

휴경지 토양에서 수거된 파리 번데기의 분포 및 냉해를 입은 구더기를 이용한 사후 경과시간 추정 사례

신상언 · 장민석 · 박지혜
박성환

고려대학교 의과대학 법의학교실

Received: January 29, 2015
Revised: February 2, 2015
Accepted: February 14, 2015

Correspondence to
Seong Hwan Park
Department of Forensic Medicine,
Korea University College of Medicine, 73
Inchon-ro, Seongbuk-gu, Seoul 136-
705, Korea
Tel: +82-2-2286-1158
Fax: +82-2-928-3901
E-mail: kuforen@gmail.com

A Forensic Entomology Case Estimating the Minimum Postmortem Interval Using the Distribution of Fly Pupae in Fallow Ground and Maggots with Freezing Injury

Sang Eon Shin, Min Suk Jang, Ji Hye Park, Seong Hwan Park
Department of Forensic Medicine, Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

Forensic entomology investigates postmortem interval (PMI) estimation using insect evidence. We estimated the minimum PMI of a putrefied male cadaver using pupae in the soil and maggots found in the body. Most of the maggots, collected during the autopsy, were postfeeding third instar larvae with empty crop contents, which developed freezing injuries when the cadaver was placed in the freezer. Pupae in the soil were collected 45 days after the discovery of the body. DNA barcoding revealed that most pupae and maggots were *Chrysomya pinguis*, with a few exceptions. The minimum PMI was estimated at 10 days before the discovery time based on the scene investigation, maggot developmental stage, distribution of pupae moving away from the body toward pupariation sites, DNA barcoding results, and weather information. To reduce the gap between the minimum and maximum PMI values, complete entomological evidence collection should be conducted at the time of discovery.

Key Words: Forensic sciences; Entomology; Postmortem changes; Diptera

서 론

법곤충학(forensic entomology)은 법적인 문제의 해결을 위해 곤충 정보를 이용하여 타당하고 신뢰할 수 있는 과학적 증거를 제시하는 것을 목표로 하는 학문이다. 특히, 법곤충학의 한 분야인 법의곤충학(medicolegal entomology)은 변사체와 관련한 곤충학적 증거를 분석하는데, 특히 사망한 이후 부패가 상당히 진행되어 시신의 소견만으로는 사후 경과시간(postmortem interval, PMI)을 추정할 수 없는 경우 합리적인 사망 시간의 제시를 주요 목표로 한다.

곤충은 변온동물(poikilotherm)이므로 유충의 성장 속도는 대기온도에 따라 달라진다[1]. 알, 1령, 2령, 3령 유충과 번데

기 등의 발생단계는 형태학적으로 쉽게 구분이 가능하다. 유충은 성장에 유효한 온도 범위 내에서는 어느 단계로부터 다른 특정 단계까지 성장하는 데에 항상 일정한 양의 누적 온도를 요구한다. 성장에 유효한 온도 범위는 해당 종(species)의 성장이 정지하는 발육 한계 저온도 또는 기저 온도(base temperature)보다 높고 발육 한계 고온도보다 낮은 범위를 말한다. 이러한 일정 범위 내에서는 성장 속도가 온도에 따라 일정하게 증가하는 일차적인 관계를 나타내기 때문에 서로 다른 온도에서 성장한 개체들이라도 같은 종이라면 특정 발생단계까지 성장에 필요한 누적된 생리적 에너지의 총합, 즉 유효적산온도(accumulated degree hours, ADH)의 값은 같다[1]. 따라서 같은 종에서 유충의 성장에 요구되는 유효적산온도는 항상 일정하다는 사실을 이용한다면 사건 현장에서 채집된 구더

기(파리 유충)의 발생단계와 종을 확인하여 실험실에서 사육된 동일한 종의 성장 기록과 비교할 수 있다. 이러한 방법으로 사망 후 최초 산란 이후부터 현장에서 발견되기 전까지의 최소 사후 경과시간(minimum PMI)을 추정할 수 있으며, 변사자의 최후 행적인 최대 사후 경과시간(maximum PMI)과 대조하여 사후 경과시간의 범위를 추정할 수 있다[2].

저자들은 변사자가 현장에서 옮겨진 지 45일이 경과한 후에야 현장에 대한 곤충학적 조사가 진행된 사건에 대해 최소 사후 경과시간을 추정한 사례를 경험하여 추정 과정 및 결과, 추정 시의 제한점 등을 보고하고자 한다.

증 례

변사자는 2014년 5월말경 마지막 생존이 확인되었으며, 동년 6월 초순에 부패가 심하게 진행된 상태로 한반도 서남부 지역에서 발견되었다. 발견 당시 상하의를 착용하고 배와 가슴이 일부 노출되었으며 복부에는 다수의 구더기가 무리를 이루고 있었다. 변사체가 발견된 장소는 도로에서 약 50 m 떨어져 있으며 바람이 잘 통하는, 그늘이 없는 휴경지였다. 변사자 발견 후 45일이 경과된 후에야 이틀간 현장에 대한 곤충학적 증거수집이 시행되었다. 현장의 특징을 현장기록지에 기재한 후 나침반으로 방위를 확인한 뒤 현장 주변의 대기온도, 상대습도, 강우량을 측정할 수 있는 자동기록장치인 간이 기상대 등을 설치하였다. 번데기 채집 및 분포조사는 시신 발견 장소를 중심으로 가까운 곳에서 먼 곳으로 이동하며 모종삽 등으로 지면으로부터 약 7-15 cm 깊이를 조사하여 검체가 발견된 지점을 분홍색 깃대로 표시하였다. 시신이 위치하였던 위치로부터 폴리스라임 아래의 남동쪽으로 약 3.5 m 지점까지 사멸한 번데기 및 번데기 껍질이 분포하고 있는 것을 확인하였다(Fig. 1). 이러한 분포로 볼 때 변사자의 시체에 산란되고 시체를 먹이로 하여 자란 구더기들은 변사자 발견된 날짜에는 이미 최소한 번데기가 되기 위해 건조한 장소를 찾아 떠나는 후섭식기 3령 구더기(postfeeding larvae) 또는 그 이후의 단계였음을 의미한다[3]. 현장에서 채집된 곤충 증거물은 성장 중 사멸한 번데기 10점과 우화되고 남은 번데기 껍질 63점으로 총 73점이었다. 이 중 사멸한 번데기 10점과 번데기 껍질 1점에 대해 cytochrome c oxidase subunit I의 염기서열을 이용한 DNA barcoding을 시행하여 7개체에서 큰검정뺨금파리(*Chrysomya pinguis* Walker)임을 확인하였으며, 나머지는 DNA 증폭이 되지 않았다.

한편, 국립과학수사연구원 서울연구소에서 변사자의 시신 및 유류품에 남아있던 총 226점의 구더기가 수거되었다(시신을 썩 비닐 23점, 수의 48점, 시신 155점). 구더기 후기문(posterior spiracles)의 현미경 소견상 검정파리과(family Calliphoridae) 2령 구더기 1점, 3령 구더기 225점이 확인되었

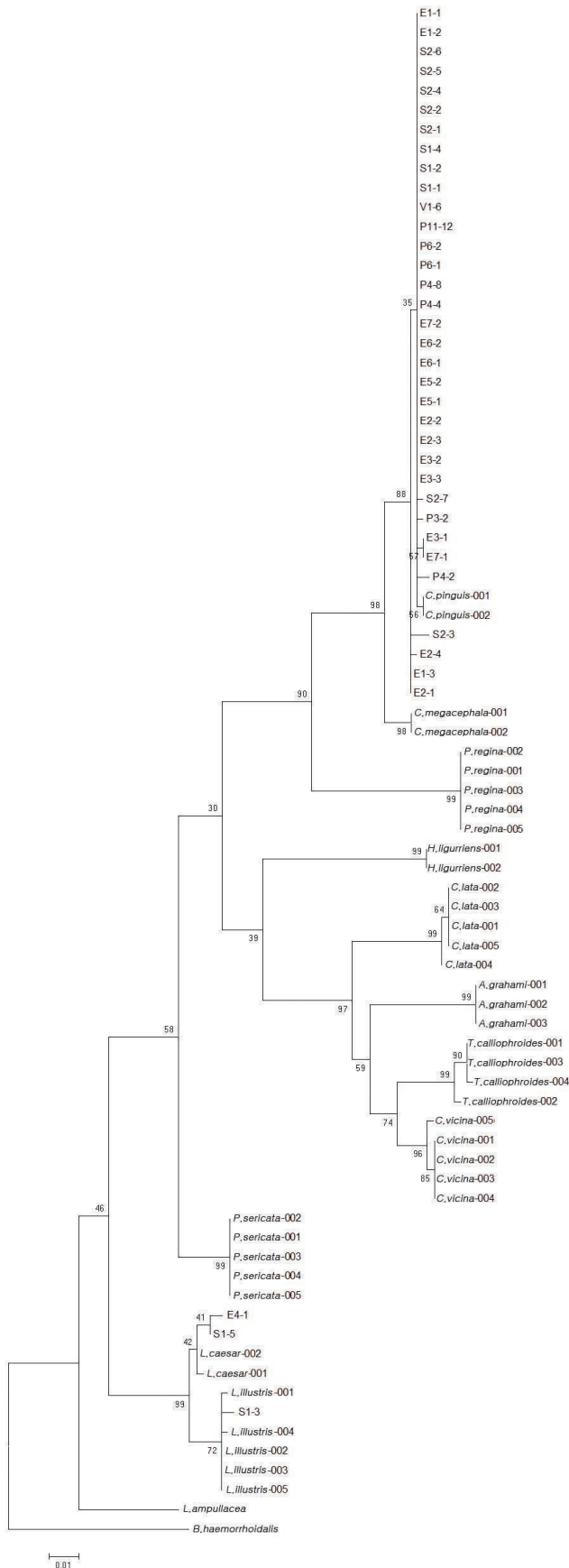
다. 3령 구더기 중 소낭(crop)에 먹이가 있는 개체는 섭식기 3령 구더기, 비어있는 개체는 번데기가 될 준비를 하고 있는 후섭식기 3령 구더기로 구별하는데, 섭식기 3령은 5점, 후섭식기 3령은 220점이었다. 총 226점 모두 현미경 검사에서 후기문과 측면의 모습을 촬영하고 몸길이를 측정하였다. 섭식기 3령 5점과 시신안치소의 냉동실에 의한 동상[4]에 의한 훼손이나 변색이 없는 후섭식기 3령 구더기 31점을 선별하여 DNA barcoding을 시행하였다. 그 결과 연두금파리(*Lucilia illustris* Meigen) 1점, 금파리(*Lucilia caesar* Linne) 2점, 큰검정뺨금파리 27점이 확인되었고, 1점은 반복실험에도 불구하고 DNA 염기서열의 확인이 불가능하였다(Fig. 2).

변사자 발견 이전 현장의 구더기 무리의 성장 온도는, 곤충이 변온동물이므로, 현장의 대기온도와 동일하다고 가정하여 추정할 수 있다. 본 사례에서는 현장에 간이 기상대를 설치하여 닷새간 10분 간격으로 대기온도 값을 측정하고 이를 현장에서 가장 가까운 수평 관측소(약 7.1 km 떨어진)의 동일 기간의 대기온도 값과 선형회귀분석을 실시하였다[5]. 그 결과 결정계수(r^2) 값은 0.928, 회귀직선 식은 $f(x)=1.059x-1.268$ 으로서 결정계수 값과 회귀직선 식의 기울기(1.059)가 1.0에 매우 근접하였다. 따라서 현장 평균 대기온도(24.39°C)와 수평관측소 평균 대기온도(24.22°C)의 통계적인 차이는 약 0.17°C로 계산되었고(Fig. 3), 기상대 기록으로부터 시신이 발견되기 전 열흘간의 현장 대기온도를 추정해보면 평균 20.95°C로 계산되었다.

큰검정뺨금파리의 성장 속도에 대한 정보는 전 세계적으로 전혀 알려져 있지 않다. 큰검정뺨금파리와 검정뺨금파리(*Chrysomya megacephala* Fabricius)의 비교 사육 실험을 한 Yang과 Shiao [6]의 경험에 의하면 20°C-30°C 정도의 온도



Fig. 1. After pupae samples were collected from the scene, flags were placed at the discovery site. The ellipse with a dotted line indicates the area where the body was located. The arrow indicates the estimated trace of postfeeding larvae to find places for pupation.



조건에서는 근연종인 검정뺨금파리와 유사한 양상을 보이므로, 검정뺨금파리의 기저 온도 및 성장 정보를 이용하여 유효 적산온도 및 최초 산란 시간을 추정하였다. 국내산 검정뺨금파리의 성장 정보는 알려져 있지 않으나 국외 문헌에 따르면 기저 온도는 12.3°C로 계산된다. 21°C에서 알부터 후섭식기까지 성장하는 데에 222.72시간이 필요하므로 [7], 222.72시간에 평균기온 21°C에서 기저온도 12.3°C만큼을 뺀 8.7°C를 곱하면 검정뺨금파리가 알에서 후섭식기까지 성장하는 데에 1,937.7 ADH가 필요함을 알 수 있다. 따라서 검정뺨금파리의 성장 정보를 이용하여 계산한 큰검정뺨금파리의 산란시기는 1,937.7 ADH값에 해당하는 변사자 발견 8일 전의 오전 4시 이전으로 추정되었다(Table 1). 연두금파리와 금파리의 성장 정보는 제한적으로 알려져 있으나 두 종은 극도로 가까운 근연종으로서 그 생리학적 특성도 서로 유사할 것으로 추정된다. 국외 문헌에 의하면 연두금파리가 후섭식기 3령으로 성장하는 데 21.2°C±

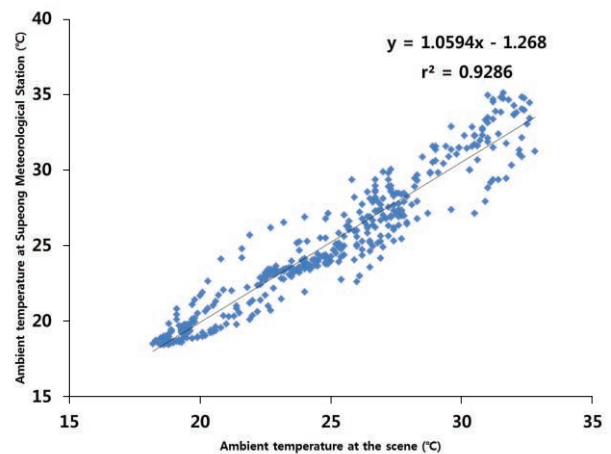


Fig. 3. A linear regression curve of ambient temperatures from the scene and the nearest meteorological station shows a close correlation between two sites.

Fig. 2. DNA barcoding result for 30 maggots and 7 pupae revealed that all except for 3 maggots were *Chrysomya pinguis*. Two and one maggots were *Lucilia caesar* and *Lucilia illustris*, respectively. The initials E, V, S, and P indicate maggots from the body, from the plastic cover for the body, from the shroud, and pupae from the scene, respectively. *C. pinguis*, *Chrysomya pinguis*; *C. megacephala*, *Chrysomya megacephala*; *P. regina*, *Phormia regina*; *H. ligurriens*, *Hemipyrellia ligurriens*; *C. lata*, *Calliphora lata*; *A. grahami*, *Aldrichina grahami*; *T. calliphroides*, *Triceratopyga calliphroides*; *C. vicina*, *Calliphora vicina*; *P. sericata*, *Phaenicia sericata*; *L. caesar*, *Lucilia caesar*; *L. illustris*, *Lucilia illustris*; *L. ampullacea*, *Lucilia ampullacea*; *B. haemorrhoidalis*, *Boettcherisca haemorrhoidalis*.

Table 1. A spread sheet to calculate the accumulated degree hours (ADH) for *Chrysomya pinguis* larvae (base temperature: 12.3°C)

Date ^{a)}	Maximum (°C)	Minimum (°C)	Mean (°C)	Corrected (+0.17°C)	Time (hr)	ADH (hr × °C)
0	23.2	15.1	19.15	19.32	9	63.18
-1	27.0	16.7	21.85	22.02	24	233.28
-2	27.2	17.8	22.50	22.67	24	248.88
-3	25.7	18.8	22.25	22.42	24	242.88
-4	26.8	17.6	22.20	22.37	24	241.68
-5	28.6	16.1	22.35	22.52	24	245.28
-6	27.1	16.9	22.00	22.17	24	236.88
-7	25.9	17.1	21.50	21.67	24	224.88
-8	26.5	17.6	22.05	22.22	20	198.40
Total	–	–	–	–	–	1,935.30

^{a)} The numbers at the 'Date' indicate the remaining days before the discovery of the body. Date 0 is the day when the body was discovered.

0.04°C에서 최소 162시간이 필요하므로[8] 이들의 산란 시점은 변사자 발견 7일 전의 15시 이전으로 추정되었다. 따라서 큰검정뽕금파리가 연두금파리 및 금파리보다 먼저 산란한 것으로 추정되므로 본 사례의 핵심 종(key species)은 큰검정뽕금파리이고, 큰검정뽕금파리의 산란 추정시간인 변사자 발견 8일 전의 오전 4시 이전이라는 정보를 기준으로 최소 사후 경과시간을 추정하였다.

한편, 일반적으로 해가 진 후로부터 해가 뜨기 전까지의 야간과 비가 오는 날씨에는 파리가 활동하지 않으므로 오전 4시에는 파리가 산란을 할 수 없고, 기상청의 지역별상세관측자료(automatic weather system)에 의하면 변사자 발견 10일 전 17시부터 8일 전 오전 3시까지의 현장에 비가 내렸으므로 역시 파리가 산란을 할 수 없다[9]. 따라서 큰검정뽕금파리에 의한 최초 산란은 비가 내리지 않았던 변사자 발견 10일 전 오후보다는 이른 시점이었을 것으로 추정할 수 있었다(최소 사후 경과시간, 10일).

고 찰

곤충이 발생한 사건에서는 우선적으로 곤충 증거와 사건과의 관련성을 입증하고 변수가 될 수 있는 요인들을 배제하는 것이 매우 중요하다. 본 증례에서는 변사자가 장례식장으로 옮겨진 이후 45일이 경과된 후에야 현장에서 변데기 및 변데기 껍질들을 채집하고 간이 기상대를 설치하였으므로 이들만으로는 변사자가 발견될 당시의 상태를 완전히 이해하기 어려운 점이 있어 가장 큰 오차 요인이 되었다고 생각된다. 부검실에서 수거된 구더기들도 장기간의 냉동 보관으로 인하여 대부분 훼손되거나 변색되어 있었다. 다만 현장의 변데기의 분포 상태로 볼 때 발견 직후 냉동 보관된 시신에서 채집된 구더기의 발생 단계보다는 더 진행된 단계의 구더기가 현장에 이미 존재했을 가능성이 크다는 판단 하에 최소 사후 경과시간을 추정하였다. 현장의 구더기 무리의 중심부 온도가 측정되지 못해서 계산에

적용할 수 없었으며[10], 다수의 구더기가 시신과 함께 안치실로 이동한 후 구더기들끼리 몸을 마찰하여 열을 내는 현상(maggot mass effect)으로 얼어붙지 않고 하루 후 최초 부검 때까지 죽지 않고 살아서 성장을 다소나마 지속하였을 가능성을 완전히 배제할 수 없는 점도 오차 요인으로 생각되었다. 본 사례의 우점종인 큰검정뽕금파리의 성장 정보가 전 세계적으로 알려진 바가 없고 다른 2종에 대해서도 적용 가능한 국내 성장 정보가 전혀 없는 실정이다. 따라서 3종 모두 국내에서 조사된 해당 종의 성장 정보를 이용하지 못하고, 근연종 혹은 국외의 성장 정보를 이용하여 산란 시기를 추정한 점도 오차 요인이 될 수 있다.

앞으로 법곤충학에 대한 과학수사 실무에서의 관심도가 높아져서 변사체가 발견된 직후의 현장에서 전문적인 채집이 이루어지고, 구더기 무리 중심부의 온도 측정과 같은 지표들도 수집될 수 있게 되어야 한다. 이와 더불어 국내에서 발견되는 주요 시식성 곤충들의 성장 정보도 확보되어 법곤충학적인 사후 경과시간 추정의 정확성과 정밀성을 높여야 할 것으로 생각된다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgments

Authors would like to appreciate Dr. Cheol Ho Hyeon (Jeonbuk District Police Agency), Mr. Tae Hwa Song (Euijeongbu Police), and Ms. Hye Yeong Jeong for collecting samples from the field and National Forensic Service for providing us with maggot samples. We also would like to thank to Dr. Kiyoshi Saigusa (Iwate Medical University, Japan) and Dr. Shiuh-Feng Shiao (National Taiwan University,

Taiwan) for their precious advice on our examination.

References

1. Kang CS, Park SO, Kim JI, et al. General entomology. 2nd ed. Seoul: Jungmoongak; 2000. p. 233-40.
2. Villet MH, Richards CS, Midgley JM. Contemporary precision, bias and accuracy of minimum post-mortem intervals estimated using development of carrion-feeding insects. In: Amendt J, Goff LM, Campobasso CP, et al., eds. Current concepts in forensic entomology. Dordrecht: Springer; 2010. p. 109-37.
3. Hall M, Whitaker A, Richards C. Forensic entomology. In: Marquez-Grant N, Roberts J, eds. Forensic ecology handbook from crime scene to court. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2012. p. 111-40.
4. Lee RE Jr. A primer on insect cold-tolerance. In: Denlinger DL, Lee RE Jr, eds. Low temperature biology of insects. Cambridge: Cambridge University Press; 2010. p. 3-34.
5. Gennard D. Forensic entomology: an introduction. 2nd ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2012. p. 127-8.
6. Yang ST, Shiao SF. Temperature adaptation in *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya pinguis*, two blow fly species of forensic significance. Entomol Exp Appl 2014;152:100-7.
7. Cui H, Min J. Forensic entomology. Chongqing (CH): Chongqing Publishing House; 2000. p. 155.
8. Anderson GS. Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). J Forensic Sci 2000;45:824-32.
9. Mahat NA, Zafarina Z, Jayaprakash PT. Influence of rain and malathion on the oviposition and development of blowflies (Diptera: Calliphoridae) infesting rabbit carcasses in Kelantan, Malaysia. Forensic Sci Int 2009;192:19-28.
10. Charabidze D, Bourel B, Gosset D. Larval-mass effect: characterisation of heat emission by necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) larval aggregates. Forensic Sci Int 2011;211:61-6.