



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**BESOUROS (INSECTA: COLEOPTERA) DE IMPORTÂNCIA
FORENSE NO CERRADO: ECOLOGIA E COMPORTAMENTO**

Luiz Antonio Lira Júnior

Brasília - DF

Dez – 2021



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**BESOUROS (INSECTA: COLEOPTERA) DE IMPORTÂNCIA
FORENSE NO CERRADO: ECOLOGIA E COMPORTAMENTO**

Luiz Antonio Lira Júnior

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Orientadora: Profa. Marina Regina Frizzas

Brasília - DF

Dez – 2021

Besouros (Insecta: Coleoptera) de importância forense no Cerrado: ecologia e comportamento

Luiz Antonio Lira Júnior

Orientadora: Profa. Marina Regina Frizzas

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, apresentada no dia 03/12/2021 como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Aprovada por:

Profa. Dra. Marina Regina Frizzas – Universidade de Brasília (UnB) – Presidente

Prof. Dr. José Roberto Pujol Luz – Universidade de Brasília (UnB) – Membro Titular

Profa. Dra. Lucia Massutti de Almeida – Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Membro Titular

Profa. Dra. Luciana Iannuzzi – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Membro Titular

Prof. Dr. Pedro Henrique Brum Togni – Universidade de Brasília (UnB) – Membro Suplente

Brasília - DF

Dez – 2021

Dedico à minha mãe Márcia, ao meu tio Marcos (*in memoriam*)
e à biodiversidade brasileira

“Há uma grandeza nessa noção de vida, com seus vários poderes,
tendo sido originada por um sopro do Criador,
em algumas poucas formas ou apenas uma;
e que, a partir de um início tão simples,
um número infinito de formas, as mais belas e maravilhosas,
evoluiu e continua a evoluir.”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

A *Deus* por tudo, pela vida e saúde, por ser meu esteio, minha fortaleza, meu guia, por ser minha fonte de energia quando, por vezes, não consegui ter forças.

À minha orientadora profa. *Marina Frizzas* por acreditar no meu potencial e me orientar em todas as etapas do meu doutoramento. Agradeço por me respeitar, por me tratar com profissionalismo e ao mesmo tempo com amor e sensibilidade. Agradeço por ter contribuído enormemente para meu crescimento enquanto professor e entomólogo. Você é um exemplo para mim!

À grande mulher da minha vida e exemplo de força e dedicação, minha mãe *Márcia Jaculi*, não apenas pelas orações dedicadas a mim, mas também por toda ajuda emocional e por acreditar em mim muito mais que eu mesmo. Incansáveis palavras saíram de sua boca com conforto, apoio e amor. Só por você conheci o amor incondicional.

Ao meu pai amado, *Luiz Lira*, por todo subsídio ao longo de toda minha carreira e pela bela herança genética de inteligência na área das ciências da vida. Aos meus irmãos *Guilherme* e *Daniel*, por todo apoio e torcida. Obrigado a toda minha família *Jaculi* e *Lira*!

Ao meu namorado *Renato Santos* pelo companheirismo, amor, paciência e carinho. Por ter sido capaz de me tirar de todos os momentos de ansiedade e ser meu esteio nos dias críticos dessa reta final. Você é meu presente (nos dois sentidos da palavra) e meu futuro.

Aos meus tios amados e mais próximos, tia *Sirlei*, tia *Coca*, tio *Carlos*, tia *Ana* que sempre torceram por mim. Em especial ao meu tio *Marcão (in memoriam)* que não pode estar aqui no final desta trajetória, mas assim como no mestrado, ele está vibrando por mim.

Às minhas quatro melhores amigas: *Brunna Alencar, Kelly Aguayo, Marcela Gigliotti e Renata Mourão*. Vocês foram fundamentais em todo esse processo. De vocês tive ombro amigo, ouvido atento, colo de irmãs para chorar, horas de leveza, de conversas saudáveis e de apoio mútuo. Minhas irmãs, vocês estão eternizadas em meu coração!

Aos meus cinco melhores amigos: *Alexis Pier, Filipe Stoppa, Jaspion Leone, Pedro Gabriel e Sebastian Camilo*. Amigos, parceiros, confidentes. Vocês sonharam comigo e estão vendo esse sonho se tornar realidade. Vocês são de fato os irmãos que Deus me deu e como anjos sempre estiveram prontos a me ajudar e proteger! Vocês viabilizaram as horas de diversão em que minha mente precisou fugir para se manter saudável! Meus irmãos, vocês estão eternizados em meu coração!

Ao meu amigo, irmão pernambucano e parceiro biólogo *Diego Oliveira*, você me ajudou do início ao fim deste ciclo. Obrigado por toda paciência e por todos os ensinamentos e auxílio desde o desenho experimental até a análise de dados.

À *Morgana Bruno*, minha amiga e companheira de trabalho, que muito me auxiliou com longas discussões sobre ecologia e comportamento. Obrigado por tudo!

À toda equipe do Laboratório de Biologia e Ecologia de Coleoptera (LABEC) da UnB. Muito obrigado *Juliane, Marcus, Yuri, Wanderson* e todos os demais companheiros de lab por todo auxílio. Um especial agradecimento ao quarteto fantástico que me ajudou nos três anos de campo, triagens e identificações dos besouros *Pedro, Ananda, Maria Clara e Thaynah*, vocês são incríveis!

Ao Parque Nacional de Brasília (PNB) e à Fazenda Água Limpa (FAL) por oportunizar a pesquisa de campo. Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela licença concedida para as coletas.

Ao Instituto Federal de Brasília, em especial ao *campus* Brasília, por todo apoio e valorização dos meus estudos, grato por viabilizar a licença capacitação para concluir meu doutorado com tempo e dedicação.

À toda equipe de professores do Programa de Pós-Graduação em Zoologia (PPGZoo) e a Universidade de Brasília (UnB), em especial ao prof. *Pujol* pelos anos de dedicação em me ensinar e apoiar. Obrigado PPGZoo por todo o conhecimento compartilhado nas diversas disciplinas cursadas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF), ao auxílio de campo PROAP (UnB) por todo apoio financeiro que auxiliou esta pesquisa de doutorado.

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO GERAL	15
Entomologia forense: definições e histórico.....	15
Entomofauna cadavérica.....	18
Coleópteros de importância forense.....	19
Ecologia da decomposição e sucessão da fauna cadavérica.....	21
Tafonomia forense e comportamento da fauna cadavérica.....	22
Justificativa e organização da tese.....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO I – Variação temporal e padrão de atratividade da coleopterofauna cadavérica em diferentes fitofisionomias do Cerrado.....	31
Resumo.....	32
1. Introdução.....	33
2. Material e Métodos.....	37
3. Resultados.....	43
4. Discussão.....	58
5. Referências Bibliográficas.....	66
CAPÍTULO II – Behavioral aspects of <i>Coprophanæus ensifer</i> (Germar) (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) associated with pig carcasses in Central Brazil.....	73
Abstract.....	74
1. Introduction.....	75

2. Material and methods.....	78
3. Results.....	81
4. Discussion.....	86
5. References.....	90
APÊNDICE I –The carrion beetle <i>Oxelytrum discicolle</i> (Coleoptera: Silphidae) and the estimative of the minimum <i>post-mortem</i> interval in a forensic case in Brasília, Brazil.....	94
Abstract.....	95
1. Introduction.....	96
2. Case Report.....	98
3. References.....	101
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	103

RESUMO

Besouros (Insecta: Coleoptera) de importância forense no Cerrado: ecologia e comportamento

Luiz Antonio Lira Júnior

Orientadora: Profa. Marina Regina Frizzas

Resumo da tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Besouros (Coleoptera: Insecta) correspondem ao grupo mais diverso dentre os animais, apresentam grande variabilidade de hábitos alimentares e já foram registrados em quase todos os ambientes. Coleópteros de importância forense são participantes fundamentais do processo de decomposição em ecossistemas terrestres e podem também ser vestígios entomológicos relevantes em investigações criminais envolvendo cadáveres humanos. Esta tese objetivou investigar a ecologia e o comportamento desta importante ordem para a entomologia forense no Cerrado do Distrito Federal (DF). O primeiro capítulo avaliou fatores ecológicos da comunidade de besouros associados a carcaças de porcos ao longo de todo o processo de decomposição (estágios fresco, gasoso, decomposição ativa, decomposição avançada e esqueletização), em três fitofisionomias (mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo) e durante as estações climáticas do bioma (seca e chuvosa). Foram coletados 3.006 adultos classificados em 66 espécies e 12 famílias. A coleopterofauna de importância forense apresentou maior abundância e riqueza em meses chuvosos, ocorreu em todas as fitofisionomias e foi mais abundante e diversa especialmente no estágio de esqueletização (cerca de 45% dos indivíduos coletados). Apenas *Dermestes maculatus* (Dermestidae) e *Oxelytrum discicolle* (Silphidae) foram consideradas espécies colonizadoras, sendo observadas em fases larvais durante a decomposição das carcaças. No segundo capítulo, foram observados e registrados comportamentos da espécie *Coprophanæus ensifer*

(Scarabaeidae) associada a carcaças expostas na fitofisionomia campo sujo, compilando dados comportamentais e seu potencial uso/influência para a entomologia forense. Os comportamentos de alimentação, espalhamento de partes das carcaças, revolvimento de solo e abertura de túneis foram observados em alta frequência. A espécie foi mais atraída por carcaças em estágios intermediários da decomposição e sua atividade causou importantes artefatos *post-mortem*, como perfurações e desmembramentos das carcaças. Adicionalmente, um estudo de caso envolvendo morte violenta (Apêndice 1) descreveu o uso de *O. discicollae* para estimativa de intervalo *post-mortem* (IPM), utilizando os métodos de grau dia acumulado (GDA) e padrão de atividade de insetos (PAI), e concluiu-se que as fêmeas ovipositaram no cadáver pelo menos 20 dias antes deste ser removido do local do crime, validando a importância dos besouros para a entomologia forense. Esta tese contribui para o conhecimento bioecológico de Coleoptera, enfatizando sua participação relevante na prestação do serviço ecossistêmico de ciclagem de nutrientes, por meio da necrofagia, atuando na decomposição física de carcaças no Cerrado do DF. Esta tese também fornece um arcabouço teórico sobre coleópteros de importância forense do Cerrado útil como fonte de dados para futuras investigações criminais nas quais os besouros representarem o principal vestígio entomológico.

Palavras-chave: besouros necrófagos; entomologia forense; decomposição; serviços ecossistêmicos; intervalo *post-mortem*; artefatos *post-mortem*.

ABSTRACT

Beetles (Insecta: Coleoptera) of forensic importance in the Cerrado: ecology and behavior

Luiz Antonio Lira Júnior

Orientadora: Profa. Marina Regina Frizzas

Abstract da tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Beetles (Coleoptera: Insecta) are the most diverse group of animals, with great variability in feeding habits and have been recorded in almost all environments. Forensically important Coleoptera are key participants in the decomposition process in terrestrial ecosystems and can also be relevant entomological traces in criminal investigations involving human cadavers. This thesis aimed to investigate the ecology and behavior of this important order for forensic entomology in the Cerrado of the Federal District (DF). The first chapter evaluated ecological factors of the beetle community associated with pig carcasses throughout the decomposition process (fresh, bloated, active decay, advanced decay and skeletonization/dry stages), in three phytophysionomies (gallery forest, cerrado *sensu stricto* and campo sujo) and during the climatic seasons of the biome (dry and rainy). A total of 3,006 adults were collected, classified into 66 species and 12 families. The forensically important coleopterofauna showed higher abundance and richness in rainy months, occurred in all phytophysionomies, and were more abundant and diverse especially in the skeletonized/dry stage (about 45% of the individuals collected). Only *Dermestes maculatus* (Dermestidae) and *Oxelytrum discicolle* (Silphidae) were considered colonizing species, being observed in larval stages during carcass decomposition. In the second chapter, the behavior of the species *Coprophanaeus ensifer* (Scarabaeidae) associated with carcasses exposed in the campo sujo physiognomy were observed and recorded as well as their behavioral data and its potential use/influence for forensic entomology were compiled. The

behaviors of feeding, scattering of the carcasses, turning the soil, and opening of tunnels were observed in a high frequency. The species was most attracted to carcasses in intermediate stages of decomposition and its activity caused important *post-mortem* artifacts, such as drilling and dismemberment of carcasses. Additionally, a case study involving violent death (Appendix 1) described the use of *O. discicolle* for estimation *post-mortem* interval (PMI), using the accumulated degree-days (ADD) and pre-appearance interval (PAI) methods, and concluded that females oviposited on the corpse at least 20 days before it was removed from the crime scene, validating the importance of beetles for forensic entomology. This thesis contributed to the bioecological knowledge of Coleoptera, emphasizing their relevant participation in providing the ecosystem service of nutrient cycling, through necrophagy, and acting in the physical decomposition of carcasses in the Cerrado of DF. This thesis also provides a theoretical framework on beetles of forensic importance from the Cerrado as a useful source of data for future criminal investigations in which beetles represent the main entomological evidence.

Keywords: scavenger beetles; forensic entomology; decomposition; ecosystem services; *post-mortem* interval; *post-mortem* artifacts.

INTRODUÇÃO GERAL

Entomologia forense: definições e histórico

A entomologia forense (EF) é uma área científica que interpreta informações usando testemunhas silenciosas, os insetos. É definida como o estudo dos insetos e outros artrópodes associados a questões cíveis e criminais, sendo utilizada como ferramenta auxiliar, que interage com diversos procedimentos legais (Amendt *et al.* 2004; Pujol-Luz *et al.* 2008). Também é conceituada como campo de atividades dentro da Entomologia que se dispõe a atender os interesses judiciais (Hall 2001). Desde os anos 2000 ocorreu um crescimento exponencial de trabalhos na área de entomologia forense que resultaram em mais de 1100 publicações dentre artigos inéditos, artigos de revisão, livros, e outras publicações mundialmente distribuídas (Lei *et al.* 2019).

A EF tradicionalmente é organizada em três subdivisões: (i) *Urbana* que analisa casos onde há ocorrência de insetos causando prejuízos em bens culturais, imóveis ou estruturas, (ii) *Produtos Estocados ou Armazenados* refere-se à presença/contaminação por insetos em produtos estocados e comercializados e, por fim, (iii) *Médico-Legal ou Criminal* subárea com maior destaque e maior número de estudos de casos que envolvam morte violenta, onde insetos são utilizados, principalmente, para estimar o intervalo *post-mortem* (IPM) (Lord & Stevenson 1986). O IPM é definido como o intervalo de tempo entre a morte e a descoberta do corpo. Um IPM cuidadosamente estimado é vital na investigação de suspeitos de um determinado homicídio, pois coloca os prováveis autores responsáveis pelo assassinato em uma escala temporal. Uma vez que uma estimativa precisa pode ajudar na composição dos suspeitos, um IPM impreciso pode afetar seriamente uma investigação ao eliminar falsamente suspeitos, contradizendo os relatos das testemunhas, aumentando o tempo necessário para recuperar outras evidências, e criando inconsistências com outras informações o que pode ter impacto nos resultados judiciais (Griffiths *et al.* 2020).

O principal processo biológico para a EF estimar um IPM preciso é baseado na cronotanatognose dos insetos necrófagos que chegam logo após a morte, colonizando o cadáver com seus ovos e larvas. As larvas se desenvolvem sobre o cadáver em decomposição e seu tempo de desenvolvimento é utilizado para estimar o IPM (Catts & Goff 1992). Além deste processo, a sucessão ecológica da fauna

cadavérica e o padrão de atividade dos insetos sobre o cadáver também são métodos eficazes para calcular um IPM (Amendt *et al.* 2004).

Uma releitura das definições de EF foi proposta por Pujol-Luz e colaboradores (2008), organizando a área de acordo com as seguintes categorias científicas: (i) *Entomologia forense sensu stricto* agrupando todas as vertentes propostas por Lord & Stevenson (1986) como estudos de casos reais, simulações de cenas de crimes utilizando modelos animais e aplicação da entomologia em casos judiciais (urbana, produtos armazenados e criminal), (ii) *Ecologia da decomposição* relacionado aos estudos teóricos ou práticos da sucessão da fauna cadavérica, estudos exploratórios sobre a diversidade de insetos necrófagos e tafonomia forense e por fim (iii) *Biologia dos organismos* definida como área que se dedica ao desenvolvimento pós-embrionário dos insetos de importância forense e aplicação de diferentes modelos e variações do comportamento dos insetos.

O primeiro relato onde insetos auxiliaram na resolução de um crime ocorreu na China, no século XIII, por Sung Tzu's, que registrou um caso de assassinato de um camponês em um arrozal. O proprietário suspeitando que as lesões tivessem sido provocadas por foice, pediu para que os camponeses mostrassem seus instrumentos ao chão. Sung Tzu's notou que moscas foram atraídas para uma das ferramentas presentes, após confrontado, o dono da foice confessou o crime (Benecke 2001; Pujol-Luz *et al.* 2008). Mesmo sem o conhecimento prévio na época, as moscas provavelmente teriam sido atraídas pelos odores exalados de partículas de sangue ou por restos de substâncias orgânicas que aderiram a superfície da foice deixada no local do crime, que são imperceptíveis a olho nu.

Entretanto, a primeira descrição de um caso envolvendo a entomologia forense incluindo uma estimativa do intervalo *post-mortem* só ocorreu muitos anos depois, pelo médico francês Bergeret d'Arbois em 1855, que de acordo com seus estudos, identificou insetos no corpo de uma criança que foi encontrada morta atrás de uma lareira. Após realizar uma autópsia, reconheceu os padrões de sucessão das espécies e a partir destas análises evidenciou que a criança havia morrido há sete anos, por conseguinte incriminando os assassinos que eram os antigos moradores da residência (Benecke 2001).

O primeiro livro da área foi escrito por Mégnin (1894), "*La faune de cadavres*", onde foram relatados diversos casos, além da descrição da entomofauna de

interesse forense, discutindo os conceitos iniciais para sucessão cadavérica como “legiões de insetos”. No entanto por muito tempo a temática permaneceu sem trabalhos. O interesse só foi retomado na segunda metade do Século XX por livros publicados por Leclercq (1969) “*Entomology and Legal Medicine*” e posteriormente Smith (1986) com o livro “*A Manual of Forensic Entomology*”. Após a publicação destes trabalhos norteadores, países da América do Norte e da Europa fortaleceram seus estudos na área (Pujol-Luz *et al.* 2008).

No Brasil, o estudo de insetos associados às carcaças teve seu início em 1908, com o trabalho de Oscar Freire que concluiu após leitura do livro de Mégnin que: *i)* Não existem espécies de insetos necrófagos exclusivas de cada fase da decomposição; *ii)* A competição é um fator muito importante entre os insetos necrófagos que utilizam a carcaça; *iii)* A riqueza de insetos necrófagos, sua abundância e sua influência (no tempo do processo de decomposição, hábitos alimentares, reprodutores e desenvolvimento) é definida pela diversidade associada aos padrões biogeográficos; *iv)* Não há simultaneidade temporal, nem cronologias previsíveis nas fases de decomposição cadavérica e *v)* Uma estimativa precisa do tempo de morte (IPM) é impossível (Pessoa & Lane 1941). Outros pesquisadores também foram importantes para o início da área no Brasil, tais como Domingo Freire e Edgard Roquette-Pinto, que publicaram estudos de caso importantes e montaram as primeiras coleções de insetos necrófagos do Rio de Janeiro e Bahia, respectivamente (Pujol-Luz *et al.* 2008).

Além da estimativa de IPM, que corresponde a principal contribuição dos insetos necrófagos em casos envolvendo morte violenta na vertente de EF criminal, os insetos podem ainda influenciar a movimentação de corpos, revelando se o cadáver foi movido para outro local depois da morte ou modificada sua posição original (Ururahy-Rodrigues *et al.* 2008), se o corpo foi em algum momento manipulado por animais de grande porte (Lira *et al.* 2020b), ou pelo assassino ao voltar à cena do crime (Kaliandra 2005), na confirmação de hipótese de negligência a menores e idosos (Benecke 2001; Benecke *et al.* 2004) e também podem auxiliar a entender se a vítima estava sob efeito de drogas, venenos ou medicamentos (Introna 2001). Até mesmo a ausência de insetos pode ser ferramenta útil em investigações criminais, assim como a presença de apenas um ou poucos táxons que podem refletir circunstâncias especiais da morte que impediram a colonização

normal dos insetos, tais como ambientes internos incomuns (Matuszewski & Mađra-Bielewicz 2019) ou cemitérios clandestinos (Mansegosa *et al.* 2021).

Entomofauna cadavérica

A entomofauna cadavérica pode ser agrupada nas seguintes guildas de acordo com Smith (1986): *i) Insetos necrófagos*, aqueles que se alimentam de tecidos de origem animal em decomposição e parte do seu desenvolvimento ocorre na carcaça, constituindo a mais importante categoria de espécies para estabelecer o tempo de morte, ex.: moscas e besouros; *ii) Insetos predadores*, que se alimentam de outros insetos, geralmente de ovos e larvas de dípteros. Em algumas espécies, há alternância de hábitos alimentares durante a fase adulta e imatura ex.: besouros, percevejos; *iii) Insetos parasitoides*, que possuem parte do seu desenvolvimento obrigatoriamente no interior de um único hospedeiro que está colonizando a carcaça; ex.: vespas *iv) Insetos onívoros*, que se alimentam tanto dos habitantes do recurso em decomposição quanto da própria carcaça, ex.: formigas, besouros; e por fim *v) Insetos acidentais*, que utilizam o recurso em decomposição apenas como extensão de seu habitat, tais como gafanhotos e borboletas. Portanto, um cadáver ou uma carcaça em decomposição é um recurso efêmero que mostra uma série de relações ecológicas partindo deste recurso de curta duração e alta propriedade proteica (Miranda *et al.* 2013).

Dentre os insetos necrófagos destacam-se as moscas e os besouros como as principais ordens de interesse forense. Diptera é composta por mais de 150.000 espécies (Triplehorn & Johnson 2011), com os mais variados hábitos alimentares, dentre eles a necrofagia, e podem ser encontradas em praticamente todos os habitats terrestres como “limpadoras” do Planeta e participantes fundamentais do processo de decomposição (Savage 2002), inclusive no bioma Cerrado (Rosa *et al.* 2011). As famílias frequentemente associadas à colonização de carcaças e cadáveres humanos são: Calliphoridae, Fanniidae, Muscidae e Sarcophagidae (Kosmann *et al.* 2013) sendo geralmente os primeiros organismos a detectarem o recurso em decomposição e utilizá-lo como fonte de alimento, reprodução e manutenção da prole. A ordem Diptera é a mais estudada na entomologia forense, desde o estabelecimento deste campo do conhecimento no Brasil (Pujol-Luz *et al.* 2008).

Coleópteros de importância forense

Os besouros, insetos pertencentes a ordem Coleoptera, correspondem ao grupo mais biodiverso dos animais com cerca de 400 mil espécies descritas, representando mais de 40% de todos os insetos (Triplehorn & Johnson 2011). No Brasil já foram registradas mais de 28 mil espécies e 105 famílias, sendo seu sucesso evolutivo atrelado a características do grupo que são: a forte esclerotização de todas as partes expostas do corpo e a transformação das asas anteriores em élitros, sendo esses mecanismos os responsáveis por uma redução na perda de água e proteção contra possíveis predadores (Cassari & Ide 2012).

Coleópteros já foram registrados em quase todos os ambientes terrestres e apresentam grande variabilidade de formas e hábitos alimentares, sendo os principais: carnivoría, herbivoría, onivoría, coprofagia e necrofagia (Cassari & Ide 2012). As espécies necrófagas têm grande relevância pois prestam um serviço ecossistêmico de ciclagem de nutrientes, impulsionando a decomposição física de matéria orgânica animal (Byrd & Castner 2000). Besouros necrófagos são aqueles que utilizam a matéria orgânica animal em decomposição como fonte proteica, ou para si como alimento, ou visando estimular a oviposição, e também para o desenvolvimento de suas fases imaturas (Oliveira-Costa 2011).

As principais famílias de Coleoptera de importância forense associadas aos mais diversos recursos em diferentes estágios de decomposição em ecossistemas terrestres são: Carabidae, Cleridae, Dermestidae, Histeridae, Leiodidae, Nitidulidae, Scarabaeidae, Silphidae, Staphylinidae, Tenebrionidae e Trogidae (Almeida & Mise 2009) atuando sobre o recurso como onívoros, predadores, copronecrófagos e/ou necrófagos. A entomologia forense está em processo de consolidação há mais de 100 anos e a maioria dos trabalhos ainda se concentra nos dípteros para a estimativa de IPM, já que as moscas são mais abundantes nos primeiros estágios da decomposição, enquanto os besouros em estágios posteriores. Mas, quando um corpo é descoberto em estágio avançado de decomposição é quase impossível obter qualquer evidência da ordem Diptera. Nessas situações, os besouros podem desempenhar um papel importante e devem ser considerados como a principal evidência entomológica (Goff 1991; Bala & Singh 2015).

Em cadáveres em decomposição, a ordem Coleoptera apresenta vários representantes necrófagos, muito embora a maioria seja predadora, podendo

apresentar também uma variação de hábito alimentar entre a fase adulta e larval (Mise *et al.* 2007). Mesmo sendo a maior ordem de insetos de interesse forense com 345 espécies incluídas em 16 famílias, tanto em frequência de ocorrência quanto em abundância (Almeida *et al.* 2015), no Brasil ainda são raros os estudos focados em comunidades de coleópteros nos biomas brasileiros, tais como: Pampa (Ries *et al.* 2020), Caatinga (Mayer & Vasconcelos 2013), Mata Atlântica (Mise *et al.* 2007), Amazônia (Mise *et al.* 2010) e Cerrado (Lira *et al.* 2019).

Estudos de entomologia forense que abordam coleópteros no Cerrado são escassos (Rosa *et al.* 2011; Faria *et al.* 2013; Faria *et al.* 2018) e poucos focam suas discussões exclusivamente na ordem Coleoptera (Lira *et al.* 2019). Considerando que o Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro ocupando cerca de 20% do território nacional, com duas estações climáticas bem definidas (Silva *et al.* 2008) e que compreende um conjunto de ecossistemas heterogêneos (Eiten 1972) estudos que identifiquem as espécies de importância forense, e discutam aspectos bionômicos, ecológicos e comportamentais são de grande relevância. Esta tese representa o primeiro trabalho com ênfase na coleopterofauna de importância forense e com dados exclusivos de espécies de coleópteros avaliados durante as duas estações climáticas do Cerrado (seca e chuvosa), entre as principais fitofisionomias do bioma (campo sujo, cerrado *sensu stricto* e mata de galeria) e ao longo dos estágios de decomposição a fim de fornecer dados qualitativos e quantitativos que possam subsidiar futuras investigações na região, especialmente no Distrito Federal.

Nos últimos anos, diversos casos reais envolvendo morte violenta (Wang *et al.* 2019; Al-Qahtni *et al.* 2020; Lira *et al.* 2020a/apêndice I), cadáveres mumificados (Kadej *et al.* 2020), suicídios (Bugelli *et al.* 2018) e prováveis causas naturais de morte (Moemenbellah-Fard *et al.* 2018; Bonacci *et al.* 2021), já utilizaram besouros como fonte de informação para entendimento da dinâmica criminal, seja como principal vestígio para estimativa de IPM (Al-Qahtni *et al.* 2020; Lira *et al.* 2020a/apêndice I) ou para compor informações importantes dos casos avaliados. Mais estudos que protagonizem os coleópteros como vestígios entomológicos são necessários para consolidar esse banco de dados e colocá-los em pé de igualdade com os dípteros de importância forense.

Ecologia da decomposição e sucessão da fauna cadavérica

A ecologia da decomposição é definida como uma subárea da Ecologia que estuda a interação de organismos vivos (animais, plantas, fungos e bactérias) com recursos efêmeros em decomposição (tais como carcaças e cadáveres) levando em consideração a natureza contínua, dinâmica e mosaica do processo de decomposição (Matuszewski *et al.* 2010). Segundo Pujol-Luz e colaboradores (2008) a área da ecologia da decomposição para a EF compreende os estudos teóricos ou práticos da sucessão da fauna cadavérica e/ou estudos exploratórios sobre a diversidade de insetos necrófagos de determinada região. Diversos fatores influenciam esse processo de decomposição, principalmente as condições abióticas, tais como: temperatura, umidade, precipitação e composição de solo que influenciam diretamente na taxa de decomposição e secundariamente na composição da fauna necrófaga do local (Matuszewski *et al.* 2008).

Os estudos de ecologia da decomposição são necessários pois segundo a metodologia clássica de estimativa de IPM em sucessão o cálculo é baseado na presença de dois taxa definitivos (que colonizaram efetivamente) sobre o cadáver. Para escolher essas espécies definitivas, os especialistas utilizam um modelo próprio de sucessão geralmente do campo forense com experiências advindas de trabalhos experimentais relativos à sucessão de insetos oriundos de carcaças e cadáveres locais (Schoenly *et al.* 1996).

Diversos autores descrevem as fases ou estágios do processo de decomposição (Bornemissza 1957; Payne 1965; Davis & Goff 2000). O processo é contínuo, porém, a organização artificial em fases faz-se necessária em estudos práticos de ecologia da decomposição e investigações criminais (Goff 2009). O processo de decomposição inicia-se pela autólise (destruição das células por enzimas próprias), pela putrefação (decomposição por microrganismos) e pela atividade de insetos que colonizam o recurso em decomposição utilizando-o como sítio de alimentação, cópula e postura de ovos (Oliveira-Costa 2011), principalmente, pela ação de dípteros e coleópteros. Além da própria variação da descrição dependendo da literatura utilizada, o número de estágios e o seu tempo de duração são fortemente influenciados pelas condições climáticas e sazonais (Payne 1965) o que enfatiza a necessidade de estudos locais e regionais. Portanto, sua duração e a

estrutura da comunidade de artrópodes associada a um cadáver podem variar muito com base na localização geográfica e no clima (Maisonhaute & Forbes 2020).

Em países de clima temperado é possível inferir um padrão de sucessão ecológica discreto ao longo do processo de decomposição, onde a diversidade de insetos muda com o tempo, e de acordo com as fases da decomposição, o que pode fornecer evidências devido o desaparecimento de algumas espécies, enquanto outras irão aumentar em abundância (Matuszewski *et al.* 2010; Bala & Singh 2015). Já em países tropicais esse padrão sucessional da fauna cadavérica é complexo e contínuo devido a dinâmica e celeridade dos processos ecológicos influenciados principalmente pelas variáveis climáticas de precipitação e umidade, com sobreposição de espécies ao longo das fases de decomposição, não seguindo uma lógica sucessional postulada em trabalhos de países com clima temperados.

Tafonomia forense e comportamento da fauna cadavérica

A tafonomia clássica é uma área interdisciplinar que se alicerça na Geologia, Antropologia e Paleontologia e conceitua-se como o estudo da transição dos restos mortais da biosfera para a litosfera, que permite conhecer os processos de soterramento e transformação de carcaças, como: decomposição, movimentação vertical dos ossos e até mesmo fossilização (Efremov 1940), ou seja, significa colocar os vestígios ósseos em análise no espaço e no tempo. A tafonomia forense examina como as variáveis bióticas ou abióticas podem alterar as provas em investigações legais, sendo uma subárea da antropologia forense que examina como as forças tafonômicas alteram as provas que são objetos de uma investigação médico-legal (Ururahy-Rodrigues *et al.* 2008). A tafonomia também pode ser definida como o estudo de muitas variáveis envolvendo a decomposição, tais como: preservação, dispersão, erosão, enterro ou exposição de organismos mortos (Efremov 1940).

Um cadáver ou carcaça é um tipo de recurso efêmero de alta qualidade, com estreita relação com a porcentagem de carbono e alto teor de água que libera uma intensa e localizada aglomeração de nutrientes no solo durante a decomposição (Carter *et al.* 2007), objeto de estudo da tafonomia forense. A decomposição começa por meio de uma decomposição química, realizada pela ação de microrganismos como os fungos e bactérias, seguida pela decomposição física realizada pela ação

da fauna cadavérica, com predominância dos insetos necrófagos (Smith 1986), mas também, em ambientes naturais, com forte influência dos vertebrados carniceiros (Demo *et al.* 2013; Lira *et al.* 2020b).

É uma interface entre tafonomia forense e entomologia forense os diversos artefatos *post-mortem* que os insetos, especialmente os besouros, podem causar na carcaça ao desempenharem suas atividades. Artefatos provocados por besouros, tais como espalhamento de tecidos e ossos, não devem ser negligenciados pois podem confundir toda a dinâmica criminal, alterando até mesmo a posição do cadáver em uma cena de crime (Ururahy-Rodrigues *et al.* 2008). Por serem importantes agentes bióticos no processo tafonômico, os artefatos *post-mortem* provocados pelo maior besouro necrófago encontrado no Cerrado são discutidos no capítulo 2 desta tese.

Justificativa e organização da tese

A partir deste arcabouço teórico em que este trabalho está inserido, o conhecimento das espécies que representam a coleopterofauna de importância forense no Cerrado, associado as estações climáticas do bioma, suas fitofisionomias e as diferentes fases do processo de decomposição, é importante não somente para entender a ecologia do grupo, mas também contribuem para elucidar a influência e relevância da ordem Coleoptera em futuros casos criminais na região.

Adicionalmente, informações sobre como determinadas espécies se comportam em contato com o recurso (deslocando, perfurando, enterrando partes) podem auxiliar na compreensão da dinâmica de um crime evitando possíveis conclusões equivocadas. A ausência destas informações para espécies de coleópteros de importância forense do Cerrado do DF, e a sua importância para a consolidação do arcabouço teórico sobre estes insetos justificam a relevância desta tese. Sendo assim a pergunta norteadora da tese é: como a coleopterofauna participa do processo de decomposição de carcaças no bioma Cerrado, considerando os fatores ecológicos e comportamentais acima mencionados?

A fim de responder este questionamento central, esta tese está organizada em dois capítulos e um apêndice (Fig.1). O primeiro capítulo intitulado “**Varição temporal e padrão de atratividade da coleopterofauna cadavérica em diferentes fitofisionomias do Cerrado**” teve o intuito de avaliar aspectos ecológicos da

comunidade de besouros associados a carcaças de porcos ao longo de todo o processo de decomposição (fresco, gasoso, decomposição ativa, decomposição avançada e esqueletização), em três fitofisionomias (mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo) nas estações climáticas típicas do Cerrado (seca e chuvosa), buscando compreender o papel destas espécies na ecologia da decomposição de recursos efêmeros, discutindo características bionômicas, alimentares, reprodutivas e ecológicas.

O segundo capítulo intitulado “**Behavioral aspects of *Coprophanaeus ensifer* (Germar) (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) associated with pig carcasses in Central Brazil**”, publicado no periódico *Neotropical Entomology*, teve como objetivo realizar observações e registros de comportamentos de uma das principais espécies para a entomologia forense no Cerrado, *Coprophanaeus ensifer* (Germar, 1821), sobre as carcaças expostas na fitofisionomia campo sujo a fim de compilar dados para conhecimento do repertório comportamental da espécie e sua potencial utilidade na área, bem como no conhecimento dos artefatos *post-mortem* provocados por este besouro.

Durante o período do doutorado, um artigo descrevendo o uso da espécie *Oxelytrum discicolle* (Brullé, 1840) para estimativa de IPM em um caso de morte violenta foi produzido em parceria com a Polícia Civil do Distrito Federal, validando a importância dos besouros para a entomologia forense, sendo efetivamente o primeiro registro da utilização de conhecimentos bionômicos da ordem para estimar tempo de morte no Brasil. O artigo encontra-se publicado na *Revista Brasileira de Entomologia* intitulado: “**The carrion beetle *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae) and the estimative of the minimum *post-mortem* interval in a forensic case in Brasília, Brazil**” e se encontra disponível no Apêndice I.

Besouros de importância forense no Cerrado: ecologia e comportamento

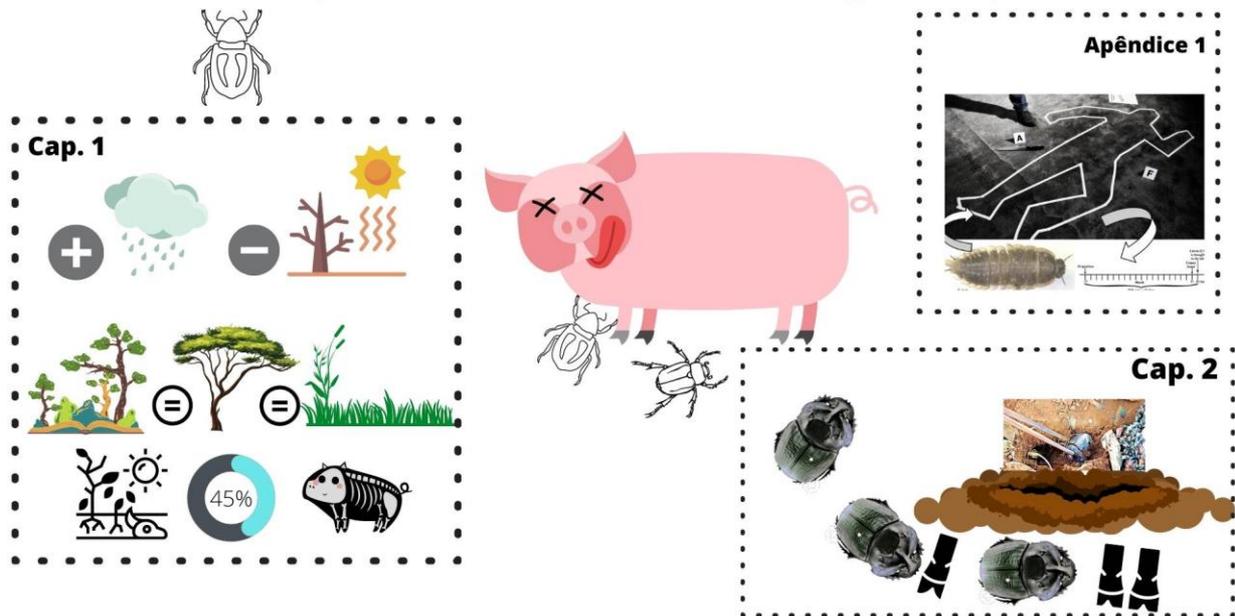


Figura 1. Esquema demonstrando a organização da tese (dois capítulos e um apêndice)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L.M. & K.M. MISE. 2009. Diagnosis and key of the main families and species of South American Coleoptera of forensic importance. *Revista Brasileira de Entomologia* 53: 227–244.

ALMEIDA, L.M., R.C. CORRÊA & P.C. GROSSI. 2015. Coleoptera species of forensic importance from Brazil: an updated list. *Revista Brasileira de Entomologia* 59: 274–284.

AL-QAHTNI, A.H., M.S. AL-KHALIFA & A.M. MASHALY. 2020. Two human cases associated with forensic insects in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27: 881–886.

AMENDT, J., R. KRETTEK & R. ZEHNER. 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften* 91: 51–65.

BALA, M. & N. SINGH. 2015. Beetles and forensic entomology: A comprehensive review. *Journal of Entomological Research* 39: 293–302.

BENECKE, M. 2001. A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International* 120: 2–14.

- BENECKE, M., E. JOSEPHI & R. ZWEIHOFF. 2004. Neglect of the elderly: forensic entomology cases and considerations. *Forensic Science International* 146: 195–199.
- BONACCI, T., F. MENDICINO, F. CARLOMAGNO, D. BONELLI, C. SCAPOLI & M. PEZZI. 2021. First report of the presence of *Necrodes littoralis* (L.) (Coleoptera: Silphidae) on a human corpse in Italy. *Journal of Forensic Sciences* 7: 1–4.
- BORNEMISSZA, G.F. 1957. An analysis of arthropod succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. *Australian Journal Zoology* 5: 1–12.
- BUGELLI, V., M. GHERARDIC, M. FOCARDI, V. PINCHI, S. VANIN & C.P. CAMPOBASSO. 2018. Decomposition pattern and insect colonization in two cases of suicide by hanging. *Forensic Sciences Research* 3: 94–102.
- BYRD, J.H. & J.L. CASTNER. 2000. *Forensic Entomology: The utility of arthropods in legal investigation*. 1° ed, CRC Press, Washington DC, pp. 437.
- CARTER, D.O., D. YELLOWLEES & M. TIBBETT. 2007. Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. *Naturwissenschaften* 94: 12–24.
- CASSARI, S.A. & S. IDE. 2012. Coleoptera Linnaeus, 1758. *In: Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. 1° ed, Holos Editora, Ribeirão Preto, pp. 453–535.
- CATTS, E.P. & M.L. GOFF. 1992. Forensic Entomology in criminal investigation. *Annual Review of Entomology* 37: 253–272.
- DAVIS, J.B. & M.L. GOFF. 2000. Decomposition patterns in terrestrial and intertidal habitats on Oahu Island and Coconut Island, Hawaii. *Journal of Forensic Sciences* 45: 824–831.
- DEMO, C., E.R. CANSI, C. KOSMANN & J.R. PUJOL-LUZ. 2013. Vultures and others scavenger vertebrates associated with man-sized pig carcasses: a perspective in Forensic Taphonomy. *Zoologia* 30: 574–576.
- EFREMOV, E.A. 1940. Taphonomy: new branch of paleontology. *Pan-American Geology* 74: 81–93.
- EITEN, G. 1972. The Cerrado vegetation of Brazil. *Botanical Review* 38: 201–341.
- 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. *Neotropical Entomology* 42: 216–222.
- FARIA, L.S., M.L. PASETO, M.S. COURI, C.A. MELLO-PATIU & J. MENDES. 2018. Insects associated with pig carrion in two environments of Brazilian Savanna. *Neotropical Entomology* 47: 181–198.

- GRIFFITHS, K., M.N. KROSCHE & K. WRIGHT. 2020. Variation in decomposition stages and carrion insect succession in a dry tropical climate and its effect on estimating postmortem interval. *Forensic Sciences Research* 1: 327–335.
- GOFF, M.L. 1991. Comparison of insect species associated with decomposing remains recovered inside dwellings and outdoors on the island of Oahu, Hawaii. *Journal of Forensic Sciences* 36: 748–753.
- GOFF, M.L. 1993. Estimation of postmortem interval using arthropod development and successional patterns. *Forensic Science Review* 5: 81–93.
- GOFF, M.L. 2009. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Experimental Applied Acarology* 49: 21–36.
- HALL, R.D. 2001. Introduction: perception and status of forensic entomology. *In: Forensic Entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. 1° ed, CRC Press, Washington DC pp. 1–16.
- INTRONA, F., C.P. CAMPOBASSO & M.L. GOFF. 2001. Entomotoxicology. *Forensic Science International* 120: 42–47.
- PAYNE, J.A. 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology* 46: 592–602.
- PUJOL-LUZ, J.R., L.C. ARANTES & R. CONSTANTINO. 2008. Cem anos de Entomologia Forense no Brasil (1908 – 2008). *Revista Brasileira de Entomologia* 52: 485–492.
- KALIANDRA, L.M.S. 2005. Responsabilidade criminal no tribunal penal internacional, Brasil. *Revista Brasileira de Direito Internacional* 1: 186–190.
- KADEJ, M., L. SZLESZKOWSKI, A. THANNHÄUSER & T. JUREK. 2020. A mummified human corpse and associated insects of forensic importance in indoor conditions. *International Journal of Legal Medicine* 134: 1963–1971.
- KOSMANN, C., MELLO, R. P., HARTEINTEIN-SOUZA, E. S. & PUJOL-LUZ, J. R. 2013. A List of current valid blow fly names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas south of Mexico with key to the Brazilian species. *EntomoBrasilis* 6: 74–85.

- LEI, G., F. LIU, P. LIU, Y. ZHOU, T. JIAO & Y.H. DANG. 2019 A bibliometric analysis of forensic entomology trends and perspectives worldwide over the last two decades (1998–2017). *Forensic Science International* 295: 72–82.
- LIRA, L.A., M.P. MACEDO, J.R. PUJOL-LUZ & S.D. VASCONCELOS. 2019. Diel activity and effect of carcass decomposition on the attractiveness to the forensically important species *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae). *Journal of Forensic Sciences* 64: 799–804.
- LIRA, L.A., K.B BARROS-CORDEIRO, B. FIGUEIREDO, M.F. GALVÃO & M.R. FRIZZAS. 2020a. The carrion beetle *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae) and the estimative of the minimum *post-mortem* interval in a forensic case in Brasília, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 64: 1–3.
- LIRA, L.A., L.M.S. AGUIAR, M. SILVEIRA & M.R. FRIZZAS. 2020b. Vertebrate scavengers alter the chronology of carcass decay. *Austral Ecology* 45: 1103–1109.
- LECLERCQ, M. 1969. *Entomological Parasitology. The Relations between Entomology and the Medical Sciences*. Pergamon, New York, pp. 158.
- LORD, W.D. & J.R. STEVENSON. 1986. *Directory of forensic entomologists*. 2 ed, Armed Forces Pest Management Board, Washington D.C, pp. 42.
- MAISONHAUTE, J.E. & S.L. FORBES. 2020. Decomposition process and arthropod succession on pig carcasses in Quebec (Canada). *Canadian Society of Forensic Science Journal* 54: 1–26.
- MANSEGOSA, D.A., P.S. GIANNOTTI, J.I. MARCHIORI, F.N. JOFRÉ, F.H. ABALLAY & C.F. AISA. 2021. The story of a homicide: The location, exhumation, and multidisciplinary analysis of a clandestine burial. *Forensic Science International* 3: 1–8.
- MATUSZEWSKI, S., D. BAJERLEIN, S. KONWERSKI & K. SZPILA. 2008. An initial study of insect succession and carrion decomposition in various forest habitats of Central Europe. *Forensic Science International* 180: 61–69.
- MATUSZEWSKI, S., D. BAJERLEIN, S. KONWERSKI & K. SZPILA. 2010. Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 1: Pattern and rate of decomposition. *Forensic Science International* 194: 85–93.
- MATUSZEWSKI, S. & A. MAŁDRA-BIELEWICZ. 2019. Post-mortem interval estimation based on insect evidence in a quasi-indoor habitat. *Science & Justice* 59: 109–115.

- MAYER, A.C.G. & S.D. VASCONCELOS. 2013. Necrophagous beetles associated with carcasses in a semi-arid environment in Northeastern Brazil: Implications for forensic entomology. *Forensic Science International* 226: 41–45.
- MÉGNIN, J. 1894. La faune des cadavres: application de l'entomologie a la medecine legale. *Encyclopedie Scientifique des Aides Memoires*. Masson et Gauthiers-Villars, Paris, pp. 214.
- MIRANDA, G.H.B., COSTA, K.A. & J.R. PUJOL-LUZ. 2013. Vestígios Entomológicos. *In: Locais de Crime*. Milenium editora, Campinas/SP, pp 125–150.
- MISE, K.M., L.M. ALMEIDA & M.O. MOURA. 2007. Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. *Revista Brasileira de Entomologia* 51: 358–368.
- MISE, K.M., A.S.B. SOUZA, C.M. CAMPOS, R.L.F. KEPPLER & L.M. ALMEIDA. 2010. Coleoptera associated with pig carcass exposed in a forest reserve, Manaus, Amazonas, Brazil. *Biota Neotropical* 10: 321–324.
- MOEMENBELLAH-FARD M.D., D. KESHAVARZI, M. FERREIDOOONI & A. SOLTANI. 2018. First survey of forensically important insects from human corpses in Shiraz, Iran. *Journal of Forensic and Legal Medicine* 54: 62–68.
- OLIVEIRA-COSTA, J. 2011. *Entomologia Forense – Quando os Insetos são Vestígios*. Ed. 1, Millennium, Campinas/SP, pp. 389.
- PINHEIRO, F., I.R. DINIZ, D. COELHO & P.S. BANDEIRA. 2002. Seasonal pattern of insect abundance in the Brazilian. *Austral Ecology* 27: 132–136.
- PESSÔA, S. & F. LANE. 1941. Coleópteros de interesse médico-legal. Ensaio monográfico sobre a família Scarabaeidae de São Paulo e regiões vizinhas. *Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo* 2: 389–504.
- RIES, A.C., V. COSTA-SILVA, C.F. SANTOS, B. BLOCHTEIN & P.J. THYSSEN. 2020. Factors affecting the composition and succession of beetles in exposed pig carcasses in southern Brazil. *Journal of Medical Entomology* 58: 104–113.
- ROSA, T.A., M.L.Y. BATATA, C.M. SOUZA, D. SOUSA, C.A. 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. *Revista Brasileira de Entomologia* 55: 424–434.

SAVAGE, J. 2002. Cleaning up the World: Dipteran decomposers. *Biodiversity* 3:12–15.

SCHOENLY, K., M.L. GOFF, J.D. WELLS & W.D. LORD. 1996. Quantifying statistical uncertainty in succession-based entomological estimates of pmi in death scene investigations: a simulation study. *American Entomologist* 1: 106–112.

SILVA, F.A.M., E.D. ASSAD & B.A. EVANGELISTA. 2008. Caracterização climática do bioma Cerrado. *In: Cerrado: Ecologia e Flora*. Embrapa Cerrados e Embrapa Informação Tecnológica, Brasília/DF, pp 69–88.

SILVA, N.A.P., M.R. FRIZZAS & C.M. OLIVEIRA. 2011. Seasonality in insect abundance in the “Cerrado” of Goiás State, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 55: 79–87.

SMITH, K.G.V. 1986. *A manual of Forensic Entomology*. The trustees of the British Museum, London, pp. 195.

TRIPLEHORN, C. A. & JOHNSON, N. F. 2011 *Estudo dos Insetos*. 8^o ed. São Paulo: Cengage learning, pp 808.

URURAHY-RODRIGUES, A., J.A. RAFAEL, R.F. WANDERLEY, H. MARQUES, J.R. PUJOL-LUZ. 2009. *Coprophanæus lancifer* (Linnaeus, 1767) (Coleoptera, Scarabaeidae) activity moves a man-size pig carcass: relevant data for Forensic Taphonomy. *Forensic Science International* 182: 19–22.

WANG, M., J. CHU, Y. WANG, F. LI, M. LIAO, H. SHI, Y. ZANG, G. HU & J. WANG. 2019. Forensic entomology application in China: Four case reports. *Journal of Forensic and Legal Medicine* 63: 40–47.

CAPÍTULO I

Variação temporal e padrão de atratividade da coleopterofauna cadavérica em diferentes fitofisionomias do Cerrado

Manuscrito em elaboração

RESUMO

A ordem Coleoptera corresponde à segunda maior ordem de insetos de importância forense, sendo as espécies necrófagas participantes fundamentais do processo de decomposição cadavérica em ecossistemas terrestres. Este trabalho teve como objetivo avaliar a variação temporal e o padrão de atratividade de besouros de importância forense em carcaças de porcos (*Sus scrofa*) em diferentes fitofisionomias do Cerrado no Distrito Federal (DF). O trabalho foi desenvolvido em duas áreas de reserva, Fazenda Água Limpa (FAL) e Parque Nacional de Brasília (PNB), e em três fitofisionomias por área: mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo, durante três anos de coleta nas estações seca e chuvosa. Foram utilizadas 72 carcaças de porcos de pequeno porte, sendo 36 expostas durante a estação seca e 36 na chuvosa. Foram identificados cinco estágios de decomposição nas carcaças e o processo foi duas vezes mais rápido na estação chuvosa (8 dias) do que na estação seca (16 dias). Foram coletados 3.006 adultos classificados em 66 espécies e 12 famílias de Coleoptera, com maior abundância e riqueza nos meses chuvosos. Besouros de importância forense ocorreram em todas as fitofisionomias de forma semelhante. Os coleópteros foram mais abundantes nas fases finais da decomposição, especialmente no estágio de esqueletização, o qual atraiu cerca de 45% do total de indivíduos coletados. Dentre as famílias mais abundantes, Scarabaeidae não apresentou diferença significativa na atratividade entre os estágios de decomposição. Já Staphylinidae, Silphidae, Dermestidae, Histeridae e foram mais atraídas por um ou dois estágios finais do processo. Apenas duas espécies, *Dermestes maculatus* e *Oxelytrum discicolle*, foram observadas em fases larvais nas carcaças em decomposição. Este trabalho é pioneiro e contribui com o arcabouço teórico da área ao abordar ecologia da decomposição de carcaças e besouros necrófagos, correlacionando-os às características intrínsecas do bioma Cerrado. Uma lista com as principais espécies da região e sua utilidade na entomologia forense é discutida.

Palavras-chave: entomologia forense; estágios de decomposição; besouros necrófagos; ecologia da decomposição; serviços ecossistêmicos; espécies colonizadoras.

1. INTRODUÇÃO

Coleoptera é a segunda maior ordem de insetos com importância forense, tanto em frequência de ocorrência quanto em abundância (Catts & Goff 1992; Bala & Singh 2015). No Brasil já foram registradas mais de 340 espécies de besouros distribuídas em 16 famílias associadas a carcaças ou cadáveres em decomposição, apresentando vários representantes necrófagos, onívoros e predadores (Almeida *et al.* 2015). As famílias frequentemente encontradas associadas a recursos em decomposição são: Carabidae, Cleridae, Dermestidae, Histeridae, Leiodidae, Nitidulidae, Scarabaeidae, Silphidae, Staphylinidae, Tenebrionidae e Trogidae (Kulshrestha & Satpathy 2001; Almeida & Mise 2009).

Os besouros necrófagos são participantes fundamentais do processo de decomposição física de carcaças e cadáveres nos ecossistemas terrestres, pois se alimentam de restos orgânicos de origem animal, reciclando-os e fazendo-os retornar à cadeia alimentar para serem reaproveitados pelos demais seres vivos (Byrd & Castner 2000; Kulshrestha & Satpathy 2001). Apesar da importância deste serviço, esse processo raramente é associado com o termo “serviços ecossistêmicos” em trabalhos com insetos no Brasil (Ramos *et al.* 2020) e no Mundo (Noriega *et al.* 2018). Junto aos necrófagos, a comunidade de besouros predadores, copronecrófagos e onívoros também influenciam o processo de decomposição, com competições interespecíficas pelo substrato efêmero ou até mesmo com predação dos indivíduos necrófagos reduzindo suas populações (Smith 1986).

Embora o processo natural de decomposição seja contínuo e dinâmico, é possível definir fases ou estágios distintos (Bornemissza 1957; Payne 1965; Davis & Goff 2000). A organização artificial em fases é comumente utilizada em estudos de ecologia da decomposição e investigações criminais (Goff 2009). Após a morte, a decomposição inicia-se com a autólise (quebra das células por enzimas próprias), seguida pela putrefação (decomposição por microrganismos) e atividade de insetos que utilizam o recurso em decomposição como sítio de alimentação, cópula e postura de ovos (Byrd & Castner 2000; Oliveira-Costa 2011), principalmente, pela ação de dípteros e coleópteros. Além da variação da descrição dependendo da literatura utilizada, o número de estágios e o seu tempo de duração são fortemente

influenciados pelas condições climáticas e sazonais (Payne 1965) o que aponta para a necessidade de estudos regionais e locais.

Durante este processo de decomposição cadavérica, as propriedades físicas e químicas do cadáver/carcaça são alteradas, os tecidos moles se desintegram e os compostos orgânicos voláteis liberados no processo da putrefação varia ao longo do tempo (Payne 1965; Davis & Goff 2000). Essas alterações geram um padrão de atratividade diferenciado entre as espécies de insetos necrófagos (Jarmusz & Bajerlein 2015; Lira *et al.* 2019), responsáveis pela redução gradual ou rápida da massa corporal. Para coleópteros, o principal padrão observado é um aumento na riqueza e abundância à medida que os estágios vão avançando (Mise *et al.* 2007; Bala & Singh 2015), e em casos de esqueletos de humanos encontrados tardiamente, os besouros compreendem a principal evidência entomológica (Goff 1991; Bala & Singh 2015). As variações locais e regionais que são frequentemente relatadas justificam a necessidade de estudos com carcaças no Brasil, país tropical, com dimensões continentais e alta biodiversidade, para verificar qual o padrão de atratividade para os coleópteros entre os estágios de decomposição e se a composição e estrutura da coleopterofauna varia entre as fitofisionomias do Cerrado.

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando cerca de 20% do território nacional. É considerado um *hotspot* prioritário para conservação devido à diversidade de espécies endêmicas (Myers *et al.* 2000). É constituído por um mosaico heterogêneo de vegetação representado por fitofisionomias de formações campestres tais como campos limpos e campos sujos; formações savânicas como cerrado *sensu stricto* e cerrado rupestre; e formações florestais como por exemplo matas de galeria e matas secas, determinada em grande parte por variações topográficas, solo e disponibilidade de água (Eiten 1972). Possui clima tipo Aw - tropical sazonal semiúmido segundo a classificação climática de Köppen, com precipitação média anual de 1.400 mm, temperatura variando de 12°C a 28,5°C e umidade entre 20 a 85%, apresentando duas estações climáticas bem definidas, a estação seca geralmente entre os meses de abril a setembro e a estação chuvosa entre outubro a março (Silva *et al.* 2008). Diante disso, estudos que investiguem a diversidade, a bionomia, o comportamento e a ecologia de espécies de coleópteros de interesse forense são fundamentais, visto que comparado a outros biomas, o Cerrado ainda é pouco representado em publicações científicas (Marchiori *et al.*

2000; Rosa *et al.* 2011; Faria *et al.* 2013; Faria *et al.* 2018), principalmente tendo como foco a ordem Coleoptera (Lira & Vasconcelos 2016; Lira *et al.* 2017; Lira *et al.* 2019).

De modo geral, besouros são frequentemente influenciados por efeitos abióticos e variações temporais no Cerrado (Frizzas *et al.* 2020), com alta abundância e riqueza de espécies durante a estação chuvosa, especialmente na primeira metade da estação, e baixa abundância e riqueza durante os meses característicos do período seco (Oliveira *et al.* 2021). Normalmente a ordem Coleoptera apresenta correlação positiva com variáveis climáticas como a temperatura (Silva *et al.* 2011) bem como com a precipitação (Oliveira *et al.* 2021). Há variação temporal na abundância dos coleópteros, com famílias apresentando sazonalidade marcada ao longo do ano e com distribuição agrupada no período chuvoso, como observado para Scarabaeidae e Carabidae (Frizzas *et al.* 2020; Oliveira *et al.* 2021).

A comunidade de Coleoptera demonstra baixa similaridade entre as fitofisionomias do Cerrado, com alta porcentagem de espécies exclusivas de determinados ambientes, não estando homogeneamente distribuídas entre as fitofisionomias do bioma (Pinheiro *et al.* 1998; Pinheiro *et al.* 2002). Em estudo desenvolvido em Goiás, observou-se maior abundância e riqueza de espécies em área de campo sujo quando comparada a área de cerrado *sensu stricto* (Pinheiro *et al.* 1998), já em Minas Gerais os besouros foram mais abundantes em área de cerrado *sensu stricto* (Rosa *et al.* 2011). Estudos que avaliem a comunidade de besouros de importância forense em diferentes ambientes do Cerrado são necessários, pois algumas famílias tais como Silphidae apresentam marcada prevalência por áreas florestais (Lira & Vasconcelos 2016) e outras por áreas campestres e savânicas, tais como a família Scarabaeidae e Cleridae (Rosa *et al.* 2011).

Atualmente segundo o IBGE, o Distrito Federal (DF), em especial Brasília, está ranqueado como a terceira maior metrópole brasileira (IBGE 2020). Para a região do DF apenas três trabalhos reconhecem *Oxelytrum discicolle* (Silphidae) como uma espécie necrófaga em mata de galeria associada a carcaças em decomposição (Lira & Vasconcelos 2016) e principalmente atraída por carcaças em avançado estágio de decomposição (Lira *et al.* 2019), já tendo sido inclusive

utilizada como espécie indicadora de estimativa de tempo de morte (IPM) em um caso de feminicídio no DF (Lira *et al.* 2020/apêndice I). Para as demais famílias de besouros de importância forense do DF não há qualquer publicação de estudos com discussões forenses, sendo indispensável mais trabalhos para a região. Este trabalho contribui com o estado da arte dos besouros de importância forense no Cerrado do DF, uma vez que até a última revisão disponível na literatura sobre coleópteros de interesse forense, o DF não possuía nenhum registro (Almeida *et al.* 2015).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a variação temporal e o padrão de atratividade da comunidade de coleópteros associados às carcaças de porcos (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758) em decomposição em diferentes fitofisionomias do Cerrado no Distrito Federal. Nossas principais perguntas são: (a) Existe variação na comunidade de besouros de importância forense entre as estações chuvosa e seca no Cerrado? (b) A riqueza e abundância destas espécies varia entre as fitofisionomias mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo? (c) Qual o padrão da atratividade de carcaças de porcos em diferentes estágios de decomposição para besouros necrófagos, onívoros e predadores? e, por fim (d) a colonização, presença de ovos e larvas de coleópteros, ocorre de fato para a maioria das espécies?

Nossas hipóteses são: (a) no Cerrado a diversidade de besouros será maior na estação chuvosa comparada a estação seca; (b) já que diversas espécies são endêmicas e exclusivas de determinados ambientes, existirá diferença significativa na riqueza e abundância de besouros de importância forense entre as fitofisionomias avaliadas, e provavelmente essa riqueza e abundância serão maiores em formações savânicas e florestais do Cerrado; (c) devido ao efeito dos compostos orgânicos voláteis produzidos durante o processo de decomposição, coleópteros de importância forense serão mais atraídos por carcaças durante os estágios mais avançados da decomposição; e por fim acreditamos que (d) os coleópteros necrófagos de fato colonizam as carcaças, utilizando-as como sítio de cópula bem como para postura de seus ovos e larvas durante a decomposição.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Áreas de estudo

O trabalho foi desenvolvido em duas áreas de Cerrado (Fazenda Água Limpa – FAL e Parque Nacional de Brasília – PNB) (Fig. 1) e em três fitofisionomias em cada área: mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo. Tanto a FAL quanto o PNB fazem parte da Reserva da Biosfera do Cerrado no Distrito Federal, como áreas prioritárias para conservação de diversas espécies ameaçadas e/ou endêmicas da região (ICMBIO 2020). As áreas apresentam uma distância entre si de aproximadamente 30 km (Fig. 1).

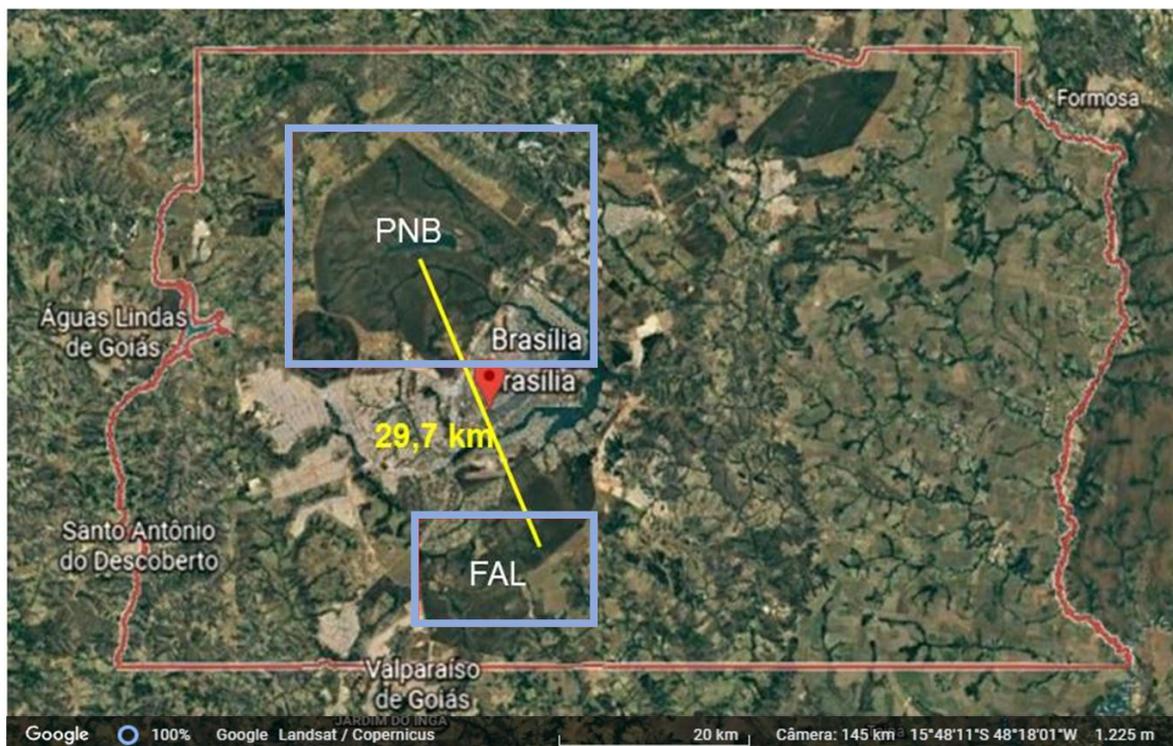


Figura 1. Mapa do Distrito Federal (demarcado em rosa) e a localização das áreas de coleta: Fazenda Água Limpa – FAL e Parque Nacional de Brasília – PNB (demarcados em azul) com distância média entre as áreas. Fonte: Google Earth.

A Fazenda Experimental Água Limpa (FAL) pertence à Universidade de Brasília (UnB), possui uma área total de 4.390 hectares, com altitude de 1.066 m. O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen, com temperatura máxima de 28,5 °C e mínima de 12 °C. Apesar de inserida em ambiente urbano a

área é considerada um importante refúgio para espécies endêmicas do Cerrado (ICMBIO 2020).

O Parque Nacional de Brasília (PNB) possui aproximadamente 42.389 hectares, com altitude inferior a 1.200 m, onde se encontra grande diversidade de formações vegetais, incluindo todas as fitofisionomias do bioma Cerrado, abrigando assim uma alta diversidade de fauna. Também apresenta variação climática do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen, com temperatura máxima de 28,5 °C e mínima de 12 °C. O parque é importante na condição de corredor ecológico para as espécies da região, pois faz limite com as Áreas de Proteção Ambiental do Descoberto, da Cafuringa e com a Floresta Nacional (ICMBIO 2020).

Para o estudo, em cada uma das áreas (FAL e PNB), foram selecionadas três fitofisionomias: *i*) mata de galeria, formação florestal, que tem uma vegetação tipo floresta crescendo ao longo de cursos d'água com altura média do estrato arbóreo variando entre 20 e 30 metros, apresentando uma superposição das copas, que fornecem cobertura arbórea de 70 a 95%; *ii*) cerrado *sensu stricto*, formação savânica, composto por uma camada de solo contínua dominada por gramíneas e uma camada lenhosa de árvores e arbustos cobrindo de 10 a 60% do solo; e *iii*) campo sujo, formação campestre, exclusivamente arbustivo-herbáceo que compreende uma savana de pastagem com alguns arbustos espalhados e pequenas árvores que cobrem menos de 20% do solo (Eiten 1972; Ribeiro & Walter 2008). Para a registro dos fatores ambientais foram instalados aparelhos Data Logger (*Next NDTH-01*) e um coletor de precipitação em cada fitofisionomia, em ambas as áreas, para registro da temperatura, umidade e precipitação diária durante todo o período do experimento.

Metodologia de coleta

As coletas foram realizadas durante três anos (entre junho/2017 e janeiro/2019) nas estações chuvosa (durante os meses de novembro, dezembro e janeiro) e seca (nos meses de junho, julho e agosto), tais meses foram escolhidos para evitar os períodos de transição e assim verificar os padrões abióticos mais constantes ao longo das estações.

Para a coleta dos besouros necrófagos foram utilizadas carcaças de porcos (*Sus scrofa*) de pequeno porte oriundas de doações da Fazenda Miunça localizada

no Distrito Federal, com peso variando de 2,5 kg \pm 0,5 de forma a evitar interferências do peso das carcaças na atratividade. Foram utilizadas ao todo 72 carcaças ao longo dos três anos de coleta, sendo 36 por estação, organizadas da seguinte forma: uma carcaça em cada tipo de fitofisionomia (cerrado *sensu stricto*, mata de galeria e campo sujo) por área (PNB e FAL), por mês de coleta (Fig. 2). Os pontos de coleta foram escolhidos garantindo distância mínima de 1 km. A autorização para as coletas foi obtida junto ao ICMBio/Sisbio (nº 58287-1) e os devidos relatórios foram prestados dentro do prazo estipulado.

Quatro bandejas de 60 x 60 x 40 cm foram enterradas na altura do solo e colocadas ao redor das carcaças para funcionarem como *pitfall* (Fig. 2) contendo água, sulfato de cobre 1% e detergente para quebrar a tensão superficial do líquido e facilitar a coleta e conservação dos espécimes (Larsen & Forsyth 2005). Os porcos permaneceram expostos nas áreas durante todo o processo de decomposição, ou seja, do estágio fresco até o estágio de esqueletização seguindo a definição proposta por Payne (1965) que classifica a decomposição em cinco estágios: 1) *estágio fresco* se inicia no momento da morte, ou do início do descongelamento da carcaça e continua até as primeiras evidências de inchamento, sem odores característicos; 2) *estágio gasoso* tem seus primeiros sinais visíveis com um leve inchamento da região abdominal com coloração esverdeada. Bolhas de sangue nas regiões de orifícios naturais (boca, nariz e ânus) passam a se formar, odor moderado presente; 3) *estágio de decomposição ativa* observa-se o rompimento de tecido epitelial e início da perda de biomassa. Nessa fase fortes odores são percebidos; 4) *estágio de decomposição avançada* a maioria dos tecidos moles da carcaça já foi degradada com odor começando a desvanecer; e por fim, 5) *estágio seco/esqueletização* caracteriza-se por apresentar apenas pele seca, cartilagens e restos de ossos, com odores bem menos intensos. Em algumas ocasiões, devido a condições específicas de temperatura e umidade, algumas carcaças passaram por um processo denominado mumificação no qual o processo de decomposição é interrompido. Quando isso ocorreu, os insetos presentes naquele momento eram coletados e a carcaça era fotografada e enterrada.

As carcaças foram protegidas com gaiolas de ferro com proporções de 1m x 1m x 80 cm e malha de 2,5 cm para permitir o acesso de besouros e dificultar o acesso de vertebrados carniceiros. Antes da coleta diária durante o período

matutino, o estado de decomposição das carcaças foi observado, fotografado com câmera profissional (*Nikon 42x optical zoom HD*) e registrado em caderneta de campo. O procedimento de coleta foi realizado diariamente até a fase final de decomposição com inspeções de coleta ativa diretamente no porco com pinças e potes coletores por aproximadamente 15 min em cada carcaça e realizada pelo mesmo coletor (no intuito de minimizar o erro amostral dos grupos funcionais), além da coleta das bandejas ao redor da carcaça, sendo as larvas e adultos fixados em potes contendo álcool 70%. O material coletado era individualizado, etiquetado e encaminhado para o Laboratório de Biologia e Ecologia de Coleoptera (LABEC) do Departamento de Zoologia (ZOO) da Universidade de Brasília (UnB) onde os coleópteros adultos e os imaturos foram triados e identificados.

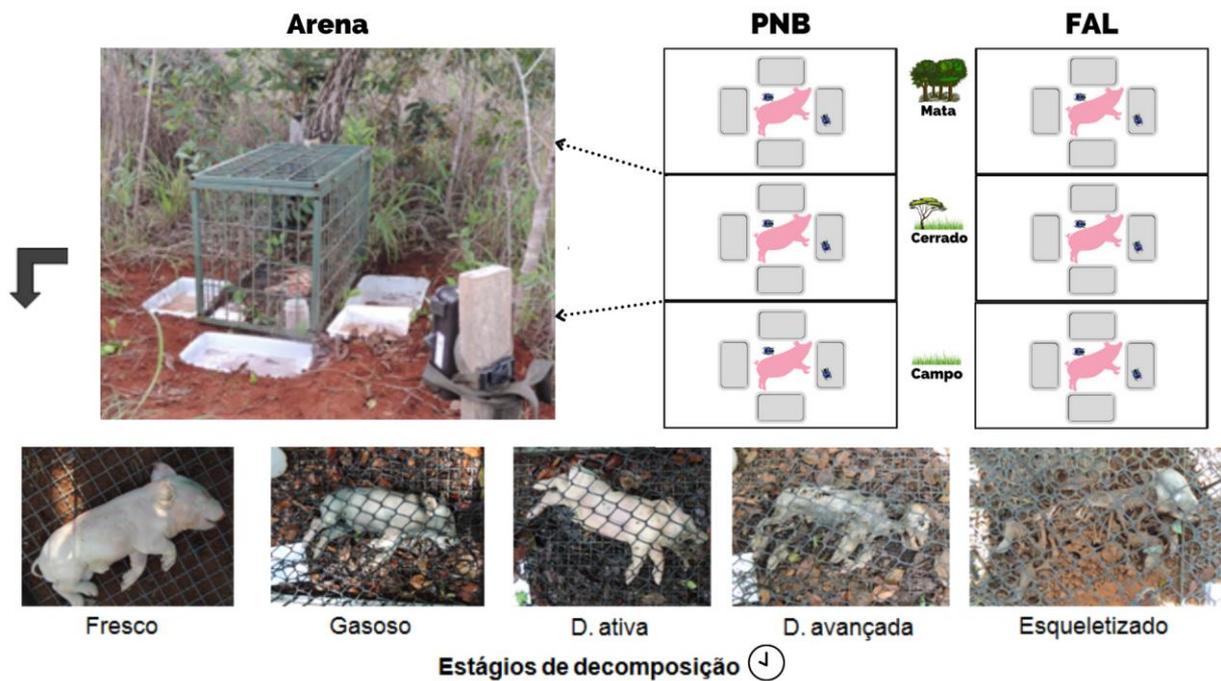


Figura 2. Disposição das carcaças de porcos (*Sus scrofa*) e seus estágios de decomposição dentro das respectivas gaiolas e rodeadas por bandejas tipo *pitfall* distribuídas por fitofisionomias (mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo) nas áreas de coleta Fazenda Água Limpa (FAL) e Parque Nacional de Brasília (PNB) entre os anos de 2017 a 2019.

Identificação

O material das bandejas e o material da coleta ativa foram triados, sendo os besouros adultos contabilizados e identificados com auxílio de chaves dicotômicas de coleópteros de importância forense (Almeida & Mise 2009) e de famílias específicas, por exemplo, de Scarabaeidae proposta por Vaz-de-Mello *et al.* (2011). O hábito alimentar das espécies foi categorizado de acordo com Smith (1986) em necrófagos, onívoros, predadores e acidentais. Posteriormente foram alfinetados e armazenados em caixas entomológicas. A triagem e identificação de ovos e larvas de Coleoptera também foram realizadas a fim de constatar se ocorreu ou não efetiva colonização das carcaças, seguindo chave proposta por Costa *et al.* (2006). Especialistas foram consultados para confirmação da identificação das espécies: Dr. Fernando Zagury Vaz de Mello (UFMT) para Scarabaeidae, Dr. Angélico Fortunato Asenjo Flores (UFMT) para Staphylinidae e Dr. Fernando Willyan Trevisan Leivas (UFPR) para Histeridae. Após confirmação das identificações, vouchers foram depositados na Coleção de Entomologia da UnB (DZUB), e outros espécimes doados para a Coleção Entomológica do setor Palotina da UFPR (CESP) e para Coleção de Zoologia da UFMT (CEMT).

Análise de dados

Para a caracterização da comunidade de besouros de importância forense foram utilizadas a riqueza (R), abundância (A) e os índices de Riqueza de Margalef (D_{mg}), Equitabilidade de Pielou (J), Diversidade de Shannon (H') e Riqueza de Simpson (D'), sendo essas as variáveis dependentes. Além disso, avaliamos a riqueza total, abundância total, abundância por famílias (> 200 indivíduos) e abundância das espécies (> 90 indivíduos), considerando as seguintes variáveis independentes: a) estações climáticas (seca e chuvosa); b) fitofisionomias (mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo; c) estágios de decomposição (fresco, gasoso, decomposição ativa, decomposição avançada e esqueletização).

Todas as famílias coletadas foram utilizadas para as análises. Porém os espécimes coletados nas carcaças durante evento de mumificação, processo de ressecamento no qual há interrupção do processo de decomposição foram consideradas nas análises de estação e fitofisionomia, mas descartadas das análises por estágios de decomposição, por este fenômeno em si, não ser

considerado um estágio. Para considerar que uma espécie colonizou a carcaça foi necessária a observação de seus ovos e/ou larvas desenvolvendo-se no recurso.

Para testar a abundância e a riqueza de besouros pelas “estações climáticas”, foram utilizados o Teste T (T), ou o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (U). Para as variáveis “fitofisionomias” e “estágios de decomposição” foram realizadas análises de variância ANOVA (Tukey) (F), ou a análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis (Student-Newman-Keuls) (H). Antes de executar as análises, as distribuições dos dados foram testadas com o teste de Kolmogorov-Smirnov para confirmar a normalidade, podendo estes ainda serem submetidos a transformações por até Log (x+1). Caso ainda assim as distribuições não atingissem a normalidade, as análises não-paramétricas foram utilizadas com os dados não transformados.

Os dados de riqueza e abundância foram plotados e seu conteúdo submetido à construção de um gráfico de curva de rarefação de espécies, para mostrar a relação entre riqueza e abundância nas amostras coletadas nas três fitofisionomias. Todas as análises e gráficos foram realizados com os softwares BioEstat 5.0, Primer 6, iNEXT.3D (iNterpolation and EXTrapolation in three dimensions) online e o pacote Microsoft Office 2016, considerando o nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

Caracterização climática e processo de decomposição no Cerrado

As temperaturas mínimas e máximas durante a estação seca foram 14,8°C e 32,3°C respectivamente, com temperatura média de 21,8°C. Durante a estação chuvosa as temperaturas mínimas e máximas foram 16,5°C e 36,5°C respectivamente, com temperatura média de 26,2°C. A umidade relativa média no período seco foi de 40,4% e no período chuvoso 66,2%. A precipitação média mensal durante as coletas realizadas durante a estação seca foi de 6,5 mm e durante a estação chuva de 236 mm.

O processo de decomposição das carcaças foi duas vezes mais rápido na estação chuvosa (8 dias de decomposição aproximadamente) do que na estação seca (16 dias de decomposição aproximadamente). Durante os meses chuvosos, os estágios de decomposição duraram em média um dia por estágio, exceto os estágios finais de decomposição ativa e decomposição avançada tiveram aproximadamente dois dias de duração cada, totalizando oito dias. Já para os porcos em decomposição durante os meses secos, os estágios de decomposição duraram em média dois dias cada, sendo os estágios de decomposição ativa e avançada com duração média de 3 dias, totalizando os 16 dias do processo. Das 72 carcaças apenas 4 tiveram seu processo de decomposição interrompido por evento de mumificação, todas durante a estação seca.

Caracterização da comunidade de besouros de importância forense

Foram coletados 3.006 indivíduos de 66 espécies classificados em 12 famílias de Coleoptera durante todo o experimento. Deste total, entre as áreas, a FAL apresentou um total de 1.577 indivíduos (52 espécies) enquanto o PNB um total de 1.429 indivíduos (47 espécies) não diferindo significativamente ($t = 0,33$; $P = 0,75$). As áreas apresentaram resultados semelhantes em todas as variáveis testadas, permitindo assim considerá-las como réplicas e agrupar seus resultados.

As 12 famílias de Coleoptera associadas as carcaças de porcos em decomposição, em ordem decrescente de abundância foram: Scarabaeidae (31%), Staphylinidae (24,3%), Silphidae (13,6%), Dermestidae (12,4%), Histeridae (7,2%) e Carabidae (5,5%), totalizando 94% dos indivíduos coletados. As famílias Trogidae,

Tenebrionidae, Nitidulidae, Cleridae, Geotrupidae e Passalidae corresponderam em conjunto a 6% dos indivíduos amostrados, sendo as duas últimas não consideradas de interesse forense e por isso categorizadas como acidentais.

Para a caracterização ecológica da comunidade de Coleoptera utilizamos as amostras totais coletadas, agrupadas por variáveis (estações, fitofisionomias e estágios de decomposição). A diversidade de Shannon (H') apresentou maior diversidade da coleopterofauna na estação chuvosa (3,05) quando comparada a estação seca (2,05), uma vez que o índice atribui maior peso às espécies raras. A riqueza de Margalef (D_{mg}) próxima a cinco indica em geral que os ambientes avaliados estão conservados, tais como as áreas de campo sujo (5,55), cerrado *sensu stricto* (4,78) e mata de galeria (6,27) do presente estudo. Já a equitabilidade de Pielou (J) nas amostras coletadas ao longo dos diferentes estágios de decomposição foi relativamente alta (acima de 0,75), demonstrando uma uniformidade nas proporções do número de indivíduos/por espécies, especialmente nos estágios iniciais da decomposição (Tabela 1).

Tabela 1. Índices de riqueza (R), abundância (A); riqueza de Margalef (D_{mg}); equitabilidade de Pielou (J); diversidade de Shannon (H'); dominância de Simpson (D') da comunidade de coleópteros coletada nas carcaças de porcos (*Sus scrofa*) durante os estágios de decomposição: fresco (I); gasoso (II); decomposição ativa (III); decomposição avançada (IV) e esqueletização (V) nas três fitofisionomias e em duas estações climáticas do Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019.

Índices	Total	Estações		Fitofisionomias			Estágios de decomposição				
		Chuva	Seca	Campo	Cerrado	Mata	I	II	III	IV	V
R	66	57	28	39	31	47	21	30	40	34	49
A	3006	2243	763	944	533	1529	138	293	649	548	1378
D _{mg}	7,99	7,26	4,07	5,55	4,78	6,27	4,06	5,11	6,02	5,23	6,64
J	0,76	0,75	0,62	0,75	0,76	0,67	0,87	0,86	0,80	0,77	0,75
H'	3,15	3,05	2,05	2,76	2,62	2,57	2,65	2,91	2,94	2,70	2,90
D'	0,93	0,92	0,76	0,89	0,89	0,88	0,92	0,93	0,93	0,90	0,91

a) Quanto às estações climáticas

Coleópteros de importância forense foram mais abundantes e diversos durante a estação chuvosa, com 74% do total de coleópteros coletados e 62 espécies enquanto na seca coletou-se apenas 26% do total e 28 espécies, revelando

diferença significativa para a abundância ($t_{10} = 3,83$; $P < 0,01$) e para a riqueza ($t_{10} = 7,35$; $P < 0,01$) entre as estações climáticas (Fig. 3 e Tabela 2). As famílias Carabidae ($t_{10} = 0,85$; $P = 0,41$) e Histeridae ($t_{10} = -0,41$; $P = 0,68$) não apresentaram diferença significativa quanto ao total coletado entre as estações. Já Silphidae ($t_{10} = 3,18$; $P < 0,01$) e Scarabaeidae ($t_{10} = 10,94$; $P < 0,01$) foram mais abundantes durante a estação chuvosa, sendo 24 espécies da família Scarabaeidae com ocorrência exclusiva durante os períodos chuvosos, enquanto Dermestidae foi mais abundante durante a estação seca ($t_{10} = -6,03$; $P < 0,01$) (Tabela 2). Dentre as espécies mais abundantes, *Oxelytrum discicolle* (Silphidae) ($U = 2,56$; $P < 0,01$), e os escarabeídeos *Coprophanaeus ensifer*, *Dichotomius reichei*, *Dichotomius* aff. *carbonarius* ($U = 2,88$; $P < 0,01$ para todas), foram significativamente mais abundantes durante a estação chuvosa, enquanto *Dermestes maculatus* (Dermestidae) ($U = 2,80$; $P < 0,01$) foi mais abundante durante a estação seca. Já *Euspilotus azureus* (Histeridae) ($t_{10} = -0,93$; $P = 0,37$) e *Eulissus chalybaeus* (Staphylinidae) ($U = 0,08$; $P = 0,94$) não apresentaram preferência por estação climática.

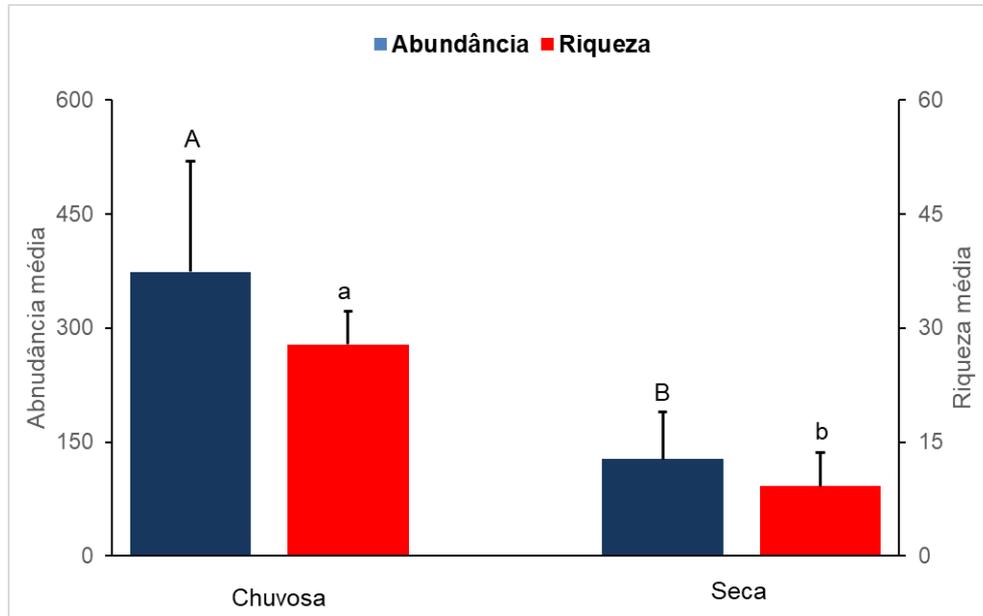


Figura 3. Abundância e riqueza médias e desvio padrão de coleópteros de importância forense coletados por estações climáticas (Chuvosa e Seca) no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019. Letras diferentes significam diferenças significativas entre as variáveis, sendo letras maiúsculas para abundância e minúsculas para riqueza conforme o teste T (T) e significância de 5%.

Tabela 2. Lista de espécies de coleópteros de importância forense distribuídas por estação (chuvosa e seca) no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019.

Família/Espécies	Chuvosa	Seca	Total
Carabidae	102	64	166
<i>Arthrostictus</i> sp.	87	59	146
Carabidae sp.1	1	-	1
Carabidae sp.2	6	-	6
<i>Tichonilla festiva</i> (Tschitscherine, 1898)	8	5	13
Cleridae	4	5	9
<i>Necrobia rufipes</i> (De Geer, 1775)	4	5	9
Dermestidae	29	345	374
<i>Dermestes maculatus</i> (De Geer, 1774)	29	345	374
Geotrupidae	4	-	4
<i>Athyreus brasiliicus</i> Howden & Martínez, 1978	2	-	2
<i>Neoathyreus</i> sp.	2	-	2
Histeridae	98	118	216
<i>Euspilotus azureus</i> (Sahlberg, 1823)	57	90	147
<i>Euspilotus</i> sp.	-	1	1
<i>Hister cavifrons</i> Marseul, 1854	30	3	33
<i>Hister diadema</i> Marseul, 1854	2	-	2
<i>Hister punctifer</i> Paykull, 1811	2	6	8
<i>Hololepta reichii</i> (Marseul, 1853)	2	-	2
<i>Omalodes foveola</i> Erichson, 1834	5	1	6
<i>Xerosaprinus</i> sp.	-	17	17
Nitidulidae	1	38	39
<i>Carpophilus</i> sp.	1	38	39
Passalidae	-	1	1
Passalidae sp.	-	1	1
Scarabaeidae	912	20	932
<i>Canthidium</i> aff. <i>viride</i>	1	-	1
<i>Canthon</i> aff. <i>pilulliforme</i>	96	2	98
<i>Canthon corpulentus</i> Harold, 1868	18	-	18
<i>Canthon curvodilatatus</i> Schmidt, 1920	1	-	1
<i>Canthon histrio</i> Lepeletier de Saint Fargeau & Audinet-Serville, 1828	40	-	40
<i>Canthon unicolor</i> Balthasar, 1939	1	-	1
<i>Coprophanaeus cyanescens</i> (Olsoufieff, 1924)	3	-	3
<i>Coprophanaeus dardanus</i> (MacLeay, 1819)	9	-	9
<i>Coprophanaeus ensifer</i> (Germar, 1821)	119	4	123
<i>Coprophanaeus spitzzi</i> (Pessoa, 1934)	76	-	76
<i>Deltochilum bezdeki</i> González-Alvarado & Vaz-de-Mello, 2014	28	-	28
<i>Deltochilum</i> sp.1	19	-	19
<i>Deltochilum</i> sp.2	7	-	7
<i>Deltochilum</i> sp.3	6	-	6

<i>Dichotomius</i> aff. <i>carbonarius</i>	148	1	149
<i>Dichotomius angeloi</i> Nunes, Carvalho & Vaz-de-Mello, 2016	55	1	56
<i>Dichotomius bicuspis</i> (Germar, 1824)	7	-	7
<i>Dichotomius lycas</i> (Felsche, 1901)	14	-	14
<i>Dichotomius nisus</i> (Olivier, 1789)	4	-	4
<i>Dichotomius reichei</i> (Harold, 1869)	163	1	164
<i>Dichotomius</i> sp.	23	-	23
<i>Eurysternus caribaeus</i> (Herbst, 1789)	22	6	28
<i>Eurysternus nigrovirens</i> Génier, 2009	2	1	3
<i>Ontherus ulcopygus</i> Génier, 1996	1	-	1
<i>Ontherus zikani</i> Luederwaldt, 1930	3	-	3
<i>Onthophagus</i> sp.	-	1	1
<i>Uroxys</i> aff. <i>ditaticollis</i>	1	-	1
<i>Oxysternon palemo</i> Castelnau, 1840	42	-	42
<i>Phanaeus splendidulus</i> (Fabricius, 1781)	2	-	2
Phanaeini sp.	1	-	1
Scarabaeinae sp.	-	3	3
Silphidae	352	57	409
<i>Oxelytrum discicolle</i> (Brullé, 1840)	352	57	409
Staphylinidae	662	70	732
<i>Belonuchus</i> sp.	-	17	17
<i>Eulissus chalybaeus</i> Mannerheim, 1830	71	19	90
<i>Glenus biplagiatus</i> (Perty, 1830)	4	-	4
<i>Philothalpus antennaria</i> (Bernhauer, 1907)	4	-	4
<i>Pinophilus</i> sp.	12	17	29
<i>Platydracus ochropygus</i> (Nordmann, 1837)	94	-	94
<i>Platydracus</i> sp.	42	-	42
<i>Pycnocrypta</i> sp.	3	-	3
Xantholinini sp.1	47	-	47
Xantholinini sp.2	-	17	17
<i>Xenopygus analis</i> (Erichson, 1840)	385	-	385
Tenebrionidae	-	44	44
<i>Tenebrionidis</i> sp.	-	44	44
Trogidae	79	1	80
<i>Omorgus persuberosus</i> (Vaurie, 1962)	35	1	36
<i>Omorgus suberosus</i> (Fabricius, 1775)	17	-	17
<i>Omorgus triestinae</i> Pittino, 1987	8	-	8
<i>Polynoncus parafurcatus</i> Pittino, 1987	19	-	19
Total Geral	2243	763	3006

b) Quanto às fitofisionomias

Os besouros de importância forense foram coletados em todas as fitofisionomias de Cerrado avaliadas. Não houve diferença significativa na abundância ($H_2 = 3,35$; $P = 0,19$) e tão pouco na riqueza das espécies ($F_{2,33} = 1,87$; $P = 0,17$) entre as fitofisionomias (Fig. 4). Em números absolutos, a mata de galeria registrou mais da metade do número de indivíduos (51%) e o maior número de espécies (47), seguida pela fitofisionomia campo sujo com 31% dos indivíduos e 39 espécies e por fim, cerrado *sensu stricto* com 18% dos indivíduos coletados e 31 espécies (Tabela 3), sem diferenças significativas entre os ambientes.

Entre as famílias amostradas, Scarabaeidae não apresentou diferença significativa entre as fitofisionomias ($H_2 = 1,41$; $P = 0,49$). Para as espécies mais abundantes da família Scarabaeidae tais como *C. ensifer*, houve diferença apenas entre mata e cerrado ($H_2 = 6,20$; $P = 0,01$) sendo que para *D. aff. carbonarius* a mata apresentou maior abundância em relação às demais fitofisionomias ($H_2 = 6,42$; $P < 0,05$ para ambas), diferente de *D. reichei* que não apresentou diferença entre as fitofisionomias ($H_2 = 4,80$; $P = 0,09$) com abundância dos indivíduos concentrados em apenas três amostras. A espécie *E. chalybaeus* não foi amostrada em campo e não apresentou preferência entre cerrado e mata ($t = -0,11$; $P = 0,91$), já *E. azureus* foi menos capturado em cerrado quando comparado aos demais ambientes ($H_2 = 11,28$; $P < 0,05$ para ambos). *Dermestes maculatus* apresentou maior abundância em campo apenas quando comparada a mata ($H_2 = 8,37$; $P < 0,01$) e *O. discicolle* foi mais abundante em mata quando comparado às demais fitofisionomias ($H_2 = 7,63$; $P < 0,05$ para ambos). *Arthrostictus* sp. também foi mais abundante em mata quando comparado aos demais ambientes ($H_2 = 16,50$; $P < 0,01$).

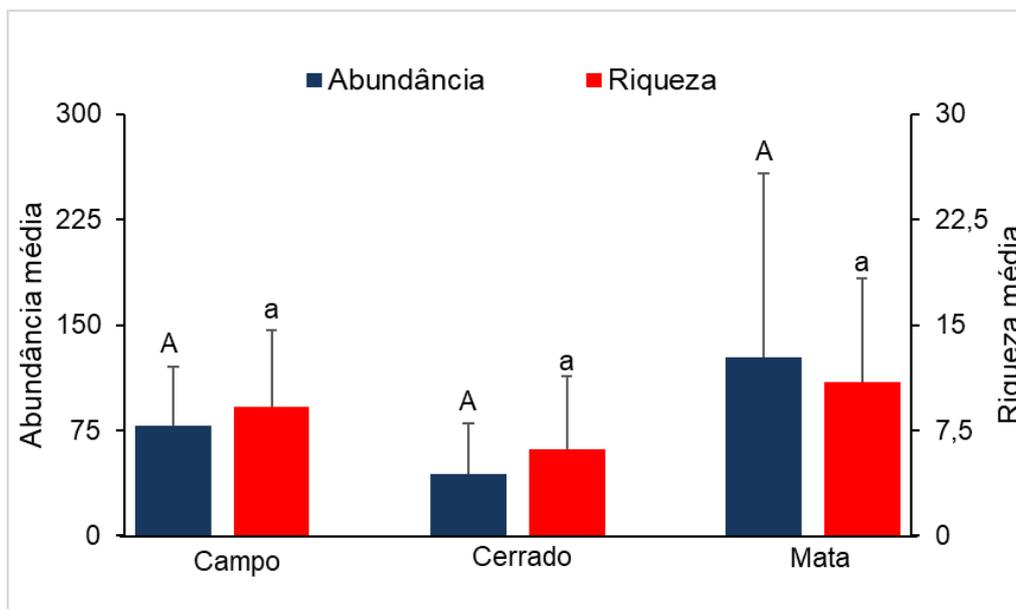


Figura 4. Abundância e riqueza médias e desvio padrão de coleópteros de importância forense coletados em três fitofisionomias (mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo) no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019. Letras iguais significam que não houve diferença significativa entre as variáveis, sendo letras maiúsculas para abundância e minúsculas. Para testar a abundância utilizamos o teste Kruskal-Wallis (Student-Newman-Keuls) (H) e para riqueza ANOVA (Tukey) (F), ambos com significância de 5%.

Tabela 3. Lista de espécies de coleópteros de importância forense distribuídas em três fitofisionomias (mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo) no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019.

Famílias	Fitofisionomias			FR (%)	Total
	Campo	Cerrado	Mata		
Carabidae	3	6	157	5,52	166
<i>Arthroctictus</i> sp.	1	-	145	4,86	146
Carabidae sp.1	-	1	-	0,03	1
Carabidae sp.2	1	2	3	0,20	6
<i>Tichonilla festiva</i>	1	3	9	0,43	13
Cleridae	9	-	-	0,30	9
<i>Necrobia rufipes</i>	9	-	-	0,30	9
Dermestidae	247	123	4	12,44	374
<i>Dermestes maculatus</i>	247	123	4	12,44	374
Geotrupidae	-	-	4	0,13	4
<i>Athyreus brasiliicus</i>	-	-	2	0,07	2
<i>Neoathyreus</i> sp.	-	-	2	0,07	2
Histeridae	118	17	81	7,19	216
<i>Euspilotus azureus</i>	88	11	48	4,89	147

<i>Euspilotus</i> sp.	1	-	-	0,03	1
<i>Hister cavifrons</i>	7	4	22	1,10	33
<i>Hister diadema</i>	-	-	2	0,07	2
<i>Hister punctifer</i>	3	1	4	0,27	8
<i>Hololepta reichii</i>	-	-	2	0,07	2
<i>Omalodes foveola</i>	2	1	3	0,20	6
<i>Xerosaprinus</i> sp.	17	-	-	0,57	17
Nitidulidae	36	1	2	1,30	39
<i>Carpophilus</i> sp.	36	1	2	1,30	39
Passalidae	-	-	1	0,03	1
Passalidae sp.	-	-	1	0,03	1
Scarabaeidae	328	188	416	31,00	932
<i>Canthidium</i> aff. <i>viride</i>	1	-	-	0,03	1
<i>Canthon</i> aff. <i>pilulliforme</i>	98	-	-	3,26	98
<i>Canthon corpulentus</i>	18	-	-	0,60	18
<i>Canthon curvodilatatus</i>	1	-	-	0,03	1
<i>Canthon histrio</i>	40	-	-	1,33	40
<i>Canthon unicolor</i>	1	-	-	0,03	1
<i>Coprophanaeus cyanescens</i>	1	1	1	0,10	3
<i>Coprophanaeus dardanus</i>	-	-	9	0,30	9
<i>Coprophanaeus ensifer</i>	44	78	1	4,09	123
<i>Coprophanaeus spitzii</i>	53	15	8	2,53	76
<i>Deltochilum bezdeki</i>	19	5	4	0,93	28
<i>Deltochilum</i> sp.1	12	4	3	0,63	19
<i>Deltochilum</i> sp.2	1	1	5	0,23	7
<i>Deltochilum</i> sp.3	-	-	6	0,20	6
<i>Dichotomius</i> aff. <i>carbonarius</i>	1	2	146	4,96	149
<i>Dichotomius angeloi</i>	-	-	56	1,86	56
<i>Dichotomius bicuspis</i>	-	1	6	0,23	7
<i>Dichotomius lycas</i>	14	-	-	0,47	14
<i>Dichotomius nisus</i>	2	2	-	0,13	4
<i>Dichotomius reichei</i>	4	49	111	5,46	164
<i>Dichotomius</i> sp.	-	-	23	0,77	23
<i>Eurysternus caribaeus</i>	-	-	28	0,93	28
<i>Eurysternus nigrovirens</i>	3	-	-	0,10	3
<i>Ontherus ulcopygus</i>	-	-	1	0,03	1
<i>Ontherus zikani</i>	-	-	3	0,10	3
<i>Onthophagus</i> sp.	-	-	1	0,03	1
<i>Uroxys</i> aff. <i>ditaticollis</i>	1	-	-	0,03	1
<i>Oxysternon palemo</i>	11	30	1	1,40	42
<i>Phanaeus splendidulus</i>	-	-	2	0,07	2
Phanaeini sp.	-	-	1	0,03	1
Scarabaeinae sp.	3	-	-	0,10	3
Silphidae	64	43	302	13,61	409
<i>Oxelytrum discicolle</i>	64	43	302	13,61	409
Staphylinidae	28	146	558	24,35	732

<i>Belonuchus</i> sp.	-	-	17	0,57	17
<i>Eulissus chalybaeus</i>	-	42	48	2,99	90
<i>Glenus biplagiatus</i>	-	-	4	0,13	4
<i>Philothalpus antennaria</i>	-	-	4	0,13	4
<i>Pinophilus</i> sp.	-	12	17	0,96	29
<i>Platydracus ochropygus</i>	-	20	74	3,13	94
<i>Platydracus</i> sp.	7	13	22	1,40	42
<i>Pycnocypta</i> sp.	-	-	3	0,10	3
Xantholinini sp.1	21	14	12	1,56	47
Xantholinini sp.2	-	17	-	0,57	17
<i>Xenopygus analis</i>	-	28	357	12,81	385
Tenebrionidae	39	5	-	1,46	44
<i>Tenebrionidis</i> sp.	39	5	-	1,46	44
Trogidae	72	4	4	2,66	80
<i>Omorgus persuberosus</i>	33	-	3	1,20	36
<i>Omorgus suberosus</i>	13	3	1	0,57	17
<i>Omorgus triestinae</i>	8	-	-	0,27	8
<i>Polynoncus parafurcatus</i>	18	1	-	0,63	19
Total Geral	944	533	1529	100,00	3006

A abundância obtida durante as coletas nas três fitofisionomias estudadas foi suficiente para estimar a riqueza total destas áreas, não apresentando diferença entre as riquezas estimadas (Fig. 5).

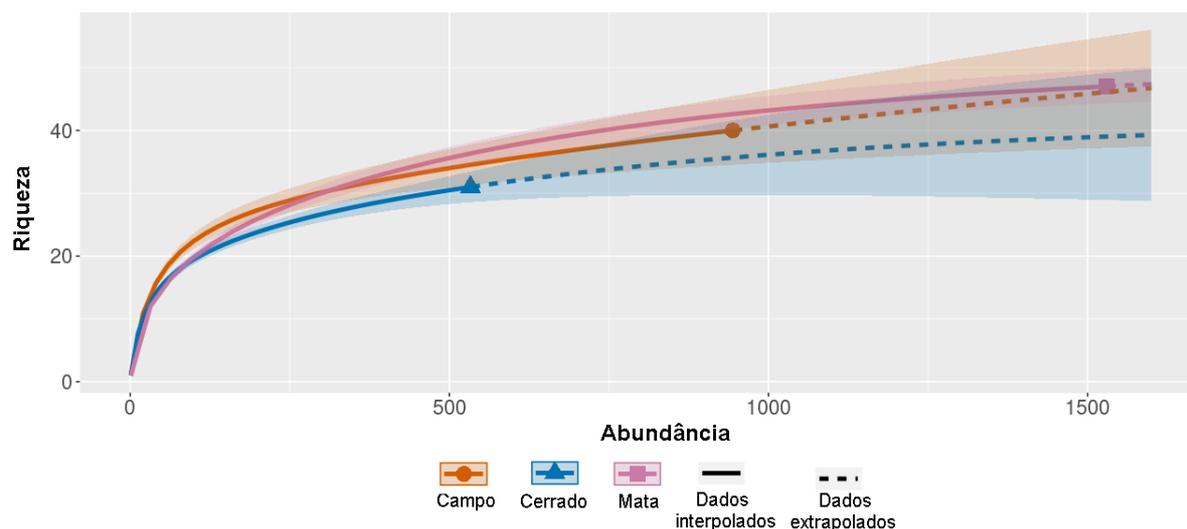


Figura 5. Curva de rarefação com dados interpolados (linhas sólidas) e extrapolação (linhas tracejadas) de coleópteros de importância forense coletados em três fitofisionomias (mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo) no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019.

c) Quanto aos estágios de decomposição das carcaças

Para os besouros de importância forense coletados no bioma Cerrado do DF a abundância ($F_{4,55} = 6,86$; $P < 0,01$) e a riqueza ($F_{4,55} = 3,24$; $P = 0,02$) variaram ao longo dos estágios de decomposição (Fig. 6), sendo que o último estágio (esqueletizado) atraiu 44% do total de indivíduos coletados no experimento, seguido por 22% dos indivíduos na decomposição ativa, 18% na decomposição avançada, 10% e 5% durante os estágios gasoso e fresco, respectivamente (Tabela 4). Este padrão de atratividade foi o mesmo tanto para a estação seca quanto para a estação chuvosa. No estado de interrupção do processo de decomposição (mumificação) foram registrados e identificados 61 coleópteros correspondendo a 1% do total amostrado.

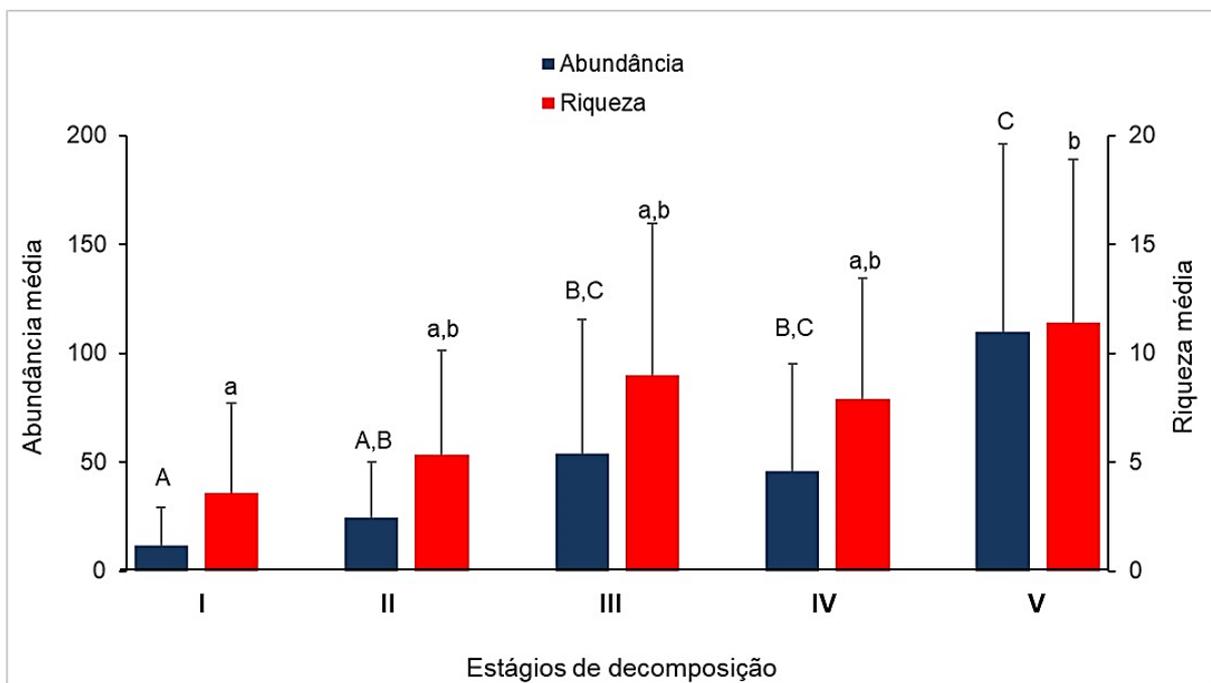


Figura 6. Abundância e riqueza médias e desvio padrão dos coleópteros de importância forense coletados associados às carcaças de porcos (*Sus scrofa*) por estágio de decomposição (I Fresco; II Gasoso; III Decomposição ativa; IV Decomposição avançada e V Esqueletização) no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as variáveis, sendo letras maiúsculas para abundância e minúsculas para riqueza conforme o teste ANOVA (Tukey) (F) e significância de 5%.

As famílias de Coleoptera de importância forense apresentaram diferentes padrões de atratividade ao longo dos estágios de decomposição (Fig. 7A-F). Carabidae (Fig. 7A) e Scarabaeidae (Fig. 7B) não apresentaram diferenças significativas na abundância dos seus indivíduos entre os estágios de decomposição. Já Dermestidae (Fig. 7D) Histeridae (Fig. 7C) e Silphidae (Fig. 7E) apresentaram padrões semelhantes em suas atratividades com número crescente de indivíduos coletados à medida que o processo de decomposição avançou. Por fim, a família Staphylinidae apresentou abundância que oscilou entre os estágios de decomposição com diferença significativa no estágio de esqueletização (Fig. 7F).

As espécies mais abundantes (> 90 indivíduos coletados) foram: *Oxelytrum discicolle* (n = 409), *Xenopygus analis* (n = 385), *Dermestes maculatus* (n = 374), *Dichotomius reichei* (n = 164), *Dichotomius* aff. *carbonarius* (n = 149), *Euspilotus azureus* (n = 147), *Arthrostictus* sp.1 (n = 146), *Coprophanæus ensifer* (n = 123), *Canthon* aff. *pilulliforme* (n = 98), *Platydracus ochropygus* (n = 94) e *Eulissus chalybaeus* (n = 90) que corresponderam a 75% da abundância total dos coleópteros e apresentaram padrões de atratividade distintos entre os estágios de decomposição (Tabela 4).

As espécies de Scarabaeidae *C. ensifer* ($F_{3,44} = 0,41$; $P = 0,75$), *D. aff carbonarius* ($H_4 = 3,67$; $P = 0,45$) e *D. reichei* ($H_4 = 0,50$; $P = 0,97$) não apresentaram diferença significativa entre os estágios de decomposição. Já *E. azureus* apresentou preferência pelos estágios de decomposição avançada e esqueletização ($H_3 = 11,74$; $P < 0,01$ para ambos). Para *D. maculatus*, os indivíduos foram menos capturados durante o estágio gasoso, quando comparado aos demais estágios em que esteve presente ($H_3 = 11,43$; $P < 0,05$ para todos). Para *O. discicolle*, houve preferência pelos estágios finais da decomposição, com maior abundância nos estágios avançado e esqueletizado ($H = 8,70$; $P < 0,05$ para ambos).

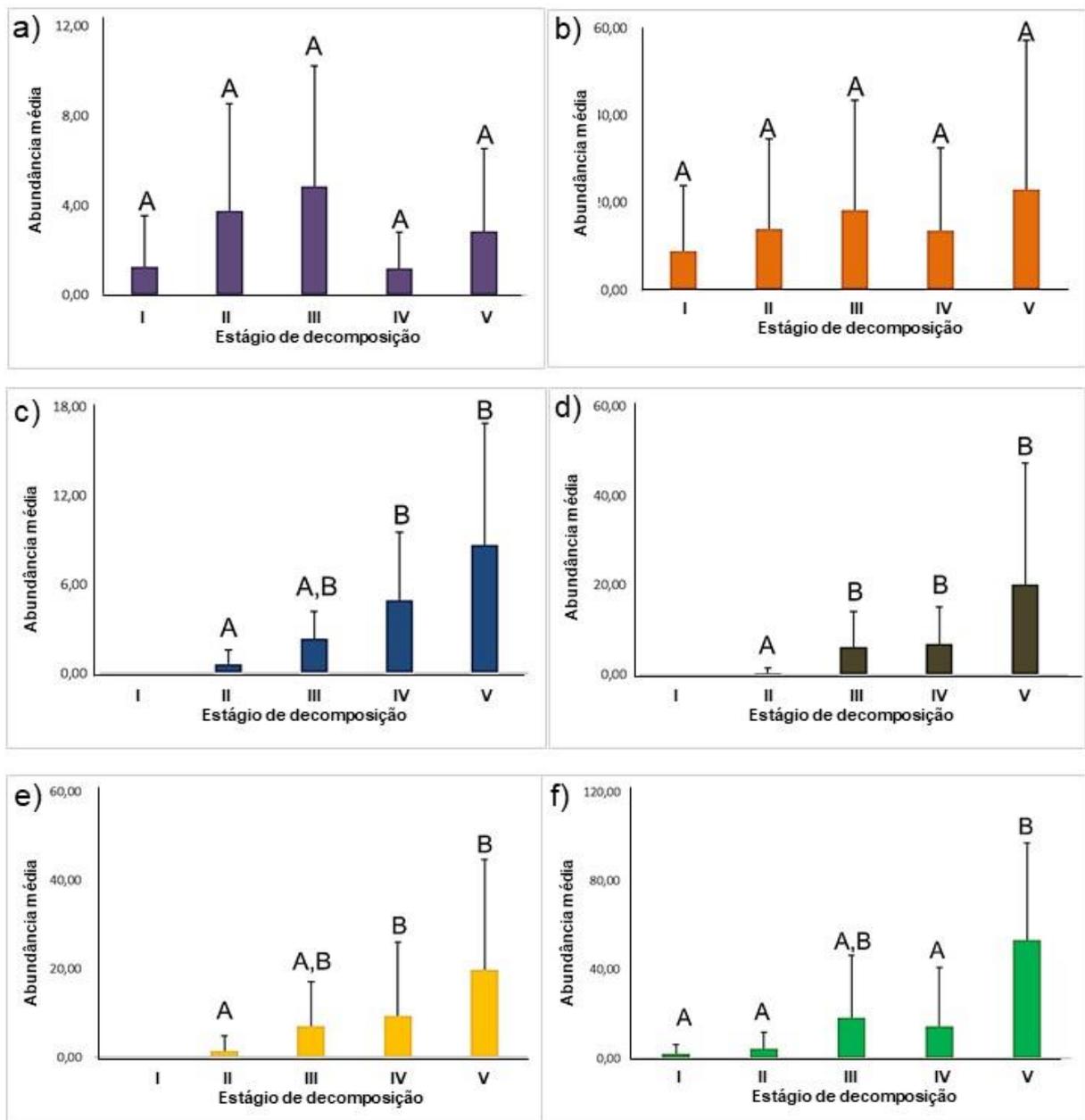


Figura 7. Abundância média e desvio padrão de indivíduos coletados por família de coleópteros de importância forense associados as carcaças de porcos (*Sus scrofa*) por estágio de decomposição (I Fresco; II Gasoso; III Decomposição ativa; IV Decomposição avançada e V Esqueletização) no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as variáveis. A) Carabidae; B) Scarabaeidae; C) Histeridae; D) Dermestidae; E) Silphidae; F) Staphylinidae.

Tabela 4. Lista de espécies de coleópteros coletados em carcaças de porcos (*Sus scrofa*) por estágio de decomposição e seus respectivos hábitos alimentares no Cerrado do Distrito Federal entre 2017 a 2019. I) Fresco; II) Gasoso; III) Decomposição ativa; IV) Decomposição avançada; V) Esqueletização e M) mumificado.

Famílias Espécies	Hábito alimentar	Estágios de decomposição						Total
		I	II	III	IV	V	M	
Carabidae		15	45	58	14	34	-	166
<i>Arthrostictus</i> sp.	Predador	11	42	53	13	27	-	146
Carabidae sp.1	Predador	-	-	-	-	1	-	1
Carabidae sp.2	Predador	1	-	2	-	3	-	6
<i>Tichonilla festiva</i>	Predador	3	3	3	1	3	-	13
Cleridae		-	-	-	-	9	-	9
<i>Necrobia rufipes</i>	Necrófago	-	-	-	-	9	-	9
Dermeestidae		-	4	67	75	221	7	374
<i>Dermestes maculatus</i>	Necrófago	-	4	67	75	221	7	374
Geotrupidae		2	-	-	2	-	-	4
<i>Athyreus brasiliicus</i>	Micetófago	-	-	-	2	-	-	2
<i>Neoathyreus</i> sp.	Micetófago	2	-	-	-	-	-	2
Histeridae		-	7	28	59	104	18	216
<i>Euspilotus azureus</i>	Predador	-	5	20	48	72	2	147
<i>Euspilotus</i> sp.	Predador	-	-	-	-	-	1	1
<i>Hister cavifrons</i>	Predador	-	1	1	11	20	-	33
<i>Hister diadema</i>	Predador	-	-	2	-	-	-	2
<i>Hister punctifer</i>	Predador	-	-	-	-	7	1	8
<i>Hololepta reichii</i>	Predador	-	-	-	-	2	-	2
<i>Omalodes foveola</i>	Predador	-	-	3	-	3	-	6
<i>Xerosaprinus</i> sp.	Predador	-	1	2	-	-	14	17
Nitidulidae		-	20	15	1	2	1	39
<i>Carpophilus</i> sp.	Necrófago	-	20	15	1	2	1	39
Passalidae		-	-	-	1	-	-	1
Passalidae sp.	Xilófago	-	-	-	1	-	-	1
Scarabaeidae		106	168	219	164	275	-	932
<i>Canthidium</i> aff. <i>viride</i>	Copronecrófago	-	-	1	-	-	-	1
<i>Canthon</i> aff. <i>pilulliforme</i>	Copronecrófago	11	42	10	21	14	-	98
<i>Canthon corpulentus</i>	Copronecrófago	2	8	5	3	-	-	18
<i>Canthon curvodilatatus</i>	Copronecrófago	-	1	-	-	-	-	1

<i>Canthon histrio</i>	Copronecrófago	7	8	3	19	3	-	40
<i>Canthon unicolor</i>	Copronecrófago	-	-	-	-	1	-	1
<i>Coprophanaeus cyanescens</i>	Necrófago	-	-	2	-	1	-	3
<i>Coprophanaeus dardanus</i>	Necrófago	-	3	4	1	1	-	9
<i>Coprophanaeus ensifer</i>	Necrófago	-	21	28	34	40	-	123
<i>Coprophanaeus spitzzi</i>	Necrófago	9	15	24	15	13	-	76
<i>Deltochilum bezdeki</i>	Copronecrófago	-	2	6	4	16	-	28
<i>Deltochilum sp1</i>	Copronecrófago	2	8	3	3	3	-	19
<i>Deltochilum sp2</i>	Copronecrófago	-	-	2	-	5	-	7
<i>Deltochilum sp3</i>	Copronecrófago	1	-	-	2	3	-	6
<i>Dichotomius aff. carbonarius</i>	Copronecrófago	24	9	53	7	56	-	149
<i>Dichotomius angeloi</i>	Copronecrófago	13	15	5	8	15	-	56
<i>Dichotomius bicuspis</i>	Copronecrófago	-	1	6	-	-	-	7
<i>Dichotomius lycas</i>	Copronecrófago	1	-	-	3	2	-	14
<i>Dichotomius nisus</i>	Copronecrófago	-	-	-	-	4	-	4
<i>Dichotomius reichei</i>	Copronecrófago	11	19	42	21	71	-	164
<i>Dichotomius sp.</i>	Copronecrófago	6	1	4	3	9	-	23
<i>Eurysternus caribaeus</i>	Copronecrófago	3	5	6	8	6	-	28
<i>Eurysternus nigrovirens</i>	Copronecrófago	-	-	1	2	-	-	3
<i>Ontherus ulcopygus</i>	Copronecrófago	-	-	1	-	-	-	1
<i>Ontherus zikani</i>	Copronecrófago	-	-	-	-	3	-	3
<i>Onthophagus sp.</i>	Copronecrófago	-	-	-	-	1	-	1
<i>Uroxys aff. ditaticollis</i>	Copronecrófago	-	-	1	-	-	-	1
<i>Oxysternon palemo</i>	Copronecrófago	14	2	9	9	8	-	42
<i>Phanaeus splendidulus</i>	Copronecrófago	1	-	-	1	-	-	2
Phaneini sp.	Copronecrófago	1	-	-	-	-	-	1
Scarabaeinae sp.	Copronecrófago	-	-	3	-	-	-	3
Silphidae		-	14	77	102	216	-	409
<i>Oxelytrum discicolle</i>	Necrófago	-	14	77	102	216	-	409
Staphylinidae		15	33	145	114	425	-	732
<i>Belonuchus sp.</i>	Predador	-	-	-	-	17	-	17
<i>Eulissus chalybaeus</i>	Predador	-	-	-	-	90	-	90
<i>Glenus biplagiatus</i>	Predador	-	-	4	-	-	-	4
<i>Philothalpus antennaria</i>	Predador	-	-	-	-	4	-	4

<i>Pinophilus</i> sp.	Predador	12	-	-	-	17	-	29
<i>Platydracus ochropygus</i>	Predador	-	9	18	-	67	-	94
<i>Platydracus</i> sp.	Predador	-	7	-	7	28	-	42
<i>Pycnocypta</i> sp.	Predador	3	-	-	-	-	-	3
Xantholinini sp1	Predador	-	-	21	14	12	-	47
Xantholinini sp2	Predador	-	17	-	-	-	-	17
<i>Xenopygus analis</i>	Predador	-	-	102	93	190	-	385
Tenebrionidae		-	-	-	9	-	35	44
<i>Tenebrionidis</i> sp.	Necrófago	-	-	-	9	-	35	44
Trogidae		-	2	40	7	31	-	80
<i>Omorgus persuberosus</i>	Necrófago	-	-	23	4	9	-	36
<i>Omorgus suberosus</i>	Necrófago	-	1	9	2	5	-	17
<i>Omorgus triestinae</i>	Necrófago	-	-	-	-	8	-	8
<i>Polynoncus parafurcatus</i>	Necrófago	-	1	8	1	9	-	19
Total Geral		138	293	649	548	1317	61	3006

d) Colonização das carcaças pelos besouros necrófagos

Apenas as espécies *D. maculatus* e *O. discicolle*, foram observadas em fases larvais nas carcaças em decomposição, com presença de larvas de primeiro e segundo instares dentro e ao redor das carcaças. Larvas de *D. maculatus* foram registradas nas fases de decomposição avançada e de esqueletização das carcaças na estação seca (julho e agosto de 2017), em ambas as áreas e nas fitofisionomias de campo sujo e cerrado *sensu stricto*. Já as larvas de *O. discicolle* foram observadas dentro das carcaças também nos estágios de decomposição avançada e esqueletização, porém apenas durante a estação chuvosa (novembro e dezembro de 2018) especificamente nas áreas de mata de galeria e de cerrado *sensu stricto*. A presença de larvas nas carcaças indica que fêmeas de ambas as espécies são colonizadoras iniciais do processo de decomposição.

4. DISCUSSÃO

Tempo de decomposição e efeito das características climáticas do Cerrado

Este estudo representa o primeiro conjunto de dados focado na coleopterofauna de importância forense associada ao processo de decomposição de carcaças no Cerrado. Nossos resultados mostram que o processo de decomposição segue o mesmo padrão temporal observado anteriormente para o bioma, onde as carcaças expostas durante a estação chuvosa se decompueram mais rapidamente quando comparadas às expostas na estação seca (Rosa *et al.* 2011; Faria *et al.* 2013; Faria *et al.* 2018). Carcaças de aproximadamente 10 kg em decomposição no Cerrado, em áreas de pastagem e área de cerrado *sensu stricto*, se decompueram durante a estação chuvosa em um período de 33 dias, enquanto durante a estação seca em 65 dias (Faria *et al.* 2013), padrão de decomposição duas vezes mais rápido na estação chuvosa, semelhante aos resultados encontrados no nosso trabalho com carcaças de pequeno porte. Uma possível explicação para este processo mais lento durante a estação seca, é que a baixa umidade prevalente nessa estação acelera a desidratação das carcaças e restringe sua colonização pela fauna necrófaga, retardando o processo de decomposição (Faria *et al.* 2013), contrastando com umidades elevadas encontradas em meses tipicamente chuvosos, onde a decomposição é acelerada devido a maior abundância da fauna cadavérica (Marchiori *et al.* 2000).

Todos os cinco estágios de decomposição postulados por Payne (1965) foram observados em nossos experimentos. O processo foi aparentemente afetado principalmente pela temperatura e umidade do ambiente e a presença ou ausência de insetos necrófagos (Payne 1965; Matuszewski *et al.* 2010; Anton *et al.* 2011). Faria e colaboradores (2013) ressaltaram que a coleta diária e as bandejas dispostas embaixo das carcaças podem interferir no processo natural de decomposição, quando comparado com situações em que as carcaças ficam em contato direto com o solo, com os próprios fluidos oriundos do processo de decomposição. Em nosso experimento posicionamos as bandejas de coleta (*pitfalls* modificados) ao redor das carcaças para garantir que esta ficasse em contato com o solo e com a vegetação e assim mitigar essa possível interferência no processo de decomposição.

Diversidade da coleopterofauna cadavérica no Cerrado do Distrito Federal

As áreas de coleta apresentaram uma grande diversidade de Coleoptera, abundância semelhante ao de outros trabalhos realizados no bioma, porém com uma riqueza muito maior (Marchiori *et al.* 2000; Faria *et al.* 2018). O maior número de espécies encontrado neste estudo pode ser explicado pela metodologia de exposição de grande número de carcaças durante o experimento, que por consequência, aumentou em riqueza e abundância.

Scarabaeinae: Scarabaeidae foi o grupo com maior número de indivíduos coletados em todo o experimento, incluindo espécies de hábito alimentar copronecrófagos (generalistas) e necrófago (Halffter & Matthews 1966). O grupo não apresentou diferença entre as fitofisionomias e sem padrão definido de atratividade por estágio de decomposição, ocorrendo desde o estágio fresco até o estágio esqueletizado, em maior abundância durante a estação chuvosa. Os escarabeídeos vêm sendo associados a carcaças em decomposição desde os primeiros trabalhos clássicos da entomologia forense no Brasil (Luederwaldt 1911; Pessôa & Lane 1941). Indivíduos ocorrem majoritariamente em meses tipicamente chuvosos no Cerrado (Rosa *et al.* 2011; Faria *et al.* 2018), na Amazônia (Mise *et al.* 2010) e em remanescente de Mata Atlântica (Carvalho *et al.* 2000). A maior atividade de escarabeídeos necrófagos na estação chuvosa (Rosa *et al.* 2011; Faria *et al.* 2018), coincide com o período reprodutivo destas espécies (Halffter & Matthews 1966). Em países de clima temperado, nenhuma das espécies de escarabeídeos amostrada foi encontrada na carcaça no estágio fresco, sendo registradas no início do estágio gasoso e estiveram presentes durante os processos seguintes da decomposição (Anton *et al.* 2011). Este padrão parece não se repetir em países neotropicais, onde devido às condições intrínsecas de clima e competição interespecífica, é provável que as espécies tenham se adaptado para um substrato mais efêmero (Halffter & Matthews 1966; Gill 1991), sendo capazes de se alimentar desde as primeiras horas até próximo a esqueletização, como observado neste trabalho, em que diversas espécies da subfamília Scarabaeinae foram registradas logo no início do estágio fresco, durante as primeiras horas de exposição da carcaça.

As espécies mais abundantes foram: *C. ensifer*, *Canthon aff pilulliforme*, *D. reichei*, *D. aff carbonarius*. As duas últimas ocorreram no período chuvoso, não apresentaram nenhuma diferença na atratividade entre os estágios de

decomposição das carcaças e com maior abundância em mata de galeria, sugerindo uma preferência por ambientes florestais. A mata de galeria é o ambiente mais fechado das três fitofisionomias analisadas, já que o cerrado *sensu stricto* e o campo sujo possuem menor cobertura vegetal e grande incidência solar (Eiten 1972). Tal característica permite que o ambiente e os recursos sejam mantidos por mais tempo úmidos e disponíveis para a alimentação e nidificação destes besouros (Gill 1991). Tais espécies podem ser consideradas úteis para casos criminais no Cerrado durante a estação chuvosa em cadáveres encontrados em ambientes florestais, com presença de indivíduos logo nas primeiras horas de exposição no ambiente.

Coproghanaeus ensifer também ocorre em meses tipicamente chuvosos, porém em alta abundância no campo e no cerrado *sensu stricto*, ou seja, em áreas campestres e savânicas do Cerrado, ao longo de todos os estágios de decomposição, exceto no estágio fresco. A espécie tem hábito alimentar tipicamente necrófago, no qual machos e fêmeas têm comportamentos semelhantes, incluindo a remoção de partes da carcaça para construir seu ninho e alimentar suas larvas (Otronen 1988; Endres *et al.* 2005). No Cerrado, a espécie já foi registrada, porém em baixa abundância e suas aberturas de túneis no solo foram observadas ao redor de algumas carcaças (Rosa *et al.* 2011). *Canthon aff pilulliforme* foi coletada apenas em áreas de campo sujo, durante o período chuvoso e ao longo de todo o processo de decomposição. Espécies desse gênero foram registradas relacionadas às carcaças de porcos e ratos em decomposição (Luederwaldt, 1911; Pessoa & Lane 1941) também durante todo o processo de decomposição.

Staphylinidae foi a segunda família em abundância e riqueza, sendo amostrada nos meses chuvosos e secos, em todas as fitofisionomias e com padrão de atratividade marcado nos estágios finais da decomposição (esqueletização, decomposição avançada e decomposição ativa). A família possui diversos representantes de hábito predador comumente encontrados em carcaças em decomposição no Brasil (Almeida *et al.* 2015). Na Europa, avaliou-se a utilidade da família como indicadora da estação/temporada da morte (óbito ocorrido na primavera ou verão) e possível realocação de cadáver, em que 25% das espécies testadas (inclusive as mais abundantes) apresentaram exclusivismo ou preferência por hábitat, bem como uma clara resposta à sazonalidade (Madra *et al.* 2014). Isso sugere que, mesmo que as espécies predadoras não possam ser utilizadas para

estimativa de IPM, elas podem fornecer informações relevantes da dinâmica do evento criminoso, tais como estação/época em que a vítima morreu.

Dentre as espécies de estafilínídeos registradas no Cerrado do DF, *X. analis* foi coletada apenas no período chuvoso em mata de galeria e cerrado. Esta espécie não foi registrada nos estágios fresco e gasoso e com uma abundância equivalente entre os demais estágios. Resultados semelhantes foram registrados para *P. ochropygus*, espécie que já foi associada à carcaça em decomposição em reserva florestal no Amazonas, durante o estágio mais avançado da decomposição (Mise *et al.* 2010). Por fim, a espécie *E. chalybaeus* não apresentou diferença de abundância entre as estações seca e a chuva, não sendo amostrada em campo e com abundância similar entre as demais fitofisionomias. A espécie só foi coletada durante o estágio esqueletizado e geralmente predando larvas de Diptera que estavam sobre a carcaça. Esta espécie já foi registrada em floresta secundária na Mata Atlântica em carcaças expostas ao sol (Moretti *et al.* 2008) bem como no bioma Cerrado nas fitofisionomias de campo sujo e cerrado *sensu stricto* durante meses chuvosos e secos (Rosa *et al.* 2011).

Silphidae, terceira família mais abundante, foi representada apenas por uma espécie, *O. discicolle*, que possui hábito alimentar tipicamente onívoro durante a fase adulta e necrófago durante a fase larval (Oliva & Di-lorio 2008), com indivíduos coletados principalmente no estágio de esqueletização, em mata de galeria e durante a chuva. *Oxelytrum discicolle* teve distribuição geográfica ampliada na América do Sul com a maioria dos registros no Brasil, com novo registro de mais de mil indivíduos coletados em Brasília (Lira & Vasconcelos 2016), teve seu padrão de atratividade testado por carcaças em diferentes estágios de decomposição oferecidos simultaneamente demonstrando preferência por estágios mais avançados (esqueletizado e decomposição avançada) (Lira *et al.* 2019), corroborando com os resultados observados neste trabalho que avaliou as carcaças ao longo de todo o processo de decomposição. Larvas de *O. discicolle* foram coletadas em carcaças expostas em meses chuvosos, comprovando que, mesmo que os adultos tenham marcada preferência por estágios finais da decomposição, algumas fêmeas chegam logo nos primeiros momentos do processo.

Dermestidae, a quarta família mais abundante, é especializada em alimentar-se de material orgânico seco (Schroeder *et al.* 2002) e, em revisão de casos criminais

com registro em cadáveres humanos na Europa, os dermestídeos foram coletados principalmente em cadáveres humanos encontrados em locais ao ar livre e em áreas com um clima seco, nunca sendo coletados em ambientes com chuvas frequentes e alta umidade (Charabidze *et al.* 2013). Em nosso trabalho a família é representada apenas pela espécie *D. maculatus* que é considerada uma significativa espécie da fauna de insetos necrófagos para a entomologia forense, intimamente associada a esqueletos e restos da decomposição, tanto humanos como animais, sendo útil para estimativa de IPM em casos de homicídio, suicídio ou morte natural (Catts & Goff 1992). A espécie apresenta ampla distribuição no território brasileiro associada a carcaças e cadáveres humanos (Carvalho *et al.* 2000; Mise *et al.* 2007; Rosa *et al.* 2011; Mayer & Vasconcelos 2013), e no DF apresentou maior abundância em campo sujo e cerrado *sensu stricto*, principalmente em meses tipicamente secos do Cerrado. Indivíduos de *D. maculatus* foram menos capturados durante os estágios iniciais, quando comparado aos demais estágios. Este padrão de atratividade por estágios mais tardios e secos é corroborado por outros estudos nacionais (Carvalho & Linhares 2001; Mayer & Vasconcelos 2013; Rosa *et al.* 2011) e em países temperados (Charabidze *et al.* 2013), o que não significa que essa espécie não possa colonizar o recurso logo no início da decomposição pois, em nossos experimento, larvas de diferentes instares foram observadas ao longo de todo o processo de decomposição em meses tipicamente secos.

Histeridae, a quinta família em abundância, possui hábito alimentar predador, apresentou oito espécies coletadas ao longo das duas estações, com maior abundância em campo, seguida por mata e cerrado. Os espécimes foram coletados ao longo de todo processo de decomposição exceto no estágio fresco, com abundância marcada nos estágios finais. Histerídeos são besouros predadores que podem ser encontrados em quase todos os ambientes potenciais para entomologia forense especialmente nos continentes europeu e americano, com revisão atualizada sobre sua importância e potencialidades na área detalhada por Correa *et al.* (2020). Estudos com carcaças de porcos domésticos expostas em todas as estações do ano demonstraram que diversas espécies de histerídeos apresentam abundância marcada no verão e primavera e uma preferência por tipo de hábitat (mais abundante em ambientes florestais) (Bajerlein *et al.* 2011).

O histerídeo mais abundante foi a espécie *E. azureus* que correspondeu a mais

da metade dos indivíduos da família e é considerada a espécie mais frequentemente associada a carcaças na América do Sul (Caneparo *et al.* 2017). A espécie não apresentou preferência por estação, sendo menos coletada no cerrado *sensu stricto* e foi mais atraída pelos estágios esqueletizado e de decomposição avançada. Esta espécie também com ampla distribuição no Brasil, já foi registrada associada a carcaças em São Paulo (Souza & Linhares 1997), Paraná (Mise *et al.* 2007), Amazonas (Mise *et al.* 2010) e em Minas Gerais (Rosa *et al.* 2011; Faria *et al.* 2018). No bioma Amazônia a espécie foi registrada em todos os estágios de decomposição do substrato, inclusive no estágio fresco durante coleta diurna com *pitfall* e coleta ativa (Mise *et al.* 2010), no bioma Mata Atlântica a espécie também foi coletada em grande número (Mise *et al.* 2007), em ambos os trabalhos, a espécie foi registrada predando larvas de dípteros, o que também foi observado aqui no Cerrado. O ciclo de vida desta espécie generalista foi descrito em diferentes temperaturas com os resultados sugerindo que *E. azureus* apresenta tolerância e adaptabilidade em uma faixa significativa de variação de temperatura (Caneparo *et al.* 2017), com possível utilização em investigações criminais.

Dentre as famílias consideradas menos abundantes, Carabidae, de hábito predador foi representada por quatro espécies coletadas em ambas as estações, mais abundante em mata e atraídas por todos os estágios de decomposição. Estudos anteriores desenvolvidos no Cerrado não coletaram carabídeos, talvez por não terem sido desenvolvidos em áreas florestais (Rosa *et al.* 2011; Faria *et al.* 2018), e apenas em um estudo que amostrou uma área de mata de galeria registrou-se cinco indivíduos da família. A morfoespécie mais abundante foi *Arthrostictus* sp. correspondendo a 88% da abundância da família, com ocorrência somente em mata de galeria durante todos os estágios de decomposição.

A família Trogidae, teve 99% dos indivíduos coletados na estação chuvosa, mais abundantes em campo sujo e não apresentaram preferência por estágio de decomposição, sem registro no estágio fresco. Os trogídeos habitam principalmente ambientes de clima temperado, árido e/ou em regiões savânicas (como o Cerrado) e sua importância forense já vem sendo discutida associada à carcaça/cadáver encontrado em locais com essas condições (Strümpher *et al.* 2014). Para o Cerrado, ampliamos o conhecimento desta família registrando quatro espécies, onde, além de *O. suberosus*, também registramos *O. persuberosus*, *O. triestinae* e *P. parafurcatus*

com preferência marcada por ambientes de campo sujo. Acreditamos que estas espécies podem ser utilizadas como potenciais indicadoras de local por estarem intrinsecamente ligadas a áreas campestres do Cerrado.

Tenebrionidae foi registrada apenas durante a estação seca e somente em áreas de campo e cerrado *sensu stricto*, com a maioria dos seus indivíduos registrados durante o estágio de esqueletização. A família já foi registrada no Sul (Mise *et al.* 2007), no Sudeste (Faria *et al.* 2018) e no Nordeste do país (Cruz & Vasconcelos 2006). Nitidulidae seguiu o mesmo padrão observado para Tenebrionidae com a amostra praticamente toda coletada durante os meses secos e somente em áreas de campo e cerrado *sensu stricto* e a maioria dos indivíduos nos estágios gasoso e decomposição ativa. Ambas as famílias são consideradas de hábito alimentar predominante necrófago, porém carecem de mais estudos e de aprofundamento de identificação taxonômica, especialmente pela marcada preferência pela estação seca do Cerrado, onde a riqueza de espécies diminui consideravelmente.

Cleridae foi a família de importância forense com o menor número de indivíduos coletados e apenas em área de campo sujo, em ambas as estações e com padrão de atratividade marcado no estágio esqueletizado. *Necrobia rufipes* já é amplamente discutida em estudos de entomologia forense em vários trabalhos com carcaças em decomposição (Mise *et al.* 2007; Rosa *et al.* 2011; Mayer & Vasconcelos 2013) inclusive criando-se em carcaças no Cerrado preferencialmente em ambiente de pasto e durante a estação seca (Faria *et al.* 2013). Mesmo em baixa abundância é importante mencionar a relevância desta família para entomologia forense, pois esta mesma espécie já foi registrada associada a cadáveres humanos no Brasil (Carvalho *et al.* 2000) e na Itália (Turchetto *et al.* 2001).

Neste cenário, é importante salientar que algumas espécies discutidas anteriormente foram observadas logo no início da decomposição comprovando a presença da ordem Coleoptera já desde as primeiras horas do processo, sugerindo a necessidade de avaliação também da coleopterofauna independente do estágio de decomposição em que o cadáver se encontra em uma cena de crime. Este trabalho reforça a importância da ordem Coleoptera e seu potencial uso no cotidiano pericial pois pode ser utilizada para estimar IPM, bem como para indicar local e/ou época da morte.

Espécies colonizadoras

As espécies *D. maculatus* e *O. discicolle* foram observadas criando-se nas carcaças em decomposição, com presença de larvas de diferentes instares dentro e ao redor das carcaças. Esses dados comprovam que fêmeas de espécies de importância forense chegam logo nos primeiros momentos da decomposição não só para alimentação, mas também postura de seus ovos. Tais espécies merecem destaque nos estudos em entomologia forense por serem espécies-chave no processo de colonização cadavérica, conseqüentemente na avaliação de casos em que o IPM seja necessário (Byrd & Castner 2000; Kulshrestha & Satpathy 2001; Oliveira-Costa 2011).

Larvas de *D. maculatus* também foi registrada criando-se e apresentou maior número de larvas durante os estágios finais da decomposição e no período seco (Faria *et al.* 2018) semelhante ao observado no presente estudo em que as larvas de *D. maculatus* também foram registradas nas fases de decomposição avançada e de esqueletização em meses tipicamente secos (julho e agosto) e nas fitofisionomias de campo e cerrado *sensu stricto*. Já larvas de *O. discicolle* foram observadas dentro das carcaças, próximas a tecidos musculares, também nos estágios de decomposição avançada e esqueletização, porém apenas em meses tipicamente chuvosos (novembro e dezembro) especificamente nas áreas de mata e de cerrado, corroborando o trabalho que testou a preferência por períodos chuvosos e estágios avançados da decomposição (Lira *et al.* 2019), onde verificou-se a presença de larvas em diferentes instares em mata de galeria no Distrito Federal. Espécies colonizadoras merecem destaque em estudos de ecologia da decomposição pois além de serem participantes fundamentais do processo de ciclagem de nutrientes também são as principais espécies a serem utilizadas para futuras estimativas de IPM.

Lacunas e considerações finais

Nossas principais conclusões são: (a) no Cerrado a diversidade de besouros de importância forense é significativamente maior na estação chuvosa comparada a estação seca; (b) não existe diferença na riqueza e abundância de besouros de importância forense entre as fitofisionomias mata de galeria, cerrado *sensu stricto* e campo sujo; (c) famílias de Coleoptera apresentam diferentes padrões de

atratividade, porém de modo geral, foram mais atraídas por carcaças durante os estágios finais da decomposição; e por fim registramos (d) duas espécies de importância forense como colonizadoras de carcaças, utilizando-as como sítio de cópula bem como para postura de seus ovos e larvas durante a decomposição. Portanto nossos resultados confirmam que existe uma variação temporal e um padrão de atratividade diferenciado da comunidade de coleópteros de importância forense associada a carcaças em decomposição no Cerrado e que aspectos ecológicos como estação climática, fitofisionomias e estágios de decomposição influenciam essa comunidade.

Este trabalho é pioneiro e avançou no conhecimento do estado da arte dos besouros de importância forense do Cerrado do DF, produzindo uma lista com potenciais espécies para uso na entomologia forense, relacionando-as com estação climática, fitofisionomias e estágios de decomposição, que até o momento não se tinha registros para o DF (Almeida *et al.* 2015). As carcaças de porcos de pequeno porte forneceram, para validações iniciais, uma base experimental facilmente replicável, com biomassa controlada e com número de réplicas significativo para estudos empíricos de levantamento e conhecimento da coleopterofauna cadavérica, no entanto revisão recente recomenda o uso de carcaças de porcos com mais de 30 kg como análogo a cadáveres humanos (Matuszewski *et al.* 2020). Para futuras pesquisas sugerimos o uso de carcaças com peso superior a 30 kg para aprofundamento do conhecimento do processo de sucessão cadavérica. Além disso, como cadáveres humanos são recursos definitivamente limitados para a entomologia forense no Brasil, reforçamos a importância de parcerias com instituições policiais da região para validações finais da importância forense das espécies em casos reais. Este trabalho contribuiu tanto para o conhecimento biológico do grupo quanto para futuros casos criminais em que Coleoptera for o principal vestígio entomológico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L.M. & K.M. MISE. 2009. Diagnosis and key of the main families and species of South American Coleoptera of forensic importance. *Revista Brasileira de Entomologia* 53: 227–244.

- ALMEIDA, L.M., R.C. CORRÊA & P.C. GROSSI. 2015. Coleoptera species of forensic importance from Brazil: an updated list. *Revista Brasileira de Entomologia* 59: 274–284.
- ANTON, E., S. NIEDEREGGER & R.G. BEUTEL. 2011. Beetles and flies collected on pig carrion in an experimental setting in Thuringia and their forensic implications. *Medical and Veterinary Entomology* 25: 353–364.
- BALA, M. & N. SINGH. 2015. Beetles and forensic entomology: A comprehensive review. *Journal of Entomological Research* 39: 293–302.
- BAJERLEIN, D., S. MATUSZEWSKI & S. KONWERSKI. 2011. Insect succession on carrion: seasonality, habitat preference and residency of histerid beetles (Coleoptera: Histeridae) visiting pig carrion exposed in various Forests (Western Poland). *Polish Journal of Ecology* 59: 787–797.
- BORNEMISSZA, G.F. 1957. An analysis of arthropod succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. *Australian Journal Zoology* 5: 1–12.
- BYRD, J.H. & J.L. CASTNER. 2000. *Forensic Entomology: The utility of arthropods in legal investigation*. 1° ed, CRC Press, Washington DC, pp. 437.
- CANEPARO, M.F., M.L. FISCHER & L.M. ALMEIDA. 2017. Effect of temperature on the life cycle of *Euspilotus azureus* (Coleoptera: Histeridae), a predator of forensic importance. *Florida Entomologist* 100: 795–801.
- CHARABIDZE, D., T. COLARD, B. VINCENT, T. PASQUERAULT & V. HEDOUIN. 2013. Involvement of larder beetles (Coleoptera: Dermestidae) on human cadavers: a review of 81 forensic cases. *International Journal of Legal Medicine* 128: 1021–1030.
- CARVALHO, L.M., P.J. THYSSEN, A.X.F. LINHARES & A.B. PALHARES. 2000. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 95: 135–138.
- CARVALHO, L.M. & A.X. LINHARES. 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastern Brazil. *Journal of Forensic Sciences* 46: 604–608.
- CATTS, E.P. & M.L. GOFF. 1992. Forensic Entomology in criminal investigation. *Annual Review of Entomology* 37: 253–272.

- CORREA, R.C., F.W.T. LEIVAS, D.P. MOURA & L.M. ALMEIDA. 2020. Necrophilous Histeridae (Insecta: Coleoptera): what do we know after 200 years? *The Coleopterists Bulletin* 74: 375–383.
- COSTA, C., S. IDE & C.E. SIMONKA. 2006. *Insetos Imaturos: Metamorfose e Identificação*. Ed. Holos, São Paulo, pp. 243.
- CRUZ, T.M. & S.D. VASCONCELOS. 2006. Entomofauna de solo associada à decomposição de carcaça de suíno em um fragmento de mata atlântica de Pernambuco, Brasil. *Biociências* 14: 193–201.
- DAVIS, J.B. & M.L. GOFF. 2000. Decomposition patterns in terrestrial and intertidal habitats on Oahu Island and Coconut Island, Hawaii. *Journal of Forensic Sciences* 45: 824–831.
- EITEN, G. 1972. The Cerrado vegetation of Brazil. *Botanical Review* 38: 201–341.
- ENDRES, A.A., M.I.M HERNÁNDEZ & A.J CREÃO-DUARTE. 2005. Considerações sobre *Coprophanaeus ensifer* (Germar) (Coleoptera, Scarabaeidae) em um remanescente de Mata Atlântica no estado da Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia* 49: 427–429.
- 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. *Neotropical Entomology* 42: 216–222.
- FARIA, L.S., M.L. PASETO, M.S. COURI, C.A. MELLO-PATIU & J. MENDES. 2018. Insects associated with pig carrion in two environments of Brazilian Savanna. *Neotropical Entomology* 47: 181–198.
- FRIZZAS, M.R., J.L.F.L. BATISTA, M.V.C. ROCHA & C.M. OLIVEIRA. 2020. Diversity of Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae) in an urban fragment of Cerrado in Central Brazil. *European Journal of Entomology* 117: 273–281.
- GILL, B.D. 1991. Dung beetles in tropical American forests. *In: Dung Beetle Ecology*. Princeton University Press, Nova Jersey, pp. 211–229.
- GOFF, M.L. 1991. Comparison of insect species associated with decomposing remains recovered inside dwellings and outdoors on the island of Oahu, Hawaii. *Journal of Forensic Sciences* 36: 748–753.
- GOFF, M.L. 2009. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Experimental Applied Acarology* 49: 21–36.

HALFFTER, G. & E.G. MATTHEWS. 1966 The natural history of dung beetles of the subfamily Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae). *Folia Entomológica Mexicana* 14: 1–312.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). 2020. Dados Gerais das Unidades de Conservação. Brasília. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/servicos/> Acesso em: 10 dez. 2020.

JARMUSZ, M. & D. BAJERLEIN. 2015. *Anoplotrupes stercorosus* and *Trypocorpris vernalis* (Coleoptera: Geotrupidae) visiting exposed pig carrion in forests of Central Europe: seasonality, habitat preferences and influence of smell of decay on their abundances. *Entomologia Generalis* 35: 213–228.

KULSHRESTHA, P. & D.K. SATPATHY. 2001. Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Science International* 120: 15–17.

LARSEN, T.H & A. FORSYTH. 2005. Trap spacing and transect design for dung beetle biodiversity studies. *Biotropica* 37: 322–325.

LIRA, L.A. & S.D. VASCONCELOS. 2016. New record and update on the distribution of *Oxelytrum disciolle* (Brullé, 1840) (Coleoptera: Silphidae) in South America. *The Coleopterists Bulletin* 70: 399–402.

LIRA, L.A., E.S. HARTERREITEN-SOUZA & S.D. VASCONCELOS. 2017. A short-term study on bait attractiveness to the forensically relevant species *Oxelytrum disciolle* (Brullé, 1840) (Coleoptera: Silphidae). *Entomological News* 126: 424–427.

LIRA, L.A., M.P. MACEDO, J.R. PUJOL-LUZ & S.D. VASCONCELOS. 2019. Diel activity and effect of carcass decomposition on the attractiveness to the forensically important species *Oxelytrum disciolle* (Coleoptera: Silphidae). *Journal of Forensic Sciences* 64: 799–804.

LIRA, L.A., K.B. BARROS-CORDEIRO, B. FIGUEIREDO, M.F. GALVÃO & M.R. FRIZZAS. 2020. The carrion beetle *Oxelytrum disciolle* (Coleoptera: Silphidae) and the estimative of the minimum *post-mortem* interval in a forensic case in Brasília, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 64: 1–3.

LUEDERWALDT, G. 1911. Os insetos necrófagos paulistas. *Revista do Museu Paulista* 08: 414–433.

MADRA, A., S. KONWERSKI & S. MATUSZEWSKI. 2014. Necrophilous Staphylininae (Coleoptera: Staphylinidae) as indicators of season of death and corpse relocation. *Forensic Science International* 242: 32–37.

MARCHIORI, C.H., C.G. SILVA, E.R. CALDAS, C.I.S. VIEIRA, K.G.S. ALMEIDA, F.F. TEIXEIRA & A.X. LINHARES. 2000. Artrópodos associados com carcaça de suíno em Itumbiara, sul de Goiás. *Arquivos do Instituto de Biologia* 67: 167–170.

MATUSZEWSKI, S., D. BAJERLEIN, S. KONWERSKI & K. SZPILA. 2010. Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 1: Pattern and rate of decomposition. *Forensic Science International* 194: 85–93.

MATUSZEWSKI, S., M.J.R. HALL, G. MOREAU, K.G. SCHOENLY, A.M. TARONE & M.H. VILLET. 2020. Pigs vs people: the use of pigs as analogues for humans in forensic entomology and taphonomy research. *International Journal of Legal Medicine* 134: 793–810.

MAYER, A.C.G. & S.D. VASCONCELOS. 2013. Necrophagous beetles associated with carcasses in a semi-arid environment in Northeastern Brazil: Implications for forensic entomology. *Forensic Science International* 226: 41–45.

MISE, K.M., L.M. ALMEIDA & M.O. MOURA. 2007. Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. *Revista Brasileira de Entomologia* 51: 358–368.

MISE, K.M., A.S.B. SOUZA, C.M. CAMPOS, R.L.F. KEPPLER & L.M. ALMEIDA. 2010. Coleoptera associated with pig carcass exposed in a forest reserve, Manaus, Amazonas, Brazil. *Biota Neotropical* 10: 321–324.

MORETTI, T.C., O.B. RIBEIRO, P.J. THYSSEN & D.R. SOLIS. 2008. Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in Southeastern Brazil. *European Journal Entomological* 105: 691–696.

MYERS, N., R.A. MITTERMEIRER, C.G. MITTERMEIRER, G.A.B. FONSECA & J. KENT. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858.

NORIEGA J.A., J. HORTAL, F.M. AZCÁRATE, M.P. BERG, N. BONADA, M.J.I. BRIONES, I. DEL TORO, D. GOULSON, S. IBANEZ, D.A. LANDIS, M. MORETTI, S.G. POTTS, E.M. SLADE, J.C. STOUT, M.D. ULYSHEN, F.L. WACKERS, B.A. WOODCOCK B.A. & A.M.C. SANTOS. 2018. Research trends in ecosystem services provided by insects. *Basic and Applied Ecology* 26:8–23.

OLIVA, A. & O.R. DI-IORIO 2008. Silphidae. Biodiversidad de Artrópodos Argentinos, Buenos Aires, pp. 471.

OLIVEIRA-COSTA, J. 2011. Entomologia Forense – Quando os Insetos são Vestígios. Ed. 1, Millennium, Campinas/SP, pp. 389.

OLIVEIRA, C.P., C.M. OLIVEIRA, A. SPECHT & M.R. FRIZZAS. 2021. Seasonality and distribution of Coleoptera families (Arthropoda, Insecta) in the Cerrado of Central Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 65: 1–9.

OTRONEN, M.1988. Intra and intersexual interactions at breeding burrows in the horned beetle, *Coprophanaeus ensifer*. *Animal Behavior* 36: 741–748.

PAYNE, J.A. 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology* 46: 592–602.

PESSÔA, S. & F. LANE. 1941. Coleópteros de interesse médico-legal. Ensaio monográfico sobre a família Scarabaeidae de São Paulo e regiões vizinhas. *Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo* 2: 389–504.

PINHEIRO, F., I.R. DINIZ & K. KITAYAMA. 1998. Comunidade local de Coleoptera em Cerrado: Diversidade de espécies e tamanho do corpo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 27: 543–550.

PINHEIRO, F., I.R. DINIZ, D. COELHO & P.S. BANDEIRA. 2002. Seasonal pattern of insect abundance in the Brazilian. *Austral Ecology* 27: 132–136.

RAMOS, D.L., W.L. CUNHA, J. EVANGELISTA, L.A. LIRA, M.C.V. ROCHA, P.A. GOMES, M.R. FRIZZAS & P.H.B. TOGNI. 2020. Ecosystem services provided by insects in Brazil: what do we really now? *Neotropical Entomology* 49: 783–794.

RIBEIRO, J.F & B.M.T. WALTER. 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado *In: Cerrado: Ecologia e Flora*. Embrapa Cerrados e Embrapa Informação Tecnológica, Brasília/DF, pp. 151–199.

RIES, A.C., V. COSTA-SILVA, C.F. SANTOS, B. BLOCHTEIN & P.J. THYSSEN. 2020. Factors affecting the composition and succession of beetles in exposed pig carcasses in southern Brazil. *Journal of Medical Entomology* 58: 104–113.

ROSA, T.A., M.L.Y. BATATA, C.M. SOUZA, D. SOUSA, C.A. 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. *Revista Brasileira de Entomologia* 55: 42–434.

SAVAGE, J. 2002. Cleaning up the world: dipteran decomposers. *Biodiversity* 3: 12–16.

SCHROEDER, H., H. KLOTZBACH, L. OESTERHELWEG & K. PUSCHEL. 2002. Larder beetles (Coleoptera, Dermestidae) as an accelerating factor for decomposition of a human corpse. *Forensic Science International* 127: 231–236.

SILVA, F.A.M., E.D. ASSAD & B.A. EVANGELISTA. 2008. Caracterização climática do bioma Cerrado. *In: Cerrado: Ecologia e Flora*. Embrapa Cerrados e Embrapa Informação Tecnológica, Brasília/DF, pp. 69–88.

SILVA, N.A.P., M.R. FRIZZAS & C.M. OLIVEIRA. 2011. Seasonality in insect abundance in the “Cerrado” of Goiás State, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 55: 79–87.

SOUZA, A.M & A.X. LINHARES. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Medical and Veterinary Entomology* 11: 8–12.

SMITH, K.G.V. 1986. *A manual of Forensic Entomology*. The trustees of the British Museum, London, pp. 195.

STRÜMPHER, W.E., J. FARRELL & C.H. SCHOLTZ. 2014. Trogidae (Coleoptera: Scarabaeoidea) in forensic entomology: occurrence of known and new species in Queensland, Australia. *Austral Entomology* 53: 368–372.

TURCHETTO, M., S. LAFISCA & G. COSTANTINI. 2001. Postmortem interval (PMI) determined by study sarcophagus biocenoses: three cases from the province of Venice (Italy). *Forensic Science International* 120: 28–31.

VAZ-DE-MELO, F.Z., W.D. EDMONDS, F.C. OCAMPO & P. SCHOOLMEESTERS. 2011. A multilingual key to the genera and subgenera of the subfamily Scarabaeinae of the New World (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zootaxa* 2854: 1–73.

CAPÍTULO II

Behavioral aspects of *Coprophanaeus ensifer* (Germar) (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) associated with pig carcasses in Central Brazil

Artigo publicado: Neotropical Entomology, 2021

<https://doi.org/10.1007/s13744-021-00922-x>

Abstract

Coprophanaeus ensifer (Germar) is a large dung beetle species primarily scavenger with paracoprid habits, habitually removing and burying parts of the food resource to build its nest and feed its larvae. This species is widely distributed in central-eastern South America and its association with decomposing carcasses, confers great potential for forensic entomology. This study aimed to characterize behavioral aspects of *C. ensifer* associated with decomposing pig carcasses in the Cerrado of Central Brazil. Observational expeditions were carried out in the National Park of Brasília (PNB), Federal District. Three pig carcasses of approximately 5 kg were exposed for a 30-day period on three typically rainy months. Behavioral observations were made daily *in loco* at twilight/nighttime throughout the decomposition process. This study comprised 45 hours of observation. A total of 34 individuals (11 males and 23 females) of *C. ensifer* were observed and marked. The following events/behaviors were observed: copulation, flight, feeding/perforation of the carcasses, scattering of carcasses portions, soil turning, opening of tunnels below/around the carcasses, burying of carcasses portions, nesting, and agonistic behavior/fighting. The behaviors of feeding, scattering of the carcasses, turning the soil and opening of tunnels were observed in a high frequency, regardless of the sex. The species is most attracted by substrates on the intermediate stages of active decomposition and causes important actions on the carcasses such as drilling and dismemberment. Behavioral descriptions and forensic implications are discussed in the text.

Keywords: Cerrado, necrophagy, carcass scattering, cycling of nutrients, forensic entomology

1. INTRODUCTION

Necrophagy in beetles of the Scarabaeinae subfamily is occasional and of little importance in most parts of the world (Cambefort 1991). This fact contrasts with the observed for South American endemic Scarabaeinae species (Halffter and Matthews 1966), which stand out in the use of decomposing animal organic material as source of food, shelter and site for copulation and oviposition (Catts and Goff 1992; Edmonds and Zidek 2010). Females of Coleoptera of forensic importance are responsible for the initial arrival at the resource that will be used for feeding and maintaining offspring, as observed in species of the Scarabaeidae and Silphidae (Mise *et al.* 2010; Rosa *et al.* 2011; Lira *et al.* 2019). This feeding habit is especially important in the tropics and in areas with large forested areas (Halffter and Matthews 1966). It is believed that several species of Scarabaeidae spread through the forests of South America adapted from coprophagous to necrophagous behavior, probably due to the extinction of large mammals during the Pleistocene, in order to explore new ecological niches and decrease interspecific competition (Cambefort 1991; Endres *et al.* 2005).

Among the South American genera, *Coprophanaeus* d'Olsoufieff includes 43 species, organized into three subgenera (*Coprophanaeus s. str.*, *Megaphanaeus* and *Metallophanaeus*) (Cupello and Vaz-de-Mello 2014). It comprises species of a myriad of sizes and colors, with typically necrophagous and occasionally coprophagous behavior, that use carcasses and feces as a site for feeding and nesting (Luederwaldt 1911; Pessôa and Lane 1941; Halffter and Matthews 1966; Catts and Goff 1992). The geographic distribution of these coleopterans is already well-known in the Neotropical region (Edmonds and Zidek 2010), with 21 species registered in Brazil (Cupello and Vaz-de-Mello 2014) and five in the Federal District, which are: *Coprophanaeus ensifer* (Germar) *C. cyanescens* (d'Olsoufieff), *C. horus* (Waterhouse), *C. spitzzi* (Pessôa) and *C. dardanus* (MacLeay) (Bernardes 2015).

Maldaner *et al.* (2017) reviews the nomenclatural history of the species names of *Megaphanaeus*, being the species *C. ensifer* described as a large beetle (30–55 mm long), with marginally wavy streaks on the elytra, usually dark green or bluish color (Edmonds and Zidek 2010) and males and females have horns in the pronotum. The sexual dimorphism in the species is subtle: males have a pronotal concavity with a dorsally inclined spinous process on each side below the horn,

characteristics that are absent on females (Edmonds and Zidek 2010). Another morphological difference is the presence of protarsi in females (Vaz-de-Mello *et al.* 2011).

The species has a widespread distribution in central-eastern South America with records in Paraguay, Argentina and Brazil (Edmonds and Zidek 2010). It is often found associated with decomposing carcasses, with great potential for forensic entomology in Brazil (Almeida *et al.* 2015), especially for the Atlantic Rainforest (Carvalho and Linhares 2001; Endres *et al.* 2005) and Cerrado biomes (Rosa *et al.* 2011). In forensic studies in the Cerrado it was only registered in the cerrado *sensu stricto* as well as in campo sujo physiognomies during the rainy season, suggesting a preference for open vegetation and during the intermediate stages of carcasses decomposition (Rosa *et al.* 2011).

Previous work suggests that *C. ensifer* has a typical necrophagous feeding habit with associated paracoprid behavior, in which males and females have similar behaviors including removing parts of the food resource to build their nest and feed their larvae (Otronen 1988; Endres *et al.* 2005). These behavioral aspects, however, are not clearly described in the literature. To our knowledge, only one work assessing agonistic and dietary behavioral traits of this species has been published to date, but it is limited to laboratory observations from individuals collected from the Atlantic Rainforest (Otronen 1988). On-site observations and records of the time of individuals' arrival at the resource, feeding, tunneling, flight pattern, nesting and foraging are still scarce, as well as assessments of whether these behavioral traits differ between males and females, especially in preserved areas of Cerrado, where no studies regarding this subject have been carried out so far.

Most studies report an increase in the richness and abundance of Coleoptera with the advance of the decomposition (Catts and Goff 1992; Oliveira-Costa 2011), but researches that effectively observe this pattern of attractiveness are still scarce (Lira *et al.* 2019). Studies assessing behavior of forensically important species that considers the ecology of decomposition are needed to further understand their role in nutrient cycling and for possible criminal investigations, as the action of large beetles, such as *C. lancifer* (Linnaeus), an endemic species of the Amazonia biome, can alter the position of an adult human cadaver by up to 30 cm, promote the spread of bones and cause large perforations in the skin (Uruahy-Rodrigues *et al.* 2009). For *C.*

ensifer, so far, there are no works focusing on its forensic potential in Brazilian biomes, with only scarce comments in the literature (Carvalho *et al.* 2000; Endres *et al.* 2005; Rosa *et al.* 2011).

This work aimed to observe and analyze behavioral aspects of *C. ensifer* associated with decomposition of pig carcasses in preserved area of Cerrado and describe their most important traits. We designed the experiment considering the following hypotheses: *a*) the abundance of *C. ensifer* should increase as the carcass decomposition process evolves; *b*) males and females are expected to be found in similar proportions and perform similar behaviors associated with the decomposing carcasses.

2. MATERIAL AND METHODS

This study was carried out in the National Park of Brasília (PNB) (15° 43'46" S, 47° 55'18" W), an important conservation unit in Brasília, Federal District, Brazil. The area is inserted in the Cerrado biome, and we chose an area that has a specific phytophysognomy called campo sujo which is a semi-open savanna-like vegetation with scattered small to medium-sized trees and shrubs, with high solar incidence and stronger winds when compared to other vegetation types (Eiten 1978; Ribeiro and Walter 2008). The PNB comprises approximately 423 km², located 1,179 m above sea level, and has a great diversity of plant formations, including all phytophysognomies of the Cerrado biome, harboring a high diversity of flora and fauna. It presents an Aw-type climate (Köppen climate classification) with a defined seasonal semi humid tropical climate, presenting a dry winter (May to September) and a wet and hot summer (October to April). The mean annual rainfall is approx. 1400 mm and a temperature ranging from 12°C to 28.5°C (Silva *et al.* 2008). The area is an important ecological corridor for the species in the region, as it borders other important protected areas (ICMBio 2020).

Three non-overlapping expeditions were carried out in typically rainy months in Brasília (November 2019, December 2019 and January 2020), as this is considered the most suitable period for the collection of beetles of this family (Frizzas *et al.* 2020). In total, three pig carcasses, *Sus scrofa* Linnaeus, weighing approximately 5 kg were used, one per expedition. The decomposition of the carcasses was artificially divided into the five stages proposed by Payne (1965), that are: fresh, bloated, active decomposition, advanced decomposition and skeletonization. The carcasses were obtained through donations from a pig farm in the region of Unaí Minas Gerais/Brazil, that were frozen and then sent to the Zoology Department of the University of Brasília (UnB), where they were kept in freezers until 24 hours before the experiments were installed to allow the thawing of the carcasses. All procedures were approved by SISBIO 58287-3 according to the protocol ICMBio, IBAMA.

The observations of the insect's behavior were made daily from twilight (Fig. 1A) to nighttime (Fig. 1B), that is, from 5 pm to 7:30 pm (150 min), as this is the time of greatest activity of the species reported by previous studies (Otronen 1988; Endres *et al.* 2005; Edmonds and Zidek 2010). The observations were performed at

a distance of 2 m away from the carcasses (Fig. 1C) from where the beetles were photographed and filmed throughout the decomposition process. The study totaled 45 hours of on-site observation, with 15 hours each month. The experiments lasted seven observation days per month, a period for the decomposition of the carcasses to reach the skeletonization stage. In the three observation expeditions, the presence of *C. ensifer* was recorded and its behaviors were logged, photographed and filmed.

Males and females were carefully identified according to the specialized literature (Edmonds and Zidek 2010; Vaz-de-Mello *et al.* 2011) wherein i) males have a pronotal concavity with a dorsally inclined spinous process on each side below the horn, characteristics that are absent on females and ii) the presence of protarsi in females that are absent on males. We also numbered and marked males and females with colored nail polish in order to check for possible observations on subsequent days. We used a digital caliper (stainless hardened digital 150 mm) to measure the total body length and pronotal width for males and females. After the markings and measurements, all individuals were released close to where they were found on the carcass. To protect the carcasses from scavenger mammals, an iron cage (1 m × 1 m × 80 cm with a 2.5 cm wide mesh) (Fig. 1B) was placed on the carcass at all times during the observations.

In order to characterize the species' behavior and build a descriptive ethogram, we took field notes and made recordings with a professional camera (Nikon 42x optical zoom HD). From the analysis of the field notes, audiovisual recordings and photographs, a qualitative analysis was carried out, such as a descriptive ethogram of the following categories: behavior (the behavioral trait itself) or event (the result or consequence of a behavior), in the form of a behavior frequency table and comparative chart describing the behavior of males and females of *C. ensifer*. The ethogram followed the theoretical framework of Altamann (1974) with "all occurrences" sampling type, a methodology used for pioneering studies of behavior of a certain species with the objective of qualifying/describing behaviors. Throughout the experimental period, the following events and behaviors were observed: (i) presence of males, (ii) presence of females, (iii) copulation, (iv) flight, (v) perforation of the carcass/feeding, (vi) scattering of the carcass portions, (vii) soil turning, (viii) opening of tunnels in the soil, (ix) burying of parts of the carcass, (x) nesting, (xi) agonistic/fighting, all of which are described on Table 1. The frequency

of observation of the species' events and behaviors was categorized as low (less than three observations), moderate (between four and nine observations) and high (above 10 observations) on Table 2.

We also used Chi-square tests to verify differences between males and females for all events. The influence of the stages of decomposition on the abundance of individuals and, consequently, on the increase in the frequency of events and behaviors of the species were verified using an ANOVA with a posteriori test of Tukey. All tests considered the level of significance of 5% and were performed on the software R and BioEstat 5.0.

3. RESULTS

After the 45 hours of observation of the behavioral repertoire of the *C. ensifer*, a detailed descriptive ethogram conceptualizing, describing and characterizing each observed behavior and event was constructed (Table 1). Feeding, carcass scattering, soil turning and the tunnel opening event were the most frequent behaviors, whereas copulation and agonistic/fighting were observed at low frequency (Table 2).

Table 1. Descriptive ethogram of events and behaviors of *Coprophanaeus ensifer* with their descriptions and notes.

Events/Behaviors	Description	Notes
Presence of males	Observed after the collection and marking of the individuals.	11 males were counted and marked.
Presence of females	Observed after the collection and marking of the individuals.	23 females were counted and marked.
Copulation	Males place their whole body on the females' followed by offensive behavior (sometimes pushing them with the hind legs) to insert their aedeagus into their genital opening.	The copulation events were observed at low frequencies at the entrance of the tunnels and lasted approximately one minute.
Flight	After the opening of the elytra, the membranous wings flap with high intensity, producing noise similar to a helicopter.	The flight was commonly recorded as circular movements around the carcasses at a height of approximately two meters. Males and females presented similar flight characteristics, but it was less intensive in females.
Feeding off the carcasses	The individuals propel the softer parts of the carcass with their horns in an upwards movement, enter the resource and use their jaws to consume the carcass (with delicate movements similar to suction).	Females fed directly on the carcass (after approx. 45 seconds), while males landed and quickly buried themselves (after approx. 30 seconds) and then they begin to feed.

Carcass scattering	During the foraging behavior, soft parts of the carcass, mainly the posterior and anterior legs from the carcasses, were dismembered. This process is mostly caused by the action of the horns and anterior legs of the beetles.	Males and females were observed performing this behavior equally.
Soil turnover	The individuals revolve the soil, digging with their anterior fossorial legs and quickly bury themselves in the openings created by this behavior.	Males turned over the soil immediately after landing. The females, on the other hand, soon after foraging.
Tunneling/ opening of tunnels	The tunneling process was not observed in the field, only the tunnel openings were recorded.	Tunnel openings of approximately three cm wide were observed around the carcasses, in which males and females were seen inside the tunnels always in pairs. New tunnel openings were observed overnight.
Carcass burying	The individuals use their horns to move small and soft parts of the carcasses through frontal and lateral pushes, characterizing a typical paracoprid behavior.	Males and females were observed performing this behavior equally.
Nesting	The bottom of the nests was not found up to a depth of 70 cm, suggesting the formation of galleries that are difficult to access.	Males and females seem to open the tunnels and maintain the nests together. Females were seen more often leaving the nest and looking for food in the decaying carcasses.

Agonistic/Fighting	Males position themselves in front of the opponent and try to insert their horns under them, making movements of lowering and raising their head (trying to turn them over) or just pushing them by the head. This fight can also take place from the side of the opponent's body.	Only males have been seen fighting with other males of the same species. Females were not observed fighting.
---------------------------	--	--

A total of 34 individuals of *C. ensifer* were observed throughout the experiment, divided in 11 males and 23 females. From this total, only two females were recaptured, while the rest of the individuals were only observed once. During the stage of active decomposition, the individuals of *C. ensifer* reached their peak in abundance ($F_{3,8} = 4.89$; $P = 0.03$), whereas several behaviors could be observed, mostly the behaviors with high frequency (Table 2), with males and females not differing in the presence/attractiveness between the decomposition stages (D.F. = 2; $P = 0.95$).

Table 2. Frequency of observation of events and behaviors of *Coprophanæus ensifer* in decomposing pig carcasses, in the Cerrado of Central Brazil.

Events/Behaviors	Frequency of occurrence
Copulation	Low
Flight	High
Feeding off the carcasses	High
Carcass scattering	High
Soil turnover	High
Tunneling/opening of tunnels	High
Carcass burying	Moderate
Nesting	Moderate
Agonistic/Fighting	Low

Some distinct behavioral traits were observed between males and females. It was observed that females arrived at the resource first than males. The females arrived the day before males on the decomposing carcass in the first month of observation, while in the following months they arrived approximately 20 min before males. As for the time of arrival at the resource, females usually arrived almost immediately after sunset. Males and females showed different approaches to get to the substrate. Males usually arrived by intense flight and females with moderate flight, but no difference in the average height of flight (two meters) was observed. In days with precipitation, both males and females avoided to fly, preferring to walk to the carcasses. While males landed and quickly buried themselves (after approx. 30 seconds), females fed directly on the carcass (after approx. 45 seconds), lifting parts of the source with their horn.

The presence of tunnel openings of approximately 3 cm in diameter was observed around and below the carcasses (Fig. 1D), and specimens were observed and photographed inside the tunnels (Fig. 1E), always in pairs. Both males and females were observed leaving these tunnels to forage. Foraging around the carcasses (Fig. 1F) was the most frequent behavior in all observation, being similar in males and females (D.F. = 1; $P = 0.87$) suggesting cooperation in the care of offspring in the nest.

Females (average total length of 43 mm and average pronotal width of 28 mm) (Fig. 1G) are slightly smaller than males (average total length of 49 mm and average pronotal width of 30 mm) (Fig. 1H), and showed similar performance in dismembering, spreading and burying parts of the carcasses (D.F. = 1; $P = 1$), performing these activities from the first hours of the colonization.



Fig. 1. Field observation routine of behavioral aspects of *Coprophanaeus ensifer* associated with pig carcass. A) start of twilight hours; B) start of nighttime with iron cage; C) distance from the observer; D) tunnel opening; E) exit from the nest through the opening of the tunnel; F) foraging; G) female foraging and H) male feeding

4. DISCUSSION

Studies that quantitatively and qualitatively assess behavioral aspects of beetles of forensic importance in natural environments are scarce. In the present study, behaviors such as feeding, carcass scattering, soil turning, and tunnel openings were observed at high frequencies. We can infer that these were the most frequent behaviors because the decomposition of the carcass in contact with the soil and the odor of the decomposition itself influences feeding and nesting behaviors, corroborating with previous studies (Halffter and Edmonds 1982) even in terrariums monitored by Otronen (1988). Subsequently, other less frequent behaviors are triggered, such as the copulation events, struggles between males necessarily by territory or by defendant.

Females were twice as often observed as males during the whole experiment, but always performing similar behaviors and with no significant difference between the sexes, such as attractiveness, foraging and feeding, carcass spreading and tunnel opening/presence in the nests. Especially on arrival at the resource, males and females exhibit different immediate behavior: while males land and quickly bury themselves, females forage directly at the resource by lifting parts of the carcass with their horn, difference not observed in the previous study.

Regarding the time of arrival at the resource, females arrived about 30 min before males. This suggests that females seek shelter and a favorable place for oviposition and that males arrive later to fertilize these females and protect their nests, corroborating with findings on the available literature on scavengers and necrophagous insects (Endres *et al.* 2005; Oliveira-Costa 2011; Irish *et al.* 2019). However, we must also consider the strategy sneaker hypothesis (Rowland and Emlen 2009) in which smaller males and females may present a reproductive strategy that avoids direct fights. In this way, they can then take advantage of tunnels already built by larger individuals and therefore spend less time and energy on inter- and intra-specific battles. The present study indicates that *C. ensifer* follows the same pattern of time of arrival at the carcass as expected for the family, whereas females reach the resource before males.

The low rate of recapture of the marked individuals is attributed to the tunneling behavior of the species, as their tunnels are well designed and reach

considerable depths into the soil. In this study, we performed excavations about 1 m but, neither the couples nor the nest with their eggs and larvae were found. Only when the twilight/early evening hours began, couples were seen in the openings of the tunnels, and when disturbed, the individuals quickly returned into the tunnels. Previous studies mention that the genus *Coprophanæus* relocates pieces of carcass underground into their nests and uses this resource both for shelter and for feeding and protecting their larvae (Halffter and Edmonds 1982; Endres *et al.* 2005), which is probably the main reason behind the difficulty for the recapture of beetles during the experiment. The couples observed in the tunnels' openings had large horns and body sizes. Probable explanation is that small body and horn sizes are disadvantageous to defend the resources and the nests. However, the evidence that insects assumed to be dimorphic can express three facultative male forms suggests that we need to adjust how we think about animal mating systems and the evolution of conditional strategies, where male reproductive tactics may include a dominant (fight/guard) tactic, a subordinate (sneak) tactic, and a female-mimicry tactic (Rowland and Emlen 2009).

The decomposition process of organic animal matter goes through several physical and chemical changes, and the categorization of the decomposition phases mostly used in forensic entomology experiments follows the study by Payne (1965) who recognized five stages/phases of decomposition. *Coprophanæus ensifer* showed greater attractiveness to the carcasses during the active decomposition stage, when compared to the bloated, gaseous, advanced and skeletonized, where the loss of biomass is significant, with most soft tissues already degraded. This preference is non unanimous among necrophagous beetles, as *Oxelytrum discicolle* (Brullé), for instance, demonstrates high attractiveness for the final stages of decomposition (advanced decomposition and skeletonization), even when these resources were offered simultaneously (Lira *et al.* 2019).

Although scarce, it is possible to find information regarding some behavioral aspects of this species, as shown in Carvalho *et al.* (2000), who mentions that *C. ensifer* individuals were collected in a natural environment but not in an urban setting. Thus, it suggests that the species can be considered an indicator of preserved areas, and, thanks to their intimate association with decomposing animal matter, it might be useful for the estimation of time of death (PMI). The relationship with stages of

decomposition was further explored for the species *C. lancifer*, found in the Amazon rainforest, whereas individuals collected were attracted by the active decomposition stage and dry decomposition of pigs (Mise *et al.* 2010).

Regarding the nocturnal habit, several species of the genus *Coprophanaeus* have been observed arriving at the resource almost immediately after sunset (Edmonds and Zidek 2010), mainly from the subgenus *Megaphanaeus*. The behavior of arrival observed in loco for *C. ensifer* resonates with reports and descriptions found in the literature (Endres *et al.* 2005; Edmonds and Zidek 2010). In relation with the agonistic behavior of this species, we observed similar patterns when compared to controlled conditions (Otronen 1988), in which males with larger horns win fights against their opponents more quickly, by making movements to lower and raise their heads (trying to turn them over) or just pushing them over its head (horn x horn).

Based on the morphological characters of the species (well-developed cephalic horns and robust fossorial legs) and on the nesting strategy of these organisms (which are paracoprid), it was observed that the species is very efficient in the process of dismemberment, spreading and burying of parts of the carcasses, since the beginning of the decomposition. Foraging around the carcass was the most frequent behavior during the observation, with similar male and female actions suggesting a cooperation in caring for the offspring in the nest, which may have several ecological implications. In a laboratory study, males and females were also observed foraging and pushing parts of the carcasses equally, mainly using their front legs and mouth parts (Otronen 1988). This cooperative behavior is also found in the neotropical genus *Phanaeus* Macleay, that also performs similar excavations around wet feces, forming deep nests and constructing galleries (Price and May 2009).

Considering the attractiveness of necrophagous species to animal carcasses and/or human cadavers, their occurrence, abundance and how promptly they arrive and colonize the resource are strongly influenced by the detection of specific volatile organic compounds released by the organic matter decomposition process (Dekeirsschieter *et al.* 2009; Paczkowski *et al.* 2012). These compounds are present in several types of natural materials, and are characterized by having high vapor pressure, which causes them to quickly turn into gas upon contact with the atmosphere (Dekeirsschieter *et al.* 2009; Kasper *et al.* 2012), exponentially

expanding the area of potential detection by specialized animals, as insects and even trained sniffer dogs (Irish *et al.* 2019). The release of these compounds during decomposition is also dependent on the biotic and abiotic factors to which the corpse is subjected and also on the intrinsic properties of the body (Kasper *et al.* 2012). Information regarding which volatile organic compounds are present in the corpse and which insects are attracted or repelled, allow entomological evidence combined with biochemical analyzes to lead to the acquisition of valuable evidence for investigations.

The diverse behaviors of the species can produce significant changes especially in spawning corpses in natural environments. For example, the action of this species can cause dismemberment of bones, perforations in the skin and even a change in the position of a corpse, traits that can be easily confused with torture events followed by death. Knowledge of the wide variety of behavior of scavenger beetles associated with decomposition is necessary to understand the type of forensic information that these beetles can provide (Catts and Goff 1992; Oses-Rivera and Astesiano 2020) and even of estimation of time of death interval (Wang *et al.* 2019; Lira *et al.* 2020; Mashaly *et al.* 2020). As an example of an article developed in the Cerrado biome, a species of necrophagous beetle, *O. discicolle*, was used to estimate PMI in case of violent death in the Brasília/Brazil, giving a minimum PMI of 20 days, which means that corpse at the crime scene the victim had been dead for at least 20 days (Lira *et al.* 2020).

The results of the present study suggest that: the abundance of *C. ensifer* did not increase as the decomposition process evolves; the behaviors of feeding, scattering of the carcasses, turning the soil and opening of tunnels were observed in a high frequency (regardless of the sex); males and females were found in similar proportion and to equally participate in the opening of the tunnels and maintenance of their nests; and finally, females arrive first at the carcasses possibly to seek food, shelter and a suitable place for oviposition, whilst males arrive later probably to feed and fight other males to secure the copulation.

The compilation of the behavioral repertoire of *C. ensifer* contributes to the understanding of the natural history of the species, helping maintain its important role in the cycling of nutrients, mainly driven by the feeding and dismemberment of the substrates, as well as its applicability in forensic entomology, both for estimating PMI

in natural areas of Cerrado, and for discarding the hypothesis of *ante-mortem* injuries. Other relevant species to the Cerrado biome and of marked necrophagous habit should be studied to construct a theoretical behavioral, bionomic and ecological scaffold for the elaboration of protocols that might guide experts in their actions and assessments, especially for Coleoptera, an order so important for forensic entomology, which is still neglected by many studies.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the resources from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) through the Post-Graduate Program in Zoology (PROAP 04/2018 and PROAP 01/2019). MRF is a CNPq fellow (process no 313952/2018-3).

5. REFERENCES

- Almeida LM, Corrêa RC, Grossi PC (2015) Coleoptera species of forensic importance from Brazil: an updated list. *Rev Bras Ento* 59:274–284
- Altamann J (1974) Observational study of behavior: sampling methods. *Behav* 49:227–267
- Bernardes TA (2015) Contribuição ao conhecimento do gênero *Coproghanaeus* (Insecta: Coleoptera: Scarabaeidae) no Cerrado do Distrito Federal. Dissertation, University of Brasília, Brasília:1–67
- Cambefort Y (1991) Body size, abundance, and geographical distribution of Afrotropical dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *Acta Ecol* 15:165–179
- Carvalho LML, Linhares AX (2001) Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastern Brazil. *J Foren Sci* 46:604–608
- Carvalho LML, Thyssen PJ, Linhares AX, Palhares FAB (2000) A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem Inst Osw Cruz* 95:135–138
- Catts EP, Goff ML (1992) Forensic entomology in criminal investigation. *Ann Rev Ento* 37:253–272
- Cupello M, Vaz-de-Mello FZ (2014) Revalidation of the Brazilian Atlantic Forest dung beetle species *Coproghanaeus* (*Metallophanaeus*) *machadoi* (Pereira & d'Andretta, 1955)

(Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae: Phanaeini) based on morphological and distributional evidence. *Zootaxa* 3869:435–451

Dekeirsschieter J, Verheggen FJ, Gohy M, Hubrecht F, Bourguignon L, Lognay G, Haubruge E (2009) Cadaveric volatile organic compounds released by decaying pig carcasses (*Sus domesticus* L.) in different biotopes. *Foren Sci Inter* 189:46–53

Edmonds WD, Zidek J (2010) A taxonomic review of the neotropical genus *Coproghanaeus* Olsoufieff, 1924 (Coleoptera: Scarabaeidae, Scarabaeinae). *Insec Mundi* 129:1–111

Eiten G (1978) Delimitation of the Cerrado concept. *Vegetat* 36:169–178

Endres AA, Hernández MIM, Creão-Duarte AJ (2005) Considerações sobre *Coproghanaeus ensifer* (Germar) (Coleoptera, Scarabaeidae) em um remanescente de Mata Atlântica no estado da Paraíba, Brasil. *Rev Bras Ento* 49:427–429

Frizzas MR, Batista JLFL, Rocha MVC, Oliveira CM (2020) Diversity of Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae) in an urban fragment of Cerrado in Central Brazil. *Eur J Ento* 117:273–281

Halffter G, Matthews EG (1966) The natural history of dung beetles of the subfamily Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae). *Fol Ento Mex* 14:1–312

Halffter G, Edmonds WD (1982) The nesting behavior of dung beetles (Scarabaeinae) – an ecological and evolutive approach. Instituto de Ecología, Mexico:1–167

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). 2020. Dados gerais das Unidades de Conservação. Brasília. <<http://www.icmbio.gov.br/portal/servicos/>> Accessed 01 May 2020

Irish L, Rennie SR, Parkes GMB, Williams A (2019) Identification of decomposition volatile organic compounds from surface-deposited and submerged porcine remains. *Sci Just* 59:503–515

Kasper J, Mumm R, Ruther J (2012) The composition of carcass volatile profiles in relation to storage time and climate conditions. *Foren Sci Inter* 223:64–71

Luederwaldt G (1911) Os insetos necrófagos paulistas. *Rev Mus Paul* 08:414–433

Lira LA, Macedo MP, Pujol-Luz JR, Vasconcelos SD (2019) Diel activity and effect of carcass decomposition on the attractiveness to the forensically important species *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera:Silphidae). *J Foren Sci* 64:799–804

- Lira LA, Barros-Cordeiro KB, Figueiredo B, Galvão MF, Frizzas MR (2020) The carrion beetle *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae) and the estimative of the minimum *post-mortem* interval in a forensic casa in Brasília, Brazil. *Rev Bras Ento* 64:1–3
- Maldaner ME, Cupello M, Ferreira DC, Vaz-de-Mello FZ (2017) Type specimens and names assigned to *Coprophanaeus* (*Megaphanaeus*) d'Olsoufieff, 1924, the largest New World dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae: Phanaeini). *Zootaxa* 4272:83–102
- Mashaly A, Al-Khalifa M, Al-Qahtni A, Alshehri A (2020) Analysis of insects colonized on human corpses during autopsy in Riyadh, Saudi Arabia. *Entomol Res* 50:351–360
- Mise KM, Souza ASB, Campos CMC, Keppler RLF, Almeida LA (2010) Coleoptera associated with pig carcass exposed in forest reserve, Manaus, Amazonas, Brazil. *Biota Neotrop* 10:321–324
- Oliveira-Costa J (2011) *Entomologia Forense—Quando os Insetos são Vestígios*. Millennium, São Paulo, Brazil, pp 1–389
- Oses-Rivera CA, Astesiano ECTC (2020) First report of *Rhantus validus* (Coleoptera: Dytiscidae) as necrophage and generator of postmortem artifacts in a human corpse found in an artificial freshwater pond from the Región de La Araucanía, Chile. *Rev Chi Ento* 46:81–86
- Otronen M (1988) Intra and intersexual interactions at breeding burrows in the horned beetle, *Coprophanaeus ensifer*. *Ani Behav* 36:741–748
- Paczkowski S, Maibaum F, Paczkowska M, Schutz S (2012) Decaying mouse volatiles perceived by *Calliphora vicina* Rob. -Desv. *J Foren Sci* 57:1497–1506
- Payne JA (1965) A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecol* 46:592–602
- Pessôa SB, Lane F (1941) Coleópteros necrófagos de interesse médico legal. *Arq Zoo Est São Paul* 2:494–50
- Price DL, May ML (2009) Behavioral ecology of *Phanaeus* dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae): review and new observations. *Act Zool Mexi* 25:211–238
- Ribeiro JF, Walter BMT (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. *In*: Sano SM, Almeida SP, Ribeiro JF (eds) *Cerrado: ecologia e flora*, 1a. ed. Embrapa Cerrados e Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, pp 152–212

Rosa TA, Babata MLY, Souza CM, Sousa D, Mello-Patiu CA, Vaz-de-Mello FZ, Mendes J (2011) Arthropods associated with pig carrion in two vegetation profiles of Cerrado in the State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Bras Ento* 55:42–434

Rowland JM, Emlen DJ (2009) Two thresholds, three male forms result in facultative male trimorphism in beetles. *Science* 323:773–776

Silva FAM, Assad ED, Evangelista BA (2008) Caracterização climática do bioma Cerrado. *In*: Sano SM, Almeida SP, Ribeiro JF (eds) *Cerrado: ecologia e flora*, 1a. ed. Embrapa Cerrados e Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, pp 69–88

Ururahy-Rodrigues A, Rafael JA, Wanderley RF, Marques H, Pujol-Luz JR (2009) *Coprophanaeus lancifer* (Linnaeus, 1767) (Coleoptera, Scarabaeidae) activity moves a man-size pig carcass: Relevant data for Forensic Taphonomy. *Foren Sci Inter* 182:19–22

Vaz-de-Mello FZ, Edmonds WD, Ocampo FC, Schoolmeesters P (2011) A multilingual key to the genera and subgenera of the subfamily Scarabaeinae of the New World (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zootaxa* 2854:1–73

Wang M, Chu J, Wang Y, Li F, Liao M, Shi H, Zhang Y, Hu G, Wang J (2019) Forensic entomology application in China: Four case reports. *J Foren Leg Med* 63:40–47

APÊNDICE I

The carrion beetle *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae) and the estimative of the minimum *post-mortem* interval in a forensic case in Brasília, Brazil

Artigo publicado: Revista Brasileira de Entomologia, 2020

<https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2019-92>

Abstract: The order Coleoptera is considered second highest in forensic importance in criminal cases involving violent death, because members of this order increase in richness and abundance as the decomposition process progresses. We present here the first forensic entomology (FE) case in Brazil where the carrion beetle, *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae), was used to estimate the minimum *post-mortem interval* (m-PMI) in a forensic case. A female corpse, at an advanced stage of decomposition, was found on a deserted highway near Brasília/Brazil. The corpse was removed from the site, and insect samples were collected on and inside the corpse at the Forensic Medicine Institute of the Federal Police, following the specific FE protocols. The m-PMI was estimated considering two techniques, the pre-appearance interval (PAI) and the accumulated degree-days (ADD). The development stage of the larvae of *O. discicolle* allowed investigators to propose that this species was part of an earlier colonization, soon after death, with total length and prothorax width compatible with third instar larvae. Adult females of *O. discicolle* oviposited on the corpse at least 20 days before it was removed from the site where it was found, thus characterizing the m-PMI. This is the first case in which information on the development of the *O. discicolle* was used in a criminal investigation in Brazil.

1. INTRODUCTION

The order Coleoptera is considered second highest in forensic importance in criminal cases involving violent death. Among the families of forensic importance, Silphidae, or carrion beetles, stand out for their necrophagous habits in its immature stage and omnivorous habits as adults. This group consists of the subfamilies Nicrophorinae and Silphinae, which recorded over 100 species in temperate regions, and 82 in Neotropical regions with (Peck and Anderson, 1985). The adults measure between 10 and 35 mm in length and present vivid colors on the scutellum (Fig. 1A). The larvae are campodeiform, strongly sclerotized, and have laterally prolonged flap-like tergites (Fig. 1B).

The species *Oxelytrum discicolle* (Brullé, 1840) is widely distributed in the Americas, from the southern United States to southern Brazil, except in the Amazon region (Peck and Anderson, 1985). Studies on beetles associated with carcasses have been conducted in Brazil since the last century. In 1911, Luederwaldt (1911) found 62 species associated with animal decomposition, while Mise et al. (2007) recorded 112 species. In 2015, a paper compiled the records available in the literature and produced a list of Coleoptera that of forensic importance in the country, devising a total of 345 species from 16 families, with occurrence in 16 Brazilian states (Almeida et al., 2015). *O. discicolle* was reported in all of these articles. Although beetles are often treated as secondary in forensic investigations, carrion beetles are prominent in Forensic Entomology because larvae of *O. discicolle* feed exclusively on decaying tissues, while the adult species feed on decaying tissues and sometimes on fly larvae.

Oxelytrum discicolle has a preference for moist environments such as seasonal and high-altitude forests, and the species can also be found in urban environments (Carvalho et al., 2000; Lira and Vasconcelos, 2016). The adult presents omnivorous (preferably scavengers), habits and can prey on the larvae of flies and decaying animal substrate, while the immature forms are typically scavengers (Oliva and Di-Iorio, 2008). Recently, experimental ecological studies have shown that *O. discicolle* presents a high attraction to carcasses in advanced stages of decomposition, and they are more abundant during rainy periods in the Cerrado vegetation (Lira et al., 2019), which supported the use of this species to

estimate PMI in the present case, suggesting colonization closer to the date of the victim's death.

Here we describe a forensic entomological case in Brasília, central Brazil, in which *O. discicolle* was used for the first time in the Neotropical region to estimate the minimum *post-mortem* interval (m-PMI) of a corpse that was in the colliquative decomposition stage. In this forensic case, this carrion beetle was verily characterized as species of forensic interest.

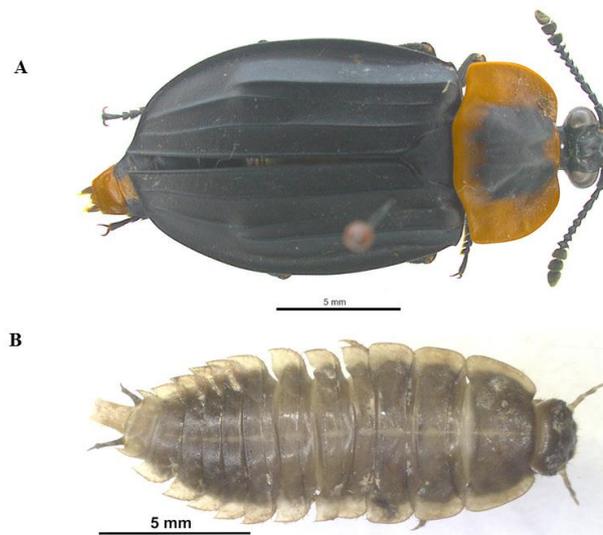


Figure 1. (A) *Oxelytrum discicolle* adult in dorsal view; (B) *Oxelytrum discicolle* third instar larvae in dorsal view.



Figure 2. *Oxelytrum discicolle* larvae in the skull.

2. CASE REPORT

On March 31st, at the end of the region's rainy season, the corpse of a woman was found near a deserted highway in a patch of vegetation of Cerrado *Sensu Stricto*, near the city of Brasília. After the investigators' analysis at the crime scene, the corpse was transported to the Instituto Médico Legal/IML (the Brazilian Forensic Medicine Institute) in Brasília/DF, where the routine procedures for identification were performed. The corpse was in an advanced stage of decomposition. The ventral parts, which were in contact with the soil, were in the full colliquative decomposition stage, whilst the dorsal surface of the body, had multiple mummified areas. Weather data was collected in loco and at the nearest station to the crime scene, approximately 5 km away.

The coroner's analysis found cranial and chest in the body, which does not exclude the possibility of other lesions in the tissue destroyed by putrefaction. The clothes were partially burned and the body did not present any vital reaction to thermal action, which suggests that there was an attempt to burn the body with the intention of destroying evidence at the crime scene. There was no record of fire and no other decomposition accelerator in this case, absence of smoke scent. After comparisons with photographs and dental records, the body was identified as a 57-year old female, reported missing by the family. On April 1st, during the necropsy, eight larvae of beetle were collected from inside the corpse (Fig. 2). The collected insects were transferred to the University of Brasilia and kept under controlled conditions according to standard laboratory protocols in Forensic Entomology (Smith, 1986; Amendt et al., 2007), and later identified as *O. discicolle* (Fig. 1B).

The specimens of *O. discicolle* had a total length ranging from 14.9 to 18.2 mm and the maximum width of prothorax from 3.4 to 5.7 mm, compatible with third instar larvae (Velásquez and Vilorio, 2009; Velásquez and Vilorio, 2010). We obtained the accumulation of degree-days (ADD) as follows: $ADD = y (T - TL)$, where "y" is the time required for developing in days; "T" is the temperature (°C) of the environment in which larvae were collected (in this case, it was considered to be the average temperature of the area where the body was found, approximately 20°C at that time of the year, according to the nearest available weather database); and "TL" is the acceptable inferior threshold temperature (°C) for the development of the species, which is 1.5°C (Velásquez and Vilorio, 2009).

The results showed that the insects required 370 degree-days for their development to L3 stage in the conditions in which they were found, which is consistent with the available literature (Velásquez and Viloría, 2009; Velásquez and Viloría, 2010). The development stage of *O. discicolle* larvae, using the pre-appearance interval (PAI) (Matuszewski, 2011), allowed us to suggest that this species was part of an earlier colonization near the time of death, justified by the full length and prothorax width compatible with third instar larvae. The average time duration of each stage of development of this species at 20°C, is as follows: egg (2.91 days); L1 (2 days); L2 (2 days); L3 (13.25 days); and pupae (9.5 days); therefore, the total time of insect development from egg to adult is 29.67 days at this temperature (Velásquez and Viloría, 2009). The data point that the colonization of the body by the carrion beetles, had originated from an earlier colonization in which the adult females must have oviposited over the corpse at least 20 days prior to the removal of the body from the place where it was found, characterizing the m-PMI (Fig. 3).

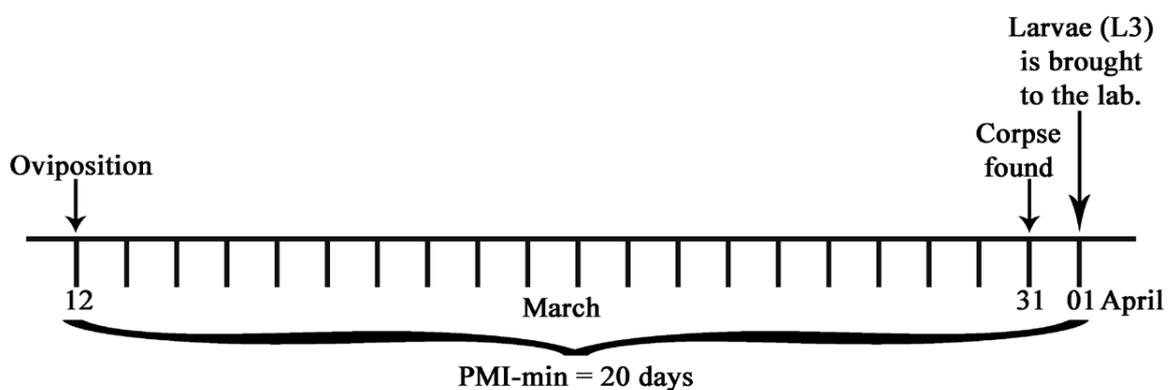


Figure 3. Timeline showing the entomological minimum PMI (*post-mortem interval*).

Over the past few years, beetles have been increasingly used as evidence in criminal investigations involving violent death, particularly with reference to dry human skeletal remains in the later stages of decomposition (Kulshrestha and Satpathy, 2001). This study puts carrion beetles (Silphidae) on par with skin beetles (Dermestidae) and bone beetles (Cleridae), which are regularly mentioned in the forensic literature, mainly in the Neotropical region, since it is the first time that a species of Silphidae has been used to estimate the PMI in the region.

Previous research has suggested that when ephemeral resources at different stages of decomposition are available, *O. discicolle* has a preference for the most decomposed substrate as a source of food, shelter, and oviposition (Lira et al., 2019), similar to the corpse in the present case. The larvae of *O. discicolle* are typically necrophagous and often found in the lower part of the carcasses, above the hardened soil layer that forms below decomposing corpses in the open air, once the active decomposition begins (Adriana Oliva, *personal communication*). Even though adults may appear early in the process of decomposition as predators and / or scavengers, first-instar larvae along with adults can occur as far as 10 to 15 days after death, and second and third instar larvae tend to appear by 20-25 days, usually without the presence of adults (Oliva, 2012).

The first time the genus *Oxelytrum* Gistel, 1848 was reported in a forensic case in Brazil was in 2014, when the beetles were found preying on Diptera larvae on a cadaver (Souza et al., 2014). Before that, in 2002, adults of *O. discicolle* were collected from several cadavers taken to a Forensic Medicine Institute in Colombia, but no larvae were reported, even though just adults of *O. discicolle* had been collected from these human corpses (Barreto et al., 2002). Our results strongly contrast with observations in decomposing carcasses in Southern Brazil where *O. discicolle* specimens were never found before 5 days after death in autumn and spring, or 30 days after death on winter days (Moura et al., 1997). The forensic importance of *O. discicolle* needed to be proven by their effective use as evidence in criminal investigations, in order to estimate the time of death.

As Matuszewski and Madra-Bielewicz (2019) have recently stated, the best species to estimate the PMI is the one that colonizes corpses earlier than all other insects sampled. For this case report, *O. discicolle* was efficient in colonizing the corpse near the date of death, similar to what has been observed for other species of the Silphidae family. Our records reinforce the effective use of the species to estimate the minimum *post-mortem* interval and support the role of beetles in cases of violent death with corpses found in advanced stages of decomposition.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Prof. Dr. José Roberto Pujol-Luz (*Universidade de Brasília*) for his invaluable support. We thank Msc. Kayla Scott (*American School of Brasilia*) and Dr. Diego Oliveira (*Universidade Federal de Pernambuco*) for their review of the English language. This research was funded by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico–CNPq, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal-FAP/DF, Financiadora de Estudos e Projetos–FINEP.

3. REFERENCES

- Almeida, L. M., Corrêa, R. C., Grossi, P. C., 2015. Coleoptera species of forensic importance from Brazil: an updated list. *Rev. Bras. Entomol.* 59, 274-284.
- Amendt, J., Campobasso, C. P., Gaudry, E., Reiter, C., LeBlanc, H. N., Hall, M. J. R., 2007. Best practice in forensic entomology—standards and guidelines. *Int. J. Legal Med.* 121, 90-104.
- Barreto, M., Burbano, M. E., Barreto, P., 2002. Flies (Calliphoridae, Muscidae) and beetles (Silphidae) from human corpses in Cali, Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97, 137-138.
- Carvalho, L. M., Thyssen, P. J., Linhares, A. X. F., Palhares, A. B., 2000. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95, 135-138.
- Kulshrestha, P., Satpathy, D. K., 2001. Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* 120, 15-17.
- Lira, L. A., Macedo, M. P., Pujol-Luz, J. R., Vasconcelos, S. D., 2019. Diel activity and effect of carcass decomposition on the attractiveness to the forensically important species *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: Silphidae). *J. Forensic Sci.* 64, 799-804.
- Lira, L. A., Vasconcelos, S. D., 2016. New record and update on the distribution of *Oxelytrum discicolle* (Brulle, 1840) (Coleoptera: Silphidae) in South America. *Coleopt. Bull.* 70, 399-402.
- Luederwaldt, G., 1911. Os insetos necrófagos paulistas. *Rev. Mus. Paul.* 08, 414-433.
- Matuszewski, S., 2011. Estimating the pre-appearance interval from temperature in *Necrodes littoralis* L. (Coleoptera: silphidae). *Forensic Sci. Int.* 212, 180-188.

- Matuszewski, S., Madra-Bielewicz, A., 2019. Post-mortem interval estimation based on insect evidence in a quasi-indoor habitat. *Sci. Justice*. 59, 109-115.
- Mise, K. M., Almeida, L. M., Moura, M. O., 2007. Levantamento da fauna de Coleoptera que habita a carcaça de *Sus scrofa* L., em Curitiba, Paraná. *Rev. Bras. Entomol.* 51, 358-368.
- Moura, O. M., Carvalho, C. J. B., Monteiro-Filho, E. L. A., 1997. A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 92, 269-274.
- Oliva, A., 2012. A new species of *Oxelytrum* Gistel (Coleoptera: Silphidae) from southern Argentina, with a key to the species of the genus. *ZooKeys*. 203, 1-14.
- Oliva, A., Di-Iorio, O. R., 2008. Silphidae In: Claps, L.E., Debandi, G., Roig-Junent, S. (Eds.), *Biodiversidad de Artropodos Argentinos*. vol. 2. Buenos Aires, Argentina: Sociedad Entomologica Argentina, pp. 461–70.
- Peck, S. B., Anderson, R. S., 1985. Taxonomy, phylogeny and biogeography of the carrion beetles of Latin America (Coleoptera: Silphidae). *Quaest. Entomol.* 21, 247-318.
- Smith, K. G. V., 1986. *A Manual of Forensic Entomology*. Comstock Publishing Associates. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, pp. 205.
- Souza, E. R., Rafael, J. A., Xavier Filho, F. F. X., Silva-Freitas, J. O., Oliveira-Costa, J., Ururahy-Rodrigues, A., 2014. First medicolegal forensic entomology case of Central Amazon: A suicide by hanging with incomplete suspension. *Entomobras.* 7, 12-15.
- Velásquez, Y., Viloría, A. L., 2009. Effects of temperature on the development of the Neotropical carrion beetle *Oxelytrum discicolle* (Brulle, 1840) (Coleoptera: silphidae). *Forensic Sci. Int.* 185, 107-116.
- Velásquez, Y., Viloría, A. L., 2010. Instar determination of the Neotropical *Oxelytrum discicolle* (Coleoptera: silphidae). *J. Med. Entomol.* 47, 723-726.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No capítulo I verificamos que: o processo de decomposição das carcaças de porcos de pequeno porte foi duas vezes mais rápido na estação chuvosa (8 dias) comparado a estação seca (16 dias). Foram coletados 3.006 adultos, classificados em 66 espécies e 12 famílias da coleopterofauna de importância forense no Cerrado do DF, com maior abundância e riqueza na estação chuvosa, com ocorrência em todas as fitofisionomias, sendo encontrados em maior abundância e riqueza nas fases finais da decomposição, especialmente no estágio de esqueletização, que atraiu cerca de 45% do total coletado. Entre as famílias mais abundantes, Scarabaeidae não apresentou diferença significativa na atratividade entre os estágios de decomposição, já Staphylinidae, Silphidae, Dermestidae e Histeridae foram mais atraídas por um ou dois estágios finais. Apenas *Dermestes maculatus* (Dermestidae) e *Oxelytrum discicolle* (Silphidae) foram consideradas espécies colonizadoras, sendo observadas em fases larvais nas carcaças em decomposição. Este capítulo é pioneiro e avançou no conhecimento do estado da arte dos besouros de importância forense do Cerrado, produzindo uma lista com potenciais espécies para o uso na entomologia forense, relacionando-as com estação climática, fitofisionomias e estágios de decomposição, que até o momento não se tinha registros para o DF.

As principais conclusões do capítulo II foram: a abundância de *Coprophanæus ensifer* (Scarabaeidae) não aumentou conforme o processo de decomposição evoluiu, seu pico de abundância foi durante o 3º estágio; os comportamentos de alimentação, espalhamento de partes da carcaça, revolvimento de solo e abertura de túneis foram observados em alta frequência; machos e fêmeas foram encontrados em proporção semelhante e parecem participar igualmente na manutenção de seus ninhos. A compilação do repertório comportamental de *C. ensifer* contribui para a compreensão da história natural da espécie e seu importante papel no processo de ciclagem de nutrientes em ecossistemas terrestres, bem como sua aplicabilidade na entomologia e tafonomia forense, tanto para estimar de intervalo *post-mortem* em áreas naturais do Cerrado, quanto para descartar hipóteses de lesões *ante-mortem*.

No apêndice I as principais conclusões foram: que besouros de importância forense, como a espécie *Oxelytrum discicolle*, podem representar parte de uma colonização inicial, logo após a morte, sendo utilizada para estimar o intervalo *post-mortem* mínimo (m-IPM) em caso envolvendo a morte violenta de uma mulher encontrada em estágio avançado de decomposição em área de Cerrado em Brasília. Fêmeas adultas de *O. discicolle* ovipositaram sobre o cadáver pelo menos 20 dias antes de ser removido do local onde foi encontrado, caracterizando assim o m-IPM. Este foi o primeiro caso em que as informações sobre o desenvolvimento de *O. discicolle* foram utilizadas para determinar IPM em investigação criminal no Brasil.

Esta tese contribui para o conhecimento bioecológico de Coleoptera, enfatizando sua participação relevante na prestação do serviço ecossistêmico de ciclagem de nutrientes, por meio da necrofagia, atuando na decomposição física de carcaças no Cerrado do DF. Fatores ecológicos tais como estação climática, fitofisionomias e estágios de decomposição influenciam a coleopterofauna e padrões podem ser esperados partindo do conhecimento catalogado por esta trabalho. As relações ecológicas entre as espécies e seus comportamentos nas carcaças afetam diretamente a ecologia da decomposição de recursos efêmeros no Cerrado.

Este trabalho reforça a importância da ordem Coleoptera e confirma o potencial uso do grupo no cotidiano pericial em futuras investigações criminais em que os besouros forem o principal vestígio entomológico, comprovando que besouros podem ser utilizados para: *i)* estimar intervalo *post-mortem*, *ii)* excluir possíveis injúrias *ante-mortem*, bem como para *iii)* indicar local e/ou época da morte.

Outras espécies relevantes para outras regiões biogeográficas devem ser estudadas para construir um arcabouço teórico bionômico, comportamental, tafonômico e ecológico para a elaboração de protocolos que possam orientar os especialistas em suas ações e avaliações, especialmente para Coleoptera, uma ordem tão importante para a entomologia forense, mas que ainda é negligenciada por muitos estudos. Para futuras pesquisas sugere-se o uso de carcaças com peso próximo ao de humanos adultos para assim aprofundar o conhecimento do processo de sucessão cadavérica em ambientes tropicais. Além disso, como cadáveres humanos são recursos escassos ou quase inexistentes para a entomologia forense no Brasil, reforça-se a importância de parcerias com instituições policiais da região para validações finais da importância forense das espécies em casos criminais.