**Padronização e identificação molecular de Sarcophagidae de interesse forense na região da grande Florianópolis – SC - Brasil**

A entomologia forense tem se mostrado muito importante no Brasil e no mundo. Cada vez mais a academia e os institutos de perícia tem considerado os insetos como vestígios que auxiliam na resolução de casos judiciais1. Em medicina legal, a maior parte dos estudos é focado na família Calliphoridae, no entanto, temos observado que espécies da família Sarcophagidae são também muito frequentes em cadáveres humanos2. Entre os motivos dos sarcofagídeos não estarem entre as espécies mais estudadas, acreditamos que a dificuldade de identificação morfológica seja o principal deles3,4,5.

Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo traçar o perfil molecular de machos da família Sarcophagidae, a fim de possibilitar futuras identificações de fêmeas e larvas, por métodos moleculares, das principais espécies de Sarcophagidae encontradas colonizando cadáveres na Grande Florianópolis.

Os machos foram coletados com o auxílio de armadilhas ou em cadáveres humanos na Grande Florianópolis (Através de Parceria com o IGP-SC) e foram identificados pelos métodos taxonômicos convencionais. Posteriormente foi feita a padronização das técnicas de extração de DNA e PCR. O gene utilizado para as análises foi COI, por ser o padrão em estudos de Barcode. Por fim, foram estabelecidos os padrões de caracterização molecular das espécies por RFLP-PCR utilizando-se a enzima TaqI para a digestão. As amostras foram sequenciadas pelo método de Sanger.

Ao todo foram coletadas e identificadas 10 espécies de Sarcophagidae (tabela 1).

A PCR conseguiu amplificar o COI de 8 das 10 espécies (figura 1). A TaqI foi eficiente na diferenciação dessas 8 espécies (figura 2). O protocolo de Sequenciamento foi eficiente para 7 as 8 espécies testadas (figura 3).



**Tabela 1:** Quantidade de machos de cada espécie e local de coleta. Cadáver Humano: machos que nasceram das larvas colonizando uma carcaça̧ humana na cidade de Florianópolis e coletada pelos peritos do IGP. PEST: Coletas feitas com rede Shannon no Parque Estadual da Serra do Tabuleiro em 2012 com um porco inteiro como isca. UFSC: coletas feitas com armadilha PET no terreno do CCB-UFSC.



**Figura 1:** Gel em Agarose 1% sob corrente constante de 100mV, corado com GelRed mostrando os produtos da PCR para 8 espécies abordadas nesse estudo. Gel da esquerda: 1 a 4) *M. halli.* 5 a 8) *P. chrysostoma*. 9 a 12) *O. admixta*. 13 a 15 e 17) *O. paulistanensis*. 18 a 21) *O. thornax*. 22 a 25) *S. cuneata*. 26 e 27) *R. fluminensis*. 28 a 31) *O. riograndensis*. 16 e 32) Marcador de peso molecular 100pb. Gel da Direita: 1 e 2) *O. riograndensis.* 3 a 8) *P. intermutans*. 9) Controle negativo. 10) Marcador de peso molecular de 100pb.



**Figura 2:** Resultado das digestões das 8 espécies em Gel de Poliacrilamida 10% sob corrente constante de 80mV, corado com brometo. 1) Produto de PCR não digerido. 2e3)*S. lambens.* 4 e 5) *S.cuneata*.6) *R. fluminensis.* 7 e 8) *P. intermutans*. 9 e 10) *O. thornax*. 11) *O. riograndensis*. 12) *O. paulistanensis*. 13 e 14) *M. halli*. 15) Marcador de peso molecular 100pb.



**Figura 3:** Árvore filogenética das sequencias de Sarcophagidae construída pelo método Neighbor- Joining e distância Jukes- Cantor-p. Os números acima dos ramos são os valores de bootstrap baseados em 1000 repetições.

Dessa forma, concluímos que os métodos apresentados se mostraram eficientes para a identificação molecular de 8 das 10 espécies coletadas. A digestão com enzima TaqI foi eficaz para identificar as espécies: *Microcerella halli*, *Oxysarcodexia paulistanensis*, *O. riograndensis*, *O. thornax*, *Peckia intermutans*, *Retrocitomyia fluminensis*, *Sarcofahrtiopsis cuneata*, *Sarcodexia lambens*. As análises filogenéticas realizadas nesse trabalho vão ao encontro daquelas disponíveis na literatura, o que mostra a eficiência dos métodos empregados nesse trabalho para identificar de forma molecular as espécies obtidas para esse estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OLIVEIRA-COSTA, J.*Entomologia Forense – Quando os Insetos são vestígios*. 3º ed. Editora Milenium, 2013.

2. VAIRO, K.P.; MOURA, M.O.; MELLO-PATTIU, C.A. *Comparative morphology and identification key for females of nine Sarcophagidae species (Diptera) with forensic importance in Southern Brazil.* Rev. Bras. Entomol. 2015. 59: 177-187.

3. BARROS, R.M.; MELLO-PATIU, C.A.; PUJOL-LUZ, J.R. *Sarcophagidae (Insecta, Diptera) associados à decomposição de carcaças de Sus scofa Linnaeus (Suidae) em área de Cerrado do Distrito Federal, Brasil.* Rev. Bras. Entomol. 2008. 52(4): 606-609.

4. PAPE, T. & DAHLEM, G.A. 2010. Sarcophagidae. In: Brown, B.V., Borkent, A., Cumming, J.M., Wood, D.M., Woodley, N.E. & Zumbado, M. (eds), *A Manual of Central American Diptera.* Vol. 2. NRC Research Press, Ottawa, pp. 1313–1335.

5. VAIRO, K.P.; MELLO-PATIU, C.A.; CARVALHO, C.J.B. *Pictorial identification* *key for species of Sarcophagidae (Diptera) of potential forensic importance in Southern Brazil*. Rev. Bras. Entomol. 2011. 55(3): 333-347.