marcantes. Portanto, para identificação dos insetos de interesse forense é aconselhável criá - los até o estágio adulto (Oliveira - Costa, 2007). Porém, é

grande a taxa de inviabilidade de ovos em laboratório, seja por condições de temperatura, umidade ou manejo inadequado. Esse problema acarreta perda de dados de sucessão e dificuldades para as estimativas de IPM. Conseqüentemente, é necessário que sejam elaboradas técnicas de criação que garantam a viabilidade de insetos nesse estágio.

OBJETIVOS

Esse trabalho tem o objetivo de sugerir uma nova metodologia na criação de ovos de Diptera, avaliando sua eficiência através da comparação da taxa de viabilidade desse estágio em dois experimentos com fins forenses, realizados em estações climáticas sucessivas, utilizando diferentes metodologias.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente trabalho, dois experimentos foram realizados: o primeiro ocorreu entre 22 de setembro a 05 janeiro de 2009 e o segundo de 07 de janeiro a 17 de março de 2009, caracterizando as estações climáticas de primavera e verão, respectivamente.

Ambos experimentos foram realizados no 26^o Batalhão de Infantaria Pára - Quedista (BIPQDT), na Vila militar do bairro de Deodoro, no município do Rio de Janeiro. Trata - se de uma área de mata ciliar em torno de um córrego denominado Lambari.

Para a realização dos experimentos foram utilizados como modelo animal, duas carcaças de porcos domésticos - *Sus scrofa* (Linnaeus), com aproximadamente 15 Kg cada. Este é um animal modelo nas investigações devido à constituição dérmica e a relação torso/membros semelhantes a dos humanos (CATTS & GOFF, 1992). Os porcos foram sacrificados, mecanicamente, por pancada na região craniana e

facada na região do coração. Os experimentos foram realizados em estações sucessivas sem que houvesse alterações nas armadilhas e nas metodologias de coleta.

A exposição da carcaça de porco ocorreu no interior de uma armadilha tipo *malaise* modificada. A armadilha é composta por uma armação metálica circular, coberta por uma capa confeccionada em tecido opaco na base e transparente (tipo escaline) na parte superior de forma a permitir a entrada de luz por cima. Na parte superior da gaiola há um recipiente em plástico transparente contendo em seu interior um funil invertido. O recipiente é acoplado a gaiola por meio de uma tampa vazada e fixada na armação metálica. A capa foi colocada a cerca de 10 cm (dez centímetros) do piso de forma a permitir a entrada dos insetos. Tal aparato impede o acesso de animais de grande porte. Os insetos, após, se alimentarem e/ou realizarem postura sobre a carcaça, tentam abandonar o substrato, sendo atraídos pela luz proveniente da parte superior da armadilha, atravessando o funil e atingindo o recipiente que os impede de retornar.

A carcaça foi vistoriada, diariamente, e a duração das coletas foi determinada pelo tempo de decomposição do porco e pela presença de ovos no local. Ovos foram coletados, manualmente, com o auxílio de pinças entomológicas e pincéis, sendo todo o material acondicionado em potes etiquetados indicando data e local da coleta. Os ovos foram acondicionados em potes contendo papel úmido para evitar a desidratação e conduzidos ao laboratório sob temperatura ambiente. No local de coleta, foram registradas as temperaturas mínimas e máximas do ar e do modelo animal.

Todo o material foi encaminhado ao Laboratório de Entomologia Forense da Universidade Castelo Branco, onde os ovos foram transferidos para potes de criação. Os potes de criação foram confeccionados com recipientes plásticos transparentes contendo tampa vazada e fechada por um segmento de espuma molhado, diariamente. A base do pote era preenchida com areia umedecida.

No experimento da primavera, os ovos foram mantidos sobre o segmento de papel toalha umedecido e foram colocados dentro de um pote menor (tipo embalagem de filme fotográfico). Este pote, por sua vez, foi instalado dentro do pote de criação, sobre a areia umedecida. Após a eclosão, as neo-larvas foram transferidas para outro pote contendo dieta artificial na proporção de 1g/larva, num total de 10 larvas por pote de criação.

No experimento do verão, os ovos foram colocados sobre um segmento de plástico telado com papel filtro umedecido e disposto sobre um recipiente plástico (tipo copo de café) contendo aproximadamente, 20 g de dieta artificial. Após a eclosão, as neo-larvas passavam diretamente a dieta, permanecendo todas no mesmo pote de criação, cuja quantidade de dieta era aumentada para 30g. A dieta foi completada, diariamente, de modo que houvesse sempre 30g de dieta.

Os potes de dieta foram mantidos nos potes de criação até o período de dispersão das larvas. Após a pupação de todos os exemplares, os potes com dieta foram descartados, mantendo - se os potes de criação apenas com a areia. Todos os potes permaneceram em sala sem controle de temperatura, objetivando a emergência dos adultos para identificação.

Os adultos que emergiram foram sacrificados com acetato de etila e armazenados em envelope entomológico para posterior identificação. Os dípteros adultos foram identificados através de chaves propostas por Carvalho & Couri (2002), Carvalho & Ribeiro (2000), Carvalho *et al.*, (2002) e Carvalho & Mello - Patiu (2008).

O material - testemunha encontra - se junto à coleção do Laboratório de Entomologia Forense, na Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro.

RESULTADOS

Na primavera, os ovos foram coletados na carcaça entre o 4^o e o 12^o dia de IPM. Enquanto que no verão, foram coletados entre o 2^o e o 4^o dia de IPM.

No período da primavera, foram mantidos 18 potes de criação com ovos coletados em diferentes lugares. Destes, 28% do total não eclodiram devido à desidratação; 66%, apesar de terem eclodido, desidrataram e morreram ainda no primeiro instar larval e apenas 6% completaram seu desenvolvimento, chegando à emergência. De acordo com PARRA (1991), as larvas de 1^o instar sofrem um impacto maior de mortalidade e variações na quantidade de alimento têm efeito profundo no desenvolvimento dos insetos.

Os insetos emergidos foram identificados como sendo as espécies: *Chrysomya megacephala* Fabricius, 1794 e *Lucilia eximia* Wiedemann, 1819.

No período de verão, 14 potes de criação com ovos coletados em diferentes lugares da carcaça foram mantidos. Destes, 100% dos potes apresentaram emergência. É possível que a manutenção da dieta no pote de criação tenha contribuído para manter a umidade necessária a viabilidade, aumentando as chances de eclosão dos ovos. Os emergidos foram identificados como sendo as espécies: *Chrysomya albiceps* Wiedemann, 1819, *L. eximia* e *Cochliomyia macellaria* Fabricius, 1775.

Dentre todas as espécies que completaram seu desenvolvimento, *L. eximia* foi a mais abundante correspondendo a 47% do total, seguida da *C. albiceps*, com 40%, *Co. macellaria* com 12% e *C. megacephala* com 1%. Tais espécies já foram amplamente reconhecidas como tendo interesse forense (Oliveira - Costa, 2007; Carvalho *et al.*, ., 2004).

Na primavera, as larvas só foram transferidas para a dieta após a eclosão, assim como Varzim (2005) que criou os ovos em papel umedecido sobre placa de Petri. Este método possui maiores riscos à manutenção da criação, pois é necessário a transferência das neo-larvas no momento exato da eclosão uma vez que são mais suscetíveis à mortalidade.

No verão, os ovos foram dispostos em local com recurso alimentar, da mesma forma de THYSSEN (2005) que criou os ovos em frascos plásticos contendo dieta artificial. Carvalho (2006) criou os ovos de Calliphoridae sobre carne moída putrefeita que era trocada diariamente, o que não foi necessário no experimento do verão tendo em vista que só foi preciso completar a dieta para que permanecesse sempre com 30g.

CONCLUSÃO

Os ovos quando são acondicionados em recipientes que pos-

sibilitem o acesso direto ao recurso alimentar possuem uma viabilidade maior em relação à criação sem dieta.

REFERÊNCIAS

- Byrd, J.H. & Castner (eds). *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL. 2001. 534 p.
- Carvalho, C.J.B. & Couri, M.S. Part I. Basal Groups. In: Carvalho C.J.B. (ed). *Muscidae (Diptera) of the Neotropical Region: Taxonomy*. Ed. UFPR, Curitiba, 2002, 287 p.
- Carvalho, C.J.B. & Mello - Patiu, C.A. Keys to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Rev. Bras. Entomol.* 52: 390 - 406. 2008.
- Carvalho, C.J.B.; Moura, M.O. & Ribeiro, P.B. Chave para adultos de dípteros (Muscidae, Fanniidae, Anthomyiidae) associados ao ambiente humano no Brasil. *Rev. Bras. Entomol.* 46 (2): 107 - 114. 2002.
- Carvalho, C.J.B. & Ribeiro, P.B. Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do sul do Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 9 (2): 169 - 173. 2000.
- Carvalho, L.M.L., Tyssen, P.J., Linhares, A.X., Palhares, F.A.B. A Checklist of Arthropods Associated with Pig Carrion And Human Corpses in Southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 95: 135 - 138. 2000.
- Carvalho, L.M.L., Tyssen, P.J., Linhares, A.X. & Goff, M.L. Observations on the sucessional patterns of necrophagous insects on a pig carcass in a urban area of southeastern Brazil. *Aggrawal's Int. J. Med. Tox.* 5 (1): 33 - 39. 2004.
- Carvalho, L.S. Redescricao das larvas de terceiro instar de cinco espécies de Dípteros califorídeos (insecta, Díptera) de importância para a entomologia forense, Brasília, UNB. 2006, 67p.
- Catts, E.P., Goff, M.L. Forensic Entomology in criminal investigation. *Ann. Rev. Entomol.* 37: 253 - 272. 1992.
- Erzinçlioglu, Y.Z. The application of entomology to forensic medicine. *Med. Sci. Law*, 23: 57 - 63. 1983.
- Linhares, A.X. Synanthropy of Muscidae, Fanniidae and Anthomyiidae (Diptera) in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Entomol.*, 25: 231 - 243. 1981.
- Luederwaldt, H. Os insetos necrófagos paulistas. *Rev. Mus. Paul.*, 8: 414 - 433. 1911.
- Marchenko, M.I. Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of time since death. *Forensic Sci. Int.* 120: 89 - 109. 2001.
- Nuorteva, P. Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. In: Tedeshi, C.G., Eckert, W.G. & Tedeshi, L.G. (eds.). *Forensic medicine: a study in trauma and environmental hazards*. Vol.II. London. p.1072 - 1095. 1977.
- Oliveira - Costa, J. *Entomologia Forense-Quando os insetos são vestígios*. 2 ed. Campinas: Millennium, 2007. 476 p.
- Parra, J.R.P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: Panizzi, A. R. & Parra, J.R.P. *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo, Manole. p. 9 - 65. 1991.
- Smith, K.G.V. *A manual of forensic entomology*. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY. 1986, 205 p.
- Thyssen, P.J. Caracterização das formas imaturas e determinação das exigências térmicas de duas espécies de califorídeos (Diptera) de importância forense, Campinas, SP, UNICAMP. 2005, 102 p.
- Varzim, F.L.S.B. Esterilização de ovos de moscas varejeiras *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830) (Diptera Calliphoridae) para utilização em Bioterapia. Campinas, SP, UNICAMP. 2005, 72 p.