



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

**POSTGRADO DE FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**

**CURVAS DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LOS PRIMEROS
DÍPTEROS COLONIZADORES DE CADÁVERES (DÍPTERA:
CALLIPHORIDAE) EN TEXCOCO DE MORA, ESTADO DE MÉXICO.**

ITZIRA MAHELÍ CUEVAS GARCÍA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2018

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Itzira Maheli Cuevas García, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Jesús Romero Nápoles, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis

Curvas de crecimiento y desarrollo de los primeros Dípteros colonizadores de cadáveres (Diptera: Calliphoridae) en Texcoco de Mora, Estado de México.

y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 18 de Junio de 2018



Firma del
Alumno (a)



Dr. Jesús Romero Nápoles

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: Curvas de crecimiento y desarrollo de los primeros insectos colonizadores de cadáveres (Díptera: Calliphoridae), en Texcoco de Mora, Estado de México.

Realizada por el (la) alumno (a): Itzira Mahelí Cuevas García.

Bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)



Dr. Jesús Romero Nápoles

ASESOR (A)



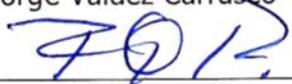
Dr. Hussein Sánchez Arroyo

ASESOR (A)



M. C. Jorge Valdez Carrasco

ASESOR (A)



Dr. Roberto Leonardo Flores Pérez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, mayo de 2018

CURVAS DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LOS PRIMEROS DÍPTEROS COLONIZADORES DE CADÁVERES (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE) EN TEXCOCO DE MORA, ESTADO DE MÉXICO.

**Itzira Mahelí Cuevas García, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018**

RESUMEN

Las moscas de la familia Calliphoridae son principalmente especies necrófagas de importancia médica y forense, ya que pueden provocar miasis y son los principales descomponedores de cadáveres. Es por ello que estudiar su ciclo de vida y sus hábitos es sumamente importante, ya que se ha vuelto una herramienta primordial en el ámbito médico y penal de nuestro país. El estudio se divide en tres partes, en la primera se da una explicación de la Entomología Forense y su importancia; en la parte experimental, durante el primer capítulo se estudiaron seis dietas para la cría de *L. sericata* en laboratorio y se demostró que las dietas sintéticas utilizadas proporcionaron sustratos adecuados para la cría con diferencias significativas entre ellas, en concordancia con las variables analizadas, todas útiles para establecer colonias estables y en continua reproducción; no obstante, gracias a estas diferencias significativas, se establece que, a pesar de desprender olores desagradables, las dietas con sustratos naturales siempre serán las más óptimas para estudiar el ciclo de vida de los insectos, que en el caso de la Entomología Forense es lo que se espera; aunque hay casos en los que dietas sintéticas pueden ocupar su lugar sin mermar la población, además de presentar porcentajes de mortalidad mínimos, por lo que podemos duplicar el número de individuos en un tiempo significativamente menor, lo que sería conveniente en el caso de utilizar las larvas en terapia larvaria. En el segundo capítulo se estudió el efecto de la temperatura sobre el ciclo de vida de las especies *Lucilia sericata*, *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), en donde se comprobó que a menor temperatura el ciclo se alarga, a mayor temperatura, siempre que esté en un rango específico (menor a 30°C) el ciclo se acorta, sobre todo en la etapa larvaria. Se demostró que el hígado de pollo resulta ser un sustrato alimenticio eficaz para desarrollar a las tres especies bajo condiciones de laboratorio y se produjeron las curvas de crecimiento de las tres especies estudiadas, lo que podría ser útil para la realización de dictámenes periciales asociados a la Entomología Forense, ya que, teniendo datos del desarrollo de los insectos, se puede lograr un intervalo posmortem más cercano al real.

Palabras clave: Entomología forense, miasis, dietas sintéticas, cría de insectos.

GROWTH CURVES AND DEVELOPMENT OF THE FIRST INVASIVE FLIES OF CORPSES (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE) IN TEXCOCO DE MORA, STATE OF MEXICO.

**Itzira Mahelí Cuevas García, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018**

ABSTRACT

The flies of the family Calliphoridae are mainly necrophagous species of medical and forensic importance, since they can cause myiasis and are the main decomposers of corpses. That is why studying their life cycle and habits is extremely important, since it has become a primary tool in the medical and criminal field of our country. The study is divided into three parts, the first one gives an explanation of the forensic entomology and its importance; already entering the experimental part, during the first chapter six diets were studied for the breeding of *L. sericata* in the laboratory and it was demonstrated that the synthetic diets used provided suitable substrates for the breeding with significant differences among them, in agreement with the analyzed variables, all useful to establish stable colonies and in continuous reproduction; however, because to these significant differences, it is established that, despite giving off unpleasant odors, diets with natural substrates will always be the best to study the life cycle of insects, which in the case of forensic entomology is what is expected; although there are cases in which synthetic diets can take their place without depleting the population, in addition to presenting minimal mortality percentages, so we can double the number of individuals in a significantly shorter time, which would be convenient in the case of using the larvae in larval therapy. In the second chapter we studied the effect of temperature on the life cycle of the species *Lucilia sericata*, *Cochliomyia macellaria* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), where it was found, that at a lower temperature the cycle lengthens; but at a higher temperature, as long as it is in a specific range (less than 30 °C) the cycle is shortened, especially in the larval stage. It was demonstrated that chicken liver turns out to be an effective food substrate to develop all three species under laboratory conditions and the growth curves of the three species studied were produced, which could be useful for the performance of expert reports associated with the forensic entomology, because having data on the development of insects, a postmortem interval closer to the real can be achieved.

Key words: Forensic entomology, myiasis, synthetic diets, insect breeding

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado el financiamiento para llevar a cabo mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados por la formación académica a través del Posgrado en Fitosanidad-Entomología y acarología.

Al Dr. Hussein Sánchez Arroyo, por haber aceptado mi proyecto en un principio a pesar de no conocerme, por su paciencia, apoyo y dedicación durante los dos años regulares del posgrado. Muchas gracias Doctor.

Al Dr. Jesús Romero Nápoles por haber accedido a guiarme en la última etapa de mi posgrado a pesar de no contar con información suficiente y tener el tiempo encima. Agradezco su confianza, consejos, paciencia, disposición y llamados de atención, lo admiro demasiado.

Al Dr. Leonardo Roberto Flores Pérez, por haber sido una inspiración para mí desde hace varios años ya. Gracias a usted me acerqué a la Entomología Forense, empecé a tomarle cariño, volviéndola mi vida entera. De no haberlo conocido, no tendría la experiencia y conocimiento necesarios para ahora ser perito forense en entomología. Gracias por siempre creer en mí, por no abandonarme, por su paciencia, sus enseñanzas, sus jalones de orejas; porque a pesar de no estar en contacto siempre, hay un gran aprecio, respeto y absoluta admiración. Y, sobre todo, muchas gracias por su amistad. Siempre lo tendré presente.

Al M. C. Jorge Valdez Carrasco, por haberme enseñado morfología como nadie, estar siempre presente cuando lo necesito para guiarme académicamente o darme un consejo. Porque siempre tiene palabras de aliento y motivación, por creer en mí,

por considerarme una gran alumna a pesar de las adversidades, por su paciencia, disposición y calidez. Muchas gracias profe, es el mejor.

Al personal administrativo del Instituto de Fitosanidad, sobre todo a mi querida Silvia, que siempre estuvo preocupada porque mis trámites salieran a tiempo, me dio consejos, me mantuvo al tanto y me llamó la atención cuando era necesario. Más que parte del personal, yo te veo como una amiga. Muchísimas gracias.

DEDICATORIA

A mi padre el Ing. Héctor Fermín Cuevas Contreras, eres mi soporte, mi apoyo y aunque no soy quien tu esperabas, sé que me amas y nunca me dejas sola. Gracias papá. Eres un gran ejemplo de constancia, bondad y humildad. Te amo.

A mis hermanos, Narayani Isabel Cuevas García y Héctor Abraham Cuevas García, que, aunque somos absolutamente diferentes, sé que creen en mí. Ni la distancia logra que deje de sentir ese apoyo. Los amo. Estoy orgullosa de ustedes, como sé que lo están de mí.

A mi segunda madre, mi tía Erika Leonor García Hernández y la niña de mis ojos, Kisai Rosas García, por ser mi apoyo moral en todo momento. Sé que son las personas que más confían en que llegaré lejos. Las amo y extraño demasiado.

A quienes se volvieron mi familia y siempre lo serán, Valeria Martínez Huitrón y Emma Xiadani Juárez Martínez. Llegaron a cambiar mi vida, a llenarla de colores, contrastes, emociones y felicidad. No duden que siempre estaré ahí. Mi amor con ustedes siempre.

A mi mejor amiga Carolina Álzaga Gómez, gracias por estar siempre para escucharme, por esos abrazos apretados e interminables; por tus visitas cuando estaba a punto de enloquecer, por tu amor, incondicional, fraternal e incalculable.

Gracias. A todos mis amigos, mis compañeras de casa, conocidos, que han soportado mi histeria y estrés, teniendo siempre una sonrisa para mí, los adoro.

Y en especial a Ángela Gisela Bejarano Cárdenas, mi compañera de vida, de aventuras, de derrotas y triunfos. Muchas gracias por el apoyo incondicional, por el amor indiscriminado y el soporte que me das. Sabes que te amo.

“Puedes besar y despedirte de tu familia y amigos poniendo kilómetros de por medio entre vosotros, pero ellos siguen contigo en tu corazón, tus pensamientos y tus vísceras. Porque tú no solo vives en un mundo, sino que un mundo vive en ti.”

Frederick Buechner

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA	viii
LISTA DE CUADROS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
Entomología forense.....	4
Historia de la Entomología Forense.....	5
Descomposición cadavérica.....	11
Fenómenos de transformación.....	11
Estados de descomposición e insectos asociados.....	12
Factores que aceleran o retardan la descomposición.....	13
Insectos de importancia forense.....	14
Categorías de insectos asociados a cadáveres.....	14
Órdenes de importancia forense.....	15
Métodos para la determinación de la data de muerte, asociados a la entomofauna cadavérica. Factores a considerar en el cálculo del intervalo postmortem.....	16
Sucesión de especies en un cadáver.....	18
CAPÍTULO I. ARTÍCULO: SELECCIÓN DE DIETAS Y SUSTRATOS PARA EL DESARROLLO DE LAS CURVAS DE CRECIMIENTO, LONGEVIDAD Y MORTALIDAD DE <i>Lucilia sericata</i> (MEIGEN) (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE) .	25
1.1. RESUMEN	25
1.2 SUMMARY	27
1.3. INTRODUCCIÓN	28
1.4. MATERIALES Y MÉTODOS	31
1.4.1. Preparación y composición de las dietas.....	31

1.4.2. Insectos.	31
1.4.3. Datos del desarrollo biológico de <i>L. sericata</i>	33
1.4.4. Análisis estadístico.	34
1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
1.5.1. Duración del ciclo de vida de <i>L. sericata</i> en las seis dietas.	35
1.5.2. Análisis de las curvas de crecimiento de <i>L. sericata</i> con las diferentes dietas.	37
1.5.3. Análisis de la mortalidad de <i>L. sericata</i> con las diferentes dietas.	40
1.6. CONCLUSIONES.	41
1.7. LITERATURA CITADA	42
CAPITULO II. CURVAS DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LOS PRIMEROS DÍPTEROS COLONIZADORES DE CADÁVERES (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE) EN TEXCOCO DE MORA, ESTADO DE MÉXICO.	46
2.1. RESUMEN	46
2.2. SUMMARY.....	47
2.3. INTRODUCCIÓN	48
2.4.1. Los Calliphoridae y su importancia en la Entomología Forense....	51
2.4.2. Taxonomía de la familia Calliphoridae.....	52
2.4.3. Biología de Calliphoridae.....	53
2.4.3.1. Huevo.....	54
2.4.3.2. Larva.....	54
2.4.3.3. Pupa.....	55
2.4.3.4. Adulto.	55
2.4.4. Especies de importancia forense presentes en Texcoco de Mora, Estado de México.	56
2.4.5. características de las especies de interés en el estudio.....	56
2.4.5.1. <i>Lucilia sericata</i>	56
2.4.5.2. <i>Cochliomyia macellaria</i>	57
2.4.5.3. <i>Chrysomya rufifacies</i>	58

2.4.6. Curvas de crecimiento.	59
2.4.7. Las moscas y su cría en laboratorio.	60
2.4.8. La Entomología Forense en México y su vinculación institucional.	60
2.5. MATERIAL Y MÉTODOS	61
2.5.1. Insectos.	61
2.5.2. Muestras	62
2.5.3. Datos del desarrollo biológico.	62
2.5.4. Análisis estadístico.	63
2.6. RESULTADOS	63
2.7. DISCUSIÓN	75
2.8. CONCLUSIONES	77
2.9. LITERATURA CITADA	79
CONCLUSIONES FINALES.	83

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de las dietas usadas para comparar el ciclo de vida de <i>L. sericata</i>	34
Cuadro 2. Longevidad del ciclo de vida de <i>L. sericata</i> en horas con las diferentes dietas.	35
Cuadro 3. Longevidad en horas de cada etapa del ciclo de vida de <i>L. sericata</i> en las distintas dietas (promedios de las 3 repeticiones).	38
Cuadro 4. Desarrollo del ciclo de vida de <i>L. sericata</i> (horas acumuladas) en las distintas dietas.....	39
Cuadro 5. Mortalidad de <i>Lucilia sericata</i> en las distintas dietas.	40
Cuadro 6. Duración del ciclo de vida a 27 +/- 2°C (horas acumuladas).....	64
Cuadro 7. Duración del ciclo de vida a 23°C (horas acumuladas).....	65
Cuadro 8. Duración del ciclo de vida a 15°C (horas acumuladas).....	66
Cuadro 9. Crecimiento promedio de las larvas a 27 +/- 2°C.....	69
Cuadro 10. Crecimiento promedio de las larvas a 23°C +/- 2°C.....	70
Cuadro 11. Crecimiento promedio de las larvas a 15°C +/- 2°C.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Adulto de <i>Lucilia sericata</i>	32
Figura 2. Larva de <i>Lucilia sericata</i>	33
Figura 3. Longevidad del ciclo de vida de <i>Lucilia sericata</i> en las distintas dietas.	36
Figura 4. Análisis de varianza (anava)	36
Figura 5. Comparación de medias de Tukey.....	37
Figura 6. Desarrollo de <i>Lucilia sericata</i> (horas acumuladas) en las distintas dietas.	39
Figura 7. <i>Lucilia sericata</i> . A. Larva; B. Adulto.....	57
Figura 8. <i>Cochliomyia macellaria</i> . A. Larva; B. Espiráculos posteriores; C. Espiráculos anteriores; D. adulto.	58
Figura 9. <i>Chrysomya rufifacies</i> . A. Larva de tercer instar; B. Adulto.....	59
Figura 10. Horas acumuladas según la etapa de crecimiento a 27 +/-2°C	64
Figura 11. Horas acumuladas según la etapa de crecimiento a 23 +/-2°C	65
Figura 12. Horas acumuladas según la etapa de crecimiento a 15 +/-2°C	67
Figura 13. Desarrollo del ciclo de vida de <i>Lucilia sericata</i> en las distintas temperaturas ..	67
Figura 14. Desarrollo del ciclo de vida de <i>Cochliomyia macellaria</i> en las distintas temperaturas	68
Figura 15. Desarrollo del ciclo de vida de <i>Chrysomya rufifacies</i> en las distintas temperaturas	68
Figura 16. Curvas de crecimiento (milímetros/horas) de <i>Lucilia sericata</i>	72
Figura 17. Curvas de crecimiento (milímetros/horas) de <i>Cochliomyia macellaria</i>	72
Figura 18. Curvas de crecimiento (milímetros/horas) de <i>Chrysomya rufifacies</i>	73
Figura 19. Desarrollo larvario de <i>Lucilia sericata</i> . A. Larva de primer instar; B. Larva de segundo instar; C. Larva de tercer instar.	73
Figura 20. Desarrollo larvario de <i>Cochliomyia macellaria</i> . A. Larva de tercer instar; B. Larva de segundo instar; C. Larva de primer instar.	74
Figura 21. Desarrollo larvario de <i>Chrysomya rufifacies</i> . A. Larva de primer instar; B. Larva de segundo instar; C. Prepupa; D. Larva de tercer instar.....	75

INTRODUCCIÓN GENERAL

La Entomología Forense es una disciplina prácticamente ignorada en México. Los avances, que desgraciadamente son escasos, se han obtenido en países de primer mundo, que son los que han logrado descubrir el impacto que tiene sobre las investigaciones y los procesos que llevan a un cadáver a su descomposición.

Existen varias definiciones de Entomología Forense, las más aceptadas son las de Catts & Goff (1992), Anderson (1997), Catts & Haskell (1997) y Byrd & Castner (2001), porque coinciden en el uso de los insectos y otros artrópodos como herramienta y evidencia en asuntos legales. Lord y Stevenson (1986) subdividen a la entomología forense en tres áreas: urbana, de productos almacenados y “médico legal” o “médico forense”. Esta última, normalmente se conoce como entomología medico criminal, debido a su énfasis en la utilidad de artrópodos como evidencia para resolver crímenes, a menudo violentos.

La Entomología Forense, es la encargada de interpretar la información que proporciona la entomofauna cadavérica y estudia el micro ecosistema que conforma un cadáver en descomposición. La entomología medico criminal involucra la estimación del tiempo de muerte (intervalo postmortem –IPM- o cronotanodiagnóstico), y con menos frecuencia el lugar donde ocurrió la muerte. En ese sentido, la Entomología Forense está unida con los campos científicos más amplios de Entomología Médica, Antropología, Taxonomía, Patología Forense, entre otras (Catts & Haskell, 1997; Benecke, 1998; Campobasso & Introna, 2001). Es así que, la Entomología Forense representa una ayuda invaluable en casos de cuerpos muy descompuestos, como ocurre en las muertes por homicidio, muerte repentina como las anafilaxias por picaduras de abejas, accidentes de tránsito, etc., donde los restos humanos son colonizados por insectos.

Con tal finalidad, se deben seguir dos enfoques principales: el primero, consiste en la observación del desarrollo de los insectos de acuerdo a la temperatura (generalmente el de las moscas); y el segundo, está representado por el

reconocimiento de la sucesión predecible de artrópodos que facilitan la descomposición de la materia orgánica, incluyendo los cuerpos humanos o cadáveres de animales.

La sucesión de fauna cadavérica está vinculada a los cambios naturales que se originan en un organismo después de la muerte. En medicina forense, los procesos que ocurren en un cuerpo sin vida están divididos en fenómenos cadavéricos o fenómenos abióticos y fenómenos de transformación, que pueden ser destructores o conservadores, pero la Entomología Forense se centra en los fenómenos de transformación, ya que dentro de éstos se encuentra la actividad de la entomofauna (Vázquez, 2007).

El cadáver es un recurso trófico, el cual induce una sucesión de colonizaciones con diferente composición faunística, debido al rol que desempeña cada una y por su llegada de acuerdo a la etapa de descomposición. Este proceso es dependiente casi en su totalidad de un gran cúmulo de variables como la temperatura, la humedad relativa, el tipo de vegetación, el pH del suelo, la temporada estacional y las circunstancias de la muerte, por lo que en los últimos años el objetivo fundamental de la Entomología Forense se ha enfocado hacia el estudio del comportamiento de estas oleadas necrófagas con respecto a tales factores, y dirigido principalmente hacia la determinación del I.P.M. (Mavarez *et al.*, 2005).

Para Mark Benecke (2002), el término "Intervalo de colonización" sería más adecuado que I. P. M., porque, un cadáver podría haber sido colocado en un medio ambiente especial, o en condiciones en las que el acceso de los insectos sea restringido (por ejemplo, muy frío, lluvioso, herméticamente sellados, con envolturas, etc.).

En la actualidad, existe un gran número de investigaciones que tratan sobre Entomología Forense. Como resultado de estos esfuerzos, ha adquirido una gran importancia dentro del campo de la Medicina Legal en países como Estados Unidos, Canadá, Tailandia, Italia, España y Alemania. Estos trabajos, están sujetos a las

condiciones ambientales características de cada uno de esos países, donde hay cuatro estaciones anuales bien definidas, las cuales *per se* presentan especies y actividad artrópoda propias, de ahí la importancia de hacer este tipo de estudios en cada región y clima específico.

Según Goff *et al.* (2004) y Flores (2009), los primeros insectos en llegar a un cadáver son las moscas (dípteros) de las familias Calliphoridae y Sarcophagidae. Las hembras adultas inspeccionan el cadáver, se alimentan con frecuencia de él y, según la especie, deposita huevos o larvas alrededor de las aberturas naturales del cuerpo (orificios nasales, conducto auditivo, boca, ano) e incluso en las orbitas oculares.

Por lo anterior, el estudio de la comunidad de insectos que colonizan a un cuerpo sin vida tiene relevancia, tanto en el aspecto de su estructura como en la sucesión de especies a lo largo del proceso de descomposición de un cadáver. Esto, que constituye el objeto de estudio de la Entomología Forense; resulta una ciencia poco desarrollada en México y que, sin embargo, puede aportar pruebas cruciales en la resolución de investigaciones criminales.

La Entomología, como todas las ciencias biológicas, por su propia naturaleza no pueden ser exactas, y es el paso de los años y la contundencia de sus conclusiones, las que hacen que su valía y trascendencia vayan siendo aceptadas y respetadas por los neófitos en general y de manera particular (en el ámbito legal) por los abogados. Por lo anterior, el estudio de la comunidad de insectos que colonizan o se alimentan de un cadáver, tiene relevancia, tanto en el aspecto de su estructura como en la sucesión de especies a lo largo del proceso de descomposición. Esto, que constituye el objeto de estudio de la Entomología Forense; resulta una especialidad poco desarrollada en México y que, sin embargo, puede aportar pruebas cruciales en la resolución de investigaciones criminales

ENTOMOLOGÍA FORENSE (MÉDICO-CRIMINAL)

Entomología forense.

Autores como Catts & Goff (1992), Anderson (1997), y Hall (2001) coinciden al definir a la Entomología Forense como aquella que se encarga del estudio de los insectos asociados a cadáveres, disciplina en donde la ciencia de los artrópodos interactúa con el sistema de procuración de justicia.

Pancorbo *et al.* (2006), mencionan que la Entomología Forense es el estudio de los insectos asociados a un cuerpo muerto; una herramienta científica aplicada al estudio de la sucesión de insectos o artrópodos en la escena de un crimen o de una muerte accidental o natural, cuyo principal objetivo es establecer la estima del intervalo post-mortem (IPM).

La Entomología Forense está dividida en tres áreas: Entomología Urbana, la cual trata de procedimientos legales que involucran insectos y animales relacionados que afectan las construcciones y el entorno del hombre; Entomología de Productos Almacenados, que se relaciona con los procedimientos que incluyen insectos que infestan comida, como cereales y otros productos de cocina; Entomología Médico Legal o Médico Forense, conocida comúnmente como Entomología Médico Criminal, debido a su énfasis en la utilidad de artrópodos como evidencia en la resolución de crímenes (Byrd & Castner, 2001).

La Entomología Médico Criminal también puede tratar casos de muerte súbita por picadura de algún artrópodo, casos de abandono de personas y negligencia (Flores, 2009).

Cuando se tiene un hallazgo de restos humanos, lo primero que se plantea es la estimación del tiempo de muerte o intervalo postmortem (IPM) y con menor frecuencia, la causa y el lugar donde ocurrió la muerte. Históricamente, la determinación del IPM se ha estimado a través de la observación y medición de las condiciones en las que se encuentran los restos, parámetros como la temperatura, flacidez muscular, rigor mortis, lividecens, tono de piel, entre otros (Nelson, 1999);

pero cuando estas características no se pueden medir, por las condiciones de descomposición del cadáver, la evidencia entomológica juega un papel importante, tanto en estados tempranos de descomposición, como en estados tardíos (Greenberg, 1991).

Historia de la Entomología Forense.

Viajando a través del tiempo nos recuerdan la íntima asociación entre el hombre y las moscas, identificable casi al alba de la historia grabada. Las cantidades de basura que arrojan los humanos, y la carnicería de la guerra desplazan grandes colonias de moscas. Ellas viven de la muerte, de los restos, de la putrefacción.

“La madre de Aquiles, Thetis, la diosa le dio la respuestas: "Debes hacer el esfuerzo para alejar de él a las que están pululando, esas cosas feroces, esas moscas que comen en los cuerpos de los hombres que han perecido... “

(Homero, La Ilíada).

El primer referente claro a los moscardones se publicó hace más de 3600 años en el Har-ra-Hubulla, una colección de escrituras cuneiformes en arcilla. La lápida XIV es un inventario sistemático de animales terrestres salvajes de la época de Hammurabi, y está basado en unas listas Sumerias aún más antiguas. Es el libro conocido más viejo en la zoología. En él hay 396 nombres de animales inscritos en Acaciano cuneiforme en lápidas de arcilla, aproximadamente en 10 están las moscas. Esta es la primera mención de la mosca "verde" (probablemente *Lucilia sericata* o *Chrysomya albiceps*, y la mosca azul (posiblemente una *Calliphora sp.*). Estas listas pueden ser la fuente para el pasaje en Génesis dónde Dios "formó cada bestia del campo y cada ave del aire y los trajo hacia el hombre... Y el hombre dio los nombres a todo el ganado, y al ave del aire, y a cada bestia del campo" (Génesis 3:19,20).

En nuestro tiempo puede despreciarse a la mosca, pero, entre los antiguos la mosca parece haber engendrado un tipo de reverencia. Un cilindro, del Babilónico Viejo o el período de Kassite temprano (c. 1700 a 1400 BCE) pinta una mosca con el dios

Nergal que sostiene una cimitarra. Se pintaron otras criaturas pequeñas como los saltamontes y ranas en estos cilindros, pero se deificaron las moscas. En Egipto antiguo la mosca simbolizó también el impudente, el persistente y el valor, un collar de moscas de más puro oro se otorgaba a los soldados que se distinguían en la batalla. (Porada, 1948)

Las aplicaciones forenses de los insectos en la escena del crimen más antiguas son:

La primera esta datada entre 907 y 960 d. C. y fue descrita por Cheng (1890). Un Funcionario de la policía judicial escucho el lamento de una mujer, y le preguntó lo que había pasado. La mujer dijo que su marido se mató por el fuego, pero, el funcionario descubrió muchas moscas arracimadas en la cabeza del cadáver. Al hacer autopsia, encontraron una protuberancia en la cabeza. La mujer confesó que ella y un hombre lo habían asesinado.

En 1247, Tz'u, publica una relación de una investigación de asesinato en una zona rural. Un hombre se encontró muerto en el camino con numerosas heridas en su cabeza que parecían haber sido hechas por una hoz. Un investigador congregó a los hombres del pueblo y los alineó con sus hoces delante de ellos. Era verano y las moscas numerosas. El investigador fue por la línea de arriba abajo y finalmente detuvo delante de un hombre, tomó la hoz y lo acusó del asesinato que el hombre negó. Cuando fue confrontado por el investigador, del hecho de que la única hoz con moscas arracimadas era la suya, entonces el hombre confesó. No había lavado completamente la hoz, para engañar a las moscas (McKnight, 1981).

El siguiente caso ocurrió en el decimoctavo siglo: "Un comerciante fue muerto y su seda robada en el camino. El policía que estaba a cargo de investigación, después de dos días vio en un barco que había moscas sobre la seda lavada; los hombres fueron arrestados por los policías y fueron condenados porque la seda tenía los rastros de sangre" (Cheng, 1890).

En el siglo XIX, En Europa, el estudio de cadáveres en descomposición puso el fundamento científico, pero, no se unió a las moscas con los asesinatos. Orfila (1848), enlistó 30 insectos y otros artrópodos que visitaban un cadáver para alimentarse y poner huevos. Él incluyó *C. vomitoria*, *Lucilia caesar*, *Musca doméstica* y *Sarcophaga carnaria*, y varias especies de escarabajos. Motter (1898) y Hough (1897), pudieron haber sido los primeros en sistematizar el conocimiento de sucesión de los artrópodos en un cadáver humano. Bergeret (1855) da crédito a Orfila por notar la presencia de insectos en los cadáveres, los estudios de Orfila aportaron al desarrollo médico legal, cuando él participó en el caso siguiente: En marzo de 1850, el cuerpo momificado de un infante se descubrió en un espacio abierto en la pared de una chimenea. Durante los tres años anteriores, cuatro familias rentaron consecutivamente el apartamento. ¿Cuál era culpable? Al investigar Bergeret encontró que el bebé hubo nacido a término, pero no había ninguna evidencia de la causa de muerte. Encontró un gran número de pupas vacías en varias cavidades del cuerpo, que él determinó como *Musca (=Sarcophaga) carnaria*. Basado en que él conocía sus hábitos, concluyó que esas larvas fueron depositadas en el cuerpo poco después la muerte del infante en 1848, y los imagos (adultos) salieron el año siguiente. Los insectos habían entrado a través de una fisura diminuta en los ladrillos, bastante para ellos y el aire circulante. Esto dio como resultado, la momificación gradual del cuerpo y la infestación subsecuente con larvas de la polilla de la ropa. La reconstrucción de Bergeret de la historia natural de los insectos llevó a la exoneración de tres familias. Su trabajo fue una contribución importante a la, hasta entonces ignorada, Entomología Forense. Era el uso sistemático de eventos de ciclo de vida de las dos especies en el cuerpo que habilitó la estimación del tiempo de muerte. (Greenberg & Kunich, 2002).

Jean Pierre Megnin (1894), realizó estudios entomológicos en cadáveres en Paris, Francia; agrupando a los insectos en periodos delimitados de descomposición cadavérica, denominando cada uno de ellos "CUADRILLAS DE LA MUERTE". Estableció ocho cuadrillas:

Primera Cuadrilla: Está formado por Dípteros, moscas de la especie *Musca domestica* y *Curtonevra*, en un primer momento, y luego de otras moscas, *Calliphora vomitoria* (Mosca azul de la carne) y *Anthomya Vicina*. Que solo arriban a los cadáveres frescos y en ocasiones en el periodo agónico.

Segunda Cuadrilla: Integrada por moscas *Lucilia sp.* (Mosca Verde) y *Sarcophaga* (*carnaria*, *arvensis* y *latricus*), que se presentan a partir del momento en que el olor cadavérico se desprende, ello es, cuando se instala la putrefacción en su fase gaseosa.

Tercera Cuadrilla: Se presenta en el periodo de putrefacción butílica, es decir, cuando existen grasas acidificadas, de tres a 6 meses después de la muerte. La componen coleópteros (*Dermestes*, *Lardarius*, *Frischii* y *undulatus*) y lepidópteros (*Aglossa pinguinalis* o polilla de la grasa).

Cuarta Cuadrilla: Corresponde al periodo de putrefacción butírica y gaseosa, es decir, de grasas y proteínas acidificadas. La componen dípteros y coleópteros (*Anthomya vicina*, *Piophilha casei* y *petasionis*, *corynetes* o *Necrobia*, *ruficollis*, *coeruleus*, *rufites* y *violaceus*).

Quinta Cuadrilla: es atraída por la fermentación amoniaca del cadáver. Se compone de dípteros de los géneros *Tyreophora* (*cynohila*, *anthropophaga* y *furcata*), *Lonchea nigrimana*, *Ophyra* (*cadaverina* y *leucostoma*), *Phora aterrima*, y también de coleópteros de los géneros *Necróphorus humator* o *Necróphorus fosor*, *Sylpha* (*littoralis* y *obscura*), *Hister cadaverium* y *Saprinus rotundatus*.

Sexta Cuadrilla: Se encarga de absorber los humores líquidos que dejan las cuadrillas anteriores por los que desecan y pueden llegar a momificar los tejidos orgánicos aun existentes. Se trata de ácaros de los géneros *Serrator* (*amphybius* y *necrophagus*) Tiroglifinos (*Entomophagus faringe*, *longeor*, *myophagus*, *siculus*, *siro* y *urophurus*) *Carpoglyphus*, *Caedpophagus* o *Tyroglyfus*, *Echinopus*, *Glisiphagus* (*cursor* y *spinipes*), *Uropoda numularia* y *Trachynotus cadaverium*.

Séptima Cuadrilla: se presentan cuando quedan únicamente restos momificados que no permite que actúen los fermentativos. Corresponden a Coleópteros (*Attagenus Pellio* y *Anthrenus museorum*) y *Microlepidopteros* (*Aglossa sp.*).

Octava Cuadrilla: integrada por coleópteros de la familia *Tenebrionidae* y *Ptinus brummeus*.

Durante muchos años en determinados ambientes, se pensaba que al morir una persona las larvas que aparecían en el cadáver para devorarlo lo hacían por generación espontánea, o bien salían del propio cadáver. Estas creencias perduraron hasta que Francisco Redi, un naturalista del Renacimiento se propuso demostrar de una forma científica que estas larvas procedían de insectos, los cuales depositaban sus huevos para que se desarrollasen sobre el cadáver.

Para ello, realizó el siguiente experimento: expuso al aire libre un gran número de cajas descubiertas y en cada una de ellas depositó un trozo de carne, unas veces cruda y otra cocida, para que las moscas atraídas por el olor vinieran a desovar sobre ellas.

A las diversas carnes acudieron las moscas y desovaron ante la presencia de Redi que observó cómo estos huevos depositados por los insectos se transformaban primero en larvas, después en pupas y por último cómo salían los individuos adultos. Distinguió cuatro tipos de moscas: Moscas azules (*Calliphora vomitoria*); moscas negras con franjas grises (*Sarcophaga carnaria*); moscas análogas a las de las casas (*Musca domestica* o quizás *Curtonevra stabulans*), y por fin moscas de color verde dorado (*Lucilia caesar*).

Pero, como es lógico todo experimento tiene su contraprueba. Para ello, las mismas carnes se colocaron en cajas, pero, esta vez cubiertas con una gasa, a fin de que también se produjese en ellas la putrefacción, y sin embargo, las moscas no tuviesen acceso a ellas. Redi vio que evidentemente las carnes se corrompían, no obstante, que no aparecía sobre ellas ninguna larva. También observó que las hembras de las moscas intentaban introducir la extremidad del abdomen por las

mallas tratando de hacer pasar a través de ésta sus huevos y que algunas moscas no depositaban huevos, sino larvas vivas, dos de las cuales pudieron introducirse a través del tejido.

Redi también demostró que las moscas no cavan la tierra y que las lombrices de tierra en ningún caso se alimentan de los cadáveres enterrados.

Sin embargo, no fue hasta 1850 cuando Bergeret comenzó a utilizar de una forma más o menos continua y seria la entomología como ayuda en la medicina legal. Él, junto con Orfila y Redi, realizaron estudios que fueron el punto de partida para que Brouardel solicite el concurso de Megnin, quien amplió y sistematizó la Entomología Forense.

La primera publicación se realizó en "La Gazette hoddomaire de medicine et de chirugie" en un artículo titulado "De l'application de l'entomologie à la médecine légale", y después en una comunicación a la Academia de Ciencias, en 1887, bajo el título de "La Faune des Tombeaux".

Aunque, el auténtico nacimiento de la Entomología Médico – legal tuvo lugar en 1894 con la publicación de "La Fauna de los Cadáveres. Aplicación de la Entomología a la Medicina Legal".

Los diferentes grupos de artrópodos fueron definidos por Megnin como "escuadrillas de la muerte". Según el autor, estas escuadras son atraídas de una forma selectiva y con un orden preciso: tan preciso que una determinada población de insectos sobre el cadáver indica el tiempo transcurrido desde el fallecimiento.

El período posterior a Megnin.- Esta representado por Schauenstein (1899), A Lacassagne (1906), V. Balthazard (1912), A. Cavidalli (1922), L. Thoinot (1923), Surcouf (1924), G. Alesandri (1927), F. Porta (1929), A. Della Volta (1938), C. Simonin (1947), R. Royo Villanova (1953), L. Lopez Gomez et. Al. (1961).

En el año 1978, Leclercq publicó "Manual de Entomología Forense": A partir de ese momento la trayectoria de la Entomología Forense ha venido en ascenso.

En la actualidad entre los trabajos más destacados están: *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, publicado en el 2001 por Jason Byrd y James Castner. Así mismo “*Insects and Corseps*” de Mark Benecke ha contribuido a la Entomología Forense. Destaca en importancia el texto escrito por Greenberg y Kunich, titulado “*Entomology and the Law*”, donde se describen la morfología de las larvas de las moscas de importancia forense a lo largo del continente americano (Yussef, 2007).

Descomposición cadavérica.

La sucesión de fauna cadavérica está vinculada a los cambios naturales que se originan en un organismo después de la muerte. En medicina forense, los procesos que ocurren en un cuerpo sin vida están divididos en fenómenos cadavéricos o fenómenos abióticos y fenómenos de transformación, que pueden ser destructores o conservadores, pero la Entomología Forense se centra en los fenómenos de transformación, ya que dentro de estos se encuentra la actividad de la entomofauna (Vázquez, 2007).

Fenómenos de transformación.

Autólisis: es la disolución de los tejidos producida por enzimas proteolíticas que se encuentran en los lisosomas, que, al empezar la muerte celular, se liberan las enzimas al destruirse la membrana lisosómica (Flores, 2009).

Putrefacción cadavérica: es la descomposición de la materia orgánica del cadáver, es el proceso de fermentación pútrida producida por las bacterias que se encuentran en el intestino, y que después de la muerte se propagan por la sangre. Las bacterias responsables se desarrollan en la materia orgánica, produciendo enzimas que actúan selectivamente sobre proteínas, grasas y carbohidratos, dando lugar a modificaciones del cadáver que conducen a su destrucción (Calabuig & Villanueva, 2004). La putrefacción se manifiesta, en climas templados, entre los 17°C a 24°C en cuatro periodos:

Periodo cromático. Se aprecia una mancha verde abdominal de color verde, en la piel de la fosa iliaca derecha, debido a que los clostridios y coliformes descomponen la hemoglobina en compuestos azufrados de color verde, que tiñen la piel. Este periodo se manifiesta entre las 24 a 36 horas del fallecimiento (Simonin, 1980).

Periodo enfisematoso. Se presenta por la producción de gran cantidad de gases derivados del metabolismo propio de las bacterias, que abomban y deforman el cadáver. La infiltración gaseosa invade el tejido celular subcutáneo, se hincha la cabeza, los párpados se hacen prominentes, los genitales adquieren volúmenes importantes, el abdomen se distiende, la red venosa se hace muy aparente adquiriendo una coloración negruzca o verduzca de la piel. Este fenómeno se puede observar a las 48 horas, completándose en un término aproximado de siete días (Simonin, 1980).

Periodo colicuativo: en esta etapa el tejido blando se licuo, el cadáver adopta un aspecto acaramelado entre 2 a 4 semanas; los órganos se reblandecen y se licuan, durando entre 8 a 10 meses. La próstata y el útero son los órganos más resistentes a esta fase (Calabuig & Villanueva, 2004).

Periodo de reducción esquelética: en término medio de 2 a 3 años, pudiendo ser hasta 5 años, todas las partes blandas desaparecen a través de la licuefacción, los elementos mas resistentes suelen ser los del tejido conectivo como cartílago, tendones, ligamentos. Puede el esqueleto avanzar hasta la pulverización en un tiempo de 50 años, inhumado; si el cadáver se encuentra a la intemperie, la pulverización puede presentarse en 5 años (Knight, 1999).

Estados de descomposición e insectos asociados.

Estado fresco. Los primeros insectos en llegar son las moscas de la familia Calliphoridae y Sarcophagidae. Las hembras adultas inspeccionan el cadáver, se alimentan con frecuencia de él y, según las especies, depositan huevos o larvas alrededor de las aberturas nasales. Éstas serán, en principio, las asociadas con la cabeza y región ano genital (Goff *et al.* 2004).

Estado hinchado. En este estado, la temperatura interna se eleva por el efecto combinado de los procesos de descomposición bacteriana y la metabólica de las larvas de dípteros. Los califoridos son atraídos al cuerpo durante este estado. Según se va hinchando el cuerpo, los fluidos salen por las aberturas nasales y se precipitan al suelo. Estos fluidos, junto con otros productos derivados de la actividad metabólica de larvas de dípteros, provocan una alcalinización del suelo subyacente al cadáver. Y la fauna edáfica normal desaparece (Goff *et al.*, 2004).

Descomposición activa. En este estado, las larvas de dípteros son los insectos predominantes, y forman grandes masas alimentándose. Mientras que algunas formas depredadoras como los escarabajos, avispas y hormigas, estaban presentes en el estado hinchado, al final del estado de descomposición activa, se observan tanto necrófagos como depredadores en gran número. Hacia el final de este estado, la mayoría de los Calliphoridae y Sarcophagidae han completado su desarrollo y abandonan el cuerpo para pupar; en esta etapa, los restos suelen sufrir una repentina pérdida de humedad. Las larvas de dípteros habrían eliminado la mayoría de los tejidos blandos del cuerpo al final de este estadio (Flores, 2009).

Descomposición avanzada. Conforme los restos se van reduciendo a piel, cartílago y hueso, los dípteros dejan de ser las especies predominantes. A lo largo de este estadio, diversos coleópteros resultan ser los más predominantes. (Flores, 2009).

Restos secos. Este estado se alcanza cuando solo quedan pelo y huesos. No aparecen insectos claramente asociados y se produce una vuelta gradual de la fauna edáfica normal en el suelo subyacente. No existe un momento final definido para esta fase, las variaciones de la fauna edáfica pueden detectarse meses e incluso años después de la muerte, en función de las condiciones locales (Goff, 1992).

Factores que aceleran o retardan la descomposición.

Todos los periodos de la descomposición cadavérica pueden verse afectados por los siguientes factores:

- Circunstancias de la muerte (si fue o no violenta).
- Condiciones del cuerpo anteriores a la muerte (toxicología, heridas, envolturas).
- Temperatura ambiental.
- Humedad relativa ambiental.
- Tipo de suelo en el que se produce la putrefacción (presencia de microorganismos)
- Insectos y otros artrópodos (accesibilidad, especies).
- Otros animales (carroñeros).

Debido a la gran dificultad para calcular la tasa de descomposición por el crecimiento bacteriano, existe un gran número de estudios sobre el efecto de los insectos necrófagos en restos humanos encontrados al descubierto.

En los cadáveres se produce una progresión sucesiva de artrópodos que utilizan los restos en descomposición como alimento y como extensión de su hábitat. Esta sucesión de artrópodos es predecible ya que cada estadio de la putrefacción de un cadáver atrae selectivamente a una especie determinada. Aunque el papel de las diferentes especies de artrópodos es variable y no todas participan activamente en la reducción de los restos (Calderón *et al.*, 2005).

Insectos de importancia forense.

Desde que Bergeret hizo la primera determinación del momento de la muerte de un individuo basándose en el desarrollo de larvas y pupas, el análisis de la entomofauna como evidencia criminal ha adquirido cada vez mayor reconocimiento.

Categorías de insectos asociados a cadáveres.

Especies necrófagas. Son los insectos que se alimentan del cuerpo. Incluyen muchos de los dípteros y coleópteros. Las especies de este grupo pueden ser las más significativas para estimar el intervalo postmortem en los primeros estadios de descomposición (Flores, 2009).

Especies parásitas y depredadoras de los necrófagos. Es el segundo grupo más significativo de los insectos asociados a los cadáveres, incluye himenópteros y coleópteros que son necrófagos en los primeros estados de su desarrollo y se vuelven depredadores en los últimos estadios de su desarrollo (Goodbrod & Golf, 1990).

Especies omnívoras. En esta categoría se incluyen insectos como las hormigas, avispas y algunos escarabajos, que se alimentan tanto del cadáver, como de los artrópodos asociados a él. Según Early & Golf (1986), cuando las poblaciones de estas especies son muy numerosas pueden provocar retraso en la tasa de descomposición del cuerpo, ya que disminuye la población de necrófagos.

Especies accesorias. Esta categoría incluye organismos que utilizan el cadáver como una extensión de su propio hábitat natural, como es el caso de los colémbolos, arañas, crustáceos, etc. También pueden incluirse aquí los ácaros de las familias Acaridae, Lardoglyphidae y Winterschmidtidae, que se alimentan de los hongos y mohos que crecen sobre el cadáver (Goff *et al.*, 1988).

Órdenes de importancia forense.

Díptera. Este es uno de los órdenes más grandes de insectos. Muchos dípteros están asociados a materia orgánica (animal o vegetal) en descomposición, otros son depredadores o parásitos de insectos. Los más relevantes podrían ser Calliphoridae y Sarcophagidae.

Coleoptera. Son el grupo más rico en especies en un cuerpo en descomposición. Contiene muchos grupos de importancia forense, como los Staphylinidae y Carabidae.

Hymenoptera. Varias especies de hormigas son depredadoras de huevos y larvas, alterando así el proceso de descomposición, de ahí su relevancia en el ámbito forense. Algunas familias presentes son las Ichneumonidae, Braconidae y Chalcidoidea. Ser las más significativas para estimar el intervalo postmortem en los primeros estadios de descomposición. (Flores, 2009).

Especies parásitas y depredadoras de los necrófagos. Es el segundo grupo más significativo de los insectos asociados a los cadáveres, incluye himenópteros y coleópteros que son necrófagos en los primeros estados de su desarrollo y se vuelven depredadores en los últimos estadios de su desarrollo (Goodbrod & Golf, 1990).

Especies omnívoras. En esta categoría se incluyen insectos como las hormigas, avispas y algunos escarabajos, que se alimentan tanto del cadáver, como de los artrópodos asociados a él. Según Early & Golf (1986), cuando las poblaciones de estas especies son muy numerosas pueden provocar retraso en la tasa de descomposición del cuerpo, ya que disminuye la población de necrófagos.

Especies accesorias. Esta categoría incluye organismos que utilizan el cadáver como una extensión de su propio hábitat natural, como es el caso de los colémbolos, arañas, crustáceos, etc. También pueden incluirse aquí los ácaros de las familias Acaridae, Lardoglyphidae y Winterschmidtidae, que se alimentan de los hongos y mohos que crecen sobre el cadáver (Goff *et al.*, 1988).

Métodos para la determinación de la data de muerte, asociados a la entomofauna cadavérica. Factores a considerar en el cálculo del intervalo postmortem.

Cuando los insectos son usados como indicadores en el cálculo del intervalo postmortem, se emplean dos métodos para su cálculo; en primera instancia se utiliza la presencia o ausencia de determinadas especies como un indicador del tiempo de muerte, basado en los patrones de sucesión. La segunda se basa en el tiempo de desarrollo de los insectos, sobre todo las larvas (ciclo de vida), encontrados en el cadáver. Estos dos métodos pueden ser usados de forma complementaria; aunque para el segundo se requiere del conocimiento preciso de los estados inmaduros de las especies involucradas (Higley & Haskell, 2001).

Por lo general, en las primeras fases de la descomposición las estimaciones se basan en el estudio del crecimiento de una o dos especies de insectos,

particularmente dípteros, mientras que en las fases más avanzadas se utiliza la composición y grado de crecimiento de la comunidad de artrópodos encontrada en el cuerpo y se compara con patrones conocidos de sucesión de fauna para el hábitat y condiciones más próximas (Bermudez, 2010).

Los parámetros médicos son utilizados para determinar el tiempo transcurrido desde la muerte cuando éste es corto, pero, después de las 72 horas la Entomología Forense puede llegar a ser más exacta y con frecuencia es el único método para determinar el intervalo post-mortem. Existen casos de homicidios en que la víctima es trasladada o asesinada en lugares remotos, lo que retrasa su hallazgo. Hay homicidios en los cuales las víctimas tardan meses en ser descubiertas, y en estos casos es muy importante determinar el tiempo transcurrido desde la muerte. Los insectos son con frecuencia los primeros en llegar a la escena del crimen, y además llegan con una predecible frecuencia, como ya ha sido mencionado anteriormente (Anderson, 1995).

A pesar de todo, es muy importante tener en cuenta, que la Entomología Forense se basa en el estudio de elementos biológicos, por lo que posee las limitaciones inherentes a la propia variabilidad de estos elementos. La determinación del IPM es en realidad la determinación de la actividad de los artrópodos, más que la determinación del tiempo per se (Goff, 1992).

Catts & Haskell (1997), indican un modo general de actuar para poder calcular un intervalo postmortem con insectos, que es el siguiente:

Determinar la fase o estado físico de descomposición en que se encuentra el cuerpo. Realizar un estudio exhaustivo de los insectos que se encuentran sobre el cadáver, así como de los recogidos debajo de él para descartar la posibilidad de que el cadáver haya sido trasladado de lugar. Si se tiene alguna sospecha sería necesario un examen adicional tanto de los restos como de las áreas cercanas.

Clasificar los especímenes recogidos tanto de los restos como de la escena del crimen lo más exactamente posible. Criar los estados inmaduros hasta el estadio

adulto para su correcta identificación. La conservación de estos estadios inmaduros debe ser correcta para no afectar al tamaño que poseen en el momento de la recogida. La distribución estacional, geográfica y ecológica de cada grupo debe ser determinada bien por la literatura o por alguna persona cualificada para ello.

En los cadáveres encontrados al aire libre, es imprescindible recolectar datos como la temperatura, pluviosidad, nubosidad, etc. además de factores como vegetación, arbolado, desniveles del terreno etc. Para las escenas en el interior es igualmente necesario anotar temperatura, existencia de calefactores automáticos, posición del cadáver con respecto a las puertas y ventanas, así como cualquier otro detalle que nos pueda dar información de cómo y cuándo han llegado los insectos al cadáver.

Durante la autopsia es importante tomar nota de la localización exacta de los artrópodos en el cuerpo, así como de la causa y manera de la muerte. También es importante anotar si existe evidencia de la administración ante-mortem de algún tipo de drogas o productos tóxicos dado que la presencia de este tipo de sustancias puede alterar la tasa de desarrollo y los patrones de insectos que se hayan alimentado de los restos.

Sucesión de especies en un cadáver.

La sucesión de especies en un cuerpo sigue un orden determinado, dependiendo de las condiciones del cadáver y de las variables ambientales y geográficas (Early & Goff, 1986; Anderson & Van-Laerhoven, 1996; Byrd & Castner, 2001). Los episodios entomológicos porstmortem, de modo resumido, inician con los dípteros, a continuación, suelen aparecer los coleópteros y durante un tiempo convivirán en nichos diferentes coleópteros, dípteros, pero último convivirán, también en nichos diferentes, coleópteros, ácaros y lepidópteros (Centeno & Maldonado, 2002). La propia secuencia de colonización y las especies implicadas variarán en función de múltiples parámetros, entre los que destacan la región biogeográfica, la época del año y las características ambientales particulares del hábitat en que se encuentre el

cadáver, por lo que se hacen imprescindibles los estudios de tipo regional sobre la comunidad faunística sarcosaprófaga (García *et al.*, 2004)

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, G. & VAN LAERHOVEN. 1996. *Initial studies on insecto succession on carrion in Southwestern British Columbia*. Journal of Forensic Sciences. 41 (4): 617-625.
- ANDERSON, G. 1997. *The use of insects to determinate time of decapitation: A case-study from British Columbia*. Journal of Forensic Sciences. 42 (5): 947-950.
- ANDERSON, G. S. 1995. *The use of insects in death investigations: an analysis of cases in British Columbia over a five year period*. Canadian Society of Forensic Science Journal, 28 (4), 277 – 292.
- BENECKE, M. 1998. *Six forensic entomology clases: description and commentary*. Journal of Forensic Sciences. 43 (4): 797-805.
- BENECKE, M. 2002. *Having solved the last technical hurdles to extract DNA information from virtually any biological material, forensic biologists now have to ponder the ethical and social questions of using information from exonic DNA*. EMBO reports. 3: 498-502.
- BERGERET, M. 1855. *Infanticide, momification naturelle du cadaver*. Ann Hyg Publique Med. Leg. 4: 442 – 452.
- BERMÚDEZ, S.; PACHAR, J. 2010. *Artrópodos asociados a cadáveres humanos en Ciudad de Panamá, Panamá*. Revista Colombiana de Entomología, 36(1): 86-89.
- BYRD, J. & J. CASTNER. 2001. (eds) *Forensic Entomology: the utility of arthropod in legal investigations*. CRC Press. USA. 418 p.
- BYRD, J. & J. CASTNER. 2001. (Eds) *Forensic Entomology: the utility of arthropod in legal investigations*. CRC Press. USA. 418 p.
- CALABUIG, J. A. & VILLANUEVA, C. E. 2004. *Medicina legal y toxicología*. Sexta edición. Barcelona, España. 1395 p.

- CALDERÓN-ARGUEDA, O.; TROYO, A. Y MAYRA E. SOLANO. 2005. *Sucesión de larvas de muscoideos durante la degradación cadavérica en un bosque premontano húmedo tropical*. Rev. Biomed. 16: 29 – 85.
- CAMPOBASSO, C. & F. INTRONA. 2001. *The forensic entomologist in the context of the forensic pathologist's role*. Forensic Science International. 120: 132-139.
- CATTS, P. & M. GOFF. 1992. *Forensic entomology in criminal investigations*. Annual Review of Entomology. 37: 253 – 272
- CATTS, P. & N. HASKELL. 1997. *Entomology & Death a Procedural Guide*. Joyce's Print Shop. Inc. Clemson, SC USA. 182 p.
- CENTENO, N., MALDONADO, M. A. 2002. *Entomofauna cadavérica asociada a cuerpos encerrados*. In Simposio de Entomología Forense. 434 p.
- CHENG, K. 1890, reprinted 1895. *Zhe yu gui jian bu (Additional cases in the history of Chinese trials)*. (English translation). Beijing, Chung-hua Shu Chu.
- EARLY, M. & L. GOFF. 1986. *Arthropod succession patterns in exposed carrion on the island of O'ahu Hawaiian Islands*. Journal Medical Entomology. 23: 520 – 531.
- FLORES P., L. 2009. *Insectos sarcosaprofagos asociados a la descomposición cadavérica de Sus scrofa en Texcoco, México*. Entomología Mexicana. 7: 768-774.
- GARCÍA, M. D., M. Arnaldos, E. Lozano, A. Luna. 2004. *La entomología forense en España*. In: Calabuig, J. A. & Villanueva, C. E. Medicina Legal y Toxicología. Sexta edición. Barcelona, España. 1395 p.
- GOFF, M. L. 1993. *Festin de pruebas de insectos al servicio forense. Informa científica patología forense 4*. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. In Memorias del taller de la academia de ciencias forenses, Reunión anual de la AAFS. Boston, Massachussets. 28-34 pp.

- GOFF, M. L., A. I. OMORI & K. GUNATILAKE. 1988. *Estimation of postmortem interval by arthropod succession*. Am. J. Foren. Med. Pathol. 9: 220 – 225.
- GOFF, M., GARCÍA, M. D., ARNALDOS, M., LOZANO, R. E. 2004. *Entomología cadavérica: fundamentos y aplicación*. Referencia a la entomología española. In Calabuig. J. A. & Villanueva C. E. Medicina Legal y Toxicología. Sexta edición. Barcelona, España. 253-262.
- GOODBROD, J. R. & M. L. GOFF. 1990. *Effects of larval population density on rates of development and interactions between two species of Chrysomya (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture*. J. Med. Entomol. 27: 338 – 343.
- GREENBERG, B. 1991. *Flies as forensic indicators*. J. Med. Entomol. 28:565 – 577.
- GREENBERG, B., & J. C. KUNICH. 2002. *Entomology and the Law: Flies as Forensic Indicators*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. 306 p.
- HALL, R. D. 2001. *Introduction: perceptions and status of forensic entomology*. In J. H. Byrd and J. L. Castner [eds.], Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations. CRC Press, Boca Raton. Pp. 1 – 15.
- HIGLEY, L. G. & H. HASKELL. 2001. *Insect development and forensic entomology*: In: J. H. Byrd and J. L. Castner [eds.], Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations. CRC Press. USA. 418 p.
- HOUGH, G. N. 1897. *The fauna of dead bodies with especial reference to Diptera*. British Medical Journal. 1853-1854.
- KNIGHT, B. 1999. *Medicina forense de Simpson*. 2ª edición en español de la 11ª en inglés, México, Manual Moderno. 263 p.
- LECLERQ, M. 1978. *Entomologie et Médecine Légale*. Datation de la mort; Colletion de Médecine Légale et de Toxicologie Medicale. Paris. 108: 100.
- LORD, W. D. & J. R. STEVENSON. 1986. *Directory of forensic entomologists*. 2 ed. Misc. Publ. Armed Forces Pest Mgt. Board, Washington, D.C, 42 p.

- MAVAREZ, M.; ESPINA DE FERREIRA, A.; BARRIOS, F.; FERREIRA, J. 2005. *La entomología forense y el Neotrópico*. Cuadernos de Medicina Forense. 11 (39): 23-33.
- MCKNIGHT, B. E. 1981. *The washing away of wrongs: forensic medicine in Thirteenth-Century China*. The University of Michigan Center for Chinese Studies, Ann Arbor. 181 pp.
- MEGNIN, P. 1894. *La faune des cadavres. Application de l'entomologie a la médecine légale*. Encyclopedie scientifique des Aides-Mémoire, Masson, Paris Gauthier-Villars, Paris. 214 p.
- MOTTER, M. G. 1898. *A contribution to the study of the fauna of the grave. A study of on hundred and fifty disinterments, with some additional experimental observations*. Journal of the New York Entomological Society. 6 (4): 201- 231.
- NELSON, E. L. 1999. *Estimation of short-term postmortem interval utilizing core body temperature: a new algorithm*. Forensic Science International. 109: 31-38.
- ORFILA, M. J. B. 1848. *Traité de médecine légale* (Vol. 2). Labé.
- PANCORBO, M., RAMOS, R., SALOÑA, M. & SÁNCHEZ, P. 2006. *Entomología molecular forense*. Ciencia Forense, 8: 107-130.
- SIMONIN, C. 1980. *Medicina legal judicial*. Editorial JIMS, Barcelona, España. 2da. Edición. 719-809 p.
- VANIN, S., CAENAZZO, L., ARSENI, A., CECCHETTO, G., CATTANEO, C., & TURCHETTO, M. (2009). Records of *Chrysomya albiceps* in Northern Italy: an ecological and forensic perspective. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(4), 555-557.
- VÁZQUEZ, S. R., V. D. STEPHANO, H. C. MARÍN, C. A. RODRÍGUEZ, M. J. FLORES & DÍAZ, T. P. 2007. *Dípteros necrófagos del estado de Nuevo León, México*. Entomología Mexicana. Vol. 6: 885-888.

YUSSEFF V., S. Z. 2007. *Efectos de la temperatura sobre el desarrollo de Chrysomya rufifacies y Cochliomyia macellaria (Diptera: Calliphoridae), dos especies importantes para la entomología forense en Puerto Rico*. Tesis de Maestría. Universidad de Puerto Rico. Mayaguez Puerto Rico. 98 pp.

CAPÍTULO I. ARTÍCULO: SELECCIÓN DE DIETAS Y SUSTRATOS PARA EL DESARROLLO DE LAS CURVAS DE CRECIMIENTO, LONGEVIDAD Y MORTALIDAD DE *Lucilia sericata* (MEIGEN) (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE)

Itzira Cuevas G.¹, Hussein Sánchez A.², Jesús Romero N.², Jorge Valdez C.², Roberto Flores P.³

¹ Estudiante de posgrado. Instituto de Fitosanidad, maestría en Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, campus Montecillos. ²Profesor Investigador. Posgrado Fitosanidad, Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, campus Montecillo. ³Profesor investigador en el área de Biología, departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México.

1.1. RESUMEN

Las moscas del género *Lucilia*, son principalmente especies necrófagas de importancia médica y forense, ya que pueden provocar miasis. Su desarrollo biológico se utiliza para establecer el intervalo post-mortem y en las últimas décadas se utilizan en terapia larval. Para criar a esta especie se recurre generalmente a tejidos animales, que al descomponerse desprenden un aroma desagradable. El objetivo de este estudio fue determinar la longevidad del ciclo biológico y la mortalidad de larvas de *Lucilia sericata* en seis dietas. El estudio se inició a partir de huevos tomados de una colonia de *L. sericata*, preestablecida bajo condiciones de laboratorio (26-28°C, 47% HR promedio, fotoperiodo 12 horas luz). El análisis estadístico mostró que en las dietas utilizadas hay diferencia significativa en la longevidad del ciclo de vida de *L. sericata* ($P=0.0273$) y mediante la comparación de medias de Tukey se concluye que la dieta que reflejó la mayor duración en el ciclo de vida desde huevo hasta la emergencia de adultos fue la dieta D (salvado de trigo, leche de soya en polvo, hemoglobina en polvo, agua destilada, ácido propiónico) y el menor tiempo de desarrollo de la mosca se obtuvo con la dieta H (hígado de pollo). La mayor mortalidad se registró con la dieta B (salvado de trigo, leche entera en polvo, huevo de gallina, agua destilada, ácido propiónico) y la menor

mortalidad se obtuvo con la dieta H. Con las dietas H, D y E, la mortalidad se redujo en un 17.5%, por lo que estas dietas se vuelven óptimas para su cría bajo condiciones de laboratorio.

Palabras clave: Calliphoridae, Entomología Forense, dietas sintéticas, intervalo post-mortem, ciclo biológico

SELECTION OF DIETS AND SUBSTRATES FOR THE DEVELOPMENT OF THE GROWTH CURVES, LONGEVITY AND MORTALITY OF *Lucilia sericata* (MEIGEN) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE):

1.2 SUMMARY

Flies of the *Lucilia* genus are mainly necrophagous species of medical and forensic importance, since they can cause myiasis. Their biological development is used to establish the post-mortem interval, and in the last decades they are used in larval therapy. In order to breed this species, animal tissues are generally used, which, when decomposed, give off an unpleasant aroma. The objective of this study was to determine the longevity of the biological cycle and the larval mortality of *Lucilia sericata* using six diets. The study was started from eggs taken from a pre-established *L. sericata* colony, under laboratory conditions (26-28 ° C, 47% average RH, photoperiod 12 hours light). The statistical analysis showed that in the diets used there is a significant difference in the longevity of the life cycle of *L. sericata* ($P = 0.0273$) and with the comparison of means of Tukey it is concluded that the diet that reflected the longest duration in the cycle of life from egg to adult emergence was diet D (wheat bran, powdered soy milk, powdered hemoglobin, distilled water, propionic acid) and the shortest development time of the fly was obtained with diet H (chicken liver). The highest mortality was recorded with diet B (wheat bran, whole milk powder, chicken egg, distilled water, propionic acid). The lowest mortality was obtained with diet H. With diets H, D and E, mortality was reduced by 17.5%, so these diets become optimal for breeding under laboratory conditions.

Keywords: Calliphoridae, Forensic Entomology, synthetic diets, post-mortem interval, biological cycle

1.3. INTRODUCCIÓN

Los dípteros del género *Lucilia* son de gran importancia para las ciencias forenses y médicas y están referenciadas como las primeras especies colonizadoras que predomina en la fauna cadavérica (Figueroa & Linares, 2002; Camacho 2003); razón por la que se ha empleado para la determinación del intervalo post-mortem (IPM) cuando los métodos tradicionales no pueden aplicarse (Siagusa *et al.*, 2009). Con esta finalidad, se deben seguir dos enfoques principales: el primero consiste en la observación del desarrollo de los insectos de acuerdo con la temperatura (generalmente el de las moscas); el segundo está representado por el reconocimiento de la sucesión predecible de artrópodos que facilitan la descomposición de la materia orgánica, y cadáveres de animals y humanos.

Un cadáver es un recurso trófico, el cual induce una sucesión de colonizaciones con diferente composición faunística, debido al rol que desempeña cada uno y por su arribo de acuerdo a la etapa de descomposición. Este proceso es dependiente casi en su totalidad de un gran cúmulo de variables como la temperatura, la humedad relativa, el tipo de vegetación, el pH del suelo, la temporada estacional y las circunstancias de la muerte, por lo que en los últimos años el objetivo fundamental de la Entomología Forense se ha enfocado hacia el estudio del comportamiento de este cúmulo de necrófagos con respecto a tales factores, y dirigido principalmente hacia la determinación del IPM (Bermúdez & Pachar, 2010). Según Goff *et al.* (2004) y Flores (2009), los primeros insectos en llegar a un cadáver son los dípteros de las familias Calliphoridae y Sarcophagidae. Las hembras adultas inspeccionan el cadáver, se alimentan con frecuencia de él y, según el tipo de especie, depositan huevos o larvas alrededor de las aberturas naturales del cuerpo (orificios nasales, conducto auditivo, boca, ano) e incluso en las órbitas oculares.

La mosca verde o Green Bottle Fly, *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Diptera: Calliphoridae) es una mosca cosmopolita con un alto grado de sinantropía, es decir, en estrecha relación con los asentamientos humanos. Su distribución, se ha reportado en el neotrópico, en países como Argentina, Brasil, Chile, México y Perú

(Pape *et al.* 2004). Es una mosca necrófaga sumamente importante en medicina forense, ya que es utilizada como un indicador biológico para la estimación del (IPM) (Anderson,2000). Además, las larvas de estas moscas son eficaces en el tratamiento de heridas crónicas de difícil cicatrización, ya que se comportan como parásitos facultativos alimentándose del tejido necrótico presente. La acción de las larvas sobre las heridas está científicamente comprobada a través de varias funciones: desbridamiento, actividad antimicrobiana y estimulación del tejido de granulación (Parnes & Lagan 2007). En la actualidad, la terapia larval es considerada una tecnología natural, simple, segura y altamente exitosa para la curación de úlceras o lesiones crónicas en humanos y animales (Gentil & Esmirnova, 2009; Wolff *et al.*, 2010).

Para la cría masiva de las moscas del género *Lucilia*, bajo condiciones de laboratorio, se emplean tejidos orgánicos que al descomponerse producen malos olores y contaminación, lo cual hace necesario implementar dietas sintéticas que disminuyan los anteriores factores. De esta manera, no se presentan dificultades para el medio ambiente, ni para la salud de los investigadores, disponiéndose así de un óptimo sustrato para el desarrollo continuo del ciclo biológico de la especie. Asimismo, cuando se utilizan huevos de estas especies depositados por hembras alimentadas con dietas artificiales y con menor carga de microorganismos en su ambiente, las larvas que emergen pueden ser empleadas en terapia larval, con menos riesgo para la salud de los pacientes (Escobar *et al.*, 2007; Pinilla *et al.*, 2010).

Bogdanow (1908) fue el científico pionero en la cría de insectos necrófagos, al utilizar una dieta sintética con base en extracto de carne para criar a *Calliphora vomitoria*; a partir de entonces, pero de manera esporádica, la crianza de insectos con dietas artificiales se ha destinado para llevar a cabo estudios experimentales en dípteros de la familia Calliphoridae.

Las dietas artificiales para insectos se clasifican en: holídicas que integran elementos químicos puros; las dietas merídicas que utilizan elementos

químicamente conocidos y componentes químicamente no definidos, y finalmente las oligídicas, que por lo general usan material natural crudo de origen animal o vegetal (Acatitla *et al.* 2004).

Para la cría de moscas del género *Lucilia* se han evaluado varias dietas, las cuales, en mayor o menor grado, han sido óptimas para el desarrollo y el mantenimiento del ciclo de vida de la mosca; al respecto, Ring (1972) estableció una dieta compuesta de extracto de levadura y de leche entera, con resultados satisfactorios para la cría de *Lucilia sericata* (Meigen). Por otro lado, Tachibana & Numata (2001), con base en germen de trigo, leche en polvo y levadura seca, lograron significativos avances en la cría de *L. sericata*; para la misma especie, Daniels & Simkiss (1991) obtuvieron el desarrollo de la especie a partir de una dieta con 20% de sangre de caballo y de levadura. Finalmente, Pinilla *et al.* (2010), obtuvieron resultados óptimos en la cría de *L. sericata* con sustratos alimenticios a base de hígado de res, leche en polvo, pescado e hígado en polvo.

El objetivo del presente estudio fue la evaluación seis dietas para la cría de *Lucilia sericata* usando como parámetros de observación el desarrollo de las curvas de crecimiento, longevidad y mortalidad.

1.4. MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1. Preparación y composición de las dietas.

Se emplearon cuatro sustratos como base proteica de las dietas artificiales merídicas: leche en polvo, huevos de gallina, leche de soya en polvo y sangre en polvo; solo una de las dietas consistió en el sustrato natural de hígado de pollo, cada una de ellas con tres repeticiones (Cuadro 1).

1.4.2. Insectos.

Para la determinación de la especie *Lucilia sericata*, se examinaron alrededor de 20 larvas de ínstar III previamente fijadas en agua caliente a 70°C durante 1 minuto y conservadas en alcohol al 70% y 10 adultos. Para el caso de adultos se utilizaron las claves de Amat *et al.* (2008) y Marshal *et al.* (2011) (Fig. 1) y para las larvas la clave de Florez y Wolff (2009) (Fig. 2). El ciclo de vida de *L. sericata* se inició a partir de una colonia de aproximadamente 1000 huevos, que se obtuvieron de la colonia madre previamente establecida en una cámara cría particular montada en San Bernardino, Texcoco de Mora, Estado de México. Esta colonia tenía tres años de haberse establecido; inició a partir de muestras de larvas obtenidas de cadáveres que llegaban a periciales de la región, en donde las larvas fueron colectadas vivas, se dejó avanzar su desarrollo hasta la ovipostura, alimentándolas con hígado de cerdo y como adultos con leche entera. Se utilizó hígado de pollo como sustrato de oviposición y para purificar la especie, cada vez que se detectaba una nueva masa de huevos, se separaba en cámaras de cría independientes, con 200 gramos de hígado de cerdo como sustrato alimenticio, hasta su etapa de pupa. Las pupas se separaban de las larvas en cámaras de emergencia y ovipostura; posteriormente se enterraban aproximadamente dos centímetros en vermiculita, misma que formaba la base de las cámaras. Una vez que los adultos comenzaban a emerger, a la cámara se le agregaba un recipiente con leche entera y sangre de bovino en algodón para que los adultos pudieran alimentarse. Después de que emergía la mayoría de adultos, todos los días se colocaban trampas con hígado de pollo para la colecta de huevos; todo el proceso se repitió durante tres generaciones para

asegurar que solo se tratara de la especie en cuestión. Para el estudio se colocaron 200 huevos por repetición en cada sustrato, en cámaras cría de plástico, capacidad de 2 litros, con 250 gr de dieta (con excepción de la dieta H – hígado de pollo- en la que se colocaron 2 cm de vermiculita con 200 gr de hígado en la cámara), bajo condiciones de laboratorio (26-28°C, 47% HR promedio, fotoperiodo 12 horas luz).

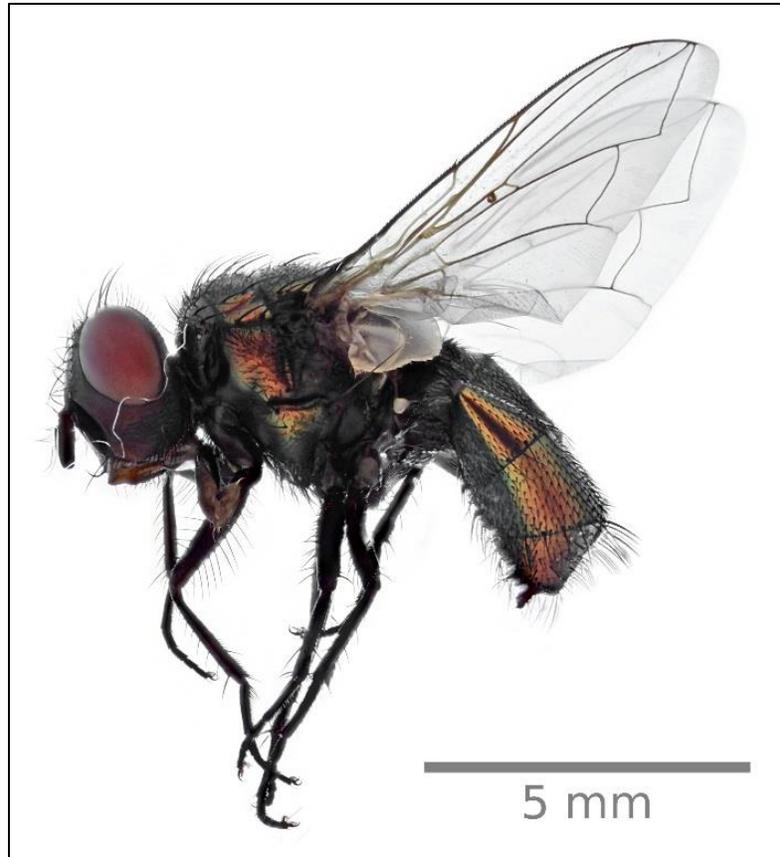


Figura 1. Adulto de *Lucilia sericata*

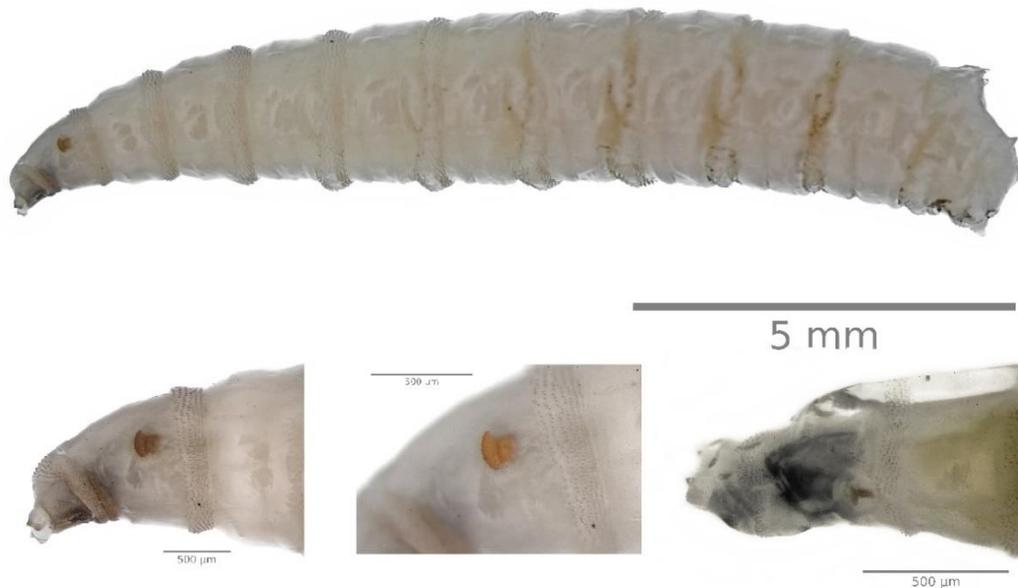


Figura 2. Larva de *Lucilia sericata*

1.4.3. Datos del desarrollo biológico de *L. sericata*.

La eficacia de cada dieta se analizó tomando en cuenta la duración en días de la especie para cada etapa de desarrollo y la mortalidad de individuos en cada uno de ellas. Para evaluar las anteriores variables, se emplearon protocolos donde se registraron diariamente los datos. El registro consistió en anotar la hora en la que los huevos empezaron a eclosionar y desde ese momento, diariamente se observó la presencia de larvas, prepupas y pupas, tomando en cuenta como inicio de la etapa cuando al menos el cincuenta por ciento de la población estuviera en ella. Se tomaron los datos hasta que se observaron la mayoría de los adultos muertos en la base de la cámara de ovipostura. Para el conteo de adultos finales (mortalidad), las cámaras cría se refrigeraron a 8°C durante 2 horas; con esto los individuos se aletargaron, lo que hizo más fácil llevar a cabo el registro.

Cuadro 1. Composición de las dietas usadas para comparar el ciclo de vida de *L. sericata*.

Ingredientes	Dieta H	Dieta A	Dieta B	Dieta C	Dieta D	Dieta E
Hígado de pollo	200 gr	-	-	-	-	-
Salvado de trigo	-	200 gr				
Leche entera en polvo	-	50 gr	50 gr	-	-	-
Leche de soya en polvo	-	-	-	50 gr	50 gr	-
Huevo de gallina	-	3 pzs.	3 pzs.	3 pzs.	-	3 pzs.
Sangre (preparada de hemoglobina en polvo)	-	150 ml	-	150 ml	150 ml	150 ml
Agua destilada	-	150 ml				
Ácido propiónico	-	0.5 ml				

1.4.4. Análisis estadístico.

Los datos obtenidos a partir del ciclo biológico de la especie y su relación con las dietas utilizadas se analizaron, en principio, con parámetros de estadística descriptiva, con las siguientes variables: tiempo de desarrollo, número de la muestra y mortalidad (en cada cambio de etapa) de *L. sericata*. De igual manera, la significancia de los datos obtenidos, se evaluó con base en las pruebas de ANOVA, usando el paquete agricolae del programa estadístico “R” versión 3.5.0 para Windows. Aquí mismo se llevó a cabo la comparación de medias de Tukey para observar los diferentes grupos y la eficiencia de las dietas, así como la significancia de la mortalidad en cada caso.

1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1. Duración del ciclo de vida de *L. sericata* en las seis dietas.

Todas las dietas utilizadas en ese estudio suministraron los nutrientes necesarios para que se llevara a cabo la totalidad del ciclo de vida de la especie (Cuadro 2, Figura 1). Sin embargo el análisis estadístico mostró significancia de los datos (distribución normal de los errores, mediante la prueba de Shapiro y homogeneidad de varianza, residuales vs predichos) ya que en el anava (fig. 2) los resultados arrojaron un valor de $P=0.0273$ ($<P=0.05$), lo que significa que al menos una dieta tiene un impacto diferente en la duración del ciclo de vida de *L. sericata*. Después de hacer la comparación de medias de Tukey (HSD test), se obtuvieron tres grupos: A, AB Y B (Fig. 3), que nos demuestra que la dieta H es la que nos da un ciclo de vida más corto y la dieta D, el ciclo más largo; mencionamos a Saunders *et al.* (1986) quien crió larvas de *L. sericata* sobre dieta artificial, basada en leche en polvo y levadura seca, los cuales no fueron considerados adecuados en sus experimentos. Se han reportado otros trabajos que demuestran un mejor desarrollo, sobre todo en tamaño del individuo, sobre dietas naturales; así, por ejemplo, Mendoca *et al.* (2009), en experimentos con individuos de la especie *Crysomya megacephala*, compararon el desarrollo biológico de la mosca en diferentes dietas sintéticas y carne bovina descompuesta, que resultó ser más efectiva que las anteriores.

Cuadro 2. Longevidad del ciclo de vida de *L. sericata* en horas con las diferentes dietas.

DIETA	H	A	B	C	D	E
Repetición 1	458	480	526	552	564	528
Repetición 2	496	556	504	598	552	558
Repetición 3	484	528	528	508	584	576

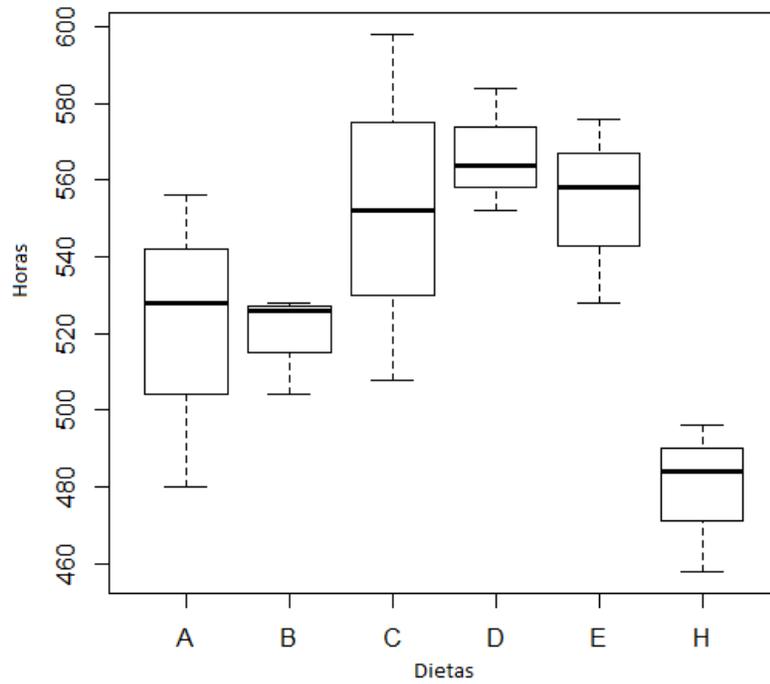


Figura 3. Longevidad del ciclo de vida de *Lucilia sericata* en las distintas dietas.

```

> anava<-aov(HORAS~DIETA)
> summary(anava)

```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
DIETA	5	15482	3096.4	3.786	0.0273 *
Residuals	12	9813	817.8		

```

--- Signif. codes: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Figura 4. Análisis de varianza (anava)

\$means							\$groups	
HORAS	std r	Min	Max	Q25	Q50	Q75	HORAS groups	
A	521.3333	38.43609	3 480	556	504	528 542	D	566.6667 a
B	519.3333	13.31666	3 504	528	515	526 527	E	554.0000 ab
C	552.6667	45.00370	3 508	598	530	552 575	C	552.6667 ab
D	566.6667	16.16581	3 552	584	558	564 574	A	521.3333 ab
E	554.0000	24.24871	3 528	576	543	558 567	B	519.3333 ab
H	479.3333	19.42507	3 458	496	471	484 490	H	479.3333 b

Figura 5. Comparación de medias de Tukey

1.5.2. Análisis de las curvas de crecimiento de *L. sericata* con las diferentes dietas.

En todos los casos los huevecillos eclosionaron el primer día, aproximadamente de 10 a 14 horas después de haber sido depositados, similar al que se menciona en un estudio realizado con *Lucilia eximia*, en donde el estado de huevo duró quince horas (Velez *et al.*, 2008). La duración del ciclo de vida por etapa y por dieta se describe en el cuadro 4, así como en el cuadro 5 y la figura 4, que proyectan la curva de crecimiento (horas acumuladas) para cada dieta. El estadio larval tuvo una duración de cinco días en el caso de las dietas B y H, en comparación con las larvas de las dietas A, C y D, que comenzaron a pupar después del séptimo día. Pinilla *et al.* (2010), reportan una duración de 6.7 días en su dieta basada en hígado de bovino y entre 8 y 9 días en las dietas artificiales que probaron. Un día después de observar prepupas en el sustrato, en todos los casos, se comenzaron a retirar pupas a la cámara de emergencia y ovoposición. En la dieta H se obtuvo una emergencia de adultos a partir del noveno día desde la eclosión; sin embargo, las dietas A, B, D y E, presentaron emergencia de adultos después de los 11 días de la eclosión. La oviposición en todos los casos se observó entre el día 6 y 8 después de la

emergencia del adulto y la muerte se reporta, en el caso de la dieta con hígado de pollo, después del día 20 y en las dietas artificiales a partir del día 22. En el estudio hecho por Pinilla *et al.* (2010), en donde las condiciones son de 24-27°C, humedad relativa del 60% y fotoperiodo de 12 horas luz, se informa la emergencia de los adultos entre el día 14 y 15 después de la oviposición, así como la mortalidad de la colonia después del día 38 en las dietas artificiales utilizadas y el día 26 en la dieta con tejido natural (hígado de bovino). Usaquén & Camacho (2004), reportan que el ciclo de vida de *L. sericata* en condiciones naturales es de 26 días.

Cuadro 3. Longevidad en horas de cada etapa del ciclo de vida de *L. sericata* en las distintas dietas (promedios de las 3 repeticiones).

Dietas	Horas							
	Eclosión	Larva 1	Larva 2	Larva 3	Prepupa	Pupa	Adulto	Total
A	10.7	17.3	44.7	40	49.3	136.7	222.7	521.3
B	10.7	12.7	34	32.7	45.3	132.7	251.3	519.3
C	12	18	49.3	40	43.3	138.7	251.3	552.7
D	12	18	47.3	42	42	123.3	282	566.7
E	10.7	16.7	50.7	48.7	45.3	131.3	250.7	554
H	12.7	12	27.3	32.7	42.7	85.3	266.7	479.3

Cuadro 4. Desarrollo del ciclo de vida de *L. sericata* (horas acumuladas) en las distintas dietas.

Dieta	Eclosión	Larva	Larva	Larva	Pupa	Emergencia adulto	muerte
		1	2	3			
A	10	28	73	113	162	298	521
B	10	23	57	90	135	268	519
C	12	30	79	119	163	300	552
D	12	30	77	119	161	384	566
E	11	27	78	127	172	300	554
H	13	25	52	85	127	213	479

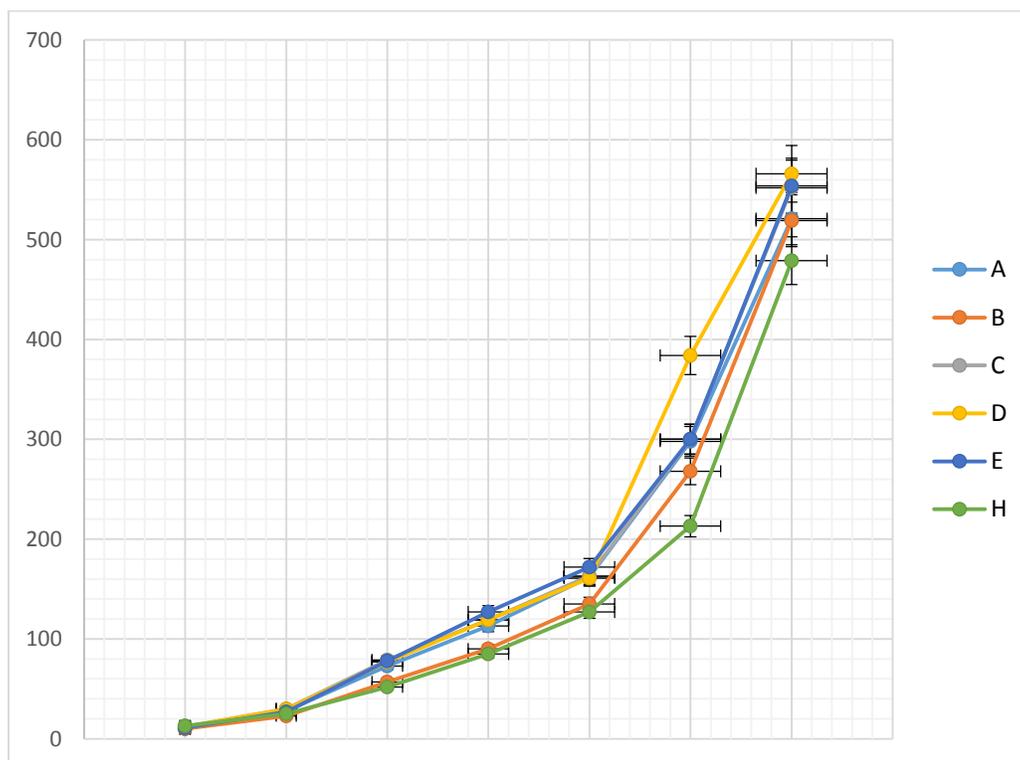


Figura 6. Desarrollo de *Lucilia sericata* (horas acumuladas) en las distintas dietas.

1.5.3. Análisis de la mortalidad de *L. sericata* con las diferentes dietas.

En cuanto a la mortalidad, las dietas que mostraron ser más eficientes en la obtención de adultos fueron las dietas E, H y D, que presentaron porcentajes de mortalidad de 4.3, 4.6 y 5.3%, respectivamente. La dieta que presentó menos emergencia de adultos fue la dieta B, donde hubo un porcentaje de mortalidad de 22.3% (Cuadro 5).

Cuadro 5. Mortalidad de *Lucilia sericata* en las distintas dietas.

DIETAS	REP 1		REP 2		REP 3		EMERGENCIA	MORTALIDAD
	Xo	Xf	Xo	Xf	Xo	Xf	%	%
A	200	171	200	186	200	187	90.7	9.3
B	200	153	200	161	200	152	77.7	22.3
C	200	170	200	174	200	193	89.5	10.5
D	200	184	200	197	200	187	94.7	5.3
E	200	182	200	194	200	198	95.7	4.3
H	200	186	200	188	200	198	95.3	4.7

Xo. Número de huevos con el que se inició la colonia. Xf, número final de adultos que emergieron de las pupas.

Zhang *et al.* (2009) mencionan que el colesterol es el principal esteroide encontrado en los insectos que sirve como un componente estructural de las membranas celulares y actúa como un precursor de ecdisteroides, que es fundamental en el desarrollo normal de la mayoría de los insectos, lo que llevaría a suponer la obiedad de la efectividad de las dietas que tienen huevo de gallina, leche entera y salvado de trigo (que contiene sitosterol), pero en este estudio no en todos los casos se observó. Si nos basamos en la mortalidad, la dieta B, que contiene los tres elementos, resultó ser la menos óptima.

Hayes *et al.* (1999) mencionan que *L. sericata* requiere de un alimento alto en proteína para poder desarrollarse óptimamente, sobre todo para iniciar la vitelogenénesis y seguir la reproducción; como se observa en el estudio, las dietas

que contienen sangre y la dieta con base en tejidos naturales como el hígado de pollo, son altas en proteínas, lo que reduce el porcentaje de mortalidad de la colonia.

Una teoría propuesta por Davies & Hobson (1935), sugiere que el factor más importante, después de los nutrientes, para que las larvas sobrevivan a los primeros estadios del ciclo de vida es la humedad. Dado la composición de las dietas presentadas en este estudio, es posible que este factor pudiera influir en la mortalidad observada en la dieta B, que tal vez presentó desecación o lo contrario, un exceso de humedad, lo que impidió el óptimo desarrollo de las larvas.

1.6. CONCLUSIONES.

Este estudio demostró que las dietas sintéticas utilizadas proporcionaron sustratos adecuados para la cría de *L. sericata* en condiciones de laboratorio, con diferencias significativas entre ellas, en concordancia con las variables analizadas

Todas las dietas fueron útiles para establecer colonias estables y en continua reproducción.

Las dietas con sustratos naturales siempre serán las más óptimas para estudiar el ciclo de vida de los insectos, que en el caso de la Entomología Forense es lo que se espera; aunque hay casos en los que dietas sintéticas pueden ocupar su lugar sin mermar la población, siempre tomando en cuenta el aspecto económico que esto conlleva, las dietas naturales son más fáciles de conseguir y tienen precios más accesibles, además de presentar porcentajes de mortalidad mínimos, por lo que podemos duplicar el número de individuos en un tiempo significativamente menor, lo que sería conveniente en el caso de utilizar las larvas en terapia larvaria.

1.7. LITERATURA CITADA

- ACATITLA, C.; BAUTISTA, N.; VERA, J.; ROMERO, J.; CALYECAS, H. 2004. *Ciclo biológico y tasas de supervivencia y reproducción de Copitarsia incommoda Walker (Lepidoptera: Noctuidae) en cinco dietas artificiales diferentes*. Agrociencia, 38 (03): 355-363.
- AMAT, E.; VELEZ, M. & M. WOLFF. 2008. *Clave ilustrada para la identificación de los géneros y las especies de califóridos (Diptera: Calliphoridae) de Colombia*. Caldasia. 30 (1): 231-244.
- ANDERSON, G. S. 2000. *Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera)*. Journal of Forensic science, 45: 824-832
- BERMÚDEZ, S.; PACHAR, J. 2010. *Artrópodos asociados a cadáveres humanos en Ciudad de Panamá, Panamá*. Revista Colombiana de Entomología, 36(1): 86-89.
- BOGDANOW, E. A. 1908. *Über die Abhängigkeit des Wachstums der Fliegenlarven von Bakterien und Fermenten und über Variabilität und Vererbung bei den Fleischfliegen*. Archiv. Anat. Physiol. Abt. Suppl. 1908: 173-200.
- CAMACHO, G. 2003. *Sucesión de la entomofauna cadavérica y ciclo vital de Calliphora vicina (Diptera: Calliphoridae), como primera especie colonizadora, utilizando cerdo blanco (Sus scrofa) en Bogotá*. Revista Colombiana de Entomología, 31(2): 189-127
- DANIELS, S.; SIMKISS, R. 1991. *A simple larval diet for population studies on the blowfly Lucilia sericata (Diptera: Calliphoridae)*. Med. Vet. Entomol., 5:283-292.
- ESCOBAR, M.; HENAO, J.; WOLF, M.; ESTRADA, S.; RESTREPOL, L. 2007. *Tratamiento de las úlceras crónicas en los miembros inferiores con un equivalente cutáneo autólogo y desbridación con larvas de Lucilia sp. (Diptera: Calliphoridae). Reporte de un caso*. Iatreia, 20(4): 397-406.

- FIGUEROA, L.; LINHARES, A. 2002. *Sinantropía de los Calliphoridae (Díptera) de Valdivia, Chile*. Neotrop. Entomol., 31(2):233-239.
- FLORES, R. 2009. *Insectos sarcosaprofagos asociados a la descomposición cadavérica de Sus scrofa en Texcoco, México*. Entomología Mexicana. 7: 768-774.
- FLOREZ, E. & M. WOLFF. 2009. *Descripción y clave de los estados inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia*. Neotropical Entomology, 38: 418-429.
- GENTIL, I.; ESMIRNOVA, P. 2009. *Larvaterapia. Revisión sistemática de evidencia científica*. Rev. Internal de Ciencias Podológicas. 3(1):45-52.
- GOFF, M.; GARCÍA, M. D.; ARNALDOS, M.; LOZANO, R. E. 2004. *Entomología cadavérica: fundamentos y aplicación. Referencia a la entomología española*. In Calabuig. J. A. & Villanueva C. E. Medicina Legal y Toxicología. Sexta edición. Barcelona, España. 253-262.
- HAYES EJ, WALL R, SMITH E. 1999. *Mortality rate, reproductive output, and trap response bias populations of the blowfly Lucilia sericata*. Ecol Entomol 24: 300-307.
- MARSHALL, S. A.; WHITWORTH, J. & L. ROSCUE. 2011. *Blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Eastern Canada with a key to Calliphoridae subfamilies and genera of Eastern North America, and a key to the Eastern Canadian species of Calliphorinae, Luciliinae and Chrysomyiinae*. Canadian Journal of Arthropod Identification. No. 11.
- MENDOCA, P.; CARVALHO, M.; D'ALMEIDA, J. 2009. *Rearing Chrysomya megacephala on artificial diets composed of varying concentrations of albumin*. Braz. Arch. Biol. Technol. 52(1):421-426.
- PAPE, T.; WOLFF, M. & E. AMAT. 2004. *Los califóridos, éstridos, rinofóridos y sarcófágidos (Diptera: Calliphoridae, Oestridae, Rinophoridae, Sarcophagidae) de Colombia*. Biota Colombiana, 5 (2): 201-208.

- PARNÉS, A.; LAGAN, K. 2007. *Larval therapy in wound management*. Review. Int. J. Clin. Pract. 61(3): 488-493
- PINILLA, T.; ACUÑA, Y.; CORTES, D.; DÍAZ, A.; SEGURA, A.; BELLO, F. 2010. *Características del ciclo biológico de Lucilia sericata (Meigen, 1826)(Diptera:Calliphoridae) sobre dietas diferentes*. Revista U. D. C. A. Actualidad & Divulgación Científica. 13(2): 153-161.
- RING, R. 1972. *Relationship between diapause and super cooling in the blowfly, Lucilia sericata (Mg.) (Diptera: Calliphoridae)*. Can. J. Zool. 50(12): 1601-1605.
- SAUNDERS, D.; MACPHERSON, J.; CAIRNCROSS, K. 1986. *Maternal and larval effects of photoperiod on the induction of larval diapause in two species of fly, Calliphora vicina and Lucilia sericata*. Exp. Biol. 46(1): 51-58.
- SIAGUSA, K.; MATSUMASA, M.; YASHIMA, Y.; YOICHI; AOKI, Y. 2009. *Practical applications of molecular biological species identification of forensically important flies*. Legal Medicine. 11: 344-347.
- TACHIBANA, S.; NUMATA, H. 2001. *An artificial diet for blow fly larvae, Lucilia sericata (Meigen) (Diptera: Calliphoridae)*. Applied Entomology and Zoology, 36(4):521-523.
- USAQUÉN, W.; CAMACHO, G. 2004. *Ciclo de vida de Lucilia sericata (Diptera: Calliphoridae) como primera especie colonizadora presente en hígado humano realizado en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses*. Revista de INML y CF. 18(2):31-36.
- VÉLEZ, M.; WOLFF, M. 2008. *Rearing five species of Diptera (Calliphoridae) of forensic importance in Colombia in semicontrolled field conditions*. Papéis Avulsos de Zoologia. 48(6):41-47.
- WOLFF, E.M.I., C. RIVERA Á., S. E. HERRERA H., J. C. WOLFF I & M. M. ESCOBAR F. 2010. *Lucilia eximia (Diptera: Calliphoridae), una nueva*

alternativa para la terapia larval y reporte de casos en Colombia. Iatreia, 23(2): 107-116.

ZHANG, B.; NUMATA, H.; MITSUI, H.; GOTO, S. 2009. *A simple, heat-sterilizable artificial diet excluding animal-derived ingredients for adult blowfly, Lucilia sericata.* Med. Vet. Entomol. 23(4):443-447

CAPITULO II. CURVAS DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LOS PRIMEROS DÍPTEROS COLONIZADORES DE CADÁVERES (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE) EN TEXCOCO DE MORA, ESTADO DE MÉXICO.

Itzira Cuevas G.¹, Hussein Sánchez A.², Jesús Romero N.², Jorge Valdez C.², Roberto Flores P.³

¹ Estudiante de posgrado. Instituto de Fitosanidad, maestría en Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, campus Montecillos. ²Profesor Investigador. Posgrado Fitosanidad, Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, campus Montecillo. ³Profesor investigador en el área de Biología, departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México.

2.1. RESUMEN

Se estudió el efecto de la temperatura sobre el ciclo de vida de las especies *Lucilia sericata*, *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), en donde se comprobó que a menor temperatura el ciclo se alarga, a mayor temperatura, siempre que esté en un rango específico (menor a 30°C) el ciclo se acorta, sobre todo en la etapa larvaria. Se demostró que el hígado de pollo resulta ser un sustrato alimenticio eficaz para desarrollar a las tres especies bajo condiciones de laboratorio y se produjeron las curvas de crecimiento de las tres especies estudiadas, lo que podría ser útil para la realización de dictámenes periciales asociados a la Entomología Forense.

Palabras clave: Entomología forense, miasis, dietas sintéticas, cría de insectos

CHAPTER II: GROWTH CURVES AND DEVELOPMENT OF THE FIRST INVASIVE FLIES OF CORPSES (DÍPTERA: CALLIPHORIDAE) IN TEXCOCO DE MORA, STATE OF MEXICO.

**Itzira Cuevas G.¹, Hussein Sánchez A.², Jesús Romero N.², Jorge Valdez C.²,
Roberto Flores P.³**

¹ Estudiante de posgrado. Instituto de Fitosanidad, maestría en Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, campus Montecillos. ²Profesor Investigador. Posgrado Fitosanidad, Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, campus Montecillo. ³Profesor investigador en el área de Biología, departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México.

2.2. SUMMARY

We studied the effect of temperature on the life cycle of the species *Lucilia sericata*, *Cochliomyia macellaria* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), where it was found that at a lower temperature the cycle lengthens, but at a higher temperature, as long as it is in a specific range (less than 30 ° C) the cycle is shortened, especially in the larval stage. It was demonstrated that chicken liver turns out to be an effective food substrate to develop all three species under laboratory conditions and the growth curves of the three species studied were produced, which could be useful for the performance of expert reports associated with the Forensic Entomology.

Key words: Forensic Entomology, myiasis, synthetic diets, insect breeding

2.3. INTRODUCCIÓN

La Entomología Forense es una disciplina científica que emplea los conocimientos sobre los ciclos vitales y la estructura de las poblaciones de artrópodos para esclarecer circunstancias relativas a casos que serán considerados en un tribunal de justicia. Dentro del vasto abanico de aplicaciones, una de las más conocidas es la estimación de la data de la muerte, denominada intervalo postmortem (IPM). Es importante tener en cuenta que el valor mínimo del IPM no siempre se corresponde con el periodo de actividad de los insectos, que es lo que realmente determina la Entomología Forense. El citado valor puede ser menor que el IPM cuando concurren circunstancias que puedan retrasar la colonización por parte de los hexápodos al cadáver o mayor en el caso de miasis (Goff, 2004).

El cadáver de un vertebrado, incluyendo a los seres humanos, proporciona un tipo de ambiente que cambia rápidamente y que sostiene una gran variedad de insectos asociados con diferentes etapas de su descomposición (Oliva, 2007). Es conocido que normalmente el principal grupo asociado con cuerpos en descomposición es Diptera, especialmente algunas especies de las familias Calliphoridae y Sarcophagidae, debido a que estas son las primeras en localizar y colonizar los cuerpos (Flores, 2009).

Los dípteros representan un grupo de particular interés por su capacidad de adaptación, distribución geográfica y capacidad reproductiva. La familia Calliphoridae representa uno de los grupos necrófagos más importantes desde el punto de vista médico-legal. De acuerdo al estado de desarrollo de la mosca, la determinación de la especie y teniendo en cuenta los datos biogeográficos y antrópicos, además de los factores ambientales, se puede estimar el intervalo post mortem (IPM) (Insaurralde, 2003).

La mayor parte de las familias de dípteros de interés forense son ovíparas, es decir, la hembra grávida hace la puesta de huevos. De cada uno emerge una larva conocida como larva I. Cuando crece lo suficiente, pasa a larva II y luego a larva III. Posteriormente, la larva III se aleja de la fuente de alimento para pupar, conociéndose como prepupa o larva III migratoria. Cuando transcurre el tiempo

necesario tras la pupación, emerge el adulto dejando tras de sí el pupario vacío (Greenberg, 1991). Conocer estas fases y sus diferencias morfológicas es tremendamente importante ya que, para pasar de una fase a otra, es necesario un cierto tiempo para cada temperatura. Para la estimación del intervalo postmortem mínimo se consideran las larvas de mayor edad siempre que no sean individuos aislados ya que no podemos olvidar la posibilidad de una eclosión precoz de algunos huevos (Wells, 2001).

Los insectos son animales con una capacidad de regulación de la temperatura corporal muy limitada. Al no poder mantener una temperatura corporal constante, ésta dependerá en gran medida de la temperatura ambiente. El crecimiento de los insectos, por tanto, al ser un proceso dependiente de la temperatura corporal, dependerá en este caso directamente de la temperatura externa: a mayor temperatura, observaremos un desarrollo más rápido; si la temperatura decrece, la velocidad de crecimiento lo hará también (De Reaumur, 1753).

Existen, además, dos umbrales de desarrollo que deben ser tenidos en consideración ya que el desarrollo se ve interrumpido por debajo (temperatura basal o umbral inferior de desarrollo) o por encima (umbral superior de desarrollo) de dichas temperaturas, pudiendo reanudarse cuando las condiciones ambientales vuelvan a ser favorables. De ahí que el conocimiento de la temperatura ambiental sea decisivo para unos correctos cálculos del periodo de actividad de los insectos (Gonzalez *et al.*, 2011).

En cuanto a su alimentación, los insectos adultos pueden alimentarse de los fluidos del cadáver, sin embargo, las larvas de dípteros son las principales descomponedoras. Estas se crían juntas en grandes masas y se mueven en torno al cadáver promoviendo la diseminación de bacterias y secreción de enzimas, consumiendo los tejidos blandos, durante la descomposición, los restos pasan por una serie de cambios biológicos, químicos y físicos (Galante & Marcos-García, 1997).

Una de las clasificaciones más utilizada para agrupar a los insectos que acuden a un cadáver en base a su alimentación es la de Goff (1992), quien distingue especies

necrófagas principalmente dípteros y coleópteros; necrófilas, que incluyen himenópteros y algunos coleópteros; omnívoras, que se alimentan de tejidos muertos y finalmente las oportunistas, como colémbolos, crustáceos y arañas. Esta clasificación completa las oleadas tradicionales de Megnin (1894).

Para estimar la edad de las larvas de moscas de importancia forense, es necesario tomar en cuenta el fuerte efecto de la temperatura sobre el desarrollo de las larvas y la disponibilidad alimenticia que tuvieron, para poder usar esto para estimar el tiempo de colonización de los restos. Sin embargo, se deberá contar con un conocimiento profundo de la biología de las especies en una región geográfica en particular para tratar de establecer la edad de las mismas. Es necesario conducir investigaciones sobre los requerimientos de las especies locales antes de tratar de inferir de la información disponible para otras áreas (Byrd & Castner, 2001).

Por esto que los objetivos del estudio descrito en este capítulo fueron: (1) Determinar la influencia de la temperatura sobre el ciclo de vida de las especies *Lucilia sericata*, *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae); y la eficiencia del hígado como sustrato alimenticio de las mismas. (2) Producir curvas de crecimiento de cada especie en las temperaturas determinadas.

2.4. REVISIÓN DE LITERATURA

2.4.1. Los Calliphoridae y su importancia en la Entomología Forense.

La clase hexápoda presenta una enorme diversidad, por lo cual es posible encontrar dentro de ella un número considerable de especies que funcionan como buenos indicadores ecológicos. El cadáver de un vertebrado, incluyendo los seres humanos, proporciona un ambiente que cambia rápidamente y que sostiene una gran variedad de insectos asociados con diferentes etapas de su descomposición (Oliva, 2007).

La Entomología Forense es una herramienta científica aplicada para el estudio de la sucesión de insectos o de artrópodos en la escena del crimen o que se asocian con un accidente o muerte natural a interpretar. Esta sucesión proporciona información para determinar límites mínimos y máximos del intervalo postmortem (Pérez, 2007).

Algunas moscas tienen características que las hacen únicas para ser utilizadas en la ciencia forense, la primera y más importante es su hábito alimenticio. Se alimentan directamente de cadáveres en su estado larvario. Los dípteros de mayor importancia pertenecen a las familias Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae (Valdes, 2009).

Los miembros de la familia Calliphoridae y Dermestidae son los necrófagos de mayor importancia, siendo los más abundantes en todas las etapas de descomposición. La primera ola de sucesión faunística está representada principalmente por la familia Calliphoridae. Esta familia es capaz de colonizar ambientes terrestres e inclusive acuáticos, principalmente durante la estación de verano (Iannacone, 2003).

Las hembras de Calliphoridae son ovíparas, llegan al cadáver atraídas por un sangrado copioso, el olor de algún fluido corporal o el inicio de la descomposición cadavérica; ovipositan sobre las cavidades naturales (auditiva, ocular, bucal, nasal y genitales), y/o heridas sangrantes. De acuerdo a la determinación de la especie, al estado de desarrollo de la mosca, teniendo en cuenta los datos biogeográficos y

antrópicos (tipo de suelo, vegetación, grado de urbanización); factores ambientales (temperatura, humedad, precipitaciones), se puede estimar el Intervalo Posmortem (IPM) (Insaurralde, 2003). Los Califóridos han sido utilizados en el área forense debido a que forman parte de las comunidades de artrópodos colonizadores de cadáveres y son el principal grupo de insectos que acuden a la escena de los crímenes (Rueda *et al.*, 2010).

2.4.2. Taxonomía de la familia Calliphoridae.

La familia Calliphoridae consta aproximadamente de mil especies en el mundo, de las cuales 126 se encuentran en el Neotrópico (Triplehorn & Johnson, 2005). Según Marshal *et al.* (2006) y Visciarelli *et al.* (2007), su clasificación taxonómica es la siguiente:

Dominio: Eukarya.

Reino: Animalia.

Phyllum: Arthropoda

Subphyllum: Hexapoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterigota

Orden: Diptera

Suborden: Brachycera

Familia: Calliphoridae

Subfamilias:

- Chrysominae

- Lucilinae

- Calliphorinae

- Melanomyinae

2.4.3. Biología de Calliphoridae.

Dentro de la familia Calliphoridae se encuentran los géneros *Lucilia*, *Calliphora*, *Cochliomyia* y *Chrysomya*, que son destacados participantes en la Entomología Forense (Flores, 2009).

Algunas moscas tienen características que las hacen únicas para ser utilizadas en la ciencia forense. La primera y más importante es su hábito alimenticio en su estado larvario, ya que tienen comportamientos necrófagos. Estas moscas son capaces de detectar los gases que emana un cadáver a kilómetros de distancia y su pequeño tamaño le facilita el acceso a casi cualquier lugar, ya sea en espacios cerrados, como el baúl de un auto, o espacios abiertos y de difícil acceso, como cuevas o grutas, logrando ser las primeras en localizarlo. Además, son hábiles voladoras, lo que les permite desplazarse grandes distancias en tiempos relativamente cortos (Yusseff, 2007).

Las moscas califóridas son atraídas por la carroña y el excremento principalmente, aunque algunas pueden alimentarse de heridas abiertas causando miasis en organismos vivos (Byrd & Castner, 2001).

Los adultos de esta familia son moscas más o menos robustas de tamaño mediano; miden de 4 a 16 mm. La mayoría de las especies tienen colores metálicos brillantes (azul, verde, bronce y negro), sin embargo, algunos géneros pueden presentar un color mate u opaco como *Pollenia* y *Opsodexia* (Flores, 2009).

Los sexos en ocasiones con diferente quetotaxia de patas, ocasionalmente con marcada diferencia en color del cuerpo, de una longitud que va de 4.0 – 16.0 mm. Los machos en ocasiones son holópticos; facetas superiores del ojo no muy agrandadas, aunque con frons siempre más delgado que en la hembra, sin setas orbitales y verticales externas (Shewell, 1987).

Las larvas crecen rápidamente, pasando por tres estadios larvales antes de alcanzar su tamaño final. Éstas se crían juntas en grandes números y se mueven en torno al cadáver, promovándose así, la diseminación de bacterias y secreción

de enzimas, lo cual hace posible el consumo de los tejidos blandos del cadáver (Byrd & Castner, 2001).

La biología de los califóridos es muy variada. Generalmente son considerados necrófagos, también los hay depredadores y parasitoides de caracoles y lombrices de tierra, algunos son hospedantes en termiteros y otros son de importancia médica y veterinaria, como las especies que producen miasis en aves y mamíferos (Pape *et al.*, 2004).

2.4.3.1. Huevo.

Longitud de 0.9 – 1.5 mm, ancho de 0.3 – 0.4 mm, de color blanco brillante o crema, oscureciendo con la edad a grisáceo; de forma ovoide, alargada, ligeramente arqueado, en vista lateral plana o ligeramente cóncava y convexa dorsoventralmente, corión con reticulado leve (Shewell, 1987).

La hembra pone alrededor de 150 a 200 huevos de una vez, llegando a poner alrededor de 2.000 huevos en toda su vida. El promedio de hembras y machos nacidos se comporta en una relación aproximada del 50% (1 x 1), aunque hay notables excepciones, como las documentadas en hembras de dos especies del género *Chrysomya* (*Chrysomya rufifacies* y *Chrysomya albiceps*) las cuales sólo tuvieron descendientes machos o hembras. La eclosión del huevo, en condiciones favorables, ocurre alrededor de las 8 horas después de la oviposición (Monaghan, 2007).

2.4.3.2. Larva.

De tipo vermiforme, color amarillo pálido a blanco, anteriormente cónicas o cilíndricas, por lo general cinco veces más largas que anchas. Segmentos con bandas, excepto las larvas de instar uno, algunas presentan pequeñas espinas reclinadas hacia delante; últimos segmentos (cinco últimos generalmente) con bandas de espinas con inclinación posteroventral; rara vez cutícula con prominentes espinas, esqueleto cefalofaríngeo bien desarrollado, mandíbulas con un par de ganchos fuertemente esclerosados (Shewell, 1987).

Los tres estadios (larva I, larva II y larva III) son reconocibles mediante el examen de los espiráculos posteriores y anteriores. En la larva I, los espiráculos anteriores están ausentes mientras que los posteriores presentan una ranura (en ocasiones, la forma de V que pueden adquirir las ranuras puede ser motivo de confusión con la larva II). La larva II presenta dos ranuras en cada espiráculo posterior y aparecen los espiráculos anteriores. En la larva III, hay tres ranuras en cada espiráculo posterior (Monaghan, 2007).

2.4.3.3. Pupa.

Pupa obtecta, color marrón a café, de 8 – 12 mm de longitud por 3 – 4 mm de ancho.

Previo al estadio de pupa se presenta una fase postalimentaria, llamada también prepupa, durante la cual la larva cesa de alimentarse y abandona el sustrato en busca de un sitio apto para empupar. La distancia recorrida durante esta migración es variable según la especie (Greenberg, 1991).

2.4.3.4. Adulto.

Se distinguen por presentar, generalmente, en su cuerpo brillantes colores tales como el azul (como el género *Calliphora*), verde (como *Lucilia*) o negro (como *Phormia*). En la cabeza presentan una lúnula y sutura frontal bien marcadas. La antena es trisegmentada, y posee una arista plumosa en el segundo segmento. Como en la mayoría de los dípteros la venación de las alas es más sencilla que la de otros insectos alados; en esta familia la vena R_s es bifurcada. Las especies de esta familia poseen escamas bien desarrolladas (calípteros), las cuales generalmente ocultan los halterios. También, y con carácter identificativo, se observa en esta familia la presencia, a cada lado del tórax, de una hilera de cerdas, llamadas hipopleurales que se encuentran situadas en la hipopleura, debajo del espiráculo metatorácico, a cada lado de la placa torácica ventral, justo encima de las coxas de las dos últimas patas (segunda y tercera). Además existe una sutura transversal bien marcada en el lado dorsal del tórax la cual tiene valor en la clasificación taxonómica y presenta unas prominencias características llamados callos. El postescutelo está ausente o en todo caso muy poco desarrollado (Monaghan, 2007).

2.4.4. Especies de importancia forense presentes en Texcoco de Mora, Estado de México.

Con base en trabajos realizados con entomofauna cadavérica desde el año de 2005 en los municipios de Texcoco, Nezahualcóyotl y Chimalhuacán en el Estado de México y en el municipio de Pachuca de Soto, en el Estado de Hidalgo, se recopiló información de la biología de diversas especies insectiles de importancia médico legal, dentro de las que destacan las moscas pertenecientes a la familia Calliphoridae como *Lucilia eximia*, *Chrysomya rufifacies*, *Cochliomyia macellaria*, *Calliphora latifrons*; *Fannia* sp. (Fannidae) y *Synthesiomyia* sp. (Muscidae); *Piophilidae casei* (Piophilidae) y coleópteros de la familia Nitidulidae, así como las especies *Necrobia rufipes* (Cleridae) y *Dermestes* sp. (Dermestidae). Aunque en el trabajo también se presentaron ejemplares de *Lucilia sericata* y *Lucilia cuprina* (Flores *et al.*, 2005).

2.4.5. características de las especies de interés en el estudio.

2.4.5.1. *Lucilia sericata*.

Conocida como la mosca verde, de distribución cosmopolita, aunque es más común en las zonas templadas del hemisferio norte. Los adultos miden de 6 a 9 mm de longitud, son de color verde-azul metálico, amarillo-verde, verde o bronce. El tórax tiene (setas) cortas y escasas de color negro. Las alas son transparentes con venas marrón claro; presenta tres ranuras transversales importantes en su superficie dorsal y el frente femoral es de color negro o azul oscuro, carácter útil en su identificación, sus antenas son negras. Las larvas de esta especie pueden desarrollarse con éxito en una amplia variedad de sustratos alimenticios, pero prefieren alimentarse de carroña. Esta es una de las especies que llegan primero a los restos, con incidencia de ovipositura después de pocas horas de haberse producido la muerte. Los adultos prefieren las carcasas en condiciones soleadas y hábitats descubiertos; sin embargo, buscan áreas sombreadas del cuerpo para ovipositar. Existen informes de que esta especie, anticipando la muerte, oviposita sobre las heridas de los muertos. Las larvas de esta especie se han empleado en la terapia larval para la eliminación del tejido necrótico de las heridas (Byrd & Castner, 2001).

Es una mosca sinatrópica, pues se encuentra frecuentemente asociada con asentamientos humanos. Es conocida también con el nombre científico de *Phaenicia sericata*. Pertenece al orden Diptera y a la familia Caliphoridae, de la cual existen alrededor de 1000 especies en el mundo (Grassberger & Reiter, 2001).



Figura 7. *Lucilia sericata*. A. Larva; B. Adulto

2.4.5.2. *Cochliomyia macellaria*

Es considerada una especie cosmopolita. Los adultos son color azul-verdoso metálico, con tres rayas longitudinales de color verde oscuro sobre la superficie dorsal del tórax (entre la base de las alas), que no se extienden hacia el abdomen. Su cabeza es color naranja y las patas pueden variar de un color marrón rojizo a marrón oscuro. Las larvas tienen tráqueas respiratorias fácilmente visibles en su extremo posterior; aparecen como líneas en forma de remolino negro fácilmente visibles sobre el cuerpo de la larva. Estos caracteres permiten distinguirla fácilmente en el campo. Prefieren un clima cálido y húmedo. Es la especie más abundante en periodos de lluvia. No es tolerante al frío, por lo que en invierno suele estar ausente (Byrd & Castner, 2001).

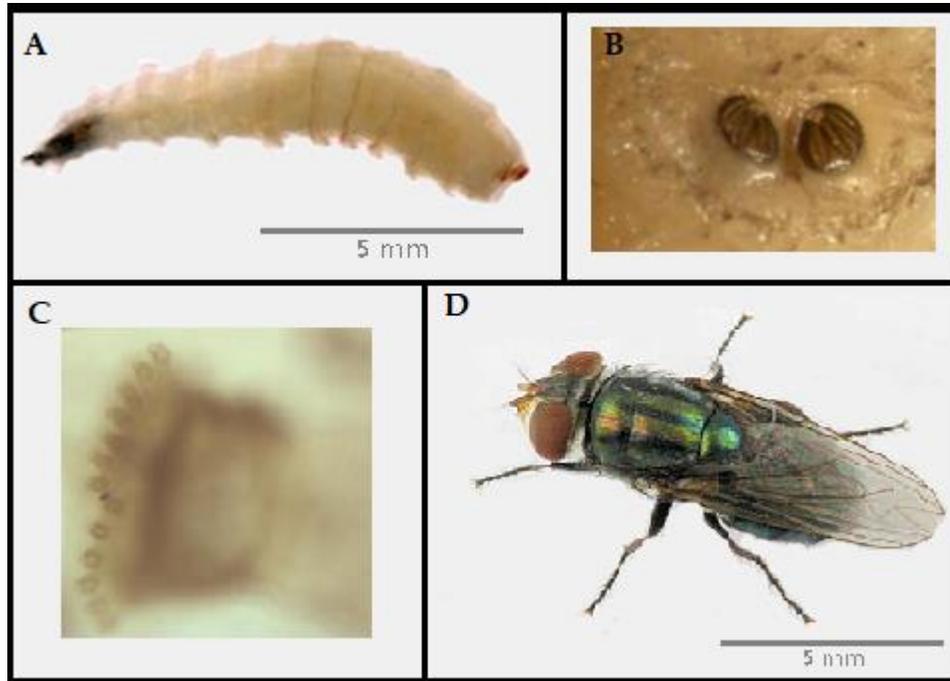


Figura 8. *Cochliomyia macellaria*. A. Larva; B. Espiráculos posteriores; C. Espiráculos anteriores; D. adulto.

2.4.5.3. *Chrysomya rufifacies*.

son originarias de las regiones tropicales del viejo mundo en Australia y Asia. Los adultos tienen cuerpos robustos y brillantes con una coloración azul-verde. El borde terminal de los segmentos abdominales está notablemente teñido de un color púrpura oscuro o azul oscuro. Sueles ser los primeros en llegar al cadáver (cuestión de horas después de la muerte). Rara vez se encuentra en las viviendas y sus larvas solo se desarrollan en tejidos en descomposición, no sobre excrementos. Las larvas se distinguen fácilmente de otras especies gracias a la presencia de protuberancias carnosas a lo largo de su cuerpo; son depredadoras y caníbales y, por lo tanto, deben ser separadas de otras especies si están siendo criadas en laboratorio ya que, si el suministro de alimento se agota, se alimentan de las otras larvas y a menudo eliminan totalmente a las otras especies. Son capaces de excavar varios centímetros en el suelo para colonizar restos enterrados (Byrd & Castner, 2001).

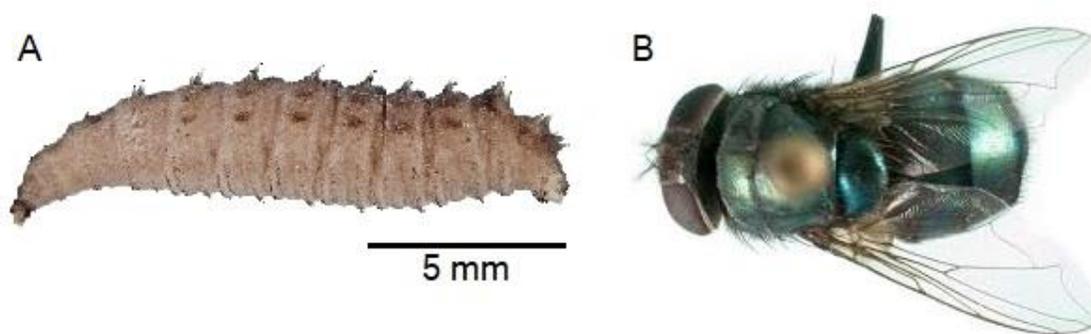


Figura 9. *Chrysomya rufifacies*. A. Larva de tercer instar; B. Adulto.

2.4.6. Curvas de crecimiento.

El tiempo de desarrollo varía según la temperatura. Salvo raras excepciones, los insectos despliegan su actividad normal entre los 5°C y los 32°C. En el rango de 1 a 4°C suelen entrar en letargo del cual salen con facilidad en cuanto sube la temperatura. Por debajo del punto de congelación del agua, se produce la muerte. Por encima del límite superior del rango de temperatura, se acelera su actividad, pero es muy probable su muerte. Así, el desarrollo se acelera con temperaturas elevadas y se hace más lento con temperaturas bajas, siendo estas últimas las que condicionan el desarrollo cuando se combinan ambas en climas con ritmos circadianos extremos (De Pancorbo *et al.*, 2006).

Si tenemos en cuenta un modelo de referencia donde el desarrollo de las larvas de dípteros es una curva de crecimiento, entonces la mejor estimación de la edad para una larva es el valor que corresponde a su tamaño en la curva, es decir, una línea horizontal trazada desde un valor en el eje del tamaño de la larva, intersecaría con la curva de crecimiento directamente sobre la edad de la larva. El desarrollo de las larvas tarda varios días dependiendo de la especie, de las condiciones ambientales, así como del número de larvas presentes. A mayor temperatura y mayor humedad relativa, el insecto se desarrollará más rápido y viceversa (Yusseff, 2007).

2.4.7. Las moscas y su cría en laboratorio.

Figueroa *et al.* (2002), mencionan un método para la cría de *L. sericata* en laboratorio. Para determinar el tiempo necesario en el desarrollo del ciclo, se efectuó un control diario determinando sus distintos estadios, obteniendo como resultado que las moscas luego de copular, colocan sus huevos directamente en la fuente de alimento, donde la eclosión de las larvas sucedió de 12 a 18 horas después, mientras que desde el estado de larvas a pupas fueron 138 +/- 17 horas, y desde pupas a adultos de 126 +/- 21 horas. Las condiciones que manejaron en su estudio fueron: temperatura de 25°C, aproximadamente 50% de humedad, mantención de alimento y agua en forma permanente.

Yusseff (2007), realizó una técnica para la cría de *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria*, utilizando hígado de res fresco, cubierto con papel aluminio. Las temperaturas que manejó para establecer el tiempo de desarrollo del ciclo de vida de estas especies fueron: 25, 30 y 35 +/- 1°C, con una humedad relativa entre 70 y 90% y un fotoperiodo de 12:12 horas (día y noche).

2.4.8. La Entomología Forense en México y su vinculación institucional.

La Entomología Forense es una especialidad que en los últimos años ha despertado un gran interés en México, diversos entomólogos se encuentran realizando estudios para conocer la diversidad de insectos necrófagos utilizando necrotrampas con diferentes tipos de atrayentes, así como para definir los patrones de sucesión de insectos asociados a un cuerpo en estado de descomposición, por lo cual la información publicada en México sobre este tema aún es muy escasa (Vanin *et al.*, 2009).

Se han realizado muchos esfuerzos para generar información en el campo de la Entomología Forense, sin embargo, esto se ha visto limitado, entre otros aspectos, por la dificultad para identificar insectos necrófagos a nivel de especie en las Procuradurías Generales de Justicia de las entidades federativas y porque las instituciones de educación superior, en las que se forman los entomólogos, no han trascendido, en la gran mayoría de las Procuradurías. Esta falta de coordinación ha rezagado avances en ésta disciplina científica en México por cerca de 30 años con

respecto a otros países como Estados Unidos de América (Vergara-Pineda *et al.*, 2009).

En nuestro país, los trabajos en esta área de conocimiento han sido documentados como esfuerzos que se inician a finales de la década de los setenta y que han sentado las bases para que varias instituciones educativas se interesen en participar en el desarrollo de esta línea de investigación. Entre estas resaltan los resultados de la Universidad Autónoma Chapingo, el Colegio de Posgraduados, la Universidad de Guadalajara, la Universidad Autónoma de Nayarit y la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

2.5. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se estableció en un cuarto cría privado, ubicado en San Bernardino, Texcoco, Estado de México. Que se sitúa en un área biogeográfica denominada como Cuenca del Lago de Texcoco; en las coordenadas GPS: Longitud (dec): -98.896667 y Latitud (dec): 19.475556. Con una altura de 2260 metros sobre el nivel del mar.

2.5.1. Insectos.

Para la determinación de cada especie, se examinaron alrededor de 20 larvas de ínstar III previamente fijadas en agua caliente a 70°C durante 1 minuto y conservadas en alcohol al 70% y 10 adultos. Para el caso de adultos se utilizaron las claves de Amat *et al.* (2008); Marshal *et al.* (2011) y Gómez (2012) y para las larvas la clave de Florez y Wolff (2009). El ciclo de vida se inició a partir de colonias de aproximadamente 900 huevos, que se obtuvieron de colonias previamente establecidas en un laboratorio particular montado en San Bernardino, Texcoco de Mora, Estado de México. Estas colonias tenían aproximadamente 5 meses de haberse establecido; iniciaron a partir de muestras de larvas obtenidas de cadáveres que llegaban a Servicios Periciales de la región Texcoco, en donde las larvas fueron colectadas vivas, se dejó avanzar su desarrollo hasta la ovipostura, alimentándolas con hígado de cerdo y como adultos con leche entera. Se utilizó hígado de pollo como sustrato de oviposición y para purificar la especie, cada vez que se detectaba una nueva masa de huevos, se separaba en cámaras de cría

independientes, con 200 gramos de hígado de cerdo como sustrato alimenticio, hasta su etapa de pupa. Las pupas se separaban de las larvas en cámaras de emergencia y ovipostura; posteriormente se enterraban aproximadamente dos centímetros en vermiculita, misma que formaba la base de las cámaras. Una vez que los adultos comenzaban a emerger, a la cámara se le agregaba un recipiente con leche entera y sangre de bovino en algodón para que los adultos pudieran alimentarse. Después de que emergía la mayoría de adultos, todos los días se colocaban trampas con hígado de pollo para la colecta de huevos; todo el proceso se repitió durante dos generaciones para asegurar que solo se tratara la pureza de la colonia.

2.5.2. Muestras

Para el estudio se colocaron 200 huevos por repetición en cada sustrato, en cámaras cría de plástico, capacidad de 2 litros, con un hígado de pollo como sustrato alimenticio.

En el laboratorio se colocaron 4 termómetros (uno en cada pared) para estar monitoreando el rango de las temperaturas y cuidar que no bajara o subiera más de 2°C con respecto a la repetición correspondiente. Los rangos de temperatura que se manejan fueron los siguientes: 27 +/- 2°C, 23 +/- 2°C y 15 +/- 2°C.

Para elevar la temperatura en el laboratorio y mantenerla en el rango correspondiente de cada repetición, se utilizó un Calefactor Radiador relleno de aceite Heat Wave HR1507 ZCR 3 Niveles, color crema. Para disminuir la temperatura se utilizó un Enfriador de Aire 3 en 1, negro con blanco marca ADIR, modelo 4821, el cual tenía que estar programándose cada dos horas para mantener la temperatura deseada.

El fotoperiodo se realizó con luz artificial, alternando 12 horas luz con 12 horas de oscuridad.

2.5.3. Datos del desarrollo biológico.

La curva de crecimiento de cada especie se obtuvo tomando en cuenta la duración en días de la especie para cada etapa de desarrollo y su longitud en milímetros.

Para evaluar las anteriores variables, se emplearon protocolos donde se registraron diariamente los datos. El registro consistió en anotar la hora en la que los huevos empezaron a eclosionar y desde ese momento, diariamente se observó la presencia de larvas, prepupas y pupas, tomando en cuenta como inicio de la etapa cuando al menos el cincuenta por ciento de la población estuviera en ella. Se tomaron los datos hasta que se observaron la mayoría de los adultos muertos en la base de la cámara de ovipostura. Se tomó medida de los huevecillos (10 por cada repetición) y de cada etapa larvaria hasta la formación de las pupas. Para el registro de su longitud, cinco larvas de cada repetición, se colocaron en refrigeración (8°C) durante dos horas, así se aletargaron y esto permitió la medición sin tener la necesidad de fijar individuos y con esto mermar el número de larvas por repetición. Las medidas fueron tomadas con un vernier digital alta precisión 150 mm/6 pulgadas.

2.5.4. Análisis estadístico.

Los datos obtenidos a partir del ciclo biológico de la especie y su relación con el crecimiento de las larvas se analizaron, con parámetros de estadística descriptiva, con las siguientes variables: tiempo de desarrollo, número de la muestra y longitud en mm de su cuerpo. Gracias a esto se realizaron las curvas de crecimiento y de desarrollo del ciclo vital para cada especie.

2.6. RESULTADOS

El primer parámetro que se registro fue la duración de cada etapa del ciclo de vida de cada especie en las diferentes temperaturas, en los cuadros 6, 7 y 8 se pueden observar los resultados en horas de cada repetición. Con los resultados se realizaron curvas para determinar las horas que toma llegar a cada etapa del desarrollo larvario (figuras 5, 6 y 7) de cada una de las especies y en las distintas temperaturas.

Cuadro 6. Duración del ciclo de vida a 27 +/- 2°C (horas acumuladas)

Repetición	Eclosión	Larva instar III	Pupa	Emergencia adultos
<i>Lucilia sericata</i>				
1	8	50	116	173
2	12	54	112	176
3	10	50	106	168
<i>Cochliomyia macellaria</i>				
1	16	130	158	216
2	14	138	162	228
3	16	126	160	210
<i>Chrysomya rufifacies</i>				
1	16	140	164	220
2	14	136	166	216
3	16	146	156	224

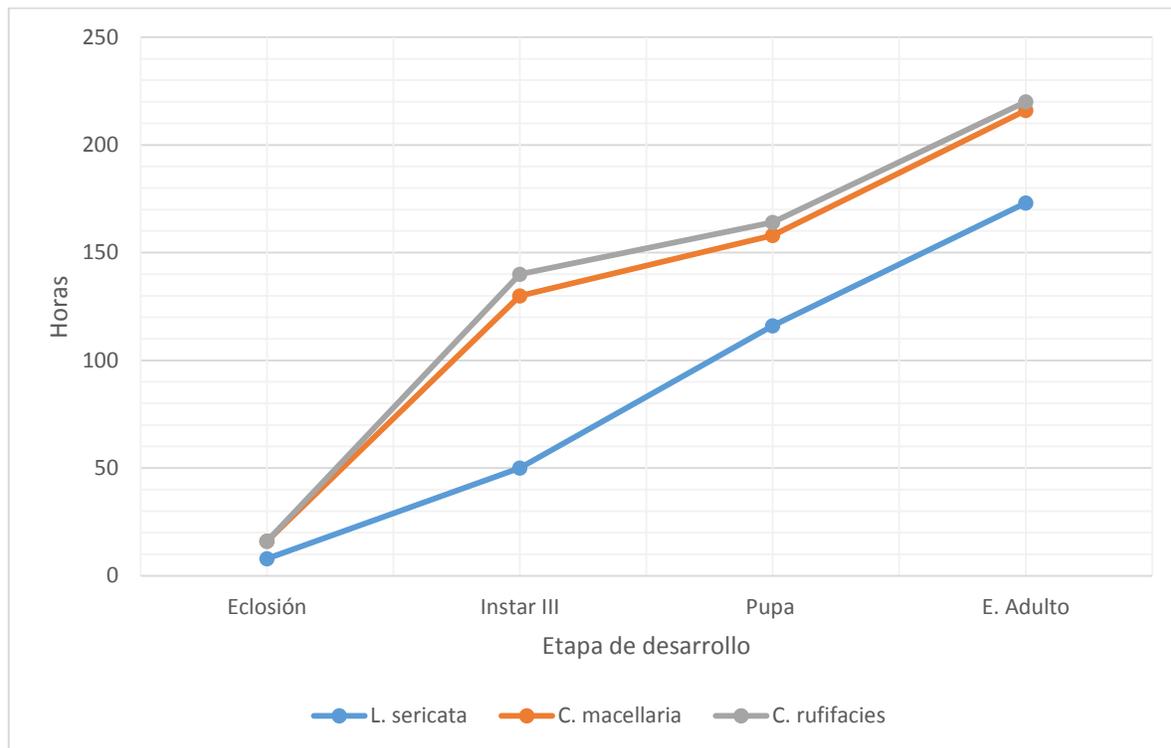


Figura 10. Horas acumuladas según la etapa de crecimiento a 27 +/-2°C

Cuadro 7. Duración del ciclo de vida a 23°C (horas acumuladas)

Repetición	Eclosión	Larva instar III	Pupa	Emergencia adultos
<i>Lucilia sericata</i>				
1	16	78	136	252
2	14	72	128	268
3	18	76	142	256
<i>Cochliomyia macellaria</i>				
1	16	138	256	398
2	16	126	238	378
3	14	128	246	382
<i>Chrysomya rufifacies</i>				
1	14	146	248	372
2	16	136	236	364
3	14	142	252	384

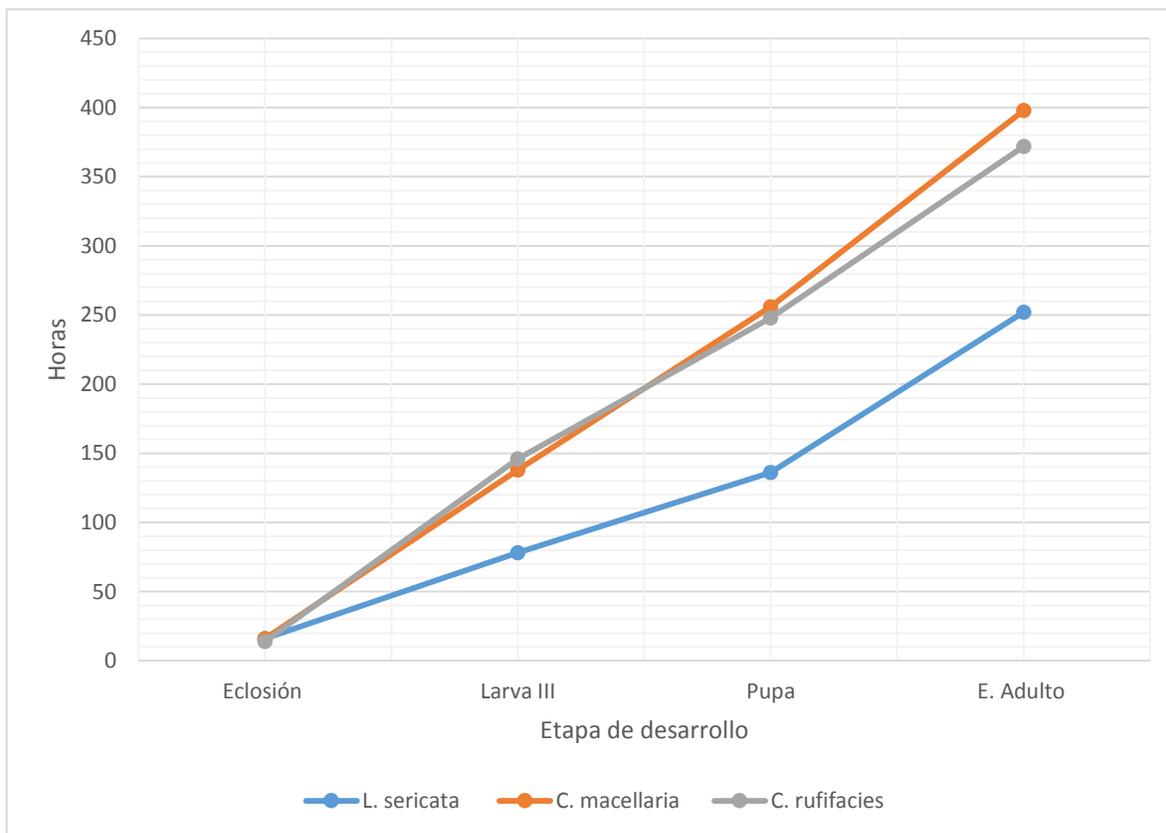


Figura 11. Horas acumuladas según la etapa de crecimiento a 23 +/-2°C

Cuadro 8. Duración del ciclo de vida a 15°C (horas acumuladas)

Repetición	Eclosión	Larva instar III	Pupa	Emergencia adultos
<i>Lucilia sericata</i>				
1	18	138	240	388
2	20	142	246	380
3	18	136	236	396
<i>Cochliomyia macellaria</i>				
1	30	240	386	412
2	32	244	384	414
3	26	236	372	428
<i>Chrysomya rufifacies</i>				
1	34	254	392	448
2	36	246	388	440
3	34	242	396	432

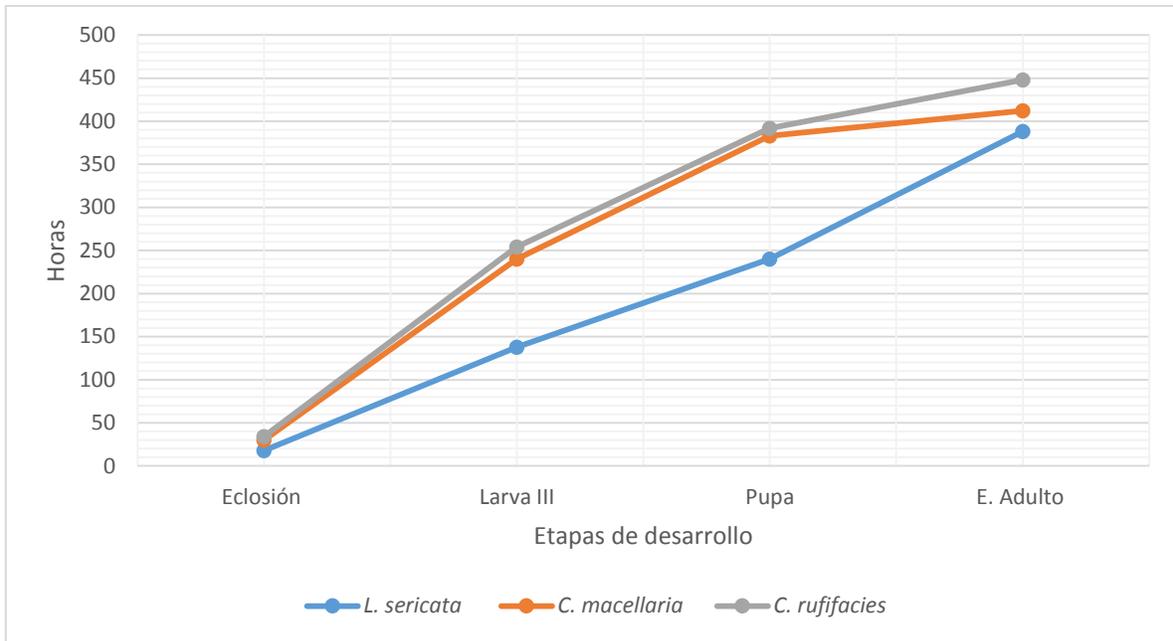


Figura 12. Horas acumuladas según la etapa de crecimiento a 15 +/-2°C
 Los siguientes gráficos representan los resultados obtenidos en las diferentes temperaturas para cada una de las especies. Esto fue lo que se tomó en cuenta para realizar el análisis estadístico y buscar una significancia de los resultados. Para *Lucilia sericata* (figura 8)

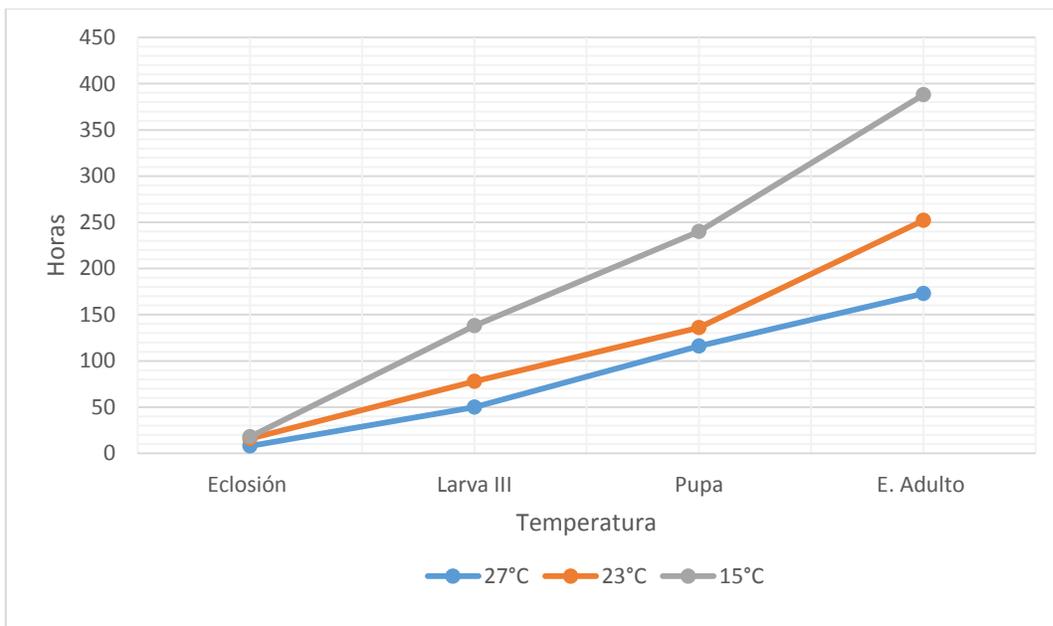


Figura 13. Desarrollo del ciclo de vida de *Lucilia sericata* en las distintas temperaturas

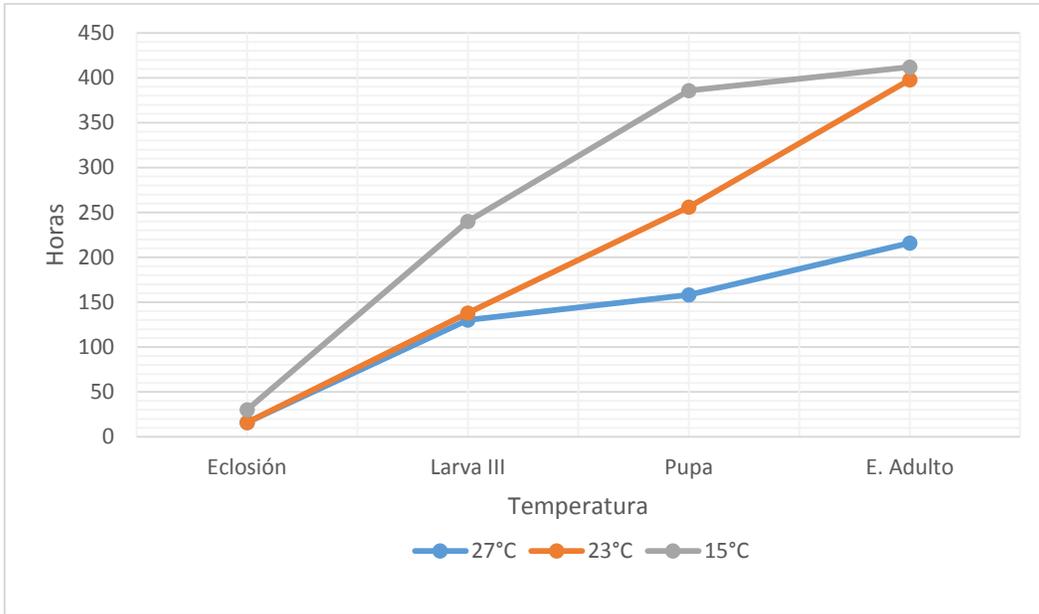


Figura 14. Desarrollo del ciclo de vida de *Cochliomyia macellaria* en las distintas temperaturas

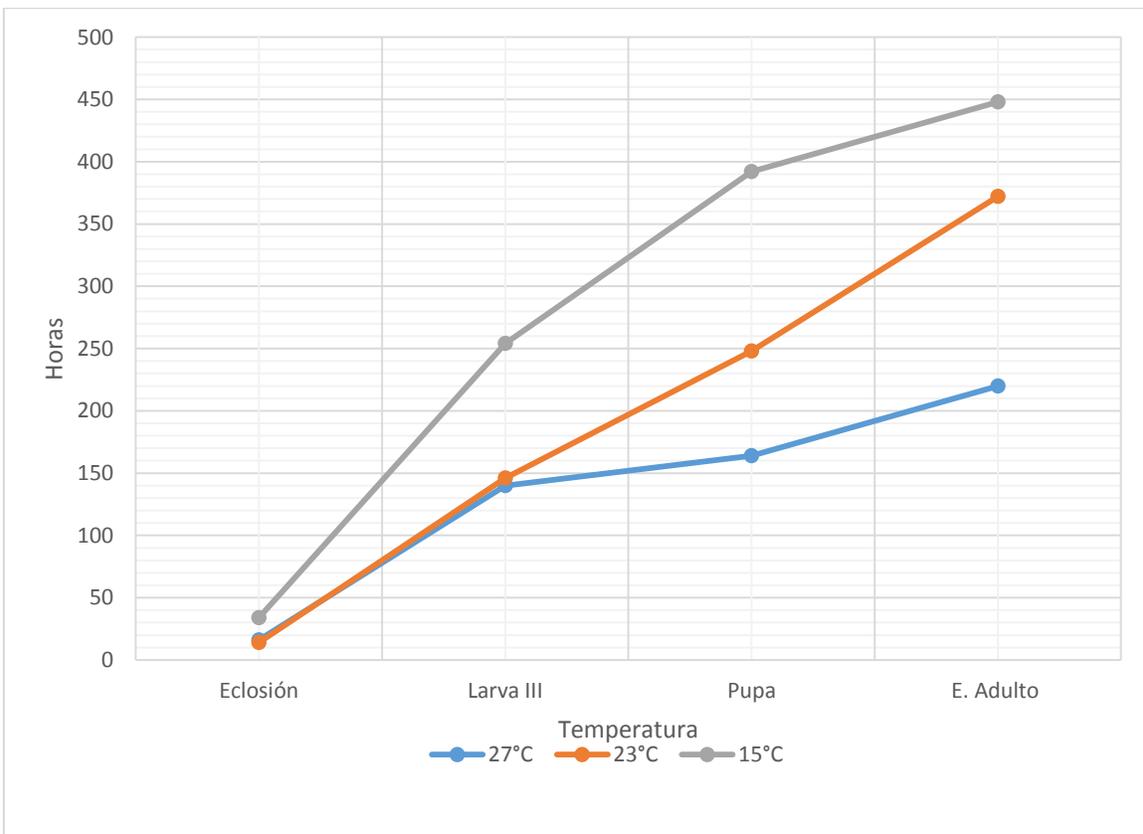


Figura 15. Desarrollo del ciclo de vida de *Chrysomya rufifacies* en las distintas temperaturas

En los cuadros 9, 10 y 11, observamos el crecimiento promedio que presentaron las larvas de las tres especies en las distintas temperaturas, los datos comenzaron a tomarse doce horas después de la eclosión; Los resultados permiten realizar las curvas de crecimiento de cada especie, los cuales se muestran en las Figuras 11, 12 y 13.

Cuadro 9. Crecimiento promedio de las larvas a 27 +/- 2°C

Horas	Medida en mm		
	<i>L. sericata</i>	<i>C. macellaria</i>	<i>C. rufifacies</i>
12	1.18666667	3.08	1.21333333
24	2.08	5.00666667	3.04
36	3.42	7.03333333	4.48666667
48	4.26	10.0066667	5.03333333
60	5.55333333	12.0133333	5.46666667
72	6.31333333	14	7.29333333
84	8.13333333	14.2666667	8.17333333
96	9.82666667	14.6133333	9.03333333
108	12.4	16.1466667	10.98
120	13.3		11.5266667
132			12.3
144			13.06
156			13.5666667
168			14.0266667

Cuadro 10. Crecimiento promedio de las larvas a 23°C +/- 2°C

Horas	Medida en mm		
	<i>L. sericata</i>	<i>C. macellaria</i>	<i>C. rufifacies</i>
12	1.37333333	2.02666667	1.20666667
24	2.35333333	3.02	2.32666667
36	3.22	4.1	3.02
48	4.04	6.02666667	3.43333333
60	5.54	7.02	4.03333333
72	7.10666667	9.99333333	4.57333333
84	8.16	11.4533333	5.34666667
96	9.14666667	12.4866667	6.2
108	10.1533333	13.22	7.04
120	10.7733333	14	7.54666667
132	11.08	14.4533333	8.18666667
144	12.2466667	15.1133333	8.7
156			9.10666667
168			9.58666667
180			10.0733333
192			11.28
204			12.18
216			12.5866667
228			13.16
240			14.0133333
252			14.5133333

Cuadro 11. Crecimiento promedio de las larvas a 15°C +/- 2°C

Horas	Medida en mm		
	<i>L. sericata</i>	<i>C. macellaria</i>	<i>C. rufifacies</i>
12	1.1	2.04	1.28
24	1.55333333	2.38	1.9
36	2.25333333	2.97333333	2.35333333
48	3.22666667	3.35333333	2.69333333
60	4.32	4.01333333	3.23333333
72	5.08666667	4.43333333	3.76666667
84	5.6	4.78	4.1
96	6.54	5.24666667	4.76
108	7.16	5.54	5.24666667
120	7.6	5.87333333	5.78
132	8.03333333	6.25333333	6.05333333
144	8.6	6.59333333	6.52
156	9.17333333	7.25333333	7.04666667
168	9.52666667	7.68666667	7.62666667
180	10.1733333	8.47333333	7.99333333
192	10.7666667	9.09375	8.7
204	11.18	9.58	8.91333333
216	12.0466667	11.0533333	9.28
228	12.8133333	11.32	9.78
240	13.2	11.3933333	9.94666667
252	#jDIV/0!	11.44	10.7666667
264		11.5866667	11.12
276		11.6933333	11.24
288		11.8133333	11.3866667
300		12.0466667	11.62
312		12.4066667	11.7666667
324		12.5133333	12.0133333
336		12.74	12.22
348		13.4733333	12.4933333
360		13.9733333	12.7733333
372		14.1266667	12.86
384		14.24	13.04
396		#jDIV/0!	13.24

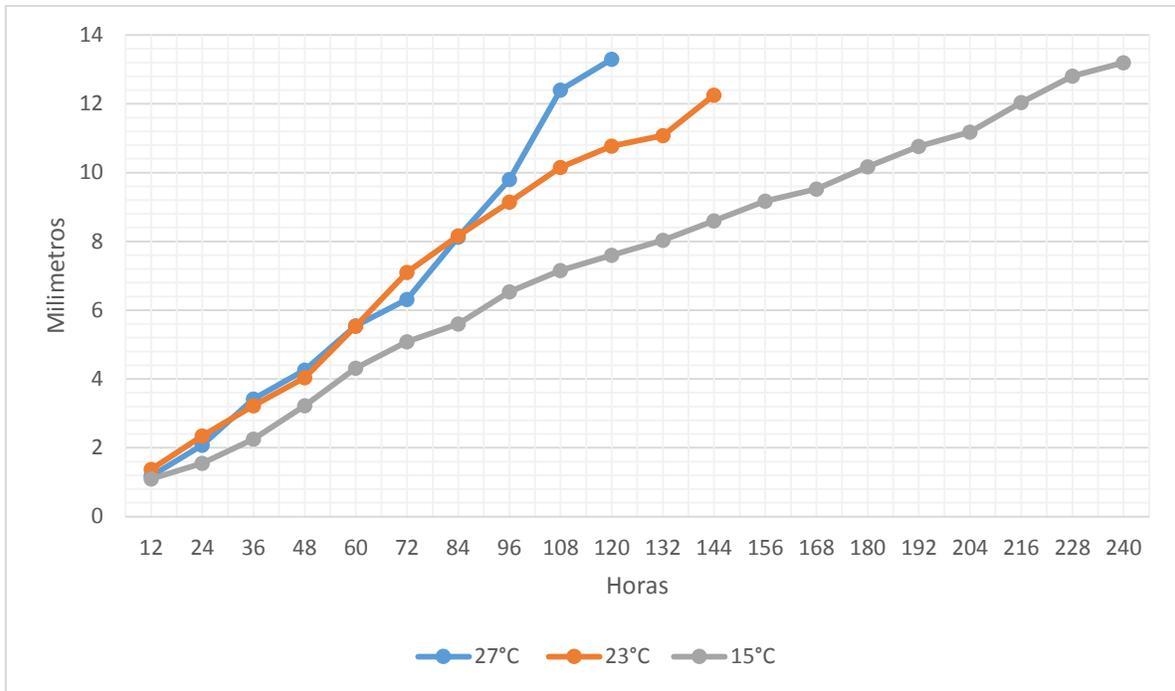


Figura 16. Curvas de crecimiento (milímetros/horas) de *Lucilia sericata*.

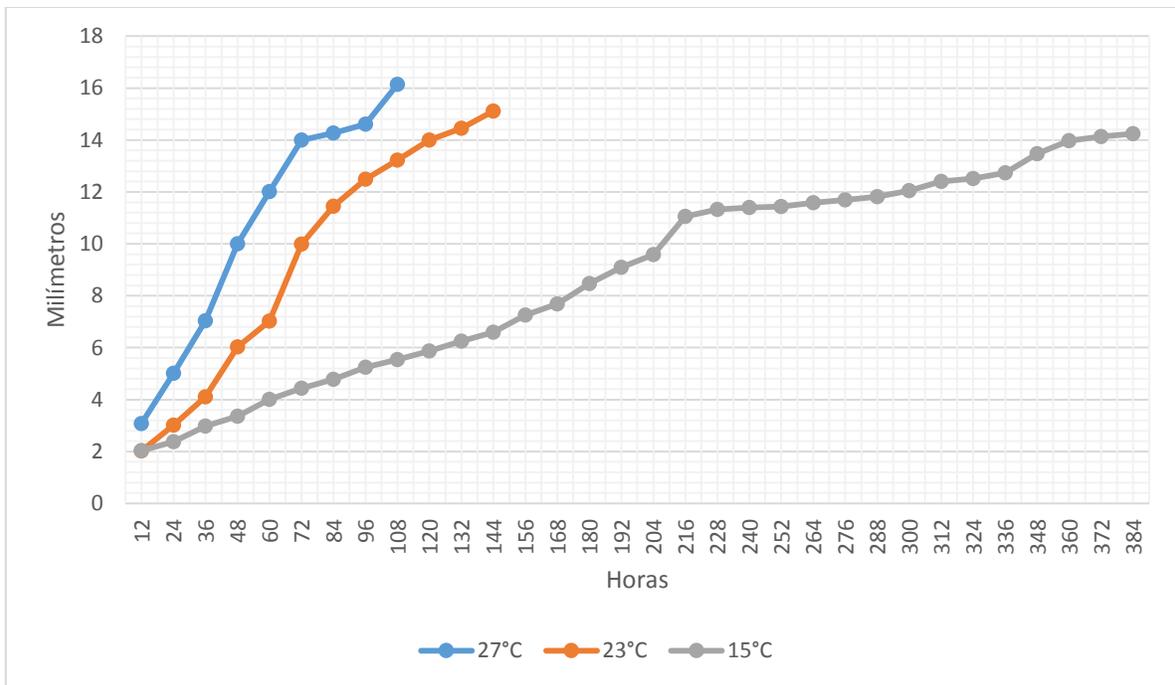


Figura 17. Curvas de crecimiento (milímetros/horas) de *Cochliomyia macellaria*.

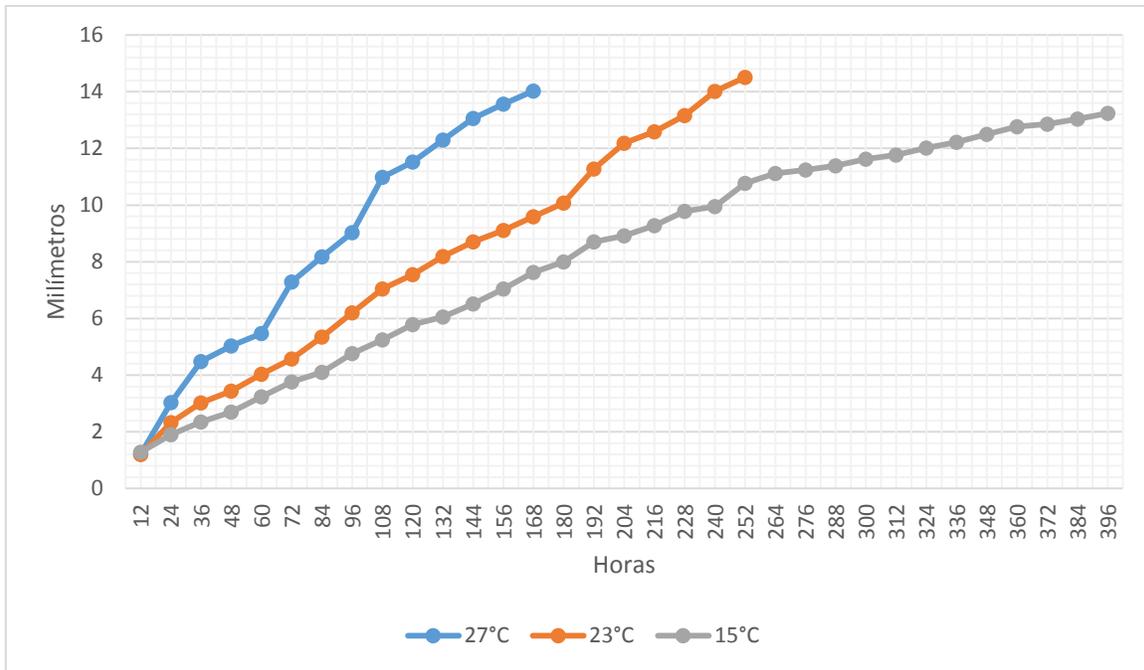


Figura 18. Curvas de crecimiento (milímetros/horas) de *Chrysomya rufifacies*.



Figura 19. Desarrollo larvario de *Lucilia sericata*. A. Larva de primer instar; B. Larva de segundo instar; C. Larva de tercer instar.

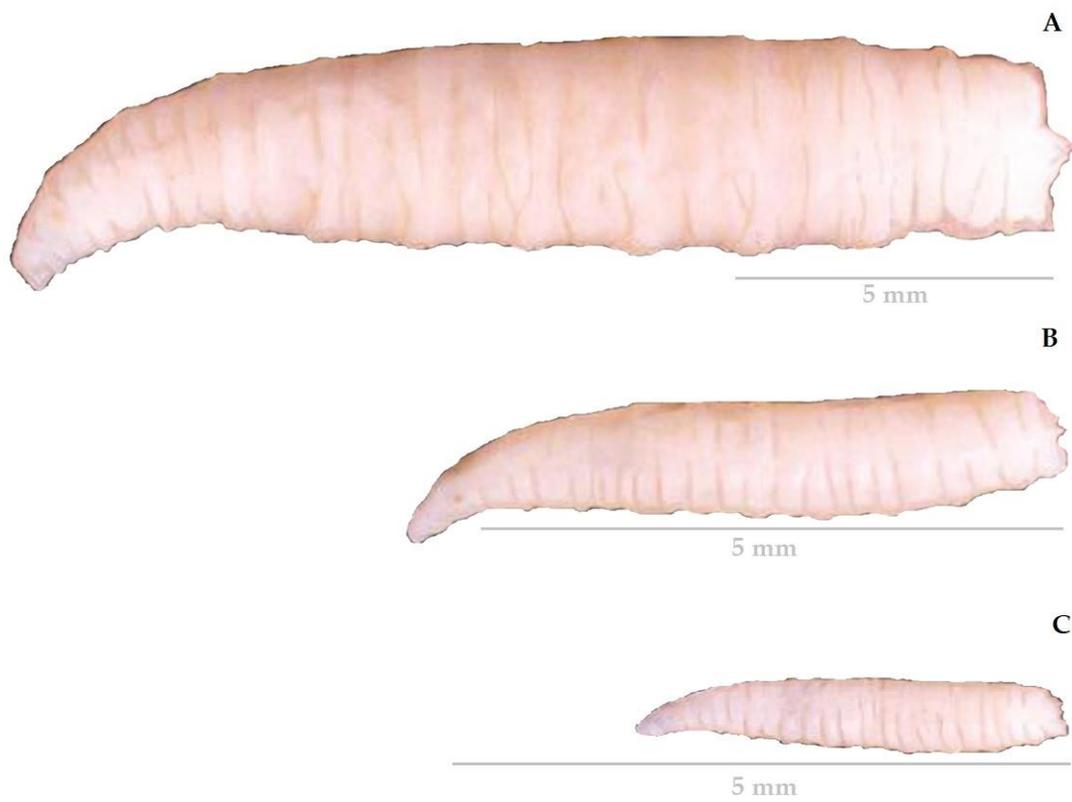


Figura 20. Desarrollo larvario de *Cochliomyia macellaria*. A. Larva de tercer instar; B. Larva de segundo instar; C. Larva de primer instar.

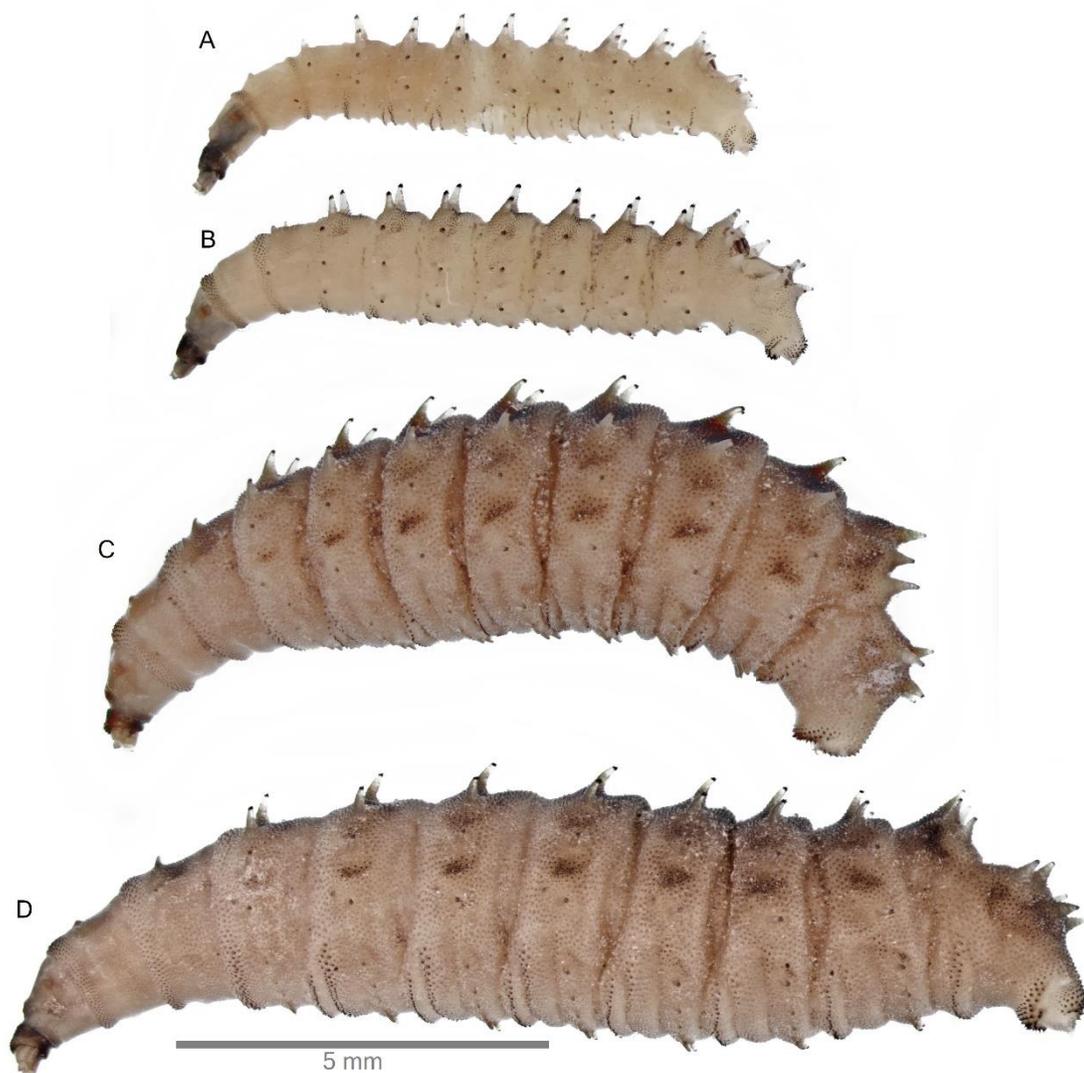


Figura 21. Desarrollo larvario de *Chrysomya rufifacies*. A. Larva de primer instar; B. Larva de segundo instar; C. Prepupa; D. Larva de tercer instar

2.7. DISCUSIÓN

Dado que las moscas podrían ser consideradas como relojes biológicos bastante precisos y además que son las primeras en llegar a un cadáver (Yusseff, 2007), su ciclo de vida permite determinar el IPM, si se considera el tiempo que tardan en pasar de un estado a otro. En un estudio realizado en la Región Lagunera, Saldívar (2010), reporta datos de desarrollo larval de *C. rufifacies*, *C. megacephala*, *L. silvarium*, *L. eximia* y *C. macellaria*, presentando curvas de crecimiento solo para *C.*

rufifacies. En contraste al estudio de Saldívar, en el presente trabajo no solo se obtuvieron curvas de crecimiento para *C. rufifacies*, sino que además se obtuvieron curvas de crecimiento de *C. macellaria* y *L. sericata*, manteniendo a los ejemplares vivos y tomando los datos de su longitud cada 12 horas, que es otra diferencia a los del citado estudio, de los que se tomaban datos cada 24 horas.

Catts y Goff (1992) mencionan que la temperatura tiene un gran efecto sobre la tasa metabólica y de desarrollo de los insectos. Dicen que, de manera general, dentro de cierto rango de temperatura, el desarrollo se acelera a medida que se incrementa la temperatura y viceversa; esta aseveración se pudo comprobar en el presente estudio ya que se observa que el ciclo de vida es evidentemente más corto a $27 \pm 2^\circ\text{C}$ que a $15 \pm 2^\circ\text{C}$, teniendo en el caso de *Lucilia sericata* una diferencia de 216 horas, en *Cochliomyia macellaria* de 200 horas y en *Chrysomya rufifacies* de 220 horas respectivamente, desde la eclosión hasta la emergencia de los adultos.

Usaquén y Camacho (2004) reportan una duración del ciclo de vida de *L. sericata* (desde huevo hasta la emergencia del adulto) de 552 a 672 horas en temporada de invierno (menos de 10°C), lo que, aunque no es la temperatura que se trató en este estudio, nos acerca al resultado obtenido a $15 \pm 2^\circ\text{C}$ en el presente estudio, que fue de 388 horas.

Anderson (2000), reporta una duración de 768 horas del ciclo de vida de *L. sericata* (Desde huevo hasta la muerte de los adultos) cuando se encuentra a 16°C ; en el presente estudio los adultos comenzaron a morir a los 11 días después de haberse dado la emergencia, sumándolo a las horas obtenidas en las curvas de crecimiento a $15 \pm 2^\circ\text{C}$ (388 horas), nos da un total de 652 horas, teniendo la diferencia solamente de 116 horas a comparación del reportado por Anderson, que pudo deberse a la variación de la temperatura o al tipo de sustrato alimenticio que el utilizó en su estudio. También en su estudio, reporta una duración de 480 horas del ciclo de vida de *L. sericata* (de huevo a la muerte de los adultos) a una temperatura de 21°C y de 336 horas a 27°C ; en el presente estudio, se obtuvieron resultados de 468 a 482 horas de duración con el rango de temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, y de 388

horas con el rango de temperatura de 27 +/-2°C, tomando en cuenta que los adultos comenzaron a morir desde el noveno día después de su emergencia.

Boatright y Tomberlin (2010), en su artículo “Efectos de la temperatura y el tipo de tejido en el desarrollo de *C. macellaria* (Diptera: Calliphoridae), reportan curvas de crecimiento de *C. macellaria* a tres temperaturas (20.8°C, 24.3°C y 28°C), midiendo solamente la etapa larvaria (de LI a LIII), sus resultados fueron 156, 132 y 108 horas respectivamente; la longitud máxima de las larvas III fue de 1.40, 1.38 y 1.6 cm respectivamente. Podemos comparar los datos presentados en los rangos de 23 y 27 +/-2°C del presente estudio; en cuanto al desarrollo larvario, la duración en el primer rango mencionado fue de 138 y 126 horas, que es un poco más largo que el citado y la longitud máxima de las larvas fue de 1.5 y 1.62 centímetros, similar al del estudio de Boatright y Tomberlin.

Palmer (1980) realizó una tabla de desarrollo para *C. rufifacies* a distintas temperaturas (desde 16 hasta 30 °C), en donde solo reporta la duración en horas del ciclo de vida de la especie, desde el huevo hasta la formación de la pupa, obteniendo los siguientes resultados: 393 horas a 16°C, 264 horas a 23°C y 204 horas a 27°C. a comparación de este estudio, en donde *C. rufifacies* tuvo un desarrollo más lento, con 220 horas a 27°C, 364 horas a 23°C y 432 horas a 15°C; esto puede deberse al tejido que se utilizó como sustrato alimenticio o el estado de putrefacción del mismo.

2.8. CONCLUSIONES

La temperatura influye directamente sobre el ciclo de vida de las especies *Lucilia sericata*, *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae); a menor temperatura el ciclo se alarga, a mayor temperatura, siempre que esté en un rango específico (menor a 30°C) el ciclo se acorta, sobre todo en la etapa larvaria.

El hígado resulta ser un sustrato alimenticio eficaz para desarrollar a las tres especies bajo condiciones de laboratorio, podría incrementarse esa eficiencia si se coloca el hígado en la etapa de descomposición que la especie lo requiera.

Se lograron producir las curvas de crecimiento de las tres especies estudiadas, lo que podría ser útil para la realización de dictámenes periciales asociados a la

Entomología Forense, ya que conocer el ciclo de vida de las especies en diferentes condiciones, puede hacer que el rango que se determina como IPM sea más exacto y cercano a la data de muerte.

2.9. LITERATURA CITADA.

- AMAT, E.; VELEZ, M. Y M. WOLFF. 2008. *Clave ilustrada para la identificación de los géneros y las especies de califóridos (Diptera: Calliphoridae) de Colombia*. Caldasia. 30 (1): 231-244.
- ANDERSON, G. S. 2000. *Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera)*. Journal of Forensic science, 45: 824-832.
- BOATRRIGHT, S. A., & TOMBERLIN, J. K. (2010). *Effects of temperature and tissue type on the development of Cochliomyia macellaria (Diptera: Calliphoridae)*. Journal of medical entomology, 47(5), 917-923.
- BYRD, J. & J. CASTNER. 2001. (Eds) *Forensic Entomology: the utility of arthropod in legal investigations*. CRC Press. USA. 418 p.
- CATTS, P. & M. GOFF. 1992. *Forensic entomology in criminal investigations*. Annual Review of Entomology. 37: 253 – 272
- DE PANCORBO, M., R. R., SALOÑA, M., & SÁNCHEZ, P. (2006). *Entomología molecular forense*. Ciencia forense, 107, 130.
- DE RÉAUMUR, R. A. F. (1753). *Observation du thermometre faites a Paris pendant lanne 1753, comparees avec cells qui ont ete faites sous la ligne a Isle de France, a Alger et en quelque-unes de nos isles de lAmerique*. Memoire de l'Academie des Sciences de Paris.
- FIGUEROA, L.; LINHARES, A. 2002. *Sinantropía de los Calliphoridae (Díptera) de Valdivia, Chile*. Neotrop. Entomol., 31(2):233-239.
- FLORES, R. 2009. *Insectos sarcosaprofagos asociados a la descomposición cadavérica de Sus scrofa en Texcoco, México*. Entomología Mexicana. 7: 768-774.
- FLORES-PÉREZ, L. R., PÉREZ-VILLEGAS, F. M., & GUIZA-RODRÍGUEZ, S. G. (2005). *Aportaciones a la biología de insectos sarcosaprofagos asociados a la descomposición cadavérica*.

- GALANTE, E., & MARCOS-GARCÍA, M. A. (1997). Detritívoros Coprófagos y Necrófagos. *Los Artrópodos y el Hombre. Sociedad Aragonesa de Entomología. Zaragoza.* 20: 57 – 64.
- GOFF, M.; GARCÍA, M. D.; ARNALDOS, M.; LOZANO, R. E. 2004. *Entomología cadavérica: fundamentos y aplicación. Referencia a la entomología española.* In Calabuig. J. A. & Villanueva C. E. Medicina Legal y Toxicología. Sexta edición. Barcelona, España. 253-262.
- GONZÁLEZ MEDINA, A., GONZÁLEZ HERRERA, L., MARTÍNEZ TÉLLEZ, I., ARCHILLA PEÑA, F., HIGUERA HIDALGO, J., & JIMÉNEZ RÍOS, G. (2011). *Estimación del intervalo post-emersión de un cadáver hallado en un embalse en Granada (España).* Cuadernos de Medicina Forense, 17(3), 137-144.
- GRASSBERGER, M., & REITER, C. (2001). *Effect of temperature on Lucilia sericata (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen-and isomorphen-diagram.* Forensic Science International, 120(1-2), 32-36.
- GREENBERG, B. 1991. *Flies as forensic indicators.* J. Med. Entomol. 28:565 – 577.
- IANNACONE, J. (2003). *Artropofauna de importancia f auna de importancia f auna de importancia forense en un ense en un cadáver de cer er de cer er de cerdo en el Callao, do en el Callao, do en el Callao, Perú.* Revista Brasileira de Zoologia, 20(1), 85-90.
- INSAURRALDE, D. R. (2003). Presencia de. *Chrysomya albiceps.*
- MARSHALL, S. A.; WHITWORTH, J. Y L. ROSCUE. 2011. *Blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Eastern Canada with a key to Calliphoridae subfamilies and genera of Eastern North America, and a key to the Eastern Canadian species of Calliphorinae, Luciliinae and Chrysomyiinae.* Canadian Journal of Arthropod Identification. No. 11.
- MEGNIN, P. 1894. *La faune des cadavres. Application de l'entomologie a la médecine légale.* Encyclopdie scientifique des Aides-Mémoire, Masson, Paris Gauthier-Villars, Paris. 214 p.

- MONAGHAN, P.R. 2007. *Maggots, notes from academe*. Chronicle Higher Educ., LIII,: A48-A48.
- OLIVA, A. (2007). *Frecuencia y distribución temporal de moscas cadavéricas (Diptera) en la ciudad de Buenos Aires*. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales nueva serie, 9(1), 5-14.
- PALMER, D. H. (1980). *Partitioning of the carrion resource by sympatric Calliphoridae (Diptera) near Melbourne* (Doctoral dissertation, La Trobe University).
- PAPE, T.; WOLFF, M. Y E. AMAT. 2004. *Los califóridos, éstridos, rinofóridos y sarcófágidos (Diptera: Calliphoridae, Oestridae, Rinophoridae, Sarcophagidae) de Colombia*. Biota Colombiana, 5 (2): 201-208.
- PÉREZ, S. (2007). *Muscidae (Diptera) de interés forense en Colombia: importancia y distribución*. In Memorias del XXXIV Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, Cartagena de Indias, del (pp. 25-27).
- RUEDA, L. C., ORTEGA, L. G., SEGURA, N. A., ACERO, V. M., & BELLO, F. (2010). *Lucilia sericata strain from Colombia: Experimental colonization, life tables and evaluation of two artificial diets of the blowfly Lucilia sericata (Meigen)(Diptera: Calliphoridae)*, Bogotá, Colombia Strain. Biological research, 43(2), 197-203.
- SALDIVAR CARREON, A. L. D. O., PERESGASGA, V., & TERESA, M. S. M. (2010). *Requerimientos de temperatura para el desarrollo de moscas de la familia Calliphoridae en una zona urbana semidesértica de Coahuila*. UAAAN. 42 p.
- SHEWELL, G. E., MCALPINE, J. F., PETERSON, B. V., SHEWELL, G. E., TESKEY, H. J., VOCKEROTH, J. R., & WOOD, D. M. (1987). *Manual of Nearctic Diptera*. Agriculture Canada Monograph, 28.
- TRIPLEHORN, C. A., & JOHNSON, N. F. (2005). *Study of insects*. United States of America, Thomson Brooks.
- USAQUÉN, W.; CAMACHO, G. 2004. *Ciclo de vida de Lucilia sericata (Diptera: Calliphoridae) como primera especie colonizadora presente en hígado*

humano realizado en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Revista de INML y CF. 18(2):31-36.

VERGARA-PINEDA, S., DE LEON-MUZQUIZ, H., GARCÍA-MARTÍNEZ, O., CANTÚ-SIFUENTES, M., MUHAMMAD, B. H., & TOMBERLIN, K. J. (2009). *Comportamiento de arribo de moscas necrófagas (Diptera: Calliphoridae) a un cadáver humano. Entomología mexicana, 8, 792-797.*

VISCIARELLI, E., COSTAMAGNA, S., LUCCHI, L., & BASABE, N. (2007). *Human myiasis in Bahía Blanca, Argentina: period 2000/2005. Neotropical entomology, 36(4), 605-611.*

WELLS, J. D., PAPE, T., & SPERLING, F. A. (2001). *DNA-based identification and molecular systematics of forensically important Sarcophagidae (Diptera). Journal of Forensic Science, 46(5), 1098-1102.*

YUSSEFF, V., S. Z. 2007. *Efectos de la temperatura sobre el desarrollo de Chrysomya rufifacies y Cochliomyia macellaria (Diptera: Calliphoridae), dos especies importantes para la entomología forense en Puerto Rico. Tesis de Maestría. Universidad de Puerto Rico. Mayaguez Puerto Rico. 98 pp.*

CONCLUSIONES FINALES.

La información derivada de la presente investigación resulta relevante, sobre todo para la división de periciales, el obtener información que pueden utilizar para determinar con mayor facilidad el intervalo posmortem en los laboratorios forenses y así elaborar dictámenes con datos de la región que puedan ser validos en un juicio oral. Además, se proponen dietas alternativas para la cría de *L. sericata* en condiciones de laboratorio, por si se impulsa la terapia larvaria en nuestro país. De esta forma, con base a los resultados obtenidos, se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- Hacen falta laboratorios preestablecidos para criar y estudiar las especies de importancia forense presentes en el país, ya que la Entomología forense comienza a ser un referente dentro del marco penal del país.
- Se obtuvieron datos necesarios para proyectar curvas de crecimiento preliminares en cuanto a la duración del ciclo de vida y la longitud larval de *L. sericata*, *C. macellaria* y *C. rufifacies*, pudiéndose mejorar y precisar con estudios futuros sobre las mismas especies en la región, e incluso en regiones distintas del país, sobre distintos sustratos alimenticios y un rango amplio de temperatura.
- Las curvas de crecimiento obtenidas pueden ser utilizadas para obtener un intervalo posmortem aproximado, nunca exacto, ya que para eso los estudios deben realizarse directamente con los tejidos implícitos y en las condiciones climáticas en las que el cuerpo haya sido descubierto; lo que podría arrojar resultados aún más cercanos sería el hacer estudios en cadáveres humanos directamente, lo que es imposible en el país ya que, por cuestiones éticas, no se permite el uso de cadáveres para hacer un estudio de sucesión y/o desarrollo larvario en su hábitat natural y en distintas circunstancias.
- Hace falta una clave taxonómica que describa a todas las especies de importancia forense presentes en México para así facilitar su identificación y poder utilizarla como referencia en futuros estudios y dictámenes periciales de país.