



# Chave interativa para larvas de terceiro estágio de sarcófagídeos neotropicais (Insecta, Diptera, Sarcophagidae): a contribuição de ferramentas computacionais para auxiliar na identificação de espécies

**Palavras-chaves:** Moscas necrófagas; Taxonomia; Intervalo pós-morte

**Autores(as):**

**Matheus Salustio Campista Petrucci, IB, UNICAMP**

**Tais Madeira-Ott, IB, UNICAMP**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patricia Jacqueline Thyssen (orientadora), IB, UNICAMP**

## INTRODUÇÃO

Atualmente, na família Sarcophagidae (Insecta, Diptera) há 3.094 espécies descritas (Courtney et al., 2017), das quais cerca de 900 são encontradas na região Neotropical (Souza et al., 2020). Assim como outros dípteros, sarcófagídeos têm hábitos alimentares bem diversificados, tendo sido reportados se alimentando de fezes, parasitando invertebrados ou vertebrados ou consumindo corpos de animais em decomposição (Ferrar, 1987; Dutto et al., 2013; Marcondes e Thyssen, 2017). No que diz respeito à associação com cadáveres, as formas imaturas encontradas neste tipo de recurso ganham destaque no âmbito forense, em virtude dos dados biológicos das distintas espécies serem úteis para estimar o intervalo pós-morte (IPM) (Amendt et al., 2004; Thyssen et al., 2018; Madeira-Ott et al., 2022).

Para que os dados de desenvolvimento larval possam ser acessados é necessário, inicialmente, obter uma identificação específica e confiável (Thyssen, 2011). Chaves dicotômicas tradicionais ou com base computacional, esta última contendo uma série de recursos facilitadores para o usuário identificar um taxon correspondente de forma mais precisa, podem ser utilizadas para este fim. O uso de chaves com base computacional, também conhecidas como interativas, é bastante vantajoso levando em consideração, em geral, a disponibilidade de um vasto banco de imagens, glossário de terminologias e os caminhos de acesso para escolha dos caracteres que serão visualizados sem seguir uma sequência pré definida como a observada nas chaves dicotômicas (Dallwitz et al., 2000).

Chaves de identificação para formas imaturas de sarcófagídeos estão restritas às espécies do Velho Mundo (por exemplo, Velásquez et al., 2010; Szpila et al., 2015). Além disso, o número reduzido de descrições ou daquelas que são incompletas (por exemplo, Lopes, 1943; Leite e Lopes, 1989; Vairo et al., 2015) e a baixa variação interespecífica podem contribuir para ampliar o impedimento taxonômico dentro desta família (Thyssen, 2011).

Assim, neste estudo objetivou-se elaborar uma chave interativa e com base computacional para larvas de terceiro estágio para espécies de Sarcophagidae de importância forense da região Neotropical.

## METODOLOGIA

Para avaliar quais espécies de sarcófagídeos seriam de interesse forense para a região Neotropical foi conduzido um levantamento na literatura utilizando as plataformas Google Scholar, SciELO e PubMed através dos termos de busca “Sarcophagidae”, “larvae”, “corpse”, “neotropical”, “necrophagous” e “forensic entomology”, isolados ou combinados, nas línguas portuguesa, inglesa e espanhol. Foram usados os seguintes critérios de inclusão: publicações em revistas indexadas, que contivessem a identificação até nível específico e aqueles cujos sarcófagídeos tenham sido observados criando-se em corpos humanos.

A partir da lista de espécies elaborada, foram realizadas coletas ativas em campo, nos Estados de São Paulo e Amazonas, utilizando iscas (carne e fígado bovinos e peixe) putrefeitas 72h antes. Fêmeas adultas foram levadas ao Laboratório de Entomologia Integrativa do DBA-IB-UNICAMP, individualizadas em gaiolas contendo açúcar, água *ad libitum* e uma porção de carne bovina moída crua para estimular a larvipostura, sob condições controladas (25±1°C, 70±10%UR, 12:12h). Ao atingirem o terceiro estágio, algumas larvas (N= 5-10) foram retiradas da carne, lavadas e fixadas em etanol 70%; outra parte das larvas foram deixadas para completar seu desenvolvimento. Posteriormente, os machos adultos que emergiram foram identificados (Vairo et al., 2011).

Com auxílio de um estereomicroscópio, os caracteres anatômicos e seus estados foram examinados, fotografados e listados em uma matriz do software Mesquite. A chave de identificação foi construída na plataforma LUCID. A nomenclatura e terminologia para descrever os caracteres anatômicos seguiram as propostas de Lopes (1943) e Courtney et al. (2000).

## RESULTADOS

Um total de 57 artigos foram recuperados após o levantamento de dados da literatura, mas apenas em 28 os critérios de inclusão foram evidenciados. A partir disso, a lista foi elaborada contendo então 12 espécies classificadas como de importância forense para a região Neotropical (Tabela 1).

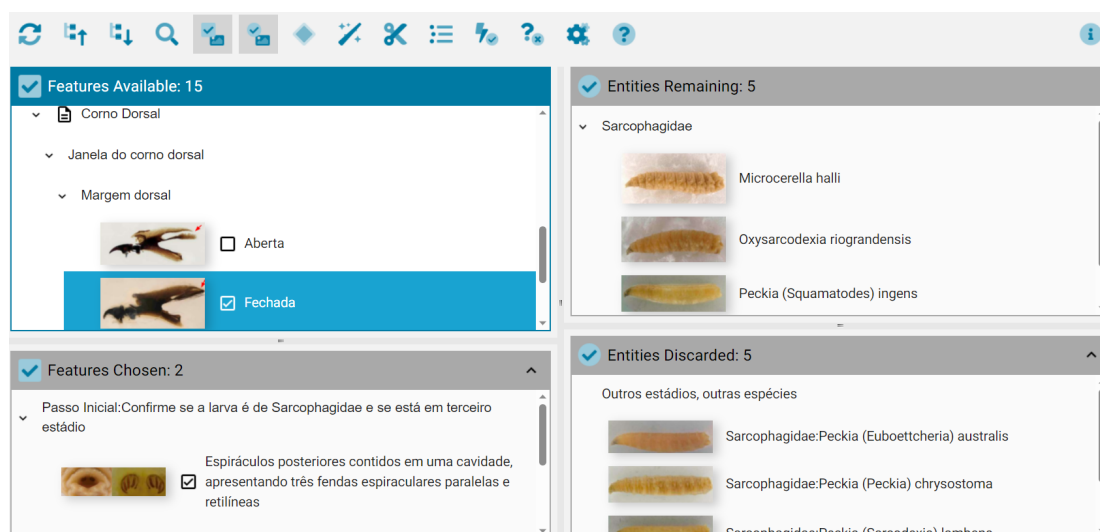
A análise de caracteres revelou que estruturas anatômicas tais como o cefaloesqueleto, os espinhos e tegumento dos segmentos corporais, papilas e almofadas anais, que foram incluídos na chave interativa (Figura 1) são de grande valor diagnóstico. Para garantir a confiabilidade no processo de identificação, a chave, disponível na plataforma LUCID (Figura 2), contém um passo inicial que solicita ao usuário a confirmação inicial da identidade da forma imatura em nível de família, a partir do confronto dos caracteres propostos e aqueles presentes no exemplar a ser examinado (Figura 1).

Espécies	Referências
<i>Lipoptilocnema delphinado</i> Mulieri and Mello-Patiu	Mulieri et al., 2016
<b><i>Microcerella halli</i></b> (Engel)	Madeira et al., 2022; Vairo et al., 2017
<b><i>Oxysarcodexia riograndensis</i></b> Lopes	Oliveira e Vasconcelos, 2010
<b><i>Peckia (Euboettcheria) australis</i></b> (Townsend)	Gaedke e Mougá, 2017
<b><i>Peckia (Peckia) chrysostoma</i></b> (Wiedemann)	Oliveira-Costa et al., 2001; 2014; Vasconcelos et al., 2014
<b><i>Peckia (Sarcodexia) lambens</i></b> (Wiedemann)	Oliveira-Costa et al., 2001; Rosa et al., 2009; 2011; Faria et al., 2013; Gaedke e Mougá, 2017; Paseto et al., 2019
<b><i>Peckia (Squamatodes) ingens</i></b> (Walker)	Souza e Linhares, 1997; Guimarães et al., 2022
<i>Peckia (Squamatodes) trivittata</i> (Curran)	Rosa et al., 2009; 2011; Ramos et al., 2018
<i>Ravinia belforti</i> (Prado & Fonseca)	Oliveira e Vasconcelos 2010; Madeira et al., 2022
<i>Sarcophaga (Bercaea) africa</i> (Wiedemann)	Moemenbellah-Fard et al., 2018
<i>Sarcophaga (Liopygia) crassipalpis</i> Macquart	Bonacci et al., 2014; Farrell et al., 2015; Toukairin et al., 2017
<b><i>Sarcophaga (Liopygia) ruficornis</i></b> (Fabricius)	Souza e Linhares 1997; Oliveira-Costa et al., 2001

**Tabela 1:** Lista de espécies de Sarcophagidae neotropicais de importância forense. Em negrito: espécies incluídas na chave interativa.

Caracteres (estados de caracteres)	
<b>Passo inicial</b> Confirmar que a larva pertence à Sarcophagidae em terceiro estágio	Espiráculos posteriores (dentro ou fora de uma cavidade espiracular), fendas espiraculares (número, forma e angulação)
<b>Morfologia Interna</b> Cefaloesqueleto	Processo pósterior dorsal (presença), esclerito dental (forma, expansões), corno dorsal (borda interna do braço inferior), janela do corno dorsal (abertura da margem dorsal, estreitamento mediano)
<b>Morfologia externa</b> Segmentos torácicos e abdominais	Espiráculos anteriores (forma da base), espinhos corporais (pigmentação), bandas de espinhos nos segmentos abdominais I e III (aspecto), tegumento da área interbanda (aspecto)
Divisão anal	Cavidade espiracular (forma), papilas dorsais (distância), almofada anal (forma)

**Figura 1:** Caracteres e estados das larvas de terceiro estágio de Sarcophagidae neotropicais de importância forense contidos na chave interativa no passo inicial, e agrupados por segmento corporal: cefaloesqueleto, segmentos torácicos e abdominais e divisão anal.



**Figura 2:** Interface da chave interativa na plataforma LUCID com quatro janelas onde são apresentadas: os caracteres e seus estados (superior e à esquerda), as espécies contidas na chave (superior e à direita), os caracteres selecionados pelo usuário (inferior e à esquerda) e as espécies descartadas, isto é, que não possuem os caracteres que estão sendo examinados (inferior e à direita).

## CONCLUSÕES

Como observado em outros estudos, o cefaloesqueleto, os espinhos e tegumento dos segmentos corporais, as papilas e as almofadas anais são as estruturas de maior valor diagnóstico para auxiliar na identificação de larvas de dípteros de importância forense.

## AGRADECIMENTOS

MSCP foi bolsista CNPq, processo 122310/2022-5.

## REFERÊNCIAS

- Amendt J., R. Krettek, R. Zehner. 2004. Forensic Entomology. Naturwissenschaften. 91: 51-65
- Bonacci, T., S. Greco, B. Cavalcanti, P. Brandmayr, and V. Vercillo. 2014. The flesh fly *Sarcophaga (Liopygia) crassipalpis* Macquart 1839 as an invader of a corpse in Calabria (Southern Italy). *J. Forensic Sci. Criminol.* 1: 1–5.

- Catts, E.P., M.L. Goff. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.* 37: 253-272.
- Courtney, G.W., B.J. Sinclair, R. Meier. 2000. Morphology and terminology of Diptera larvae. Em: Papp L, Darvas B (eds) *Contributions to a Manual of Palearctic Diptera*. Science Herald, Budapest. 85–161
- Courtney, G.W., T. Pape, J.H. Skevington, B.J. Sinclair. 2017. Biodiversity of Diptera. 229-278. Em *Insect Biodiversity*. Vol 1, 2nd ed.
- Dallwitz, M.J., T.A. Paine, E.J. Zurcher. 2000. Principles of interactive keys.
- Dutto, M., M. Pellegrino, S. Vanin. 2013. Nosocomial myiasis in a patient with diabetes. *J Hospital Infection.* 83: 74-76
- Faria, L.S., M.L. Paseto, F.T. Franco, V.C. Perdigão, G. Capel, J. Mendes. 2013. Insects breeding in pig carrion in two environments of a rural area of the state of Minas Gerais, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 42: 216–222.
- Farrell, J.F., A.E. Whittington, M.P. Zalucki. 2015. A review of necrophagous insects colonising (sic) human and animal cadavers in south-east Queensland, Australia. *Forensic Sci. Int.* 257: 149–154.
- Ferrar, P. 1987. A guide to the breeding habits and immature stages of Diptera Cyclorrhapha. *Entomonograph*. Vol. 8.
- Gaedke, A., D.M.D.S. Mougá. 2017. Diptera survey in human corpses in the north of the state of Santa Catarina, Brazil. *Acta Biol. Catarin.* 4: 42–51.
- Guimarães, S.E.F., D.M.P.D. Melo, T.M. Barbosa, R.C.A.P. Farias, C.L. Bicho. 2022. First report of *Peckia* (Squamotodes) *ingens* (Walker, 1849)(Diptera: Sarcophagidae) colonizing human corpse in the Neotropical region. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 62.
- Leite, A.C.R., Lopes, H.S. 1989. Scanning electron microscopy of the first instar larvae of *Sarcodexia lambens* and *Peckia chrysostoma* (Diptera: Sarcophagidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 84, 303-307.
- Lopes, H.S. 1943. Contribuição ao conhecimento das larvas dos Sarcophagidae com especial referência ao esqueleto cefálico (Diptera). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 38, 127-163.
- Madeira-Ott, T., C.M. Souza, P.R.S. Bunde, A.C.R. Ries, B. Blochtein, P.J. Thyssen. 2022. Forensically Relevant Flesh Flies (Diptera, Sarcophagidae, Sarcophaginae) of Southern Brazil. *J. Med. Entomol.* 59: 488-507.
- Marcondes, C.B., and P.J. Thyssen. 2017. Flies. Em *Arthropod Borne Diseases* ed. Marcondes, C.B. Switzerland: Springer International Publishing. 475–502.
- Mulieri, P.R., C.A. Mello-Patiu, F. H. Aballay. 2016. Taxonomic Revision of *Lipoptilocnema* (Diptera: Sarcophagidae), With Notes on Natural History and Forensic Importance of Its Species. *J. Med. Entomol.* 54: 50-75.
- Moemenbellah-Fard, M.D., D. Keshavarzi, M. Fereidooni, A. Soltani. 2018. First survey of forensically important insects from human corpses in Shiraz, Iran. *J. Forensic Leg. Med.* 54: 62–68.
- Oliveira, T.C., S.D. Vasconcelos. 2010. Insects (Diptera) associated with cadavers at the Institute of Legal Medicine in Pernambuco, Brazil: Implications for forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* 198: 97-102.
- Oliveira-Costa, J., C.A. Mello-Patiu, S.M. Lopes. 2001. Dípteros muscóides associados com cadáveres humanos no local da morte no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Bol. Mus. Nac.* 464: 1–6.
- Oliveira-Costa, J., C.M. Lamego, M.S. Couri, C. A. Mello-Patiu. 2014. Differential Diptera succession patterns onto partially burned and unburned pig carrion in southeastern Brazil. *Braz. J. Biol.* 74: 870–876.
- Paseto, M.L., L.S. Faria, J. Mendes, A.X. Linhares. 2019. Diversity of Sarcophagidae (Insecta, Diptera) associated with decomposing carcasses in a rural area of the State of Minas Gerais, Brazil. *EntomoBrasilis.* 12: 118–125.
- Rosa, T.A., M.L.Y. Babata, C.M. Souza, D. Sousa, C.A. Mello-Patiu, J. Mendes. 2009. Dípteros de interesse forense em dois perfis de vegetação de Cerrado em Uberlândia, MG. *Neotrop. Entomol.* 38: 859–866.

- Rosa, T.A., M.L.Y. Babata, C.M. Souza, D. Sousa, C.M. Mello-Patiu, F.Z. Vaz-de-Mello, J. Mendes. 2011. Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* 55: 424–434.
- Silva, J.O.A., L.S. Brasil, C.C. Souza, F.S. Carvalho-Filho. 2022. *Helicobia neuzalmeidae* sp. nov., A New Species of Sarcophagidae (Diptera) Reared From a Pig Carcass in the Brazilian Savanna. *J. Med. Entomol.* 59: 1601-1606.
- Souza, A.M., A.X. Linhares. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med. and Vet. Entomol.* 11: 8-12.
- Souza, C.M., T. Pape, P. J. Thyssen. 2020. *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 (Diptera, Sarcophagidae) - a centennial conspectus. *Zootaxa.* 4841: 001-126.
- Szpila, K., R. Richet, T. Pape. 2015. Third instar of flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) of forensic importance - critical review of characters and key for European species. *Parasitol Res.* 114:2279-2289.
- Thyssen, P.J. 2011. *Entomologia Forense*. Em: Marcondes, C.B. *Entomologia Médica e Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu.
- Thyssen, P.J., M.F.K. Aquino, N.C.S. Purgato, E. Martins, A.A. Costa et al. 2018. Implications of entomological evidence during the investigation of five cases of violent death in Southern Brazil. *J Forensic Sci Res.* 2: 001-008.
- Toukairin, Y., T. Arai, T. Hoshi, J.A. Oliva Trejo, M. Nogami. 2017. The geographical distribution of fly larvae on corpses in Saitama Prefecture in Japan during the summer season. *Leg. Med. (Tokyo)*. 24: 75–77.
- Vairo, K.P., C.A. Mello-Patiu, C.J.B. de Carvalho. 2011. Pictorial identification key for species of Sarcophagidae (Diptera) of potential forensic importance in southern Brazil. *Rev. Bras. Entom.* 55: 333-347.
- Vairo, K.P., M.M.C. Queiroz, P.M. Mendonça, R.R. Barbosa, C. J. B. de Carvalho. 2015. Description of immature stages of the flesh fly *Peckia (Sarcodexia) lambens* (Wiedemann) (Diptera: Sarcophagidae) provides better resolution for taxonomy and forensics. *Trop. Zoo.* 28:114-125.
- Vairo, K.P., M.F.C. Caneparo, R.C. Corrêa, D. Preti, M. O. Moura. 2017. Can Sarcophagidae (Diptera) be the most important entomological evidence at a death scene? *Microcerella halli* as a forensic indicator. *Rev. Bras. Entomol.* 61: 275–276.
- Vasconcelos, S.D., T.F. Soares, D.L. Costa. 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: 229–233.
- Velasquez, Y., C. Mangaña, A. Martinez-Sanches, S. Rojo. 2010. Diptera of forensic importance in the Iberian Peninsula: larval identification key. *Med Vet Entomol.* 24: 293-308.