

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

Por:

Sohath Zamira Yusseff Vanegas

Tesis sometida en cumplimiento parcial
de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

BIOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2007

Aprobado por:

Allen Lewis, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Arístides Armstrong, M.Sc.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

José A. Mari-Mutt, Ph.D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

Dr. Fernando Gallardo, Ph.D.
Representante de estudios graduados

Fecha

Lucy B. Williams, Ph.D.
Directora del Departamento de Biología

Fecha

ABSTRACT

Cochliomyia macellaria and *Chrysomya rufifacies* are the main insect species infesting decomposing cadavers in western Puerto Rico. The developmental cycle and temperature effects on larval growth in both species were studied at temperatures of 25, 30, and 35 °C, under a photoperiod of 12:12 hours and 70-90% of relative humidity. The duration of the developmental period from oviposition to adult emergence was inversely proportional to the rearing temperature. *Cochliomyia macellaria* had an average developmental period of 12.0 and 8.7 days at 25 and 30 °C, respectively, whereas a regime of 35 °C was lethal for pupae. *Chrysomya rufifacies* had an average developmental period of 10.9, 9.0, and 8.1 days at 25, 30, and 35 °C, respectively. To determine the larval age with 95 % reliability, larval length was registered using growth curves with prediction intervals. Both the highly predictable duration of larval development and the minimal variation in the length of larvae underscore the utility of both species as determinants of post mortem intervals. *Paralucilia* cf. *wheeleri* constitutes a possibly new record for Puerto Rico.

RESUMEN

Cochliomyia macellaria y *Chrysomya rufifacies* son los principales insectos descomponedores de cadáveres en el oeste de Puerto Rico. Se estudió el ciclo de desarrollo y el efecto que tiene la temperatura sobre el crecimiento larval de ambas especies bajo temperaturas de 25, 30 y 35 ± 1 °C, fotoperiodo de 12:12 h y humedad relativa entre 70 y 90 %. La duración del desarrollo desde la oviposición hasta la emergencia del adulto fue inversamente proporcional a la temperatura. *Cochliomyia macellaria* tuvo una duración promedio de 12 y 8.7 días a 25 y 30 °C respectivamente, mientras que el régimen de 35 °C fue letal para sus pupas. *Chrysomya rufifacies* tuvo una duración promedio de 10.9, 9.0 y 8.1 días a 25, 30 y 35 °C, respectivamente. Para determinar la edad de la larva con un 95 % de confiabilidad, el tamaño de las larvas se registró en curvas de crecimiento con intervalos de predicción. El tiempo de desarrollo altamente predecible y la variación mínima en el largo de las larvas resaltan la utilidad de ambas especies en la determinación del intervalo post mortem. Posible nuevo registro de *Paralucilia wheeleri* para Puerto Rico.

DEDICATORIA



A mis Padres y Hermanos

*Porque me enseñaron que la fuerza
necesaria para alcanzar cada uno
de mis sueños y metas está
sólo dentro de mí,
y que esa fuerza
la sostiene el gran amor que
ellos me brindan.*

Zamira

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer muy sinceramente,

A Dios, quien protege y guía mi camino y me da fortaleza, inteligencia y destreza para alcanzar mis metas y compartirlas con las personas que amo.

A mis padres y hermanos, quienes a pesar de la distancia estuvieron siempre cerca y me dieron su voz de aliento para continuar y conseguir otro más de mis sueños.

A Cesar Castellanos, Diana Saenz, Samir Bello y Azucena Camacho, por estar a mi lado, principalmente en esos momentos difíciles. Ustedes se convirtieron no sólo en mis amigos sino en mi familia.

Al Doctor José A. Mari Mutt, por aceptarme como su estudiante y darme la oportunidad de realizar mi Maestría en esta institución. Por apoyarme y guiarme durante la realización de mi trabajo de grado y por ser la persona más eficiente y estricta con la corrección del manuscrito. Su disciplina y exigencia serán un ejemplo a seguir.

Al Profesor Arístides Armstrong, por el gran apoyo y colaboración incondicional que me brindó durante el desarrollo de este trabajo. Por permitirme trabajar en su laboratorio y facilitarme el material necesario para el experimento. Por brindarme su valiosa amistad y compartir conmigo las tristezas y las alegrías, y tenderme la mano en los momentos de desolación.

Al Dr. Allen Lewis miembro del comité por la revisión del manuscrito y por las recomendaciones necesarias para el desarrollo de este estudio y al Dr. Ángel Berríos por su apoyo, revisión de la propuesta y por hacer mis tardes agradables con un café bien caliente.

Al Dr. Nico Franz, por su apoyo incondicional y su confianza. Por ayudarme a contactar al Dr. Jeffrey D. Wells y por la colaboración que me brindó en la preparación y envío del material biológico para confirmación.

Al Dr. Jeffrey Wells del Departamento de Biología de *West Virginia University*, por brindarme su ayuda en la determinación y confirmación de algunas especies de la familia Calliphoridae.

A la Señora Claudia P. Olaya, encargada de la Granja en la estación experimental de Lajas del Departamento de Industria Pecuaria del CCA, UPR-RUM, por la donación de cadáveres de cerdos para el experimento.

Al personal de Biología y Agronomía por su invaluable colaboración, principalmente a La Dra. Nanette Difffoot, María Méndez, Mary Jiménez, Donato Seguí, Víctor González y Luís Collazo.

A Luís Marín Ramírez y Manuel Acosta Frontera de la Biblioteca General del RUM por su valiosa colaboración y a todos mis compañeros y amigos con quienes compartí momentos agradables y dejaron una huella en mi vida que perdurará por siempre.

A la Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez donde culminé mis estudios de Maestría satisfactoriamente. Y a todos los “Boricuas” por su amabilidad y hospitalidad.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Lista de Tablas	x
Lista de Figuras	xi
Lista de Apéndices	xiii
Introducción	1
Publicaciones previas	3
Reseña histórica	3
Utilidad de la entomología forense	3
Utilidad del desarrollo de la mosca	4
Especie más importante para la entomología forense en Puerto Rico	5
<i>Chrysomya rufifacies</i> (Macquart)	5
<i>Cochliomyia macellaria</i> (Fabricius)	6
Condiciones ambientales	7
Materiales y Métodos	9
Zona de estudio	10
Técnicas de campo	10
Fase de muestreo	10
Técnicas de laboratorio	10
Obtención de huevos	11
Cría de larvas	11
Medición de larvas	11
Montaje de larvas y adultos	12
Análisis de la información	13
Resultados	14
Desarrollo a temperatura constante	14

Curvas de crecimiento	14
<i>Cochliomyia macellaria</i> (Fabricius)	16
Tiempo de desarrollo	16
Longitud larval.	17
<i>Chrysomya rufifacies</i> (Macquart)	18
Tiempo de desarrollo	18
Longitud larval	20
Estimación de la edad larval a partir del tamaño	20
Otros hallazgos durante el desarrollo de esta investigación	24
<i>Chrysomya megacephala</i> , nuevo registro de importancia forense para Puerto Rico	24
Posible nuevo registro de <i>paralucilia</i> cf. <i>wheeleri</i> para Puerto Rico	25
Descripción de los principales califóridos encontrados durante el estudio.	26
<i>Chrysomya rufifacies</i>	26
<i>Cochliomyia macellaria</i>	29
<i>Chrysomya megacephala</i>	32
<i>Paralucilia Wheeleri</i>	35
Claves de larvas y adultos de dípteros con importancia forense.	40
Clave para califóridos adultos con importancia forense	40
Clave para larvas de califóridos con importancia forense	40
Clave para larvas de Chrysominae con importancia forense	41
Discusión	42
Características biológicas de <i>Chrysomya rufifacies</i> y <i>Cochliomyia macellaria</i>	42
Desarrollo a temperatura constante	44

Curvas de crecimiento	44
<i>Cochliomyia macellaria</i>	45
Tiempo de desarrollo	45
Longitud larval	47
<i>Chrysomya rufifacies</i>	48
Tiempo de desarrollo	48
Longitud larval	49
Estimación de la edad de la larva a partir de su tamaño	50
Ejemplo práctico para determinar el IPM	51
Otros hallazgos durante el desarrollo de esta investigación	53
<i>Chrysomya megacephala</i> , nuevo registro de importancia forense para Puerto Rico	53
Posible nuevo registro de <i>Paralucilia</i> cf. <i>wheeleri</i> para Puerto Rico	54
Conclusiones	55
Recomendaciones	57
Literatura citada	58
Apéndice	66

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla1.	Desarrollo de los estadios de <i>Cochliomyia macellaria</i> a tres regímenes de temperatura	17
Tabla 2.	Desarrollo de los estadios de <i>Chrysomya rufifacies</i> a tres regímenes de temperatura	18

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Zona de estudio durante la fase de campo	9
Figura 2. Recolección de larvas, adultos y huevos	10
Figura 3. Platos Petri con huevos e incubadora	12
Figura 4. Curvas de crecimiento de <i>Chrysomya rufifacies</i> y <i>Cochliomyia macellaria</i>	15
Figura 5. Duración del desarrollo de <i>Cochliomyia macellaria</i> para cada estado de vida a tres temperaturas	16
Figura 6. Desarrollo larval de <i>Cochliomyia macellaria</i> bajo tres temperaturas	18
Figura 7. Duración del desarrollo para cada estado de vida de <i>Chrysomya rufifacies</i> a tres temperaturas	19
Figura 8. Desarrollo larval de <i>Chrysomya rufifacies</i> bajo las tres temperaturas	20
Figura 9. Curvas de crecimiento del desarrollo larval de <i>Cochliomyia macellaria</i> a partir de regresiones lineales polinomiales	21
Figura 10. Curvas de crecimiento del desarrollo larval de <i>Chrysomya rufifacies</i> a partir de regresiones lineales polinomiales	22
Figura 11. Rangos del largo larval en milímetros para cada estadio larval	23
Figura 12. Adulto de <i>Chrysomya rufifacies</i>	27
Figura 13. Tercer estadio larval de <i>Chrysomya rufifacies</i>	28
Figura 14. Adulto de <i>Cochliomyia macellaria</i>	30
Figura 15. Tercer estadio larval de <i>Cochliomyia macellaria</i>	31
Figura 16. Adulto de <i>Chrysomya megacephala</i>	33

	Pág.
Figura 17. Tercer estadio larval de <i>Chrysomya megacephala</i>	34
Figura 18. Tercer estadio larval de <i>Paralucilia wheeleri</i>	36
Figura 19. Califóridos adultos	37
Figura 20. Cabeza del macho de <i>Chrysomya megacephala</i>	38
Figura 21. Vista ventral de la cabeza de <i>Paralucilia wheeleri</i>	39
Figura 22. Estimación de la edad larval de <i>C. rufifacies</i> a 35 °C a partir de su tamaño	52

LISTA DE APÉNDICES

	Pág.	
Apéndice A.	Formato para registrar las medidas de las larvas en cada muestreo	67
Apéndice B.	Estadística descriptiva de la duración de cada estado de desarrollo	68
Apéndice C.	Estadística descriptiva del tamaño de las larvas para cada muestreo	70
Apéndice D.	Estadística de las regresiones lineales polinomiales para las dos especies bajo las tres temperaturas	73
Apéndice E.	Estadística descriptiva para la temperatura y humedad relativa dentro de la incubadora	79
Apéndice F.	Registro de la temperatura y la humedad relativa dentro de la incubadora	80
Apéndice G.	Estados de descomposición del cerdo	82
Apéndice H.	Masas larvales de <i>chrysomya rufifacies</i> y <i>cochliomyia macellaria</i> durante el proceso de descomposición	83
Apéndice I.	Ciclo de vida de <i>chrysomya rufifacies</i> desde huevo hasta adulto	84
Apéndice J.	Clave pictórica de larvas de dípteros con importancia forense	85

INTRODUCCIÓN

La entomología forense estudia insectos asociados al proceso de descomposición cadavérica, lo que convierte a esta ciencia en una herramienta útil para esclarecer incógnitas que rodean a los cadáveres encontrados en circunstancias particulares. Esta ciencia puede ayudar a estimar el tiempo transcurrido desde la muerte hasta el hallazgo de un cadáver, denominado intervalo post-mortem (IPM). El método más utilizado consiste en determinar la edad de las larvas de dípteros colectados sobre cadáveres, por lo que es esencial para los entomólogos forenses conocer precisamente la tasa de desarrollo de las especies necrófagas.

Los factores principales que controlan la oviposición y las tasas de desarrollo de los insectos necrófagos son la temperatura y la humedad relativa. Según Smith (1986) las larvas de dípteros se desarrollan rápidamente cuando la temperatura y la humedad relativa son elevadas, y viceversa. Por esta razón los dípteros se consideran relojes biológicos confiables.

La entomología forense es una ciencia nueva en Puerto Rico. Edwin Guarín realizó un estudio en el Recinto Universitario de Mayagüez donde identificó la entomofauna asociada al proceso de descomposición cadavérica en cerdos. Guarín (2005) determinó que los dípteros más importantes en la descomposición cadavérica en esta zona son los califóridos *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya rufifacies*. Hasta ahora no existían estudios que revelasen cuánto tiempo tardan estas moscas en pasar de huevo a adulto en Puerto Rico, lo que creaba un vacío en la información necesaria para determinar el intervalo post-mortem (IPM).

El propósito de esta investigación fue producir curvas de crecimiento para definir el ciclo de desarrollo de *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya rufifacies* bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa. Los objetivos del trabajo fueron (1) establecer la duración del ciclo vital de *C. rufifacies* y *Co. macellaria* teniendo en cuenta la temperatura media, mínima y máxima de Mayagüez, (2) establecer la relación que tiene la temperatura con el desarrollo larval, (3) hacer una colección de referencia con los cuatro estados de la metamorfosis y (4) editar una

cartilla sobre las prácticas necesarias para la captura y preservación de las principales moscas asociadas a la descomposición cadavérica.

PUBLICACIONES PREVIAS

RESEÑA HISTÓRICA

El primer registro de un caso resuelto por la entomología forense se remonta al siglo XIII y aparece en un manual chino de medicina legal, referente a un homicidio en el que apareció un labrador degollado por una hoz (Goff, 1993). Se describe que el día después de la muerte, el investigador pidió a todos los labradores que pusieran su herramienta de trabajo (hoz) en el piso, trazas invisibles de sangre atrajeron moscas a una única hoz. Confrontado con la evidencia el dueño de la hoz confesó su crimen.

A mediados del siglo XIX los científicos europeos Bergeret, Broudel y Yovanovich comienzan formalmente el trabajo de la entomología forense (Keh, 1985). En el año 1850, Bergeret hizo la primera determinación del tiempo de muerte en un cadáver, con base en el desenvolvimiento de las larvas y pupas que contenía. Este fue uno de los primeros casos en que evidencia entomológica fue admitida en un tribunal de justicia (Goff, 1993). En el año 1978, Leclercq publica *Entomología y Medicina Legal- Datación de la Muerte* y en el 1986 Smith publica el *Manual de entomología forense*. A partir de este momento la trayectoria de la entomología forense ha sido imparable; gran cantidad de autores han dedicado su tiempo y conocimiento a estos estudios, y son innumerables los casos policiales en los que han contribuido los entomólogos (Magaña, 2001).

UTILIDAD DE LA ENTOMOLOGÍA FORENSE

La entomología forense interpreta la información que suministran los insectos como testigos indirectos de un deceso, en casos donde la patología clásica no provee todos los datos necesarios para resolver un caso (Catts y Haskell, 1997). Los objetivos principales de esta ciencia son determinar el intervalo post-mortem a través del estudio de la fauna cadavérica, establecer la época del año en que ha ocurrido la muerte y verificar si un cadáver ha sido trasladado. Esta información da certeza y apoyo a otros medios de datación forense. La entomología forense también es usada para vincular al sospechoso con la escena de la muerte, relacionando la

actividad de llegada de los insectos con los grupos que se encuentran en un área determinada (Catts y Goff, 1992; Magaña, 2001).

UTILIDAD DEL DESARROLLO DE LA MOSCA

Las moscas son los primeros animales que encuentran un cadáver. Su desarrollo nos permite determinar el intervalo post-mortem si consideramos el tiempo que tardan las larvas en pasar de un estado a otro (Catts y Goff, 1992; Wolff, 1999; Wolff *et al.*, 2001). La metamorfosis completa de la mosca consta de cuatro estados bien definidos. El huevo es seguido por un periodo larval de intensa actividad alimenticia, luego del cual viene el período de inmovilidad llamado pupa. Durante esta etapa se desarrollan las características del adulto, el cual surge luego de una o dos semanas.

Los huevos colectados de los cadáveres y analizados utilizando disección, microscopía óptica y microscopía electrónica pueden ayudar a los investigadores en la estimación precisa del IPM. Durante los meses cálidos los huevos son puestos en abundancia, mientras que en los meses fríos las posturas se reducen. Los huevos incuban típicamente en uno a tres días, dependiendo de la especie y las condiciones ambientales. El análisis del estado embrionario muestra el tiempo de oviposición y por lo tanto el tiempo de muerte (Catts y Haskell, 1997).

Las larvas de moscas crecen rápidamente, pasando por tres estadios larvales antes de alcanzar su crecimiento total. Las larvas se crían juntas en grandes números y se mueven entorno al cadáver, promoviendo la diseminación de bacterias y secretando enzimas, lo cual hace posible el consumo de los tejidos blandos del cadáver. El desarrollo de las larvas tarda varios días o semanas dependiendo de la especie, las condiciones ambientales y el número de larvas presentes (Byrd y Castner, 2001).

Oliveira y Mello (2004) presentaron tres casos donde se estimó el intervalo post-mortem, con base en la biología de *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya megacephala*. Según los autores, la aplicación de la entomología forense requiere un conocimiento extensivo de la mecánica y los

factores ambientales que pueden intervenir con los procesos de colonización, tiempo de desarrollo y descomposición de los cadáveres.

ESPECIES MÁS IMPORTANTES PARA LA ENTOMOLOGÍA FORENSE EN PUERTO RICO

***Chrysomya rufifacies* (Macquart)**

Morfología: Los adultos de *Chrysomya rufifacies* son de color verde metálico, con una tonalidad azul variable bajo ciertas condiciones de luz. El margen posterior de los terguitos abdominales es azul brillante. Las larvas poseen en cada segmento del cuerpo una fila mediana de tubérculos carnudos con fuertes espinas esclerotizadas apicales (Byrd y Castner, 2001; Smith, 1986).

Distribución: *Chrysomya rufifacies* es una mosca de Australia y de los trópicos orientales del viejo mundo. Según Tomberlin *et al.* (2001), durante los últimos 20 años se han introducido cuatro especies de *Chrysomya* desde el Viejo Mundo hasta América. *Chrysomya rufifacies* fue reportada por primera vez en Hawái alrededor del año 1900. En el año 1978 fue introducida en América Central, donde se estableció exitosamente, dispersándose en el Nuevo Mundo. Esta especie ha sido reportada además en Arizona, Texas, California, Florida y otros estados de los Estados Unidos; México, Costa Rica y varios países de Centroamérica. En Puerto Rico, *C. rufifacies* se registró en 1974 en la herida de una cabra, pero fue reportada oficialmente en 1991 cuando se encontró en una miasis de caballo (Baumgartner y Greenberg, 1984).

Biología: *Chrysomya rufifacies* produce progenie unisexual, es decir que cada masa de huevos producirá sólo machos o hembras, una característica inusual entre los dípteros. Durante el verano la mayoría de las hembras maduran sexualmente en tres a siete días, mientras que en el otoño tardan de nueve a diez días después de la emergencia. Los machos son sexualmente maduros al emerger. Cada hembra oviposita en promedio 210 huevos, con un máximo de 370 huevos. La habilidad de las moscas adultas para dispersarse naturalmente depende de su longevidad y su rango de vuelo. *Chrysomya rufifacies* puede vivir de 23 a 30 días (Schmidt y Kunz, 1985 citado

por Baumgartner, 1993) y tiene un rango de vuelo de 0.52 a 1.6 km/día (media 0.84 km/día). Esta especie es abundante durante el verano y escasa durante los meses fríos.

Papel Ecológico: *Chrysomya rufifacies* es generalmente considerada una invasora secundaria de la carroña. El primer estadio larval es enteramente necrófago, pero el segundo y el tercero pueden depredar las larvas de otros dípteros. El canibalismo del segundo estadio sobre primero también ha sido documentado (Goodbrod y Goff, 1990). Las numerosas espinas esclerotizadas y los robustos tubérculos carnosos sobre el cuerpo, pueden ayudar a sujetar la presa mientras sus fuertes partes bucales son usadas para penetrar el cuerpo de las otras larvas y extraer sus fluidos. Además de este comportamiento, se ha observado que *C. rufifacies* aleja las larvas invasoras primarias y las conduce fuera del cadáver (Fuller, 1934). Estudios de campo muestran que *C. rufifacies* prefiere cadáveres grandes (conejos, cabras y humanos) en lugar de pequeños (ratones, aves y lagartijas), así como hábitats de campo abierto en lugar de bosques.

Importancia médico legal: Las investigaciones con aplicación forense desarrolladas en los últimos años han demostrado que *Chrysomya rufifacies* es un componente principal en los procesos de descomposición. Su comportamiento depredador le confiere gran ventaja competitiva con respecto a otras especies y es menos afectada por la reducción del cadáver, considerándose un indicador confiable del intervalo post-mortem. También coloniza rápidamente cadáveres frescos, es abundante tanto en la costa como tierra adentro y posee una amplia distribución porque tolera mayores fluctuaciones de temperatura (Byrd y Butler, 1997).

***Cochliomyia macellaria* (Fabricius)**

Morfología: Los adultos son de color azul-verdoso metálico, con tres estrías longitudinales verde oscuras sobre el tórax. La cabeza es anaranjada y las patas pueden variar de pardo rojizo a pardo oscuro. Las larvas poseen una traquea respiratoria prominente en su extremo posterior, envuelta por líneas oscuras que son muy visibles a través del fondo blanco del cuerpo. Estos caracteres permiten identificar la especie fácilmente en el campo (Byrd y Castner, 2001).

Distribución: *Cochliomyia macellaria* es nativa de América. Habita desde los Estados Unidos hasta las zonas tropicales de América Central; también se encuentra en partes de Canadá meridional durante los meses de verano y recientemente ha sido reportada en Suramérica.

Biología: *Cochliomyia macellaria* es estrictamente necrófaga, prefiere cadáveres grandes y puede depositar 1000 ó más huevos en masas sueltas de 40 a 250 huevos. Bajo condiciones favorables los huevos eclosionan en cuatro horas y las larvas alcanzan su madurez en 6 a 20 días. El desarrollo total dura de 9 a 39 días, dependiendo de la temperatura y la humedad ambiental (Smith, 1986).

Papel ecológico: *Cochliomyia macellaria* se considera un invasor primario de cadáveres y puede ser muy abundante. La especie frecuenta la carroña tanto en lugares soleados como sombríos y raramente entra a las viviendas. No tolera el frío y por lo tanto durante el invierno es escasa en el norte de los Estados Unidos.

Importancia médico legal: *Cochliomyia macellaria* está presente comúnmente en cadáveres humanos en el sureste de los Estados Unidos y es importante para la determinación del intervalo post-mortem. Sin embargo, su frecuencia ha sido reducida por la introducción reciente de la especie depredadora *C. rufifacies* (Byrd y Butler, 1996). En experimentos de laboratorio, Wells y Greenberg (1992) observaron que *C. rufifacies* puede causar la extinción de *Co. macellaria*, lo que no es directamente aplicable en condiciones naturales porque *Co. macellaria* logra colonizar prontamente el cadáver, se desarrolla rápido y migra a empupar antes de que *C. rufifacies* alcance su tercer estadio larval.

CONDICIONES AMBIENTALES

La temperatura es un factor muy importante para los organismos envueltos en la putrefacción. Las temperaturas entre 20 y 30 °C son ideales para el desarrollo de las larvas, mientras que las temperaturas muy bajas o muy elevadas inhiben la acción de los microorganismos, detienen el crecimiento de las larvas y preservan el cuerpo del ataque de las larvas necrófagas. La humedad es otro factor importante. Los climas de baja humedad y secos producen momificación, mientras

que en las localidades de humedad excesiva suceden la saponificación de carácter conservativo y la maceración de carácter destructivo (Ferllini, 1994). Para determinar el intervalo post-mortem se necesita un conocimiento detallado de las especies necrófagas y de los cambios que suceden en su ciclo de vida ante las variaciones de las condiciones ambientales (Jerson y Miller, 2001).

Una alternativa para conocer el efecto de las variaciones ambientales es reproducir las condiciones climáticas en el laboratorio. Los insectos son criados en cámaras a temperatura y humedad constante para determinar el tiempo requerido para su desarrollo, aunque las fluctuaciones naturales de temperatura pueden acelerar, retardar o no afectar la velocidad del desarrollo (Keh, 1985). Byrd y Butler (1997) demostraron que al incrementar la temperatura media disminuye el tiempo de duración total y de cada estadio. También reportaron que la variación en el tamaño larval durante el periodo de alimentación y post alimentación es mínima. La poca variación en el tiempo de eclosión de los huevos, la duración de los tres estadios larvales, la duración del estado post alimentario y la emergencia de los adultos pueden usarse para establecer un intervalo post-mortem confiable.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó a *Cochliomyia macellaria* y a *Chrysomya rufifacies* porque fueron las especies principales de dípteros necrófagos reportadas por Guarín (2005).

ZONA DE ESTUDIO



Figura 1. Finca Alzamora. Zona de estudio durante la fase de campo.

El estudio se realizó en la Finca Alzamora, del Colegio de Ciencias Agrícolas (CCA) de la Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez (RUM) (Figura 1). La finca está ubicada a una altitud de 10 m, latitud 18° 2' 57.1" N longitud 67° 08' 26.7" E, con límites de temperatura de 23 °C a 33 °C, y una media anual de 27 °C (Estación Meteorológica del RUM). El predio está alejado de residencias y establecimientos públicos, por lo que los olores de la descomposición no afectaron a la comunidad. La fase de laboratorio se llevó a cabo en el laboratorio de Entomología AP-100 del Departamento de Protección de Cultivos del CCA, UPR-RUM.

TÉCNICAS DE CAMPO

Fase de Muestreo - marzo a noviembre de 2006

Durante la fase de muestreo se pusieron a descomponer 10 cerdos de 3 a 6 kilogramos de peso a intervalos de 20 días. Los animales fueron donados por la estación experimental de Lajas. Cada cerdo muerto se trasladó a una jaula metálica de 100 x 70 x 45 cm rodeada por una malla con agujeros de 1.5 cm² que permitió la entrada de los insectos al cadáver pero impidió que fuera devorado por vertebrados carnívoros o carroñeros (Shean *et al.*, 1993). De marzo a junio se recolectaron huevos, larvas y adultos de dípteros (Figura 2). Los parámetros evaluados fueron: técnicas de captura y transporte de los insectos al laboratorio, medios de cultivo apropiados para la crianza de los huevos y larvas, y tipo de alimento para los adultos mantenidos en cámaras de cría. La identificación de larvas y adultos se hizo utilizando las claves de Borror *et al.* (2005), McAlpine *et al.* (1987), Smith (1986), Wells *et al.* (1999), Tantawi y Greenberg (1993) y Stehr (1991). Finalmente, se tomaron fotografías de larvas y adultos para describir cada especie. De julio a noviembre se recolectaron adultos y se trasladaron al laboratorio para ser criados.



Figura 2. Recolección de adultos, larvas y huevos.

TÉCNICAS DE LABORATORIO

Los adultos se llevaron al laboratorio, se durmieron con CO₂ y se separaron entre *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria*. Alrededor de 100 moscas de cada especie se mantuvieron en dos cajas metálicas de 30 x 30 x 30 cm forradas con malla muy fina, a una temperatura de 23 ± 2 °C, humedad relativa aproximada de 50 % y fotoperiodo de 14:10 h (D:N). Los adultos se alimentaron con una mezcla de dos partes de miel de abejas y 10 partes de agua.

Obtención de huevos

Para obtener huevos de cada especie, se ubicaron dentro de cada cámara 100 gramos de hígado de res cubiertos parcialmente con papel aluminio. El papel aluminio proporciona un lugar oscuro, protegido y húmedo preferido por las moscas para la oviposición.

Cría de larvas

El hígado envuelto en papel aluminio fue revisado cada seis horas. Los huevos se sacaron y se distribuyeron en 10 platos Petri de 100 x 15 mm, cada una con 40 g de hígado de res, y gasa en el fondo para absorber la humedad. En cada plato se colocaron de 80 a 100 huevos. Los platos se colocaron dentro de platos Petri más grandes (150 x 25 mm) que contenían arena, dispuesta al rededor de la placa pequeña. La arena proporcionó un medio seco para la pupación (Figura 3). Los platos con los huevos se colocaron en una incubadora (45 x 30 x 40 cm el interior; precisión de $\pm \frac{1}{4}$ °C) a una de las tres temperaturas (25, 30 y 35 ± 1 °C), con una humedad relativa entre 70 y 90 % (Apéndices E y F) y un fotoperiodo de 12:12 h (D:N). La humedad relativa se mantuvo introduciendo en la incubadora un recipiente con 90 ml de agua que se cambió cada 24 horas. El agua se evaporó conservando la incubadora con la humedad apropiada. La temperatura y la humedad se midieron constantemente con un termohigrómetro digital localizado dentro de la incubadora.

Medición de las larvas

Los platos Petri colocados dentro de la incubadora se revisaron cada cuatro horas para determinar la eclosión de huevos y registrar el tiempo. Posteriormente, se removió de cada plato Petri una larva a intervalos de cuatro horas para las temperaturas de 30 y 35 °C, y de seis horas para la temperatura de 25 °C. Estas larvas se depositaron en agua caliente para que no se encogieran, como ocurre con el uso de algunos fijadores (Tantawi y Greenberg, 1993), y luego se preservaron en alcohol etílico al 70 %. Las larvas se midieron con una rejilla micrométrica y los datos se registraron con la humedad y la temperatura para cada muestreo (Apéndice A). El tiempo de pupación se registró para determinar el tiempo de desarrollo total.



Figura 3. Platos Petri con huevos e incubadora, (a) plato Petri con hígado de res. (b) arena dentro del plato Petri más grande que rodea el hígado, la flecha blanca indica la masa de huevos, (c) gasa; (d), Incubadora BOEKEL.

MONTAJES DE LARVAS Y ADULTOS

Las larvas preservadas se pusieron en una solución de KOH al 10 % a temperatura ambiente y se observaron hasta que transparentaron. Después se les hizo un pequeño orificio con el bisturí, aproximadamente en el segmento 8, y con agujas de disección se extrajo el tubo digestivo. La larva limpia se deshidrató con una secuencia de concentración de alcoholes (70, 80, 90 y 95 %) por 10 minutos cada uno. Luego se dejó 10 minutos en alcohol absoluto y 10 minutos en fenol. La larva se ubicó sobre el portaobjetos procurando que los espiráculos posteriores y anteriores se vieran claramente. El esqueleto cefalofaríngeal se ubicó en vista lateral, se agregaron dos o tres gotas de euparal y luego se colocó el portaobjetos. Las placas se dejaron secando dentro del extractor, pues la larva y el euparal contienen fenol (sustancia tóxica y cancerígena). Las fotografías se tomaron a través del microscopio de luz.

Utilizando microscopía de luz y microscopía electrónica, se describieron los adultos y las larvas de las moscas principales que intervienen en el proceso de descomposición cadavérica. También se construyó una clave pictórica sencilla para la identificación de adultos.

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

El experimento se realizó con 10 repeticiones para cada especie bajo los tres regímenes de temperatura, a excepción del estado de pupación a 30 °C, que se basó en tres repeticiones para *Chrysomya rufifacies* y siete para *Cochliomyia macellaria* debido a problemas con el funcionamiento de una de las cámaras.

Para estimar la edad de la larva de acuerdo a su tamaño, se realizaron curvas de crecimiento y se aplicaron regresiones lineales polinomiales con bandas de predicción con un 95 % de confianza. Con la gráfica de desarrollo larval se puede estimar la edad de la larva teniendo en cuenta que esta edad es el valor que corresponde a su tamaño en la curva. Sin embargo, no sería confiable utilizar sólo los valores promedios porque se estarían obviando los tamaños mínimos y máximos de esta edad. La región lineal de la curva de desarrollo será utilizada para determinar el tiempo de muerte. También se realizó estadística descriptiva para analizar la duración en cada estado del desarrollo. El análisis se ejecutó utilizando el paquete estadístico Infostat, versión 6.0.

RESULTADOS

Durante la recolección de moscas adultas se observó una marcada sucesión de dípteros califóridos sobre el cadáver. Las especies más importantes en el proceso de descomposición fueron *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria*. La primera especie en llegar y depositar huevos fue *Co. macellaria*. Esta especie fue muy abundante durante el segundo y tercer día del proceso de descomposición (estado fresco e hinchado), cuando se observaron muy pocos individuos de otras especies. Al cuarto día la población de *Co. macellaria* disminuyó drásticamente, coincidiendo con la llegada de *C. rufifacies* y *C. megacephala*. *Chrysomya rufifacies* depositó huevos sobre el cadáver y fue muy abundante durante los días cuatro y cinco (estado de descomposición activo). Si el cadáver se descompone más rápido y llega al estado activo en tres días, entonces la llegada de *C. rufifacies* y de *Co. macellaria* se adelantarán.

DESARROLLO A TEMPERATURA CONSTANTE

Curvas de crecimiento

El crecimiento de *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* a las tres temperaturas es ilustrado en la figura 4. A las 72, 66 y 52 horas a 25, 30 y 35 °C respectivamente, *C. rufifacies* alcanza un tamaño entre 6.4 a 7 mm, el cual corresponde al tamaño de muda del estadio larval II al III. Cuando *C. rufifacies* alcanza el tercer estadio larval, indicado por la línea punteada, *Co. macellaria* ya ha migrado del cadáver o se dispone a hacerlo.

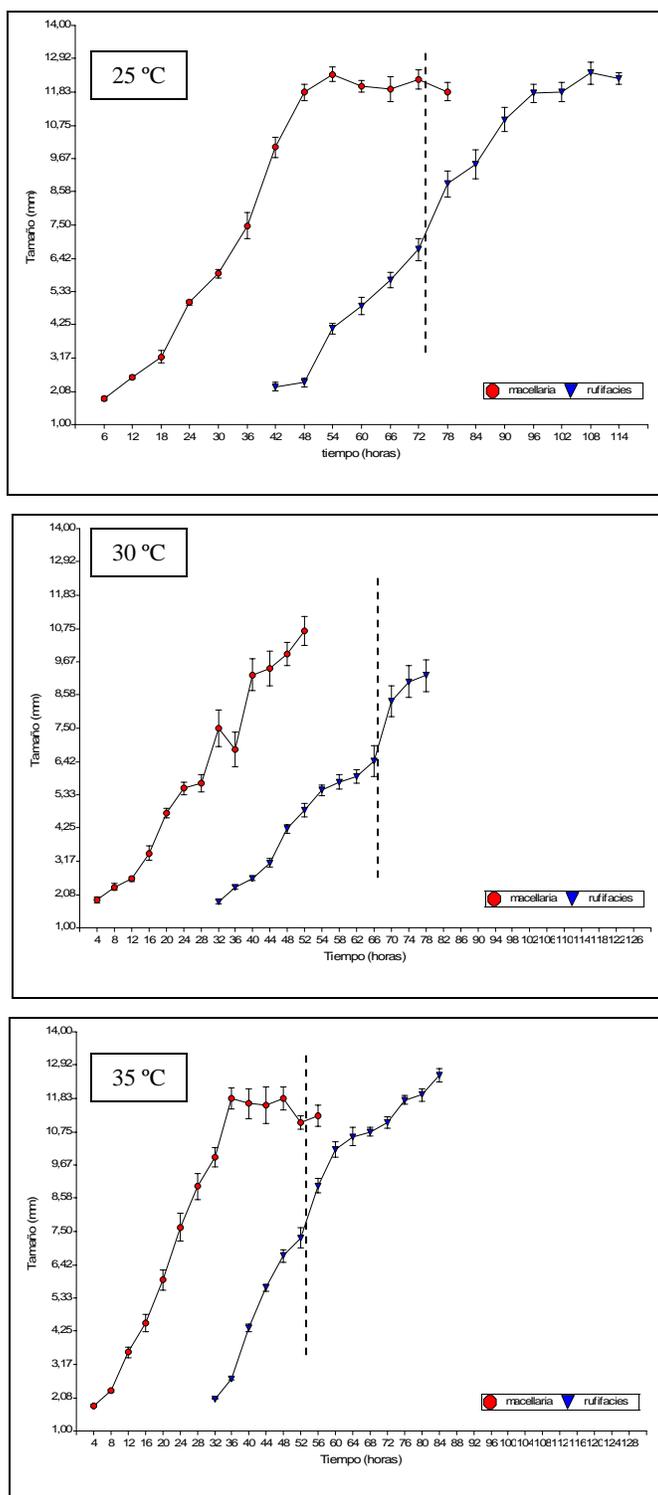


Figura 4. Curvas de crecimiento de *Chrysoomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* mostrando la diferencia en el tiempo de llegada al cadáver, y en el desarrollo a las tres temperaturas. La línea punteada muestra que cuando *C. rufifacies* alcanza el tercer estadio, *Co. macellaria* está en su etapa post alimentaria.

Cochliomyia macellaria (Fabricius)

Tiempo de desarrollo

La duración de la etapa larval disminuyó a medida que aumentó la temperatura. La Tabla 1 presenta la media del tiempo de desarrollo del huevo, los tres estadios larvales y la pupa para cada temperatura. El incremento en la temperatura redujo el tiempo de desarrollo total y la duración de cada estadio larval, con excepción del segundo estadio a 30 °C, el cual fue más prolongado (Figura 5, Tabla 1).

Aunque la temperatura de 30 °C produjo una duración del estadio II más prolongada que a 25°C, el periodo larval completo fue más corto. La media en el tiempo del desarrollo larval de *Co. macellaria* a 25 °C fue de 84.0 h (3.5 días), a 30 °C fue de 66.2 h (2.8 días) y a 35 °C fue de 56.0 h (2.3 días). El tiempo requerido para el desarrollo total a 25 °C tuvo un rango de 275.0 a 315.0 h (11.4 a 13.1 días respectivamente) con una media de 288.2 h (12 días). A 30 °C el desarrollo total tuvo una media de 208.1 h (8.7 días) con un rango de 198.0 a 225.0 h (8.2 a 9.3 días respectivamente). El desarrollo total no se pudo estimar a 35 °C porque esta temperatura fue letal para las pupas (Tabla 1, Apéndice B).

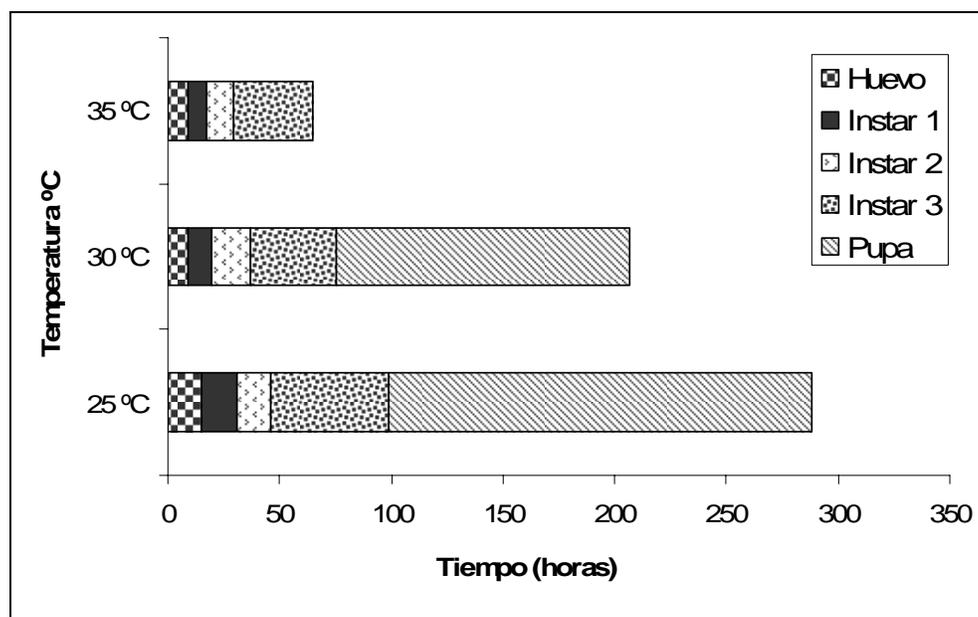


Figura 5. Duración del desarrollo de *Cochliomyia macellaria* para cada estado de vida a tres temperaturas.

Tabla1. Desarrollo (Media \pm D.E.) de los estadios de vida de *Cochliomyia macellaria* a tres regímenes de temperatura (* promedio basado en 7 repeticiones).

Temperatura (°C)	n	Desarrollo de tiempo en horas (h) desde la oviposición					
		Huevo	Estadio I	Estadio II	Estadio III	Pupa	Total
25 \pm 1	10	15 \pm 0.01	16.2 \pm 2.9	15 \pm 3.2	52.8 \pm 2.53	189.2 \pm 14.81	288.2 \pm 14.81
30 \pm 1	9	9.1 \pm 1.05	10.2 \pm 2.91	17.3 \pm 2.0	38.7 \pm 8.94	*131 \pm 13.98	208.1 \pm 9.26
35 \pm 1	10	8.8 \pm 1.03	8.8 \pm 1.69	12 \pm 1.89	35.2 \pm 1.69	Muerte	N/A

A 35 °C, *Co. macellaria* se desarrolló rápidamente desde la etapa larval hasta la etapa post alimentaria. Cuando su fase alimentaria terminó, las larvas migraron del hígado hacia la arena buscando un lugar seco y propicio para empupar. Durante varias horas se observó un movimiento continuo de las larvas sobre la arena, pero ninguna se enterró. Se transfirieron dos de los platos Petri a una temperatura de 23 \pm 2 °C y bajo estas condiciones las larvas empuparon inmediatamente. Los adultos emergieron en 168 h (7 días). Las larvas que continuaron a 35 °C se desplazaron fuera de los platos Petri y de la incubadora, escapando del calor y empuparon en lugares protegidos fuera de la incubadora. Se colocó una bandeja con arena para recibir las larvas que lograban salir a empupar. Este comportamiento demuestra la capacidad de migración que tiene esta especie para buscar condiciones adecuadas para la emergencia de los adultos.

Longitud larval

El crecimiento larval más rápido sucedió a 35 °C, indicando que *Co. macellaria* puede desarrollarse a temperaturas más altas que las esperadas. La longitud larval fue consistente durante todo el desarrollo, pero con variaciones en los tres regímenes de temperatura. El mayor tamaño larval justo antes de la etapa post alimentaria se encontró a 25 °C, con una media de 12.4 mm a las 54 h y un máximo larval de 13.5 mm a las 72 h. El menor largo larval se produjo a 30 °C, con una media de 10.8 mm, y el máximo fue de 12.5 mm a las 56 h. A 35 °C la media en el tamaño larval fue de 11.8 mm a las 36 h, con un largo máximo de 13.8 mm a las 40 h. La variabilidad menor en el largo larval se obtuvo a la temperatura de 25 °C, seguido por la de 35 °C y por último la de 30 °C (Figura 6, Apéndice C).

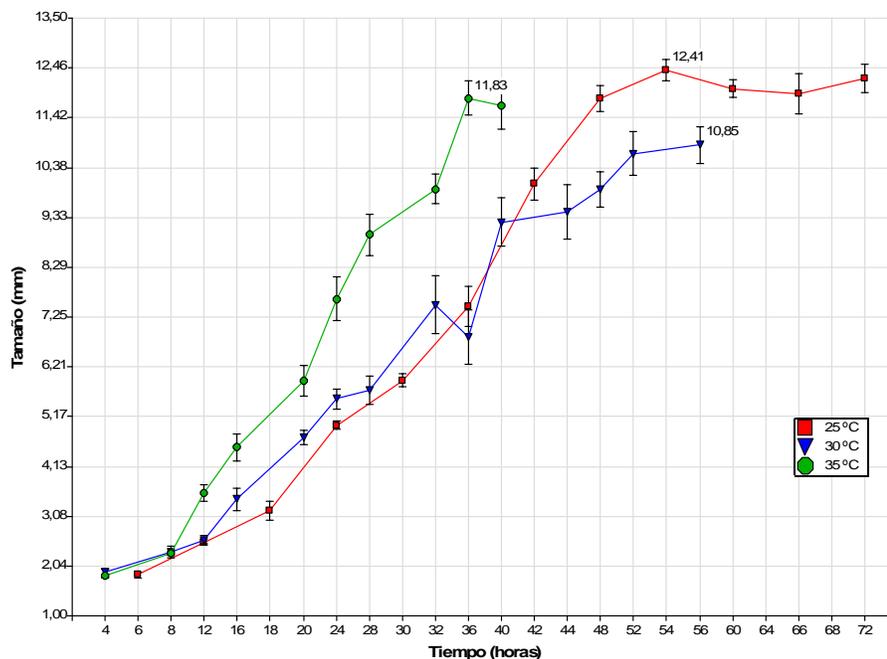


Figura 6. Desarrollo larval de *Cochliomyia macellaria* bajo tres temperaturas (no incluye la etapa post alimentaría).

Chrysomya rufifacies (Macquart)

Tiempo de desarrollo

La Tabla 2 presenta la media en la duración del desarrollo del huevo, los tres estadios larvales y la pupación en cada una de las tres temperaturas. Los primeros dos estadios duraron levemente más a 30 °C que a 25 °C, mientras que el tercer estadio tardó más en desarrollarse a 35 °C que a 30 °C.

Tabla 2. Desarrollo (Media ± D.E.) de los estadios de vida de *C. rufifacies* a tres regímenes de temperatura (* promedio basado en 3 repeticiones).

Temperatura (°C)	n	Desarrollo de tiempo en horas desde la oviposición					Total
		huevo	estadio I	estadio II	Estadio III	Pupa	
25 ± 1	10	14.1 ± 1.85	12 ± 0.01	22.8 ± 6.2	67.2 ± 6.2	144.4 ± 22.2	260.5 ± 23.1
30 ± 1	9	9.9 ± 1.65	12.4 ± 1.26	24.9 ± 4.37	28.4 ± 3.71	*144.7 ± 0.01	216.5 ± 5.01
35 ± 1	10	9 ± 0.01	8 ± 0.01	10.4 ± 2.07	37.6 ± 2.07	129 ± 12.4	194 ± 12.4

La temperatura de 35 °C produjo una duración del estadio larval III más largo (37.6 h) que la de 30 °C (28.4 h) y la temperatura de 30 °C produjo un periodo más largo de los estadios larvales I y II (12.4 y 24.9 h) que la de 25 °C (12 y 22.8 h). Sin embargo, la duración en el desarrollo larval fue más corta a 35 °C que a 30°C y a 25 °C. La temperatura de 25 °C produjo un estadio larval III bastante prolongado, con una diferencia de 39 h con respecto a 30 °C. Ésta es la diferencia de tiempo más amplia entre las temperaturas y los diferentes estados de *C. rufifacies* (Tabla 2, Figura 7).

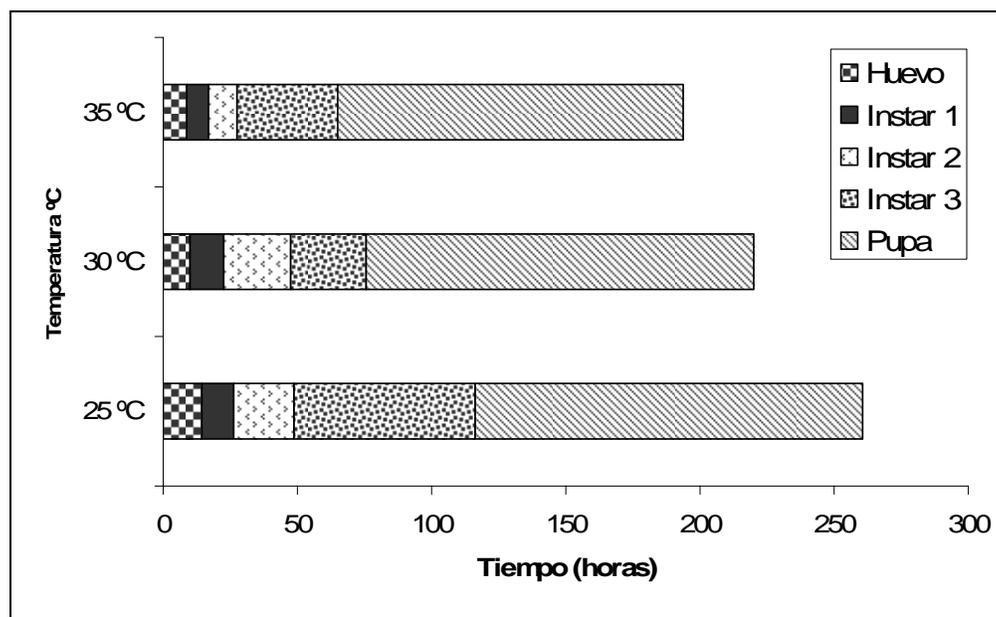


Figura 7. Duración del desarrollo para cada estado de *Chrysomya rufifacies* a tres temperaturas.

La media en la duración del desarrollo larval de *C. rufifacies* a 25 °C fue de 102.0 h (4.25 días), a 30 °C fue de 65.7 h (2.7 días) y a 35 °C fue de 56.0 h (2.3 días). La media en el tiempo de desarrollo total a 25 °C tuvo un rango de 243.0 a 313.0 h (10.1 a 13.0 días, respectivamente), con una media de 260.5 h (10.8 días). A 30 °C el desarrollo total mostró una media de 216.5 h (9.0 días), con un rango de 214.0 a 223.0 h (8.9 a 9.3 días, respectivamente). A 35 °C el desarrollo total tuvo una media de 194.0 h (8.0 días) con un rango de 185.0 a 209.0 h (7.7 a 8.7 días, respectivamente) (Tabla 2, Apéndice C). A diferencia de *Co. macellaria*, *C. rufifacies* logró empupar a 35 °C y hubo emergencia de adultos. Sin embargo, la mortalidad de las pupas a esta temperatura fue mayor que a 25 y 30 °C, indicando, que aunque *C. rufifacies* sobrevive a estas condiciones, la temperatura no es óptima para su desarrollo.

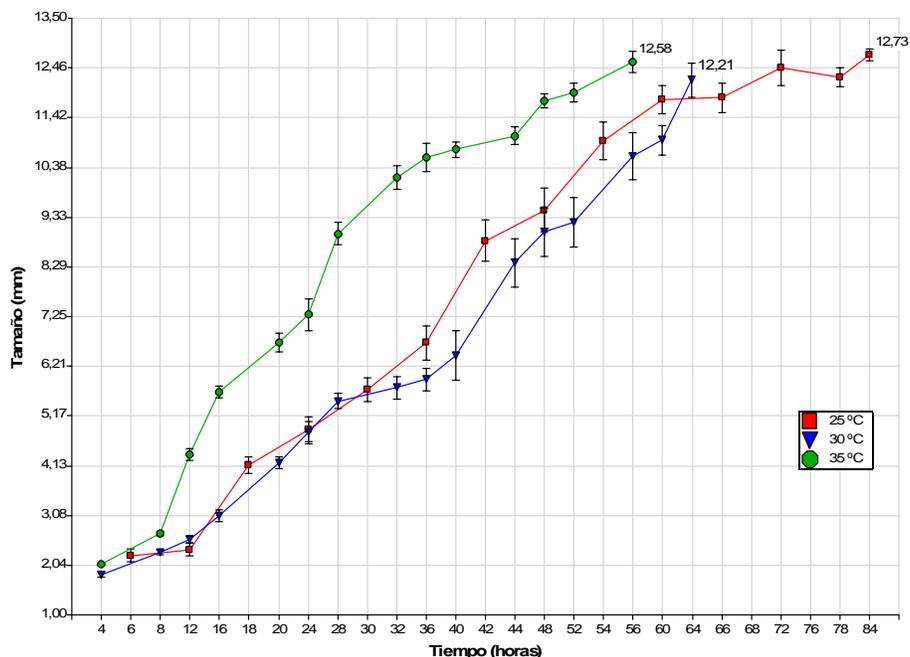


Figura 8. Desarrollo larval de *Chrysomya rufifacies* bajo las tres temperaturas (no incluye la etapa post alimentaria).

Longitud larval

El largo de la larva varió para los tres regímenes de temperatura, pero al igual que en *Co. macellaria*, fue mayor a 25 °C que a 30 °C. El mayor largo larval de *C. rufifacies* justo antes de la etapa post alimentaria a 25 °C fue de 12.7 mm a las 84 h, con un máximo de 13.5 mm de longitud registrado a las 90 h. El menor largo larval se observó a 30 °C, con una media de 12.2 mm a 64 h, aunque una larva alcanzó un máximo de 14 mm de longitud. La media del largo larval a 35 °C fue 12.6 mm y el largo máximo fue 13.7 a las 56 h. La menor variabilidad en tamaño se presentó a 35 °C (Figura 8).

ESTIMACIÓN DE LA EDAD LARVAL A PARTIR DEL TAMAÑO

Las figuras 9 y 10 muestran el desarrollo larval de las dos especies a las tres temperaturas. El desarrollo de *C. rufifacies* duró más y la variabilidad en tamaño fue menor que para *Co. macellaria* para las tres temperaturas. *Chrysomya rufifacies* mostró un tipo de curva diferente a 30 y a 35 °C, registrándose un crecimiento con tendencia lineal.

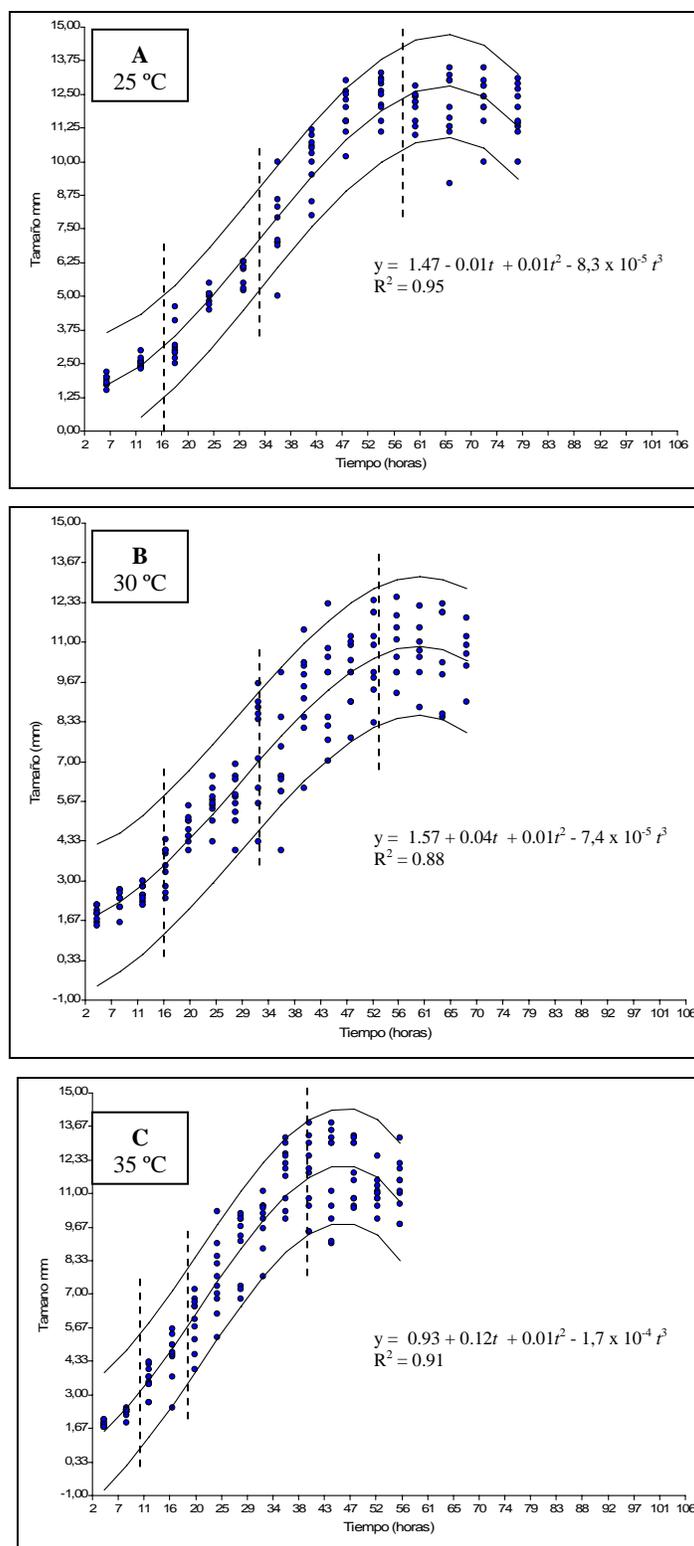


Figura 9. Curvas de crecimiento del desarrollo larval de *Cochliomyia macellaria* a partir de regresiones lineales polinomiales con bandas de predicción para la estimación de la edad de la larva. Las líneas entrecortadas separan los tres estadios larvales y el comienzo de la etapa post-alimentaria.

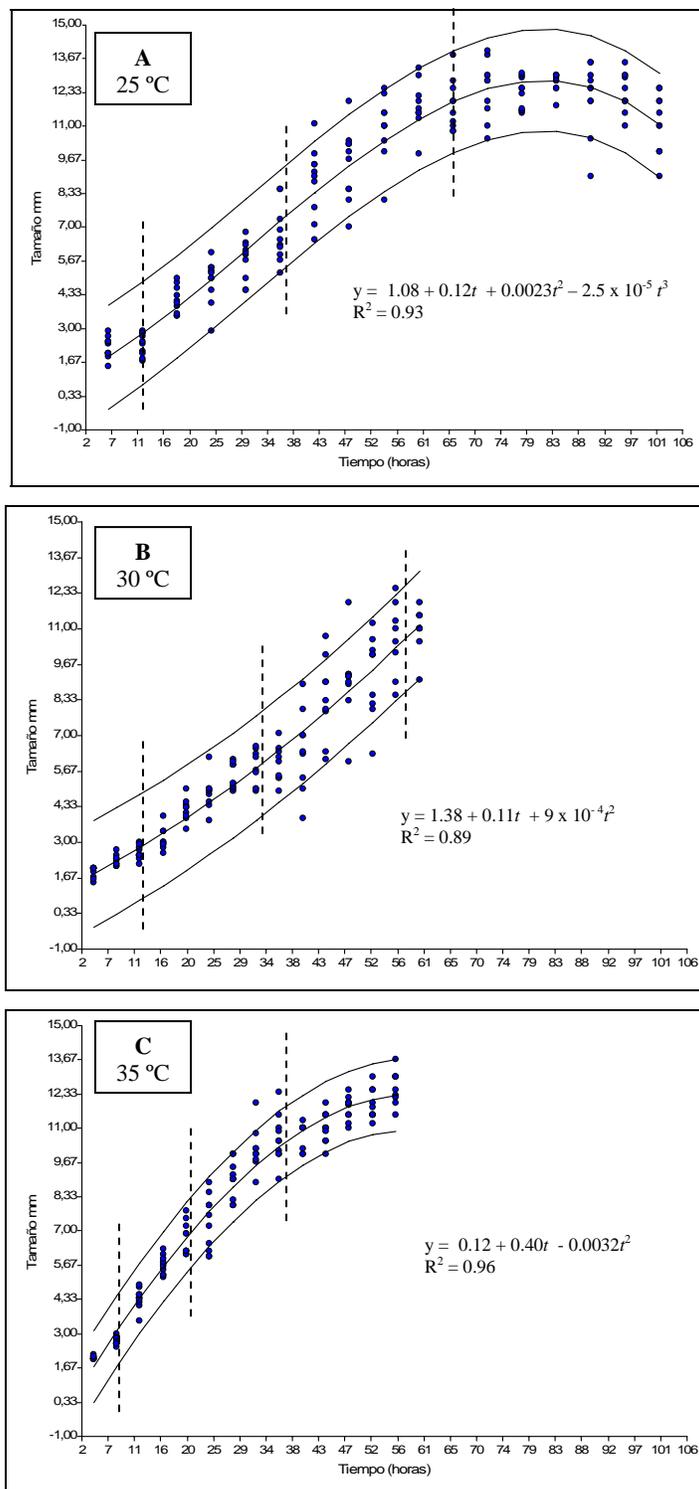


Figura 10. Curvas de crecimiento del desarrollo larval de *Chrysomya rufifacies* a partir de regresiones lineales polinomiales con bandas de predicción para la estimación de la edad de la larva. Las líneas entrecortadas separan los tres estadios larvales y el comienzo de la etapa post-alimentaria.

Las figuras 9 y 10 muestran la diferencia de tamaño entre los tres estadios y el momento cuando empieza la fase post alimentaria. En la figura 9A, la distribución de los puntos permite establecer los límites para cada estadio larval; es decir, los dos primeros puntos (7 y 11 sobre el eje x) corresponden al primer estadio, los tres siguientes tienen tamaños mayores y corresponden al segundo estadio y los cuatro siguientes corresponden al tercer estadio. Los últimos puntos corresponden a la etapa post alimentaria; la tendencia descendente se debe a que en esta etapa las larvas disminuyen su tamaño y se preparan para la pupación. Esta misma conducta se observa para las demás gráficas, excepto para las 10 B y C.

Para la relación tiempo-tamaño de *Co. macellaria* se obtuvieron ecuaciones lineales de tercer orden. La ecuación para 25 °C es $y = 1.47 - 0.01t + 0.01t^2 - 8,3 \times 10^{-5}t^3$ ($R^2 = 0.95$), para 30 °C es $y = 1.57 + 0.04t + 0.01t^2 - 7,4 \times 10^{-5}t^3$ ($R^2 = 0.88$) y para 35 °C es $y = 0.93 + 0.12t + 0.01t^2 - 1,7 \times 10^{-4}t^3$ ($R^2 = 0.91$); donde y es el tamaño de la larva y x es el tiempo de desarrollo (Figura 9, Apéndice D). Para *C. rufifacies* se obtuvieron ecuaciones lineales de segundo y tercer orden. La ecuación para 25 °C es $y = 1.08 + 0.12t + 0.0023t^2 - 2.5 \times 10^{-5}t^3$ ($R^2 = 0.93$), para 30 °C es $y = 1.38 + 0.11t + 9 \times 10^{-4}t^2$ ($R^2 = 0.89$) y para 35 °C es $y = 0.12 + 0.40t - 0.0032t^2$ ($R^2 = 0.96$) (Figura 10, Apéndice D).

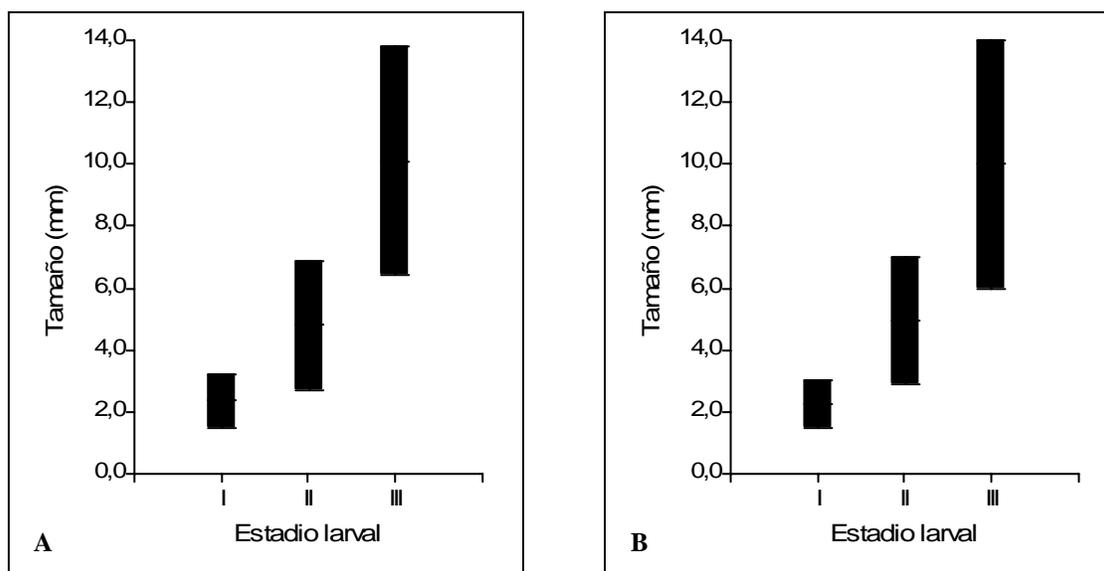


Figura 11. Rangos del largo larval en milímetros para cada estadio larval. (A) *Cochliomyia macellaria*, (B) *Chrysomya rufifacies*

Los rangos de tamaño de las larvas para cada estadio en *Co. macellaria* y *C. rufifacies* se presentan en la figura 11. Como se observa, la diferencia de tamaño entre las dos especies es mínima. El tamaño de los tres estadios larvales para cada especie se sobreponen sólo por décimas de milímetro. Los rangos de tamaño de *C. rufifacies* son de 1.5 a 3 mm en estadio I, de 2.9 a 7 mm en estadio II y de 6 a 14 mm en estadio III. Para *Co. macellaria* son de 1.5 a 3.2 mm en estadio I, de 2.7 a 6.9 mm en estadio II y de 6.4 a 13.8 mm en estadio III. Durante la medición de las larvas para construir las curvas de crecimiento se observaron varias larvas *pharate*; el término se refiere a un estado larval donde el siguiente estadio es visible a través de la cutícula justo antes de la muda. Varias larvas de *C. rufifacies* de 6.4 mm de largo estaban a punto de mudar y el estadio III se observa a través de la cutícula del estadio II. Lo mismo ocurrió con *Co. macellaria*, a un tamaño de 2.7 mm estaban a punto de mudar de estadio I a estadio II y a 6.9 mm estaban a punto de mudar de estadio II a estadio III.

OTROS HALLAZGOS DURANTE EL DESARROLLO DE ESTA INVESTIGACIÓN

***Chrysomya megacephala*, nuevo registro de importancia forense para Puerto Rico**

Durante la recolección de insectos en la fase de muestreo preliminar se colectó a *Chrysomya megacephala*, un califórido que no fue reportado por Guarín (2005), pero que por su incidencia en zonas urbanas es importante en el proceso de descomposición en cadáveres hallados en interiores. Los adultos de *C. megacephala* se colectaron durante todo el experimento (de marzo a diciembre de 2006). *Chrysomya megacephala* es un invasor secundario que coloniza el cadáver después de que *Cochliomyia macellaria* se ha establecido. Aunque el adulto fue muy abundante, no se encontraron larvas sobre el cadáver. Las larvas utilizadas para la determinación taxonómica se obtuvieron en el laboratorio. Dos hembras en estado de gravidez se pusieron en una jaula con hígado de res, siguiendo la metodología para la obtención de huevos. Cuando las larvas alcanzaron su tercer estadio, se preservaron en alcohol etílico al 70%.

Posible Nuevo registro de *Paralucilia* cf. *wheeleri* (Hough, 1899) para Puerto Rico

Durante la investigación se colectaron larvas que por sus características morfológicas posiblemente corresponden a *Paralucilia wheeleri*. La larva de este califórido se colectó junto a la de otros dípteros durante los muestreos en campo. El género *Paralucilia* pertenece a la subfamilia Chrysomyinae y su larva se diferencia de las otras por tener el esclerito oral completamente pigmentado y visible en forma de espina entre los ganchos bucales (Figura 18).

DESCRIPCIÓN DE LOS CALIFÓRIDOS PRINCIPALES ENCONTRADOS DURANTE EL ESTUDIO

Chrysomya rufifacies

Adulto

- Sección basal de la vena R con una fila de cerdas sobre el margen posterodorsal (Figura 12C)
- Escuámulas con pelos finos por encima (Figura 12D)
- Espiráculo torácico anterior blanco o amarillo claro (Figura 12E)
- Cuerpo metálico verde oscuro brillante (Figura 12 A, B)
- Al menos parte de la gena amarilla o anaranjado-pardo, oscura en la parte posterior (Figura E)

Larva

- Espiráculo posterior con el peritrema incompleto, sin botón (Figura 13B, E)
- Margen posterior del segmento 11 con espinas dorsales, botón no visible
- Cuerpo con filas de procesos carnosos o tubérculos (Figura 13C)
- Tubérculos dorsales con espinas apicales relativamente grandes y usualmente dispuestas hacia fuera (Figura 13F, G)

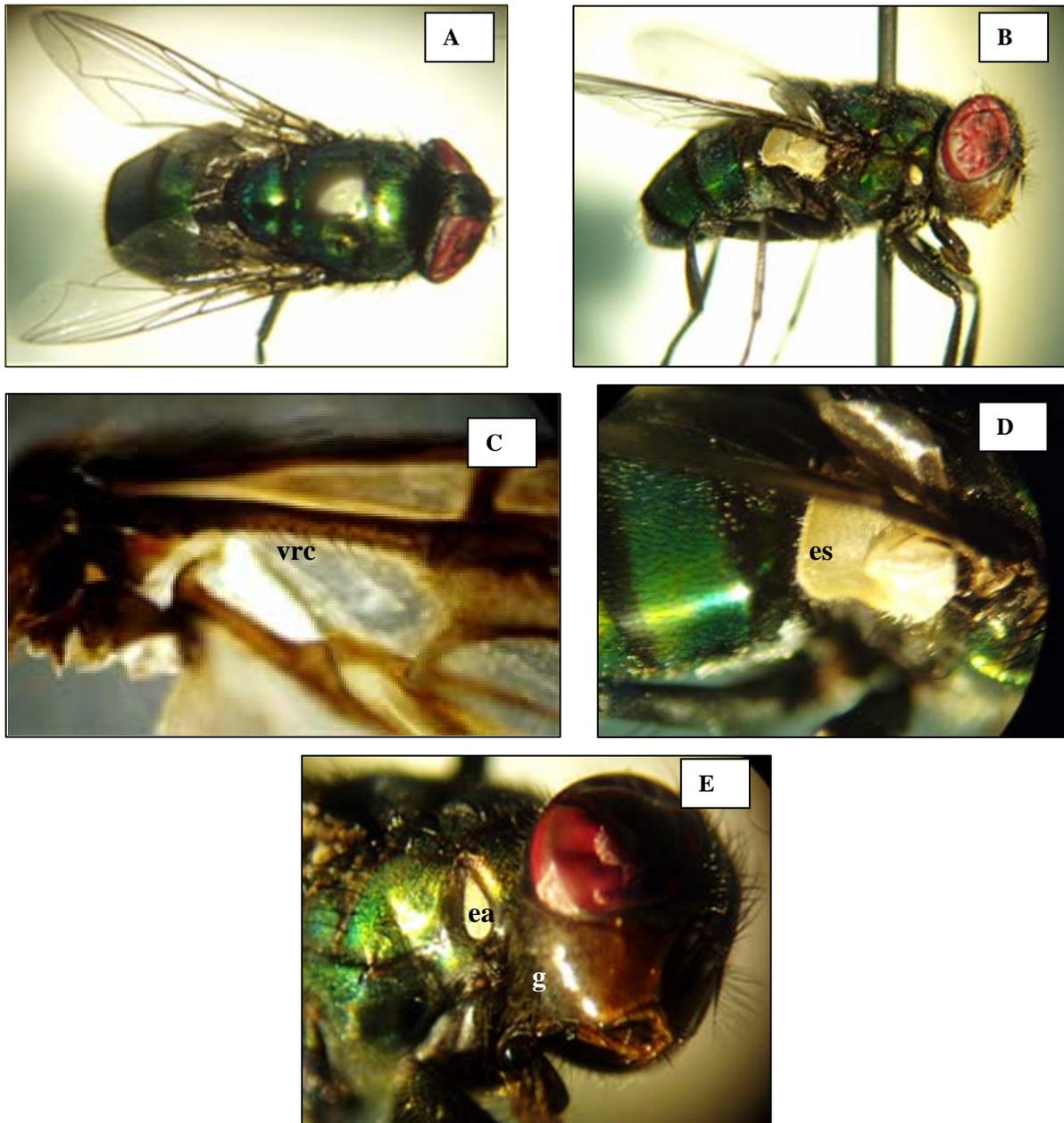


Figura 12. Adulto de *Chrysomya rufifacies*. (A) Vista dorsal. (B) Vista lateral. (C) Ala, (vrc) sección basal de la vena R ciliada. (D) Ala en vista lateral, (es) escuámula. (E) Región anterior del adulto vista lateral, (ea) espiráculo anterior, (g) gena.

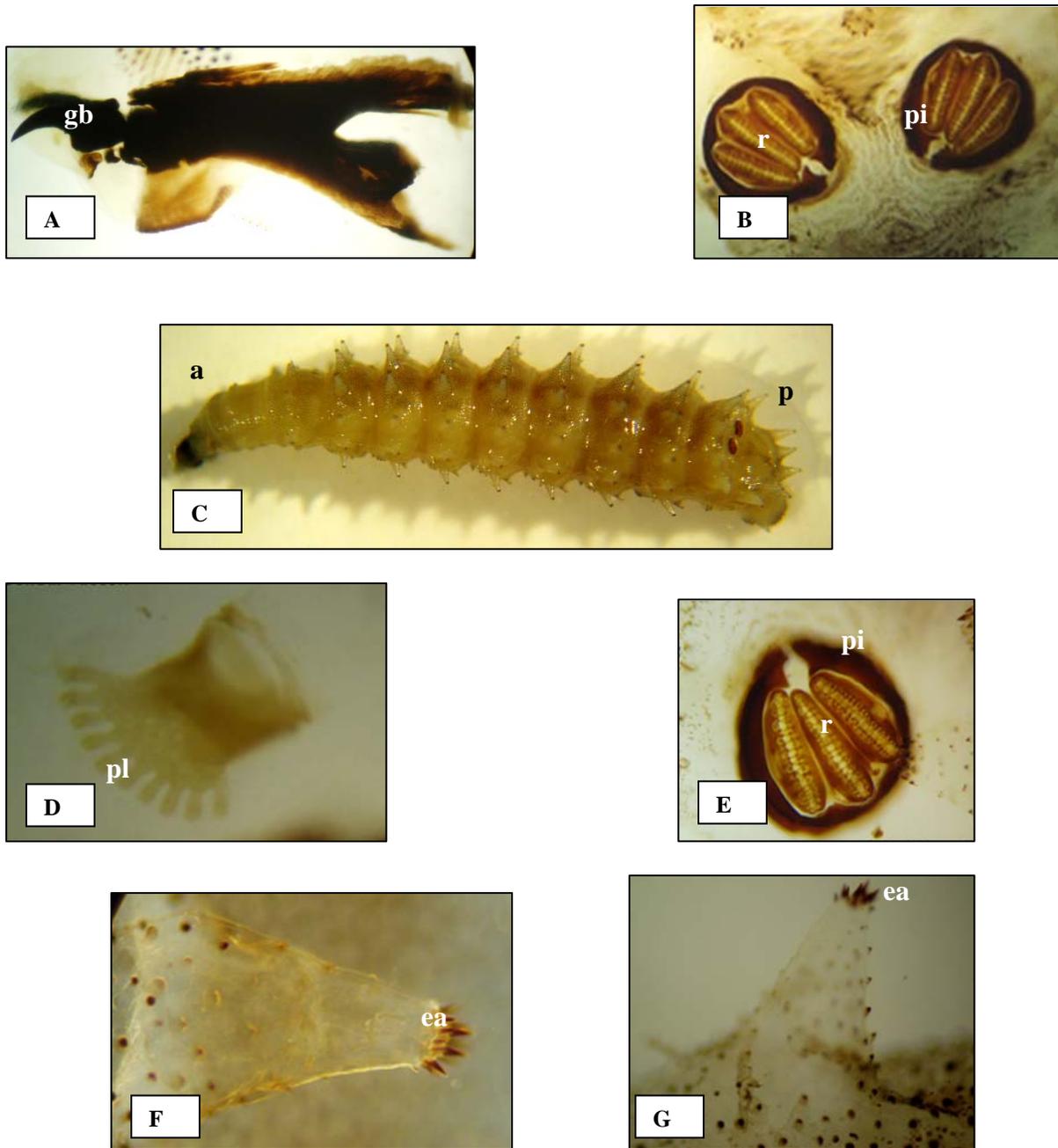


Figura 13. Tercer estadio larval de *Chrysomya rufifacies*. (A) Vista lateral del aparato cefalofaríngeo, (gb) ganchos bucales. (B y E) Espiráculos posteriores, (pi) peritrema incompleto, (r) ranuras. (C) Larva completa en vista lateral, (a) anterior, (p) posterior. (D) Espiráculo anterior, (pl) papilas. (F y G) Tubérculos alargados del cuerpo, (ea) espinas apicales.

Cochliomyia macellaria

Adulto

- Sección basal de la vena R con una fila de cerdas sobre el margen posterodorsal (Figura 14C)
- Margen posterior de la última coxa con pelos; gena amarilla o anaranjada, con pelos usualmente amarillos
- Tres estrías longitudinales negras sobre el tórax (Figura 14A, D)
- Escuámulas con pelos finos por encima (Figura 14D)
- Pelos pálidos sobre el margen posterior de la última coxa y sobre el primer esternito abdominal; palpos filiformes

Larva

- Espiráculo posterior con el peritrema incompleto, sin botón (Figura 15B, E)
- Margen posterior del segmento 11 sin espinas dorsales, espiráculo posterior sin botón visible
- Cuerpo sin filas de procesos carnosos o tubérculos y sin setas finas (Figura 15C)
- Esclerito oral no pigmentado
- Espinas sobre la protuberancia anal pigmentadas formando una V (Figura 15F, G)

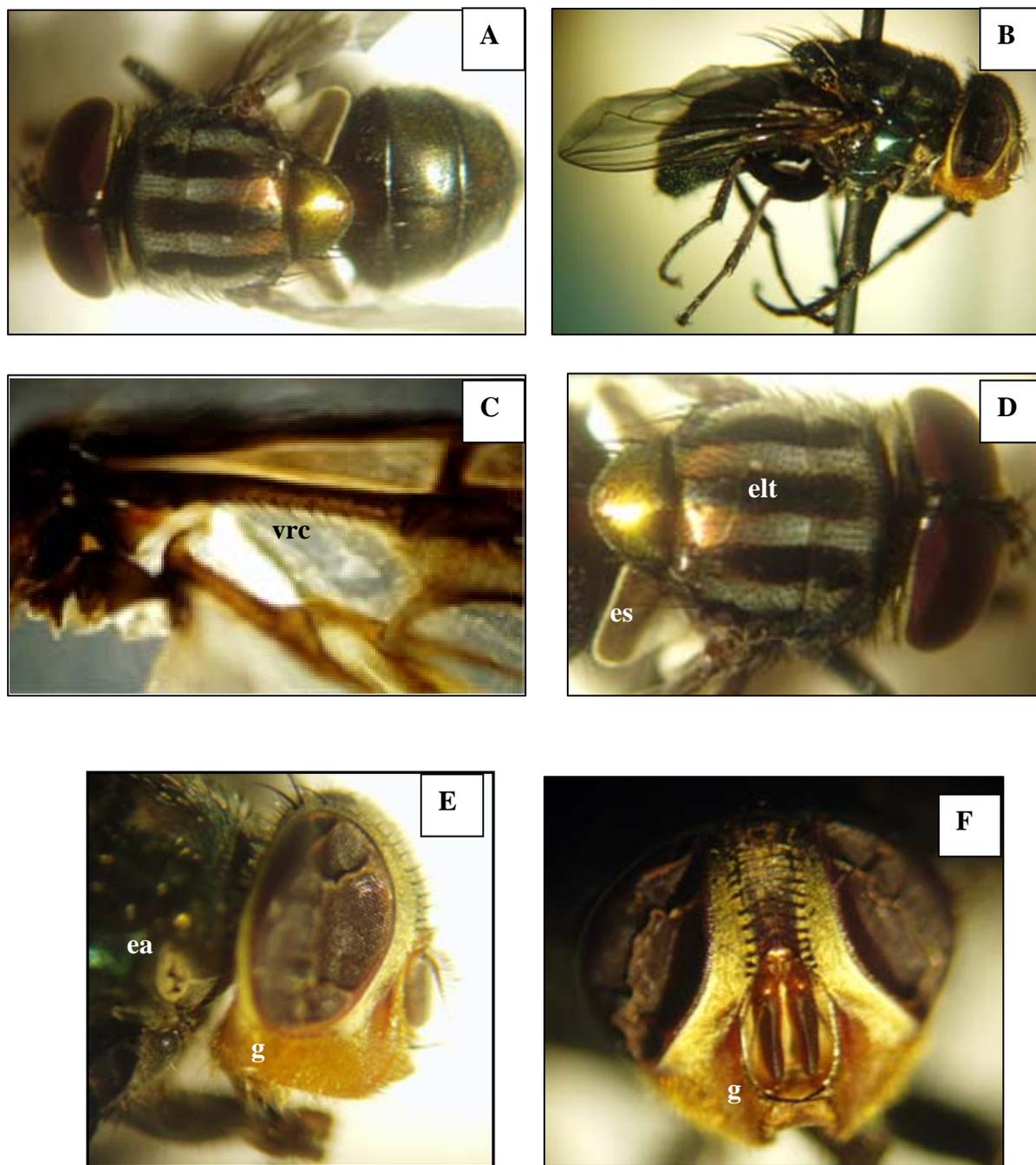


Figura 14. Adulto de *Cochliomyia macellaria*. (A) Vista dorsal. (B) Vista lateral. (C) Ala, (vrc) sección basal de la vena R ciliada. (D) Tórax en vista dorsal, (elt) estrías longitudinales torácicas, (es) escuámula. (E) Región anterior del adulto vista lateral, (ea) espiráculo anterior, (g) gena. (F) Cabeza en vista frontal.

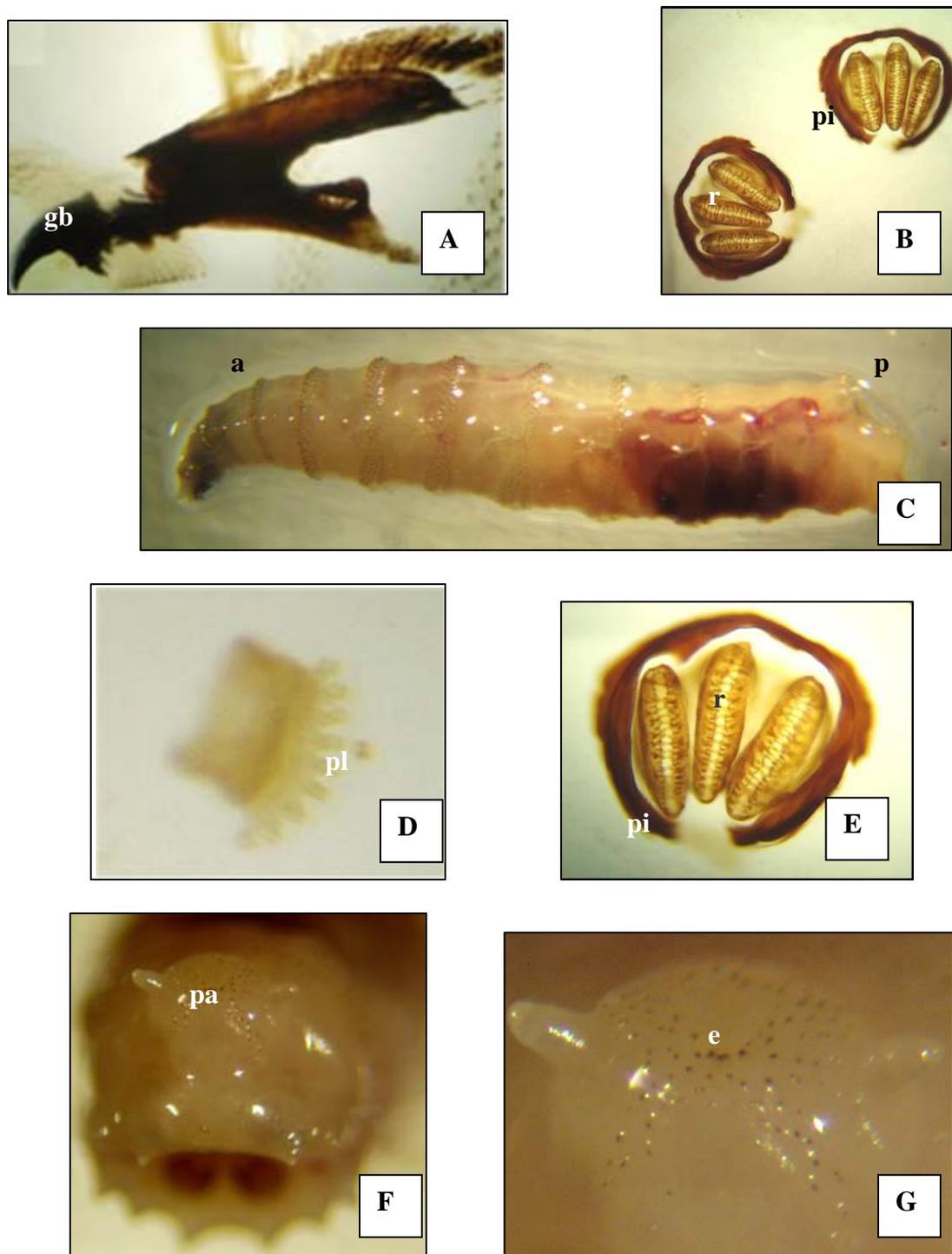


Figura 15. Tercer estadio larval de *Cochliomyia macellaria*. (A) Vista lateral del aparato cefalofaríngeal, (gb) Ganchos bucales. (B y E) Espiráculos posteriores, (pi) Peritrema incompleto, (r) ranuras. (C) Larva completa en vista lateral (a) anterior, (p) posterior. (D) Espiráculo anterior (pl) papilas. (F) parte posterior, (pi) protuberancia anal. (G) Protuberancia anal, (e) espinas en forma de V.

Chrysomya megacephala

Adulto

- Sección basal de la vena R con una fila de cerdas sobre el margen posterodorsal (Figura 16G)
- Cuerpo grande, aproximadamente de 12 mm
- Espiráculo torácico anterior anaranjado oscuro o pardo negruzco (Figura 16F)
- Escuámula torácica grisácea o parda (Figura 16H), con pelos por encima (Figura 19D); ojos del macho unidos, los de la hembra separados (Figura 16A, C); hembra con una franja frontal extendida en el medio (Figura 16B, D)
- Ojos de los machos con omatidios en los dos tercios superiores agrandados y fuertemente demarcados y el tercio inferior con omatidios pequeños (Figuras 16C y 20)

Larva

- Espiráculo posterior con el peritrema incompleto, no rodeando el botón (Figura 17B, E)
- Margen posterior del segmento 11 con espinas dorsales, botón no visible
- Cuerpo suave, sin setas finas ni tubérculos, con los únicos procesos carnosos confinados al último segmento (Figura 13C)
- Esclerito oral pigmentado, visible como una mancha o un punto entre los ganchos bucales (Figura 17A)

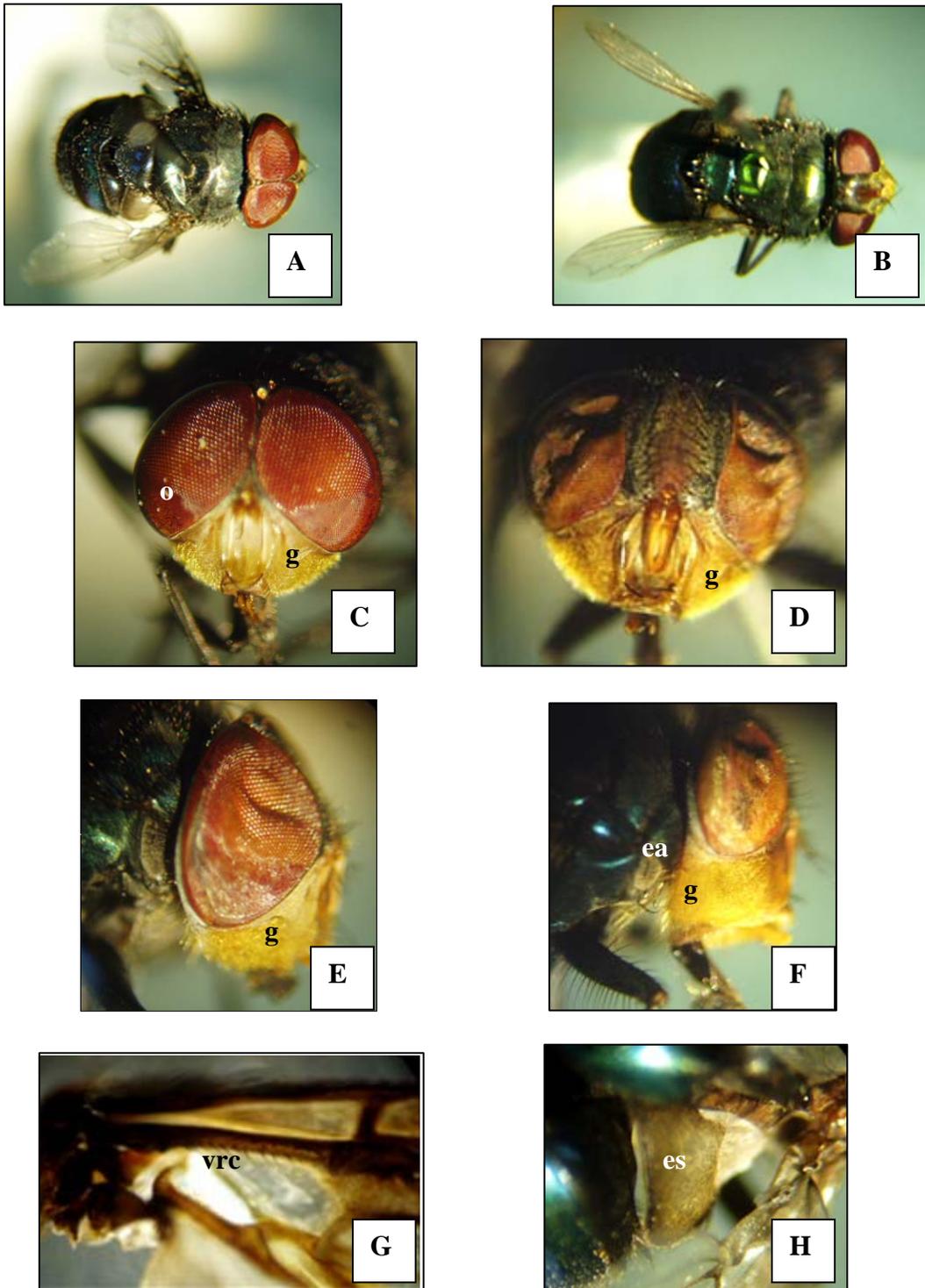


Figura 16. Adulto de *Chrysomya megacephala*. (A) Macho en vista dorsal. (B) Hembra en vista dorsal. (C y D) Cabeza en vista frontal, (g) gena amarilla con pelos amarillos (C) macho, (o) omatidios (D) hembra. (E y F) Cabeza en vista lateral, (E) macho y (F) hembra, (ea) espiráculo anterior grisáceo o pardo (g) gena, (G) Ala, (vrc) sección basal de la vena R ciliada. (H) Ala en vista lateral, (es) Escuámula oscura con finos pelos.

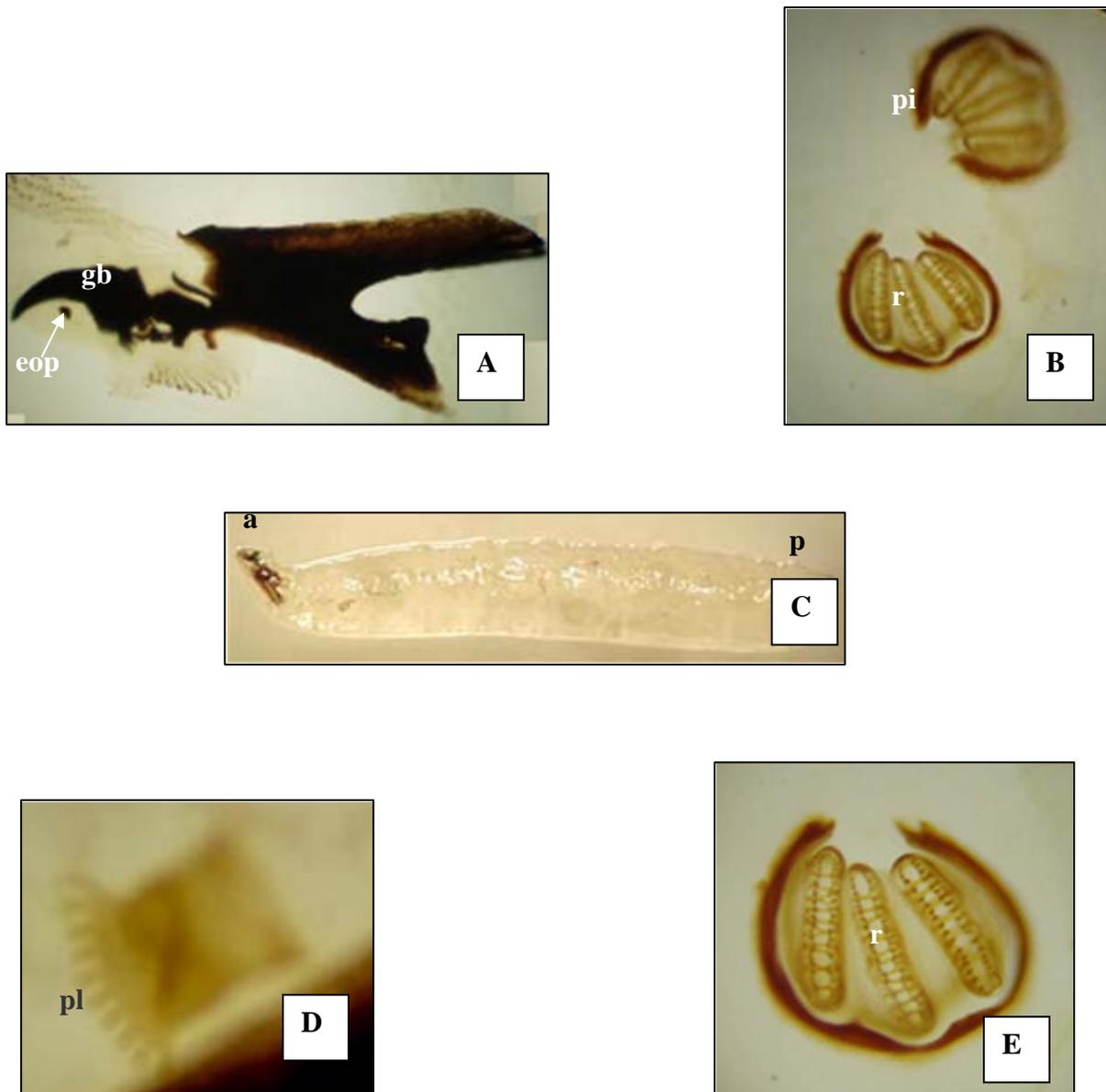


Figura 17. Tercer estadio larval de *Chrysomya megacephala*. (A) Vista lateral del aparato cefalofaríngeal, (gb) Ganchos bucales, (eop) esclerito oral pigmentado en forma de punto. (B y E) Espiráculos posteriores, (pi) peritrema incompleto, (r) ranuras. (C) Larva completa en vista lateral (a) anterior, (p) posterior. (D) Espiráculo anterior (pl) papilas.

Paralucilia wheeleri

Adulto

- Sección basal de la vena R con una fila de cerdas sobre el margen posterodorsal
- Margen posterior de la última coxa con pelos, gena amarilla o anaranjada, con pelos en su mayoría negros
- Mesonoto con franjas oscuras distinguibles
- Escuámula torácica con pelos finos por encima
- Pelos negros sobre el margen posterior de la última coxa y sobre el primer esternito abdominal. Palpos clavados (Figura 21)

Larva

- Espiráculo posterior con el peritrema incompleto no rodeando al botón (Figura 18D).
- Margen posterior del segmento 11 con espinas dorsales; botón no visible
- Cuerpo suave sin finas setas ni tubérculos, con los únicos procesos carnosos confinados al último segmento
- Esclerito oral pigmentado, visible como una espina entre los ganchos bucales (Figura 18C)

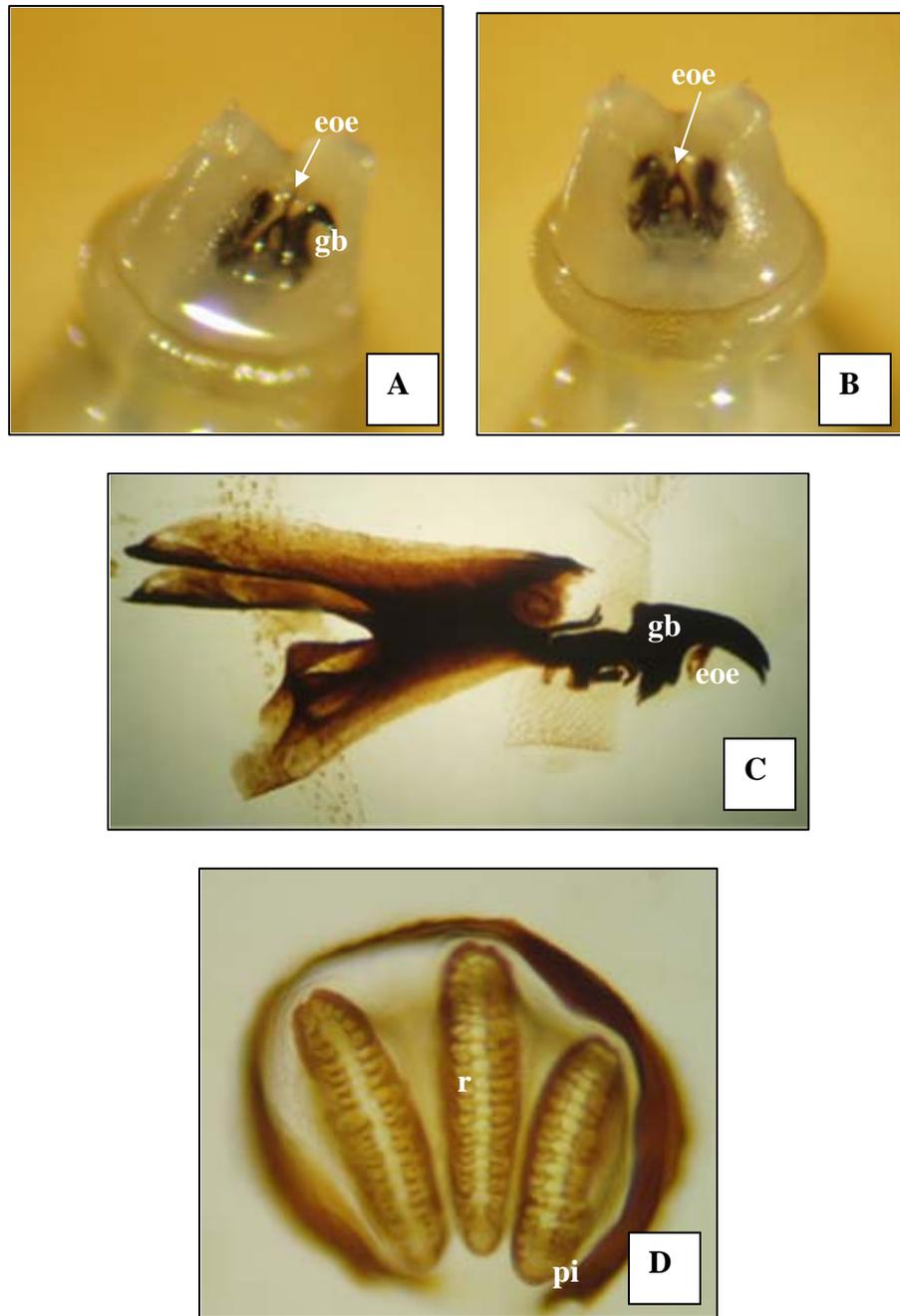


Figura 18. Tercer estadio larval de *Paralucilia wheeleri*. (A y B) Vista ventral de la parte anterior. (C) Vista lateral del esqueleto cefalofaríngeal, (eoe) esclerito oral pigmentado en forma de espina, (gb) ganchos bucales. (D) Espiráculo posterior, (r) ranura, (pi) peritrema incompleto.

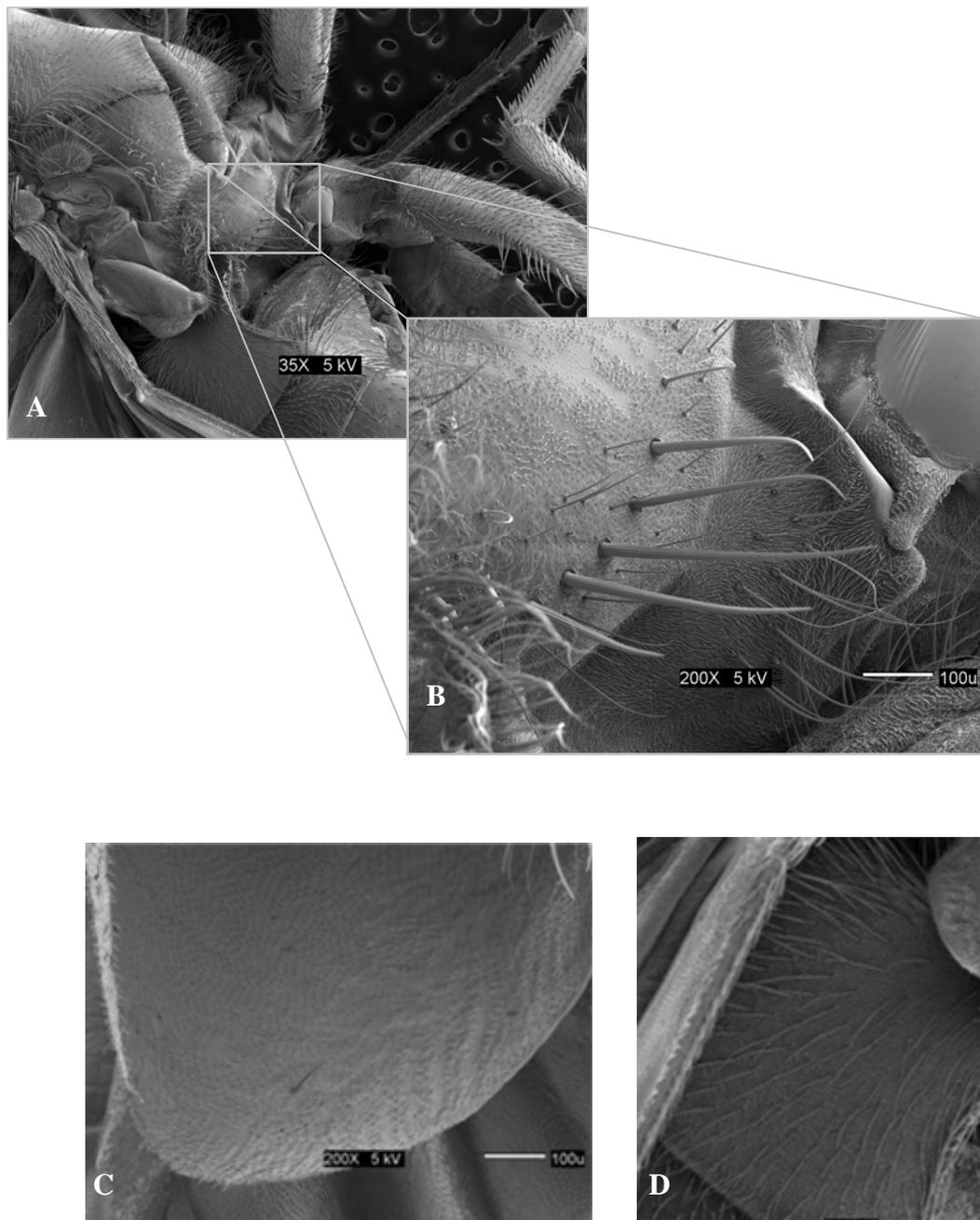


Figura 19. Califóridos adultos (A) Vista lateral de *Chrysomya megacephala*, en el recuadro se observa la hipopleura. (B) hilera de pelos sobre la hipopleura. (C) Escuámula sin pelos por encima. (D) Escuámula con pelos por encima.

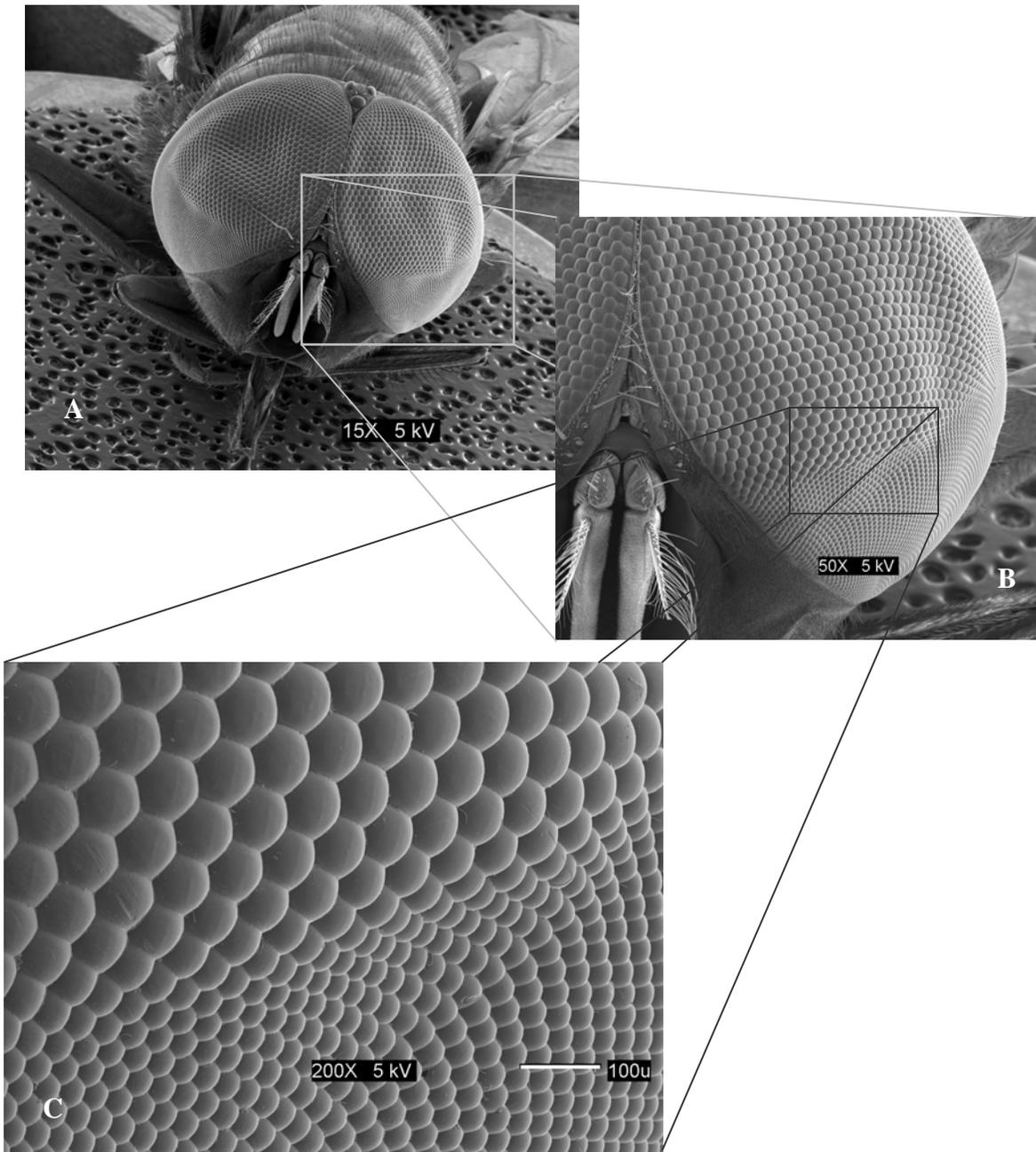


Figura 20. Cabeza del macho de *Chrysomya megacephala*. (A) Vista frontal. (B) Acercamiento del ojo para reconocer la diferencia entre el tamaño de los ommatidios superiores e inferiores. (C) Acercamiento de los ommatidios.

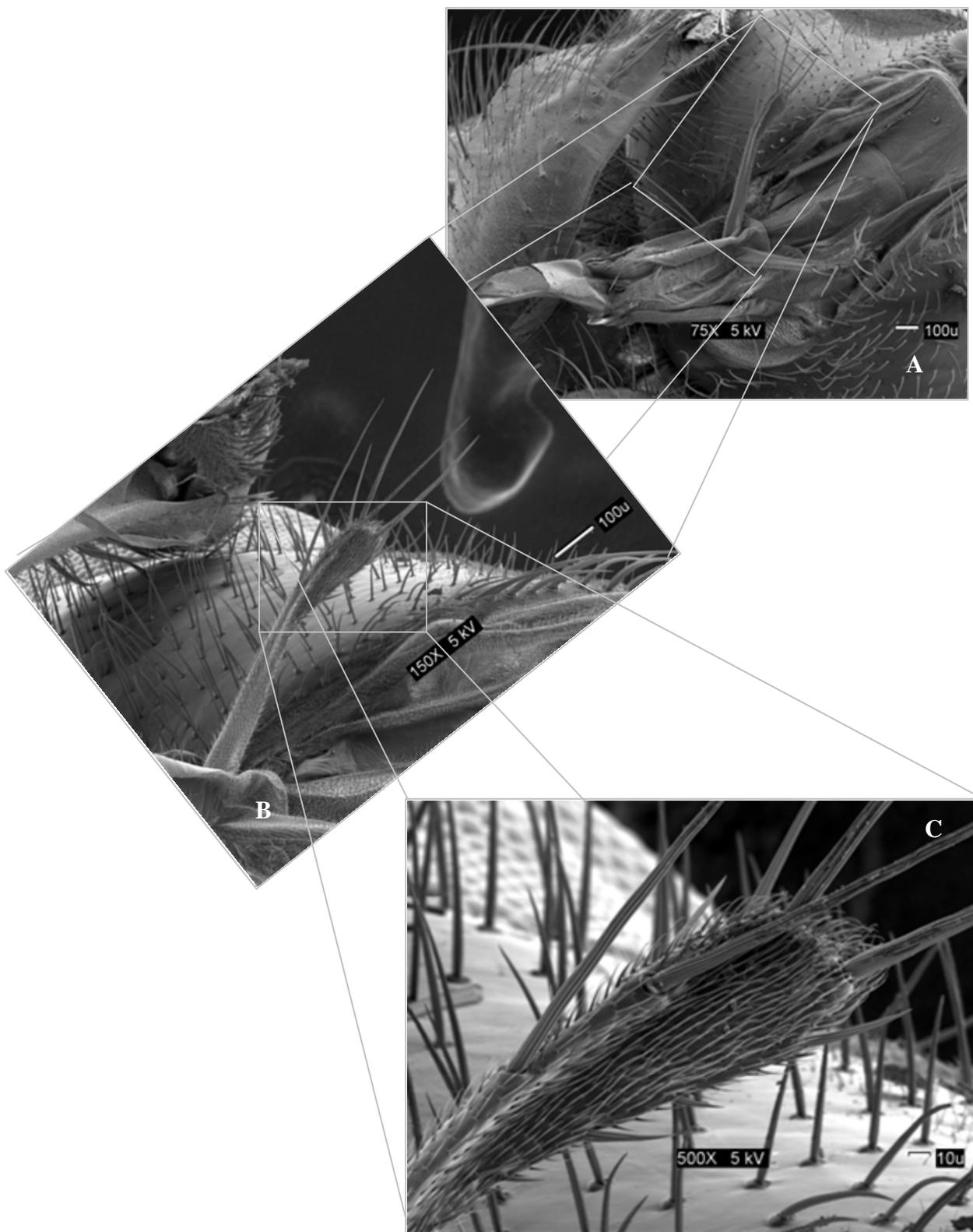


Figura 21. Vista ventral de la cabeza de posible *Paralucilia wheeleri*. (A) partes bucales mostrando los dos palpos. (B) El recuadro muestra el palpo completo ligeramente clavado. (C) Acercamiento de la parte apical del palpo.

CLAVES PARA LAS LARVAS Y ADULTOS DE CALIFÓRIDOS CON IMPORTANCIA FORENSE

Clave para califóridos adultos con importancia forense

1. Sección basal de la vena R con una fila de cerdas sobre el margen posterodorsal (Figura 12C).....2
 - Sección basal de la vena R desnuda.....6
2. Cuerpo verde o verde violeta, con tres estrías longitudinales negras sobre el tórax (Figura 14A, D).....3
 - Cuerpo verde o azul oscuro, con una o dos estrías torácicas longitudinales.....4
3. Pelos pálidos sobre el margen de la última coxa y sobre el primer esternito abdominal, palpos filiformes.....*Cochliomyia*
 - Pelos negros sobre el margen de la última coxa y sobre el primer esternito abdominal, palpos clavados.....*Paralucilia*
4. Escuámula torácica con pelos finos por encima (Figura 19D).....*Chrysomya*
 - Escuámula torácica desnuda (Figura 19C).....5
5. Espiráculo torácico anterior con pelos de color anaranjado brillante.....*Phormia*¹
 - Espiráculo torácico anterior con pelos negros o pardo oscuro.....*Protophormia*¹
6. Cuerpo de color metálico verde o verde cobrizo brillante, abdomen sin una capa notable de polvillo grisáceo.....*Lucilia*
 - Cuerpo de color metálico azul o azul oscuro, abdomen con una capa notable de polvillo grisáceo*Calliphora*

Clave para larvas de califóridos con importancia forense

1. Peritrema del espiráculo posterior incompleto2
 - Peritrema del espiráculo posterior completo.5
2. Margen posterior del segmento 11 sin espinas dorsales.....*Cochliomyia*
 - Margen posterior del segmento 11 con espinas dorsales3
3. Botón inconspicuo.....*Chrysomya*
 - Botón conspicuo.....4
4. Con espinas dorsales sobre el margen posterior del segmento 10.....*Protophormia*¹
 - Sin espinas dorsales sobre el margen posterior del segmento 10*Phormia*¹
5. Esclerito oral en forma de espina.....*Calliphora*
 - Esclerito oral ausente.....*Lucilia*

¹ Estas especies no han sido reportadas en Puerto Rico.

Clave para larvas de Chrysomyinae con importancia forense

1. Cuerpo con una hilera de tubérculos notables (Figura 13C).....2
 - Cuerpo sin tubérculos.....3
2. Tubérculos dorsales con espinas apicales relativamente pequeñas, usualmente dirigidas hacia el centro.....*Chrysomya albiceps*
 - Tubérculos dorsales con espinas apicales relativamente largas, usualmente dirigidas hacia fuera.....*Chrysomya rufifacies*
3. Esclerito oral pigmentado.....4
 - Esclerito oral no pigmentado.....5
4. Esclerito oral parcialmente pigmentado, visible como un punto entre los ganchos bucales.....*Chrysomya megacephala*
 - Esclerito oral completamente pigmentado, visible como una espina entre los ganchos bucales.....*Paralucilia wheeleri*
5. Espinas sobre la protuberancia anal pigmentadas, mostrando un modelo espinal en forma de V (Figura 15F, G).....*Cochliomyia macellaria*
 - Espinas sobre la protuberancia anal pigmentadas, mostrando un modelo espinal en forma oval.....*Phormia y Protophormia*¹

¹ Estas especies no han sido reportadas en Puerto Rico.

DISCUSIÓN

El tiempo que transcurre desde la muerte de una persona hasta que se halla el cadáver es crucial en las investigaciones de homicidios. Esta información puede ayudar a identificar tanto al criminal como a la víctima y excluir o vincular sospechosos con el caso (Byrd y Castner, 2001). De la misma manera el reconocimiento e identificación de las especies de dípteros que intervienen en el proceso de descomposición es muy importante para determinar el intervalo post-mortem. Cada especie se comporta de una forma particular y difiere de otras especies en la tasa de desarrollo, el tiempo de llegada al cadáver u orden de sucesión, las preferencias por el estado de descomposición y las preferencias por ciertas condiciones ambientales.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria*

Para determinar el intervalo post-mortem (IPM) hay que reconocer la sucesión de las especies sobre el cadáver, pues el tiempo de llegada debe sumarse a la edad de la larva. *Cochliomyia macellaria* es la primera especie en llegar a ovipositar sobre cadáveres en Mayagüez (Guarín, 2005) y es considerada por muchos autores como un invasor primario de la carroña. Este comportamiento le confiere grandes ventajas, ya que oviposita primero sobre el cadáver y disminuye en gran medida la competencia interespecífica, especialmente durante las etapas tempranas del desarrollo larval, cuando es más susceptible a depredación por parte de otras larvas, principalmente de *Chrysomya rufifacies*.

Chrysomya rufifacies tiene un comportamiento depredador, es muy invasiva y desplaza a los colonizadores primarios fuera del cadáver. Según Wells y Greenberg (1994), esta especie tiene un impacto negativo sobre las especies nativas, disminuyendo drásticamente la abundancia de éstas e incluso extirpándolas. *Cochliomyia macellaria* ha logrado sobrevivir exitosamente en la naturaleza junto a *C. rufifacies* porque llega al cadáver antes que cualquier otra especie, logra desarrollarse más rápido que *C. rufifacies* y puede empupar aunque no haya alcanzado su tamaño larval máximo. En el presente estudio se observó que al trasladar a *Co. macellaria* de la carne a la arena antes de llegar a su desarrollo máximo, ésta se enterró, empupó y el adulto emergió. Lo mismo se hizo con *C. rufifacies* pero las larvas se desplazaron sobre la arena, no empuparon y

murieron. Esta observación difiere de los estudios realizados por Levot *et al.* (1979, citado por Baumgartner, 1993), quienes sugieren que *C. rufifacies* y *C. megacephala* tienen la ventaja de lograr empupar satisfactoriamente aunque sus larvas estén bajas de peso por falta de alimento, y que los adultos son viables aun en condiciones de severa competencia o alimento limitado. La discrepancia en ambos estudios se debe posiblemente a que el comportamiento de las poblaciones de la misma especie puede variar de acuerdo a la región. Byrd y Castner (2001) reportan que las especies separadas geográficamente responden de forma diferente a las condiciones ambientales, sin embargo no hay estudios que reporten esta variación específicamente en *C. rufifacies*.

Chrysomya rufifacies y *Co. macellaria* tienen una gran similitud biológica y probablemente una homología ecológica muy estrecha (Baumgartner, 1993). No difieren en hábitos de crianza de acuerdo al tipo de cadáver, hábitat o época del año, y la diferencia en la tolerancia a la temperatura es mínima. Las dos prefieren climas cálidos y en este estudio se determinó que el tamaño para cada estadio larval en las dos especies es muy parecido (Figura 11). Con esta similitud es de esperarse que la competencia interespecífica sea muy intensa, pero como difieren en la preferencia por el estado de descomposición del cadáver, las especies lo colonizan a diferentes tiempos y se desarrollan sin competir (Figura 4).

En la fase de campo se observó que cuando el cadáver es totalmente invadido por larvas de *C. rufifacies* en segundo y tercer estadio, *Co. macellaria* migra en masa fuera del cadáver. Se observaron masas larvales de cientos de individuos enterrándose a unos 30 cm de éste (Apéndice H). Estudios de dispersión y depredación de *Chrysomya albiceps* sobre *Co. macellaria*, realizados por Andrade *et al.* (2002), sugieren que la depredación larval también ocurre después del periodo post alimentario, particularmente durante la migración. Además, reportan que *Co. macellaria* se dispersa más y se entierra a mayor distancia del cadáver en presencia de *C. albiceps*.

CICLO DE DESARROLLO A TEMPERTURA CONSTANTE

CURVAS DE CRECIMIENTO

La duración del ciclo de desarrollo se redujo al aumentar la temperatura porque los insectos son poiquiloterms y dependen de la temperatura del medio ambiente para su desarrollo (Figuras 5 y 7). De igual manera, su tasa metabólica está influenciada por las condiciones ambientales. Byrd y Castner (2001) sugieren que el crecimiento de las moscas depende de la temperatura porque las reacciones bioquímicas que suceden durante el crecimiento también dependen de ésta.

Los datos sobre el tiempo de eclosión, duración larval y emergencia del adulto permiten estimar un IPM muy confiable basados en la dependencia entre el desarrollo de las larvas y la temperatura. Para las tres temperaturas y las dos especies se observó que el crecimiento larval permanece constante hasta la etapa post-alimentaria.

Los resultados para las dos especies indican que cada temperatura produjo un tiempo de desarrollo diferente y que los tiempos no se sobreponen cuando se tienen en cuenta los mínimos y máximos (Tabla 2, Apéndice B). *Cochliomyia macellaria* tardó 12 días en desarrollarse a 25 °C y 8.7 días a 30 °C, mostrando una diferencia de 3.3 días, mientras que *C. rufifacies* tardo 10.8 días en desarrollarse a 25 °C, 9 días a 30 °C y 8 días a 35 °C, con una diferencia de 1.8 días entre 25 y 30 °C, y de un día entre 30 a 35 °C. Esto recalca el efecto que tiene la temperatura sobre el desarrollo de las especies y enfatiza la importancia de obtener datos precisos del medio ambiente y del microclima alrededor del cadáver para la estimación del IPM. Según Daza y Yusseff (2003) se debe tener muy en cuenta el microclima en la escena del crimen porque la diferencia en el tiempo de descomposición de un cadáver es muy influenciado por las condiciones microclimáticas, y el tiempo de descomposición está estrechamente relacionado con el desarrollo de las especies necrófagas.

***Cochliomyia macellaria* (Fabricius)**

Tiempo de desarrollo

Este estudio demostró que el desarrollo completo de *Cochliomyia macellaria* tardó 288 y 208 h y el larval 84.0 y 66.2 h a 25 y 30 °C, respectivamente. Estos periodos son mayores que los reportados por Byrd y Butler (1996) para zonas templadas, con un desarrollo total de 240 y 170 h y larval de 116 y 94 h a 25 y 32 °C, respectivamente, pero menores que los reportados por Greenberg (1991), con una media para el desarrollo total de 234 h a 29 °C. Estas diferencias pueden deberse a diferencias en crianza, alimentación, fotoperiodo o manipulación de los experimentos. Sin embargo, también pueden explicarse por las diferencias adaptativas que han adquirido las poblaciones en respuesta a condiciones ambientales diferentes (Byrd y Castner, 2001). *Cochliomyia macellaria* es nativa de las Américas, principalmente de zonas templadas desde Canadá hasta el sur de los Estados Unidos y México. Por tanto, las poblaciones de *Co. macellaria* de Puerto Rico han tenido que adaptarse de ambientes templados a ambientes tropicales. De acuerdo al clima de origen, si *Co. macellaria* es de zonas templadas su desarrollo será más lento en zonas tropicales que en las templadas. Trotta *et al.* (2006) observaron que el tiempo de desarrollo se incrementa bajo un estrés termal de acuerdo al clima de origen de las poblaciones. Además, sugieren que según la especie va adaptándose a la nueva temperatura puede perder su tolerancia al frío o al calor; esto puede explicar por qué *Co. macellaria* empupa sin estrés a 30 °C en el trópico pero esta temperatura le causa estrés en zonas templadas.

Byrd y Butler (1997) sugieren que la temperatura del cadáver debe considerarse para la determinación del intervalo post-mortem, porque las temperaturas que no son óptimas pueden retrasar la pupación y alterar el análisis del tiempo de muerte. En el presente estudio la temperatura de 35 °C no fue óptima para la pupación de *Co. macellaria*, pero no afectó negativamente la eclosión de los huevos ni el desarrollo larval (Tabla 1, Figura 5), probablemente porque las enzimas que actúan durante estas etapas del desarrollo toleran temperaturas altas, pero las que intervienen en el proceso de pupación se activan y funcionan eficientemente a temperaturas más bajas. Greenberg (1991) reportó que la tasa metabólica es

inversamente proporcional a la resistencia del calor en las larvas post alimentadas, pupas y adultos. En este experimento se observó un buen desarrollo larval pero un retraso en la pupación mientras las larvas buscaban una temperatura favorable. Las larvas que no lograron migrar murieron bajo este régimen de temperatura. Esto corresponde con los resultados de Byrd y Butler (1997), donde las larvas prefieren temperaturas de 35 a 38 °C cuando están en su fase alimentaria, pero cuando empiezan su etapa postalimentaria migran buscando temperaturas bajas; los autores reportan además el desplazamiento continuo de las larvas tratando de buscar un camino para salir del cerdo, y la muerte de éstas en 72 horas a 32.2 °C cuando no lograron salir.

Los datos obtenidos en esta investigación deben considerarse en investigaciones forenses, porque el tiempo de pupación puede retrasarse o las larvas morir si el desplazamiento de *Cochliomyia macellaria* fuera del cadáver se restringe, por ejemplo cuando un cadáver está envuelto o encerrado en un baúl.

La muerte de las larvas en etapa post alimentaria a 35 °C pudo deberse a la inactivación de enzimas que intervienen en el proceso de la muda. Estas enzimas son muy sensibles tanto a la temperatura como al pH, y si la temperatura a la cual son sometidas no es la óptima, pueden disminuir su actividad o inactivarse. Ratte (1984, citado por Greenberg, 1991) indica que la tolerancia reducida al calor de los estados tardíos del desarrollo larval puede deberse a procesos hormonales. Si la temperatura elevada afecta el desempeño normal de la hormona juvenil, es posible que el proceso de pupación no suceda y por consiguiente las características del adulto no se desarrollen. Las características de la muda son reguladas por dicha hormona, cuya concentración alta durante el estado larval inhibe la expresión de las características del adulto; por lo tanto, si esta hormona no disminuye sus niveles en la etapa post alimentaria, la larva no podrá empupar y morirá (Gullan y Cranston, 2005)

Cada especie tiene una tolerancia mínima y máxima a la temperatura. Byrd y Allen (2001) observaron que *Phormia regina* empupa y eclosiona a 35 °C, pero no a 40°C. Grassberg y Reiter (2002) reportaron el desarrollo total de *Protophormia terranova* y la pupación exitosa a 35 °C. Greenberg (1991) reportó un umbral mínimo de desarrollo para *Calliphora vicina* de 2.5 a 4 °C, indicando que esta especie no tolera temperaturas elevadas. Reiter (1984) reportó que *C. vicina*

no empupa a 30 °C, mientras que Lefebvre y Pasquerault (2003) reportaron el desarrollo y pupación normal de los múscidos *Ophyra capensis* y *O. aenescens* a 30 °C. Estos datos sugieren que cada especie tiene diferente tolerancia a la temperatura, y por tanto diferente duración en el tiempo de desarrollo y crecimiento larval. Por lo tanto, es importante conocer el ciclo de desarrollo de los dípteros necrófagos si vamos a utilizarlos en la determinación del IPM y en el esclarecimiento de otros factores en la escena de crimen, tales como el traslado del cadáver, la causa de muerte y la vinculación víctima-sospechoso.

Longitud larval

La longitud de las larvas a las tres temperaturas evaluadas aumentó como se esperaría en una curva de crecimiento para cualquier organismo. Además, el crecimiento fue más rápido según aumentó la temperatura. El tamaño de las larvas inmediatamente antes de empupar fue mayor a 25 °C, seguido por 30 y 35 °C. Estos resultados coinciden con los de Karan *et al.* (1999) para estudios con *Drosophila melanogaster*, donde informaron que al aumentar la temperatura las moscas disminuyen en tamaño debido principalmente a la disminución en el tamaño del tórax y de las alas.

El tamaño menor se registró a 30 °C, probablemente porque el muestreo fue al azar y no se colectaron las larvas más grandes, a diferencia de los muestreos para 25 y 35 °C. Sin embargo, hasta las 40 horas se observa que la larva tiene un tamaño mayor que a 25 °C, exceptuando el pico de 36 horas, que muestra una reducción en la longitud larval (Figura 6). Esta disminución en el tamaño de la larva se debió a que el momento de muestreo coincidió con un cambio de muda de estadio II a III y la larva estaba encogida. Este dato es importante para la determinación del IPM porque se puede estimar la edad de la larva con una alta confiabilidad, basados en que la muda de segundo a tercer estadio ocurre en un rango de tiempo muy estrecho y porque si las larvas que se colectan sobre el cadáver están mudando tendrán un menor tamaño y se podría subestimar la edad de la larva (Byrd y Castner, 2001).

***Chrysomya rufifacies* (Macquart)**

Chrysomya rufifacies es un invasor secundario de cadáveres y prefiere carne en un estado avanzado de descomposición (Baumgartner, 1993; Shahid *et al.*, 2000). Esto podría explicar el retraso en la oviposición y la disminución en el número de huevos depositados, ya que el hígado usado como medio de cultivo era fresco.

Chrysomya rufifacies es una especie introducida y ha sido ampliamente estudiada. Además de ser importante para la entomología forense, su impacto ecológico es considerable por el efecto negativo que tiene sobre las especies nativas y por sus reportes en casos de miasis. Baumgartner (1993) hizo una revisión exhaustiva de esta especie basada en 275 publicaciones que datan desde 1914, enfatizando la taxonomía, biología, papel ecológico, importancia médica, miasis, importancia médico legal, control y efectos potenciales.

Tiempo de desarrollo

En el presente estudio el desarrollo larval de *C. rufifacies* a 25 °C fue de 102.0 h y el total fue de 260.0 h (Tabla 2, Apéndice B). Estos periodos son menores que los reportados por Byrd y Butler (1996), de 158.0 y 289.0 h a 25 °C para el desarrollo larval y total, pero mayores a los resultados obtenidos por Subramanian y Butler (1980), quienes reportan una duración larval de 84.0 h y una duración total de 156.0 h a 25.6 °C. En el presente estudio, el desarrollo larval a 30 °C fue de 65.7 h y el total de 216.0 h, siendo la duración del desarrollo total igual a la reportada por Mackerras (1933) para la misma temperatura. En estudios realizados a 29 °C, Wells y Greenberg (1992) reportaron un tiempo de desarrollo de 288.0 a 340.8 h, mientras que Greenberg (1991) reportó 304.8 h, siendo ambas duraciones mayores que las encontradas en este estudio. A 35 °C el desarrollo larval en el presente estudio fue de 56.0 h y el total de 194.0 h. Estos resultados son menores que los reportados por O'Flynn (1983) a 34 °C, con una duración del desarrollo larval de 96.0 a 132.0 h y total de 168.0 a 204.0 h.

Comparando los resultados de este experimento con los de otros autores, se observa que en general *C. rufifacies* se desarrolló en Puerto Rico más rápido que las poblaciones de zonas

templadas. Si consideramos que *C. rufifacies* es nativa de Australia y de la región oriental de los trópicos del viejo mundo, es de esperarse que las temperaturas cálidas de la costa oeste de Puerto Rico sean semejantes a las de su lugar de origen y no produzcan estrés térmico. Esto datos coinciden con los de Trotta *et al.* (2006), quienes observaron un aumento en el tiempo de desarrollo en las poblaciones de zonas templadas de *Drosophila melanogaster*, comparado con el desarrollo de las poblaciones tropicales. Esta diferencia es causada por estrés termal debido a que *D. melanogaster* es de origen afrotropical y está mejor adaptada a condiciones cálidas.

A diferencia de *Co. macellaria*, *C. rufifacies* empupó y los adultos emergieron a 35 °C. Esto indica que la especie soporta temperaturas más elevadas y que puede completar su ciclo de desarrollo bajo condiciones desfavorables. O'Flynn (1983) reportó que los huevos de *C. rufifacies* no eclosionan a 9 °C, pero sí a 15 °C, y que la larva se desarrolla, aunque no empupa. Esto indica que la especie es menos tolerante a las temperaturas bajas que a las elevadas, pues según Waterhouse (1947, citado en Baumgartner 1993) la larva se desarrolla y empupa a 40 °C. Aunque en el presente estudio *C. rufifacies* empupó y emergió a 35 °C, esta temperatura atrasa la pupación y el retraso puede afectar la determinación del tiempo de muerte basado en el tiempo de desarrollo total. Sin embargo, la tolerancia de esta especie a condiciones desfavorables y su comportamiento depredador la convierten en un indicador muy confiable del IPM porque su tasa de desarrollo es menos afectada por las condiciones externas y la descomposición del cadáver, a diferencia de otras especies que dependen completamente de estos procesos (Groodbrod y Goff, 1990). Además, *C. rufifacies* no compite por alimento ni está sometida a estrés por parte de otras especies que lleguen a desplazarla del cadáver.

Longitud larval

La longitud de la larva aumenta en función del tiempo y el crecimiento es más rápido cuando la temperatura es mayor. El tamaño promedio de las larvas de *C. rufifacies* y de *Co. macellaria* inmediatamente antes de entrar a su etapa post alimentaria fue mayor a 25 que a 30 y 35 °C (Figuras 6 y 8). El tamaño máximo alcanzado por la larva de *Co. macellaria* antes de entrar en su etapa post alimentaria fue de 13.8 mm y para *C. rufifacies* fue de 14.0 mm (Apéndice C). Byrd y Butler (1996, 1997) reportaron un tamaño máximo promedio en *Co. macellaria* de 16.2 mm y en

C. rufifacies de 16.5 mm. Evidentemente, *Co. macellaria* y *C. rufifacies* son más grandes en zonas templadas que en zonas tropicales. Estos resultados concuerdan con los reportados por Trotta *et al.* (2006), quienes informan cambios en la plasticidad fenotípica del tamaño de las alas y el tórax de poblaciones en zonas templadas y tropicales. Karan *et al.* (1999) sugieren que la diferencia en el tamaño de las alas y el tórax puede estar relacionado con la capacidad de vuelo y que el valor promedio del tamaño es menor en poblaciones del trópico. Esto concuerda con la hipótesis de Petavy *et al.* (1997) de que el ambiente cálido favorece la reducción en el tamaño del tórax y las alas para tener una frecuencia más alta en el batir de las alas.

ESTIMACIÓN DE LA EDAD DE LA LARVA A PARTIR DE SU TAMAÑO

El tamaño de la larva es uno de los datos más precisos e importantes para la determinación del intervalo post-mortem, principalmente cuando se utilizan las regiones más pendientes de la curva de crecimiento, porque un cambio pequeño en el tamaño resulta en un cambio pequeño en la estimación de la edad. Si las larvas de la misma edad eclosionan y mudan en relativa sincronía, y los cambios morfológicos son fácilmente reconocidos, la edad de un insecto en la escena del crimen tiene probabilidad de caer en el rango de edad para el cual el mismo estadio ha sido observado en el modelo (Byrd y Castner, 2001). Las curvas de crecimiento que muestran el tamaño en función de la edad tienen forma de “s”, con crecimiento lento durante los dos primeros estadios y crecimiento rápido en el tercer estadio. Luego las larvas entran en una etapa de crecimiento muy lento que corresponde a la etapa post alimentaria y empiezan a encogerse para empupar. Byrd y Butler (1996) sugieren que el intervalo de tiempo durante el cual la larva comienza a encogerse antes de empupar también puede servir para estimar certeramente la edad de la larva (Figuras 9 y 10A).

Estos datos pueden extrapolarse para determinar la edad de las larvas obtenidas directamente de cadáveres y para establecer un tiempo de muerte a partir del tamaño larval. Los grados día acumulados (ADD) o grados hora acumulados (ADH), pueden estimarse a partir del tiempo de desarrollo reportado en este estudio, aunque sería recomendable utilizar dos temperaturas más para que el valor de *n* sea mayor y los datos obtenidos con este análisis sean más confiables. Las larvas sometidas a 35 °C arrojaron datos muy importantes para el análisis del desarrollo de

Chrysomya rufifacies y *Cochliomyia macellaria*. Sin embargo, por considerarse una temperatura extrema para el desarrollo de estas especies, los datos obtenidos a esta temperatura no pudieron usarse para estimar los ADD.

El tamaño de la larva y las tasas de desarrollo son los componentes principales para la determinación del intervalo post-mortem, por cuanto los resultados obtenidos en este estudio con las curvas de crecimiento y el tiempo de desarrollo bajo las tres temperaturas son esenciales y aplicables para las investigaciones forenses en el oeste de Puerto Rico. Aunque se han realizado estudios de desarrollo sobre *Co. macellaria* y *C. rufifacies* en otros países, esos datos no pueden utilizarse para estimar la edad de la larva en las poblaciones de Puerto Rico porque el tamaño larval y el tiempo de desarrollo difieren en cada zona latitudinal. A continuación se presenta un ejemplo práctico que explica cómo pueden utilizarse las gráficas con intervalos de confianza para determinar el IPM.

EJEMPLO PRÁCTICO PARA DETERMINAR EL IPM

En la mañana del 28 de julio de 2006 los restos de una mujer fueron hallados en una zona rural de Mayagüez, por la vía 108 que conduce hacia el norte. El cadáver estaba ubicado a 20 metros de la carretera en una zona cubierta por vegetación baja y árboles pequeños. La temperatura medida en la zona fue de 35 °C al medio día la cual es coherente con la temperatura media de 34.8 °C registrada para el mes de julio por la estación meteorológica de Mayagüez. El reporte de la investigación indicaba que la mujer había sido vista viva cuatro días antes de hallarse el cuerpo. El cadáver estaba descompuesto parcialmente, tenía larvas en los orificios naturales, principalmente en la boca y en los pliegues del cuerpo, y califóridos adultos sobre y alrededor del cadáver. La determinación de las especies confirmó la presencia abundante de adultos y larvas de *Chrysomya rufifacies*. El tamaño máximo de las larvas fue de 6.1 mm, la mayoría se encontraban en estadio larval II y las demás estaban a punto de mudar al estadio larval III.

¿Cómo podemos utilizar estos datos para determinar el IPM? Para estimar la edad de la larva a partir de las curvas de desarrollo, se escoge la curva de crecimiento de *Chrysomya rufifacies* a 35 °C porque esta temperatura es la misma registrada tanto en la zona, como en la estación

meteorológica. Esta curva puede dividirse en varias partes y tomar sólo un intervalo de tiempo de 12 ó 18 horas para que la estimación sea más precisa. Utilizando el tamaño de 6.1 mm de las larvas recolectadas del cadáver se traza una línea horizontal desde el eje y hasta la pendiente (Figura 22). Según la gráfica, la edad de la larva de 6.1 mm de largo sería de 18 horas, pero se debe tener en cuenta el intervalo de confianza de 95 % (área sombreada en la gráfica). Así, la edad de la larva de 6.1 mm de longitud está entre 15.8 y 20.4 horas, dando un rango de edad de 4.6 horas con una confianza del 95 %.

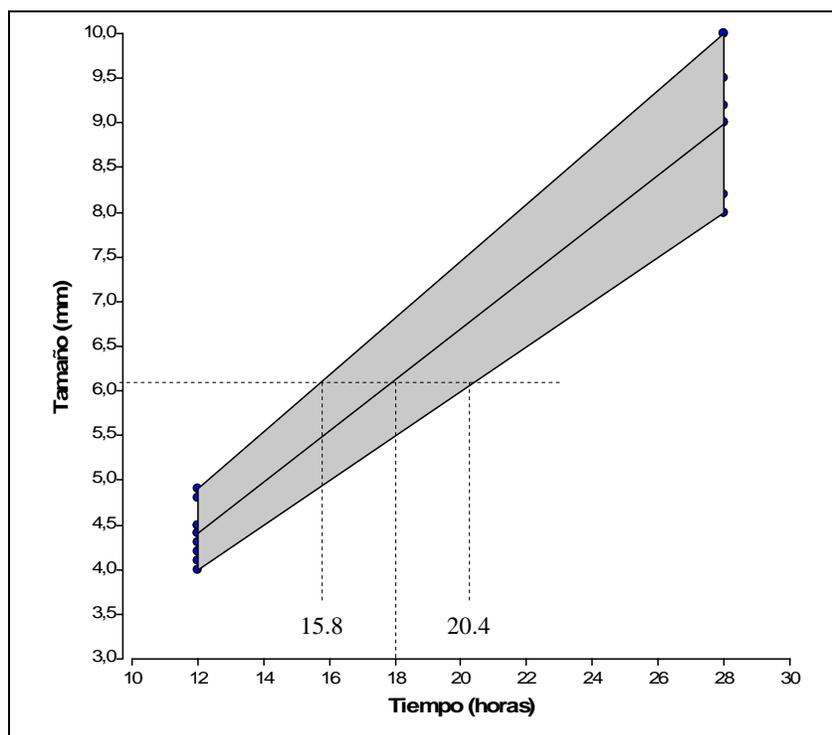


Figura 22. Estimación de la edad larval de *C. rufifacies* a 35 °C a partir de su tamaño a 12 y 28 horas, mostrado como círculos cerrados con 10 repeticiones cada una. La región sombreada tiene un intervalo de predicción del 95 %. La media y las varianzas son interpoladas linealmente. Las edades de 15.8 y 20.4 horas corresponden a los límites superior e inferior de la línea horizontal del espécimen de tamaño 6.1 mm que intersecta la curva. Esta región representa un intervalo de confianza del 95 % de la edad el espécimen.

Ahora ya conocemos la edad de la larva, pero no el intervalo post mortem. A la edad de la larva se le debe sumar el tiempo que tarda la especie en poner huevos sobre el cadáver y el tiempo que tardan en eclosionar. Considerando que la oviposición de *C. rufifacies* ocurre máximo a las 44 horas después de la muerte y tarda 9 horas en eclosionar (Tabla 2), el tiempo de muerte fue

estimado entre 68.8 y 73.4 horas es decir, 2.9 y 3.1 días respectivamente con una confianza del 95 %.

OTROS HALLAZGOS DURANTE EL DESARROLLO DE ESTA INVESTIGACIÓN

***Chrysomya megacephala*, nuevo registro de importancia forense en Puerto Rico**

Chrysomya megacephala está registrada para Puerto Rico desde 1961 (Baumgartner y Greenberg, 1984). Aunque estuvo presente durante todo el estudio, no fue reportada por Guarín (2005).

El reporte de *C. megacephala* es importante para la entomología forense debido a su preferencia por zonas urbanas. Esta especie es atraída a muchos alimentos y heces humanas y de ganado. También se han observado grandes agregaciones de adultos en heces de perro, basura y vegetación cerca de viviendas, creando molestia a la comunidad (Smith, 1986 y Wells, 1991). Tenorio *et al.* (2003) sólo encontraron a *C. megacephala* en áreas urbanas en Texas. Teniendo en cuenta este comportamiento, es posible que la especie logre colonizar cadáveres dentro de casas antes que *Chrysomya rufifacies* o *Cochliomyia macellaria*, ofreciendo estimaciones muy precisas del tiempo de muerte de cadáveres hallados en interiores.

Aunque el adulto de *C. megacephala* se encontró abundantemente sobre los cadáveres, no se recolectaron larvas, quizás porque esta especie no puede competir con *C. rufifacies*. Las dos especies son colonizadores secundarios de la carroña y llegan a ovipositar sobre el cadáver al mismo tiempo. Goodbrod y Goff (1990) observaron que la mortalidad de *C. megacephala* fue de 98 % al estar en el mismo sustrato con *C. rufifacies* en estadio III. Richards y Goff (1997) reportaron que *C. rufifacies* permanece sobre el cadáver hasta el final del proceso de descomposición aunque los recursos se hayan reducido y no permite el establecimiento de otras especies. Sukontason *et al.* (2003) estudiaron la estructura larval de *C. rufifacies* en los tres estadios y demostraron que la estructura aserrada de los ganchos bucales del tercer estadio le permite ser un depredador eficiente. En el estadio II este comportamiento es menor porque los ganchos bucales de las larvas carecen de estructuras aserradas.

Posible nuevo registro de *Paralucilia* cf. *wheeleri* para Puerto Rico

Durante los muestreos realizados en febrero, marzo y junio se capturaron larvas posiblemente del género *Paralucilia* (Knipling, 1939; Wells *et al.* 1999; Carvalho y Ribeiro, 2000; Greenberg y Szyska, 1984, Gonzáles *et al.* 1998; Deonier y Knipling 1940). No se encontraron adultos porque probablemente ovipositan de noche o muy temprano en la mañana, cuando las temperaturas son más bajas, según se deduce de sus preferencias climáticas en otros lugares. Según Deonier y Knipling (1940), *P. wheeleri* prefiere temperaturas bajas, ya que fue capturada en regiones montañosas o durante los meses fríos en Arizona, California, Nuevo México y Texas. En Colombia, Daza y Yusseff (2003) reportaron a *Compsomyiops* sp. (= *Paralucilia* sp.) con preferencias a zonas frías montañosas y aclaran que no se encuentra en zonas bajas y cálidas. No se ha observado a esta especie criándose durante meses muy fríos o cálidos, y aunque se han capturado hembras en diciembre, enero y febrero en áreas templadas, éstas no son grávidas. Esta especie presenta gran tolerancia al frío y sus pupas pueden sobrevivir a temperaturas promedio de 5.3 °C, con una mínima de – 6.6 °C (Deonier y Knipling, 1940). La determinación taxonómica de los ejemplares colectados en Puerto Rico está siendo confirmada por el doctor Jeffrey D. Wells del Departamento de Biología de la Universidad del Oeste de Virginia (*West Virginia University*).

Paralucilia wheeleri se parece mucho a *Cochliomyia macellaria*. Según Smith (1986), esta especie ha sido confundida con las dos especies de *Cochliomyia*, y en el estudio sobre la biología de *Compsomyiops wheeleri* (= *Paralucilia wheeleri*) realizado por Deonier y Knipling (1940) se enfatiza la similitud entre la larva de *Co. macellaria* y la de *P. wheeleri* (Figuras 15 y 18).

CONCLUSIONES

Este es el primer estudio sobre curvas de crecimiento, tiempo de desarrollo y tamaño larval que se realiza para *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* en el Caribe. La entomología forense es una ciencia nueva en Puerto Rico y este estudio aporta un conocimiento valioso sobre el desarrollo de las especies principales que intervienen en el proceso de descomposición en el oeste de la Isla. Si analizamos en conjunto el tiempo de desarrollo de las especies, el tamaño larval para cada estadio, el comportamiento del crecimiento larval bajo los tres regímenes de temperatura y el comportamiento de *C. rufifacies* y *Co. macellaria*, tendremos una herramienta confiable y efectiva para determinar el tiempo de muerte, además de ofrecer datos que puedan apoyar las investigaciones legales.

La duración del desarrollo larval y del desarrollo total para *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* varía poco bajo cada una de las tres temperaturas estudiadas. Esto enfatiza la importancia de obtener datos detallados de las condiciones ambientales en el lugar donde se encuentra un cadáver.

El crecimiento constante de *Chrysomya rufifacies* y de *Cochliomyia macellaria* bajo los tres regímenes de temperatura nos permiten utilizar la longitud de la larva para determinar confiablemente su edad.

El intervalo de tiempo en el cual la larva comienza a encogerse antes de la pupación y el momento en que las larvas mudan de un estadio a otro son datos importantes que pueden servir para estimar la edad de la larva.

La temperatura de 35 °C es letal para las pupas de *Cochliomyia macellaria* y retrasa la pupación de *Chrysomya rufifacies*, por lo tanto la duración del desarrollo puede alterarse y debe considerarse en investigaciones donde el cadáver se encuentre envuelto o encerrado.

El tamaño y el tiempo de desarrollo de las poblaciones de *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* de zonas templadas difieren de las poblaciones del Caribe. Por eso los datos

utilizados en investigaciones forenses deben obtenerse de estudios realizados en la misma zona latitudinal.

Chrysomya rufifacies es un indicador muy confiable del tiempo de muerte en investigaciones forenses debido a su tolerancia de condiciones desfavorables, ya que no compite por alimento ni está sometida a estrés por parte de otras especies que lleguen a desplazarla del cadáver, y porque su comportamiento depredador hace que su tasa de desarrollo sea menos afectada por las condiciones externas y la reducción del cadáver.

Se registró la presencia de *Chrysomya megacephala*. Este reporte es importante porque *C. megacephala* prefiere zonas urbanas y es posible que logre colonizar, antes que *Chrysomya rufifacies* o *Cochliomyia macellaria*, los cadáveres que se encuentren dentro de las casas.

Se registró tentativamente por primera vez para Puerto Rico a *Paralucilia cf. wheeleri*.

RECOMENDACIONES

1. Realizar muestreos sobre los 500 y 1000 metros de altitud utilizando como cebo carne descompuesta, para reconocer la fauna cadavérica a estas altitudes.
2. Ampliar este estudio y realizar curvas de crecimiento a dos temperaturas más (23.5 y 27.5 °C) para poder estimar los grados día acumulados (ADD) o los grado hora acumulados (ADH), los cuales serán utilizados como una herramienta de apoyo para determinar el intervalo post mortem con una confiabilidad muy alta.
3. Hacer un convenio entre la universidad y el Instituto de Ciencias Forenses del país para empezar a utilizar la entomología en investigaciones legales y ampliar los conocimientos sobre esta ciencia.
4. Instruir por medio de charlas, talleres y folletos informativos al personal encargado de la recolección de pruebas en las escenas de crimen, para que puedan recolectar muestras entomológicas y las preserven correctamente para apoyar las investigaciones legales.
5. Continuar con los experimentos en cerdo para analizar la diferencia en la sucesión de insectos y presencia-ausencia de las especies necrófagas sobre cadáveres envenenados, quemados, con heridas abiertas, ahogados etc.
6. Dar a conocer a la comunidad científica y forense los estudios que se han realizado hasta el momento, la importancia que tiene esta ciencia en las investigaciones legales y las expectativas que se tienen con la entomología forense.

LITERATURA CITADA

Andrade, J. B., F. A. Rocha, P. Rodríguez, G. S. Rosa, L. B. Faria, C. J. Von Zuben, M. N. Rossi y W. A. Conde. 2002. Larval dispersal and predation in experimental populations of *Chrysomya albiceps* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Memorias Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro*. 97 (8): 1137–1140.

Baumgartner, D. L. 1993. *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae). *Journal Medical Entomology*. 30(2): 338–352.

Baumgartner, D. L. y B. Greenberg. 1984. The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the new world. *Journal Medical Entomology*. 21(1): 105-113.

Borror, D., C. Triplehorn and N. Johnson. 2005. An introduction to the study of insects. 7th ed. Saunders College Publishing, Philadelphia, Pennsylvania. 875 pp.

Broce, A. B., J. L. Goodenough y J. R. Coppedge. 1977. A wind oriented trap for screwworm flies. *Journal of Economic Entomology*. 70: 413-416.

Byrd, J. H. y J. C. Allen. 2001. The development of the black blow fly, *Phormia regina* (Meigen). *Forensic Science International*. 120: 79–88.

Byrd, J. H. y J. F. Butler. 1996. Effects of temperature on *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) development. *Journal Medical Entomology*. 33(6): 901-905.

Byrd, J. H. y J. F. Butler. 1997. Effects of temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) development. *Journal Medical Entomology*. 34(3): 353-358.

Byrd, J. H. y J. L. Castner. 2001. *Forensic Entomology. The utility of arthropods in legal investigation*. CRC.Washington D. C, 418 pp.

Carvalho, C. J. y P. B. Ribeiro. 2000. Chave de identificação das espécies de Calliphoridae (Diptera) do sul do Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 9(2): 169-173.

Catts, E. P. y M. L. Goff. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annual Review of Entomology*. 37: 253-272.

Catts, E. P. y N.H. Haskell. 1997. *Entomology and Death: A Procedural Guide*. Joyce's Print Shop. Clemson, South Carolina, 183 pp.

Daza M. del C. y S. Z. Yusseff. 2003. Caracterización de la entomofauna asociada a la descomposición cadavérica empleando como biomodelo el cerdo (*Sus scrofa*) en el municipio de Tunja. Tesis de Pregrado Biología. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja. Colombia. 141 pp.

DeJong, J. D. 1995. Report of *Chrysomya megacephala* (Diptera:Calliphoridae) in northern New Mexico. *Entomological News*. 106: 192.

Deonier, C. C. y E. F. Knipling. 1940. The biology of *Comptosyiops wheeleri* (Hough) and description of the larva. *Annals of the Entomological Society of America*. 33: 578-582.

Ferlini, T. R. 1994. Determination of time elapsed since death in decomposed, momified and saponified corpse. *Medicina Legal de Costa Rica*. 10(2): 17-21.

Fuller, M. E. 1934. The insects inhabitants of carrion: a study in animal ecology. *Australian Commonwealth Scientific and Industrial Research Bulletin* 82, Melbourne. 63 pp.

Goff, M. L. 1993. Festín de pruebas: Insectos al servicio forense. En: Taller de la Academia Americana de Ciencias Forenses. *Memorias del Taller de la Academia Americana*, Boston. 4: 28-34.

González-Mora, D., S. V. Peris y J. C. Mariluis. 1998. Notas sobre la taxonomía y distribución del género *Compsomyiops* TOWNSEND, 1918 (Diptera, Calliphoridae). Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural (Sec. Biol.), 94 (1-2): 15-21.

Grassberger, M. y C. Reiter. 2002. Effect of temperature on development of the forensically important holartic blow fly *Protophormia terranova* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). Forensic Science International. 128: 177-182.

Greenberg, B. 1991. Flies as forensic indicators. Journal Medical Entomology. 28(5): 565-577.

Greenberg, B. 1988. *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae) collected in North America and notes on *Chrysomya* species present in the new world. Journal Medical Entomology. 25: 199-200.

Greenberg, B. y M. L. Szyska. 1984. Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). Annals of the Entomological Society of America. 77: 488-517.

Goodbrod, J. R. y 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. Journal Medical Entomology. 27(3): 338-343.

Guarín, E. G. 2005. Insectos de importancia forense asociados a la descomposición cadavérica del cerdo *Sus domesticus*, expuesto a sol, sombra total y sombra parcial, en Mayagüez, Puerto Rico. Tesis M. S. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, P.R.

<http://grad.uprm.edu/tesis/guarinvargas.pdf>

Guimarães, J. H., A. P. Prado y A. X. Linhares. 1978. Three newly introduced blowfly species in southern Brazil (Diptera: Calliphoridae) Revista Brasileira de Entomología. 22: 53-60.

Gullan, P. G. y P. S. Cranston. 2005. The insects an outline of entomology. 3th ed. Blackwell Publishing. 505 pp.

- Jerson, L. M. y R. H. Miller. 2001. Estimating filth fly (Diptera: Calliphoridae) development in carrion in Guam. *Micronesica*. 34(1): 11-25.
- Karan, D. B. Moreteau y J. R. David. 1999. Growth temperature and reactions norms of morphometrical traits a tropical Drosophilid: *Zaprionus indianus*. *Heredity*. 83: 398–407.
- Keh, B. 1985. Forensic Entomology in Criminal Investigations. *Annual Review of Entomology*. 30: 137-151.
- Knipling, E. F. 1939. A key for blowfly larvae concerned in wound and cutaneous miasis. *Annals of the Entomological Society of America*. 32: 377–383.
- Leclercq, M. 1978. *Entomologie et médecine legale. Datation de la morte*. Masson et cie Paris, 100 pp.
- Lefebvre, F. y T. Pasquerault. 2003. Temperature – dependent development of *Ophyra aenecens* (Wiedemann, 1830) and *Ophyra capensis* (Wiedemann, 1818) (Diptera, Muscidae). *Forensic Science International*. 139: 75–79.
- Levot, G. W.; K. R. Brown y E. Shipp. 1979. Larval growth of some calliphorid and sarcophagid. *Diptera. Bulletin of Entomological Research*. 69: 469-475.
- Mackerras, M. J. 1933. Observations of the life-histories, nutritional requirements and fecundity of blowflies. *Bulletin of Entomological Research*. 24: 353–362.
- Magaña, C. 2001. La entomología forense y su aplicación a la medicina legal: Data de la muerte. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA)*. (28): 49-57.

McAlpine, J., B. Peterson, G. Shewell, H. Teskey, J. Vockeroth, y D. Word. 1987. Manual of Nearctic Diptera. Biosystematic Research Center, Research Branch Agriculture Canada. Monograph No. 28, 1332 pp.

O'Flynn, M. A. 1983. The succession and rate of development of blow flies in carrion in southern Queensland and the application of these data to forensic entomology. *Journal of the Australian Entomological Society*. 22: 137-148.

Oliveira, J. C. y P. C. Mello 2004. Application of forensic entomology to estimate of the post-mortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police Department in Brazil. *Internet Journals of Forensic Medicine and Toxicology*. 5(1): 40-44.

Petavy, A.G., J. P. Morin, B. Moreteau y J. R. David. 1997. Growth temperature and phenotypic plasticity in two *Drosophila* species: probable adaptive changes in flight capacities. *Journal of Evolutionary Biology*. 10: 875-887.

Ratte, H. T. 1984. Temperature and insect development. En: K. H. Hoffman (ed.). *Environmental physiology and biochemistry of insects*. Springer, Berlin. 33-66 pp.

Reiter, C. 1984. Zum Wachstumsverhalten der Maden der blauen schmeisfliege *Calliphora vicina* Z. *Rechtsmed*. 91: 295-308.

Richards, E. N. y M. Lee, Goff. 1997. Arthropod succession on exposed carrion the three contrasting tropical habitats on Hawaii Island, Hawaii. *Journal Medical Entomology*. 34 (3): 328-339.

Schmidt, C. D. y S. E. Kunz. 1985. Reproduction of *Chrysomya rufifacies* (Macquart) in the laboratory. *Southwest Entomology*. 10: 163-166.

Shahid, S. A., R. D. Hall, N. H. Haskell y R. W. Merritt. 2000. *Chrysomya rufifacies* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae) established in the vicinity of Knoxville, Tennessee, USA. *Journal of Forensic Science*. 45 (4): 896–897.

Shean, B. S., L. Messinger y M. Papwort. 1993. Observations of differential decomposition on sun exposed v. shaded pig in coastal Washington State. *Journal of Forensic Sciences*. 38(4): 938–949.

Smith, K. G. 1986. *A manual of forensic entomology*. University Printing House, London. 205 pp.

Stehr, F. W. 1991. *Immature insects*. Volume 2. Kendall/Hunt Publishing Company. 794 pp.

Subramanian, H. y J. Butler. 1980. Biology of the blowflies *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya rufifacies* and *Lucilia cuprina*. Kerala. *The Journal of Veterinary Science*. 11: 252-261.

Sukontason K., K. L. Sukontanson, S. Lertthamnontham, B. Kuntalue, N. Thijuk, R. C. Vogtsberg y J. K. Olson. 2003. Surface ultrastructure of *Chrysomya rufifacies* (Macquart) larvae (Diptera: Calliphoridae). *Journal Medical Entomology*. 40 (3): 259-267.

Sukontason, K. L., K. Sukontason, S. Piangjai, N. Boonchu, T. Chaiwong, R. C. Vogtsberg, B. Kuntalue, N. Thijuk y J. K. Olson. 2002. Larval morphology of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy. *Journal of Vector Ecology*. 28(1): 47-52.

Tantawi, T. I. y B. Greenberg. 1993. The effect of killen and preservative solutions on estimates of maggot age in forensic cases. *Journal of Forensic Science*. 38 (3): 702-707.

Tenorio, F. M., J. K. Olson y C. J. Coates. 2003. Decomposition studies, with a catalog and descriptions of forensically important blow flies (Diptera: Calliphoridae) in central Texas. *Southwestern Entomology*. 28(1): 37–45.

Tomberlin, J. K., W. K. Reeves y D.C. Sheppard. 2001. First Record of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in Georgia, U.S.A. *Florida Entomologist*. 84(2): 300-301.

Trotta, V. F. C. Calboli, M. Ziosi, D. Guerra, M. C. Pezzoli, J. R. David y S. Cavicchi. 2006. Thermal plasticity in *Drosophila melanogaster*: A comparison of geographic populations. *BMC Evolutionary Biology*. 6: 1–11.

Tullis, K y M. Lee Goff. 1987. Arthropod succession in exposed carrion in a tropical rainforest on O'ahu island, Hawaii. *Journal Medical Entomology*. 24: 332-339.

Waterhouse, D. F. 1947. The relative important of live sheep and carrion as breeding grounds for the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*, Australian (Melbourne) Commonwealth Council Scientific Industrial Research Bulletin. 217 pp.

Wells, J. D. 1991. *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) has reached the continental United States: Review of its biology, pest status, and spread around the world. *Journal Medical Entomology*. 28(3): 471-473.

Wells, J. D. 2000. Introduced *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) flies in northcentral Alabama. *Journal of Entomological Science*. 35: 91-92.

Wells, J. D. y B. Greenberg. 1992. Rates of predation by *Chrysomya rufifacies* (Macquart) on *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) in the laboratory: Effects of predator and prey development. *Pan-Pacific Entomologist*. 68(1): 12–14.

Wells, J. D. y B. Greenberg. 1994. Resource use by an introduced and native carrion flies. *Oecologia*. 99: 181–187.

Wells, J. D., H. Byrd y I. Tantawi. 1999. Key to third-instar Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United States. *Journal Medical Entomology*. 36: 635-611.

Wolff, M. 1999. Primeros estudios de entomología forense en Medellín: Presentación de algunos casos. Universidad de Antioquia. Departamento de Biología. Colombia. 12: 25-31.

Wolff, M; A. Uribe, A. Ortiz, y P. Duque. 2001. A Preliminary Study of Forensic Entomology in Medellín, Colombia. *Forensic Science International*. (120): 53-59.

APÉNDICES

APÉNDICE B
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA DURACIÓN DE CADA ESTADO DE
DESARROLLO

Estadística descriptiva de la duración del huevo, los tres estadios larvales y la pupación de *Chrysomya rufifacies* a las tres temperaturas constantes. (D.E: desviación estandar, E.E: error estandar, Min: mínimo, Máx: máximo, n: número de repeticiones y h: horas).

	Variable	n	Media (h)	D.E.	E.E.	Mín	Máx	
<i>Chrysomya rufifacies</i>	25 °C	Huevo	10	14.1	1.9	0.6	12.0	16.0
		Estadio I	10	12.0	0.0	0.0	12.0	12.0
		Estadio II	10	22.8	6.2	2.0	12.0	36.0
		Estadio III	10	67.2	6.2	2.0	54.0	78.0
		Pupa	10	144.4	22.2	7.0	126.0	195.0
		Total	10	260.5	23.1	7.3	243.0	313.0
	30 °C	Huevo	10	9.9	1.7	0.5	8.0	14.0
		Estadio I	10	12.4	1.3	0.4	12.0	16.0
		Estadio II	9	24.9	4.4	1.5	16.0	28.0
		Estadio III	9	28.4	3.7	1.2	24.0	36.0
		Pupa	3	146.0	0.0	0.0	146.0	146.0
		Total	3	217.8	5.0	2.9	214.0	223.5
	35 °C	Huevo	10	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0
		Estadio I	10	8.0	0.0	0.0	8.0	8.0
		Estadio II	10	10.4	2.1	0.7	8.0	12.0
		Estadio III	10	37.6	2.1	0.7	36.0	40.0
		Pupa	8	129.0	12.4	4.4	120.0	144.0
		Total	8	194.0	12.4	4.4	185.0	209.0

Estadística descriptiva de la duración del huevo, los tres estadios larvales y la pupación de *Cochliomyia macellaria* a las tres temperaturas constantes. (D.E: desviación estandar, E.E: error estandar, Min: mínimo, Máx: máximo, n: número de repeticiones y h: horas).

	Variable	n	Media (h)	D.E.	E.E.	Mín	Máx	
<i>Cochliomyia macellaria</i>	25 °C	Huevo	10	15.0	0.0	0.0	15.0	15.0
		Estadio I	10	16.2	2.9	0.9	12.0	18.0
		Estadio II	10	15.0	3.2	1.0	12.0	18.0
		Estadio III	10	52.8	2.5	0.8	48.0	54.0
		Pupa	10	189.2	14.8	4.7	176.0	216.0
		Total	10	288.2	14.8	4.7	275.0	315.0
	30 °C	Huevo	9	9.1	1.1	0.4	8.0	10.0
		Estadio I	9	10.2	2.9	1.0	8.0	16.0
		Estadio II	9	17.3	2.0	0.7	16.0	20.0
		Estadio III	9	38.7	8.9	3.0	24.0	48.0
		Pupa	7	131.0	14.0	5.3	113.0	149.0
		Total	7	208.1	9.3	3.5	198.0	225.0
	35 °C	Huevo	10	8.8	1.0	0.3	8.0	10.0
		Estadio I	10	8.8	1.7	0.5	8.0	12.0
		Estadio II	10	12.0	1.9	0.6	8.0	16.0
		Estadio III	10	35.2	1.7	0.5	32.0	36.0
		Pupa	10	168.0	0.0	0.0	168.0	168.0
		Total	10	232.8	2.5	0.8	228.0	238.0

APÉNDICE C
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL TAMAÑO DE LAS LARVAS PARA CADA MUESTREO.

Estadística descriptiva del tamaño de las larvas de *Chrysomya rufifacies* para cada muestreo en las tres temperaturas constantes (D.E: desviación estandar, E.E: error estandar, Min: mínimo, Máx: máximo, n: número de repeticiones y h: horas).

	Temp	(h)	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
<i>Chrysomya rufifacies</i>	25 °C	6	10	2.2	0.4	0.1	1.5	2.9
		12	10	2.4	0.4	0.1	1.7	2.9
		18	10	4.1	0.5	0.2	3.5	5.0
		24	10	4.9	0.9	0.3	2.9	6.0
		30	10	5.7	0.8	0.3	4.5	6.8
		36	10	6.7	1.1	0.4	5.2	8.5
		42	10	8.8	1.4	0.4	6.5	11.1
		48	10	9.5	1.5	0.5	7.0	12.0
		54	10	10.9	1.3	0.4	8.1	12.5
		60	10	11.8	0.9	0.3	9.9	13.3
		66	10	11.8	1.0	0.3	10.8	13.8
		72	10	12.5	1.1	0.4	10.5	14.0
		78	10	12.3	0.6	0.2	11.5	13.1
		84	10	12.7	0.4	0.1	11.8	13.0
		90	10	12.1	1.4	0.4	9.0	13.5
		96	10	12.3	0.8	0.3	11.0	13.5
	102	10	11.2	1.2	0.4	9.0	12.5	
	30 °C	4	9	1.9	0.2	0.1	1.5	2.0
		8	9	2.3	0.2	0.1	2.1	2.7
		12	9	2.6	0.3	0.1	2.2	3.0
		16	9	3.1	0.4	0.1	2.6	4.0
		20	9	4.2	0.4	0.1	3.5	5.0
		24	9	4.8	0.6	0.2	3.8	6.2
		28	9	5.5	0.5	0.2	4.9	6.1
		32	9	5.8	0.7	0.2	4.9	6.6
		36	9	5.9	0.7	0.2	4.9	7.1
		40	9	6.4	1.5	0.5	3.9	8.9
		44	9	8.4	1.5	0.5	6.1	10.7
		48	9	9.0	1.5	0.5	6.0	12.0
		52	9	9.2	1.6	0.5	6.3	11.2
		56	8	10.6	1.4	0.5	8.5	12.5
		60	8	11.0	0.9	0.3	9.1	12.0
		64	8	12.2	1.0	0.4	11.0	14.0
	35 °C	4	10	2.1	0.1	0.0	2.0	2.2
		8	10	2.7	0.2	0.1	2.5	3.0
		12	10	4.4	0.4	0.1	3.5	4.9
		16	10	5.7	0.4	0.1	5.2	6.3
		20	10	6.7	0.6	0.2	6.1	7.8
		24	10	7.3	1.1	0.3	6.0	8.9
		28	10	9.0	0.7	0.2	8.0	10.0
		32	10	10.2	0.8	0.3	8.9	12.0
		36	10	10.6	0.9	0.3	9.0	12.4
40		10	10.8	0.5	0.2	10.0	11.3	
44	10	11.0	0.6	0.2	10.0	12.0		
48	10	11.8	0.5	0.2	11.0	12.5		

	52	9	11.9	0.6	0.2	11.2	13.0
	56	9	12.6	0.7	0.2	11.5	13.7

APENDICE C, continuación.

Estadística descriptiva del tamaño de las larvas de *Chrysonyia rufifacies* para cada muestreo en las tres temperaturas constantes (D.E: desviación estandar, E.E: error estandar, Min: mínimo, Máx: máximo, n: número de repeticiones y h: horas).

	(h)	n	Media (mm)	D.E.	E.E.	Mín	Máx	
<i>Cochliomyia macellaria</i>	25 °C	6	10	1.9	0.2	0.1	1.5	2.2
		12	10	2.5	0.2	0.1	2.3	3.0
		18	10	3.2	0.7	0.2	2.5	4.6
		24	10	5.0	0.3	0.1	4.5	5.5
		30	10	5.9	0.4	0.1	5.2	6.3
		36	10	7.5	1.3	0.4	5.0	10.0
		42	10	10.0	1.1	0.3	8.0	11.2
		48	10	11.8	0.8	0.3	10.2	13.0
		54	10	12.4	0.7	0.2	11.1	13.3
		60	10	12.0	0.6	0.2	11.0	12.8
		66	10	11.9	1.3	0.4	9.2	13.5
		72	10	12.2	1.0	0.3	10.0	13.5
	78	10	11.8	1.0	0.3	10.0	13.1	
	30 °C	4	9	1.9	0.3	0.1	1.5	2.2
		8	9	2.3	0.4	0.1	1.6	2.7
		12	9	2.6	0.3	0.1	2.2	3.0
		16	9	3.4	0.7	0.2	2.4	4.4
		20	9	4.7	0.5	0.2	4.0	5.5
		24	9	5.5	0.6	0.2	4.3	6.5
		28	9	5.7	0.9	0.3	4.0	6.9
		32	9	7.5	1.8	0.6	4.3	9.6
		36	9	6.8	1.7	0.6	4.0	10.0
		40	9	9.2	1.5	0.5	6.1	11.4
		44	9	9.4	1.7	0.6	7.0	12.3
		48	9	9.9	1.1	0.4	7.8	11.2
	52	9	10.7	1.4	0.5	8.3	12.4	
	56	8	10.9	1.1	0.4	9.3	12.5	
	35 °C	4	10	1.8	0.1	0.0	1.7	2.0
		8	10	2.3	0.2	0.1	1.9	2.5
		12	10	3.6	0.6	0.2	2.7	4.3
		16	9	4.6	1.0	0.3	2.5	5.6
		20	10	5.9	1.0	0.3	4.0	7.2
		24	10	7.6	1.4	0.5	5.3	10.3
28		10	9.0	1.3	0.4	6.8	10.2	
32		10	9.9	1.0	0.3	7.7	11.1	
36		10	11.8	1.1	0.4	10.0	13.2	
40		10	11.7	1.5	0.5	9.5	13.8	
44		10	11.6	1.9	0.6	9.0	13.8	
48		10	11.8	1.2	0.4	10.4	13.3	
52	10	11.1	0.7	0.2	10.0	12.5		
56	10	11.3	1.1	0.3	9.8	13.2		

APÉNDICE D

ESTADÍSTICA DE LAS REGRESIONES LINEALES POLINOMIALES PARA LAS DOS ESPECIES BAJO LAS TRES TEMPERATURAS.

Cochliomyia macellaria 25°C

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
Tamaño mm	130	0.95	0.95	0.96

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	1.47	0.46	0.56	2.38	3.19	0.0018	
Tiempo	-0.01	0.05	-0.10	0.08	-0.14	0.8874	3.03
Tiempo ²	0.01	1.2E-03	0.01	0.01	6.61	<0.0001	46.39
Tiempo ³	-8.3E-05	9.7E-06	-1.0E-04	-6.4E-05	-8.56	<0.0001	75.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2017.95	3	672.65	740.40	<0.0001
Tiempo	1814.60	1	1814.60	1997.38	<0.0001
Tiempo ²	136.73	1	136.73	150.50	<0.0001
Tiempo ³	66.62	1	66.62	73.33	<0.0001
Error	114.47	126	0.91		
Total	2132.42	129			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2017.95	3	672.65	740.40	<0.0001
Tiempo	2017.95	3	672.65	740.40	<0.0001
Error	114.47	126	0.91		
Error Puro	78.85	117	0.67		
Total	2132.42	129			

Chrysomya rufifacies 25°C

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
Tamaño mm	170	0.93	0.93	1.07

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	1.08	0.39	0.30	1.85	2.73	0.0071	
Tiempo (horas)	0.12	0.03	0.06	0.18	3.92	0.0001	18.24
Tiempo (horas) ²	2.3E-03	6.5E-04	1.0E-03	3.6E-03	3.58	0.0005	15.73
Tiempo (horas) ³	-2.5E-05	4.0E-06	-3.3E-05	-1.7E-05	-6.30	<0.0001	42.41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2262.16	3	754.05	734.29	<0.0001
Tiempo (horas)	1923.77	1	1923.77	1873.35	<0.0001
Tiempo (horas) ²	297.68	1	297.68	289.88	<0.0001
Tiempo (horas) ³	40.71	1	40.71	39.65	<0.0001
Error	170.47	166	1.03		
Total	2432.63	169			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2262.16	3	754.05	734.29	<0.0001
Tiempo (horas)	2262.16	3	754.05	734.29	<0.0001
Error	170.47	166	1.03		
Lack of Fit	21.83	13	1.68	1.73	0.0600
Error Puro	148.63	153	0.97		
Total	2432.63	169			

Cochliomyia macellaria 30°C

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
Tamaño mm	145	0.88	0.88	1.42

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	1.57	0.48	0.62	2.52	3.26	0.0014	
Tiempo	0.04	0.06	-0.07	0.16	0.77	0.4446	3.59
Tiempo ²	0.01	1.8E-03	2.7E-03	0.01	3.44	0.0008	14.79
Tiempo ³	-7.4E-05	1.7E-05	-1.1E-04	-4.1E-05	-4.37	<0.0001	21.99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1454.96	3	484.99	358.33	<0.0001
Tiempo	1388.11	1	1388.11	1025.60	<0.0001
Tiempo ²	40.97	1	40.97	30.27	<0.0001
Tiempo ³	25.88	1	25.88	19.12	<0.0001
Error	190.84	141	1.35		
Total	1645.80	144			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1454.96	3	484.99	358.33	<0.0001
Tiempo	1454.96	3	484.99	358.33	<0.0001
Error	190.84	141	1.35		
Lack of Fit	20.87	13	1.61	1.21	0.2804
Error Puro	169.97	128	1.33		
Total	1645.80	144			

Chrysomya rufifacies 30°C

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
Tamaño mm	133	0.89	0.89	1.01

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	1.38	0.29	0.80	1.96	4.69	<0.0001	
Tiempo	0.11	0.02	0.07	0.15	5.11	<0.0001	27.97
Tiempo ²	9.0E-04	3.3E-04	2.5E-04	1.5E-03	2.75	0.0068	9.51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1076.97	2	538.48	552.43	<0.0001
Tiempo	1069.60	1	1069.60	1097.29	<0.0001
Tiempo ²	7.37	1	7.37	7.56	0.0068
Error	126.72	130	0.97		
Total	1203.69	132			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1076.97	2	538.48	552.43	<0.0001
Tiempo	1076.97	2	538.48	552.43	<0.0001
Error	126.72	130	0.97		
Total	1203.69	132			

Cochliomyia macellaria 35°C

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
Tamaño mm	139	0.91	0.91	1.37

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	0.93	0.52	-0.10	1.95	1.79	0.0753	
Tiempo (horas)	0.12	0.07	-0.02	0.26	1.66	0.0999	5.73
Tiempo (horas)^2	0.01	2.8E-03	0.01	0.02	3.83	0.0002	17.60
Tiempo (horas)^3	-1.7E-04	3.0E-05	-2.3E-04	-1.1E-04	-5.66	<0.0001	34.85

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1834.68	3	611.56	470.61	<0.0001
Tiempo (horas)	1616.72	1	1616.72	1244.12	<0.0001
Tiempo (horas)^2	176.27	1	176.27	135.64	<0.0001
Tiempo (horas)^3	41.69	1	41.69	32.08	<0.0001
Error	175.43	135	1.30		
Total	2010.11	138			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1834.68	3	611.56	470.61	<0.0001
Tiempo (horas)	1834.68	3	611.56	470.61	<0.0001
Error	175.43	135	1.30		
Lack of Fit	20.17	10	2.02	1.62	0.1071
Error Puro	155.26	125	1.24		
Total	2010.11	138			

Chrysomya rufifacies 35°C

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
Tamaño mm	138	0.96	0.96	0.48

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	0.12	0.20	-0.28	0.52	0.60	0.5468	
Tiempo (horas)	0.40	0.02	0.37	0.43	25.57	<0.0001	650.93
Tiempo (horas)^2	-3.2E-03	2.5E-04	-3.7E-03	-2.7E-03	-12.58	<0.0001	159.15

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1582.67	2	791.33	1705.75	<0.0001
Tiempo (horas)	1509.22	1	1509.22	3253.19	<0.0001
Tiempo (horas)^2	73.44	1	73.44	158.31	<0.0001
Error	62.63	135	0.46		
Total	1645.30	137			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1582.67	2	791.33	1705.75	<0.0001
Tiempo (horas)	1582.67	2	791.33	1705.75	<0.0001
Error	62.63	135	0.46		
Error Puro	49.05	124	0.40		
Total	1645.30	137			

APÉNDICE E

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA PARA LA TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA DENTRO DE LA INCUBADORA.

Datos de la estadística descriptiva de la temperatura y la humedad relativa registrados durante el desarrollo de *Cochliomyia macellaria* bajo los tres regímenes de temperatura.

Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
Temperatura 1	35	25.23	0.68	0.12	24.0	26.6
Humedad relativa 1	35	78.06	9.24	1.56	70.0	98
Temperatura 2	26	30.34	0.45	0.09	29.7	31.9
Humedad relativa 2	26	81.0	3.64	0.71	70.0	89
Temperatura 3	34	34.69	0.59	0.1	33.3	36.7
Humedad relativa 3	34	76.79	5.81	1.0	70.0	86

Datos de la estadística descriptiva de la temperatura y la humedad relativa registrados durante el desarrollo de *Chrysomya rufifacies* bajo los tres regímenes de temperatura.

Variable	n	Media	D.E.	E.E.	Mín	Máx
Temperatura 1	30	25.3	1.2	0.2	23.1	29.8
Humedad relativa 1	31	83.7	9.4	1.7	70.0	94.0
Temperatura 2	26	30.3	0.5	0.1	29.7	31.9
Humedad relativa 2	26	81.0	3.6	0.7	70.0	89.0
Temperatura 3	24	35.3	0.6	0.1	34.0	36.1
Humedad relativa 3	24	74.8	4.6	0.9	70.0	83.0

APÉNDICE F

REGISTRO DE LA TEMPERATURA Y LA HUMEDAD RELATIVA DENTRO DE LA INCUBADORA

Datos de temperatura y humedad relativa dentro de las incubadoras durante el experimento con *Cochliomyia macellaria* bajo los tres regímenes de temperatura.

Régimen 25 °C		Régimen 30 °C		Régimen 35 °C	
Temp. °C	HR %	Temp. °C	HR %	Temp. °C	HR %
24.0	79.0	30.5	82.0	33.8	85.0
25.1	92.0	30.0	78.0	34.7	85.0
24.4	70.0	30.2	76.0	34.4	86.0
26.5	96.0	30.5	81.0	34.7	86.0
25.4	93.0	30.2	83.0	35.2	85.0
26.0	98.0	30.1	80.0	36.0	70.0
26.6	77.0	30.1	80.0	34.6	85.0
26.6	95.0	30.1	81.0	35.0	82.0
25.4	80.0	30.1	70.0	34.9	81.0
25.1	70.0	30.8	79.0	35.1	83.0
25.4	86.0	30.7	81.0	34.8	83.0
25.3	72.0	30.2	80.0	34.8	77.0
26.0	81.0	30.8	81.0	34.2	83.0
25.1	79.0	30.4	86.0	33.3	70.0
25.4	80.0	30.4	81.0	35.0	83.0
25.7	70.0	31.9	89.0	36.7	73.0
25.8	70.0	30.9	81.0	34.4	70.0
24.9	70.0	29.8	82.0	35.0	72.0
24.9	72.0	29.7	81.0	34.6	75.0
25.4	70.0	30.0	81.0	34.5	70.0
25.0	73.0	30.1	83.0	34.8	77.0
25.4	76.0	30.8	84.0	34.1	77.0
25.3	72.0	30.4	79.0	34.4	72.0
24.7	76.0	30.2	78.0	34.1	72.0
24.5	72.0	30.1	81.0	34.9	78.0
25.1	73.0	29.9	88.0	34.7	75.0
26.5	70.0	NA	NA	34.8	72.0
24.3	70.0	NA	NA	34.8	70.0
25.3	90.0	NA	NA	34.8	71.0
24.1	97.0	NA	NA	34.8	73.0
24.5	75.0	NA	NA	34.1	71.0
24.7	73.0	NA	NA	34.1	71.0
25.0	70.0	NA	NA	34.7	75.0
24.4	74.0	NA	NA	34.7	73.0
25.2	71.0	NA	NA	NA	NA

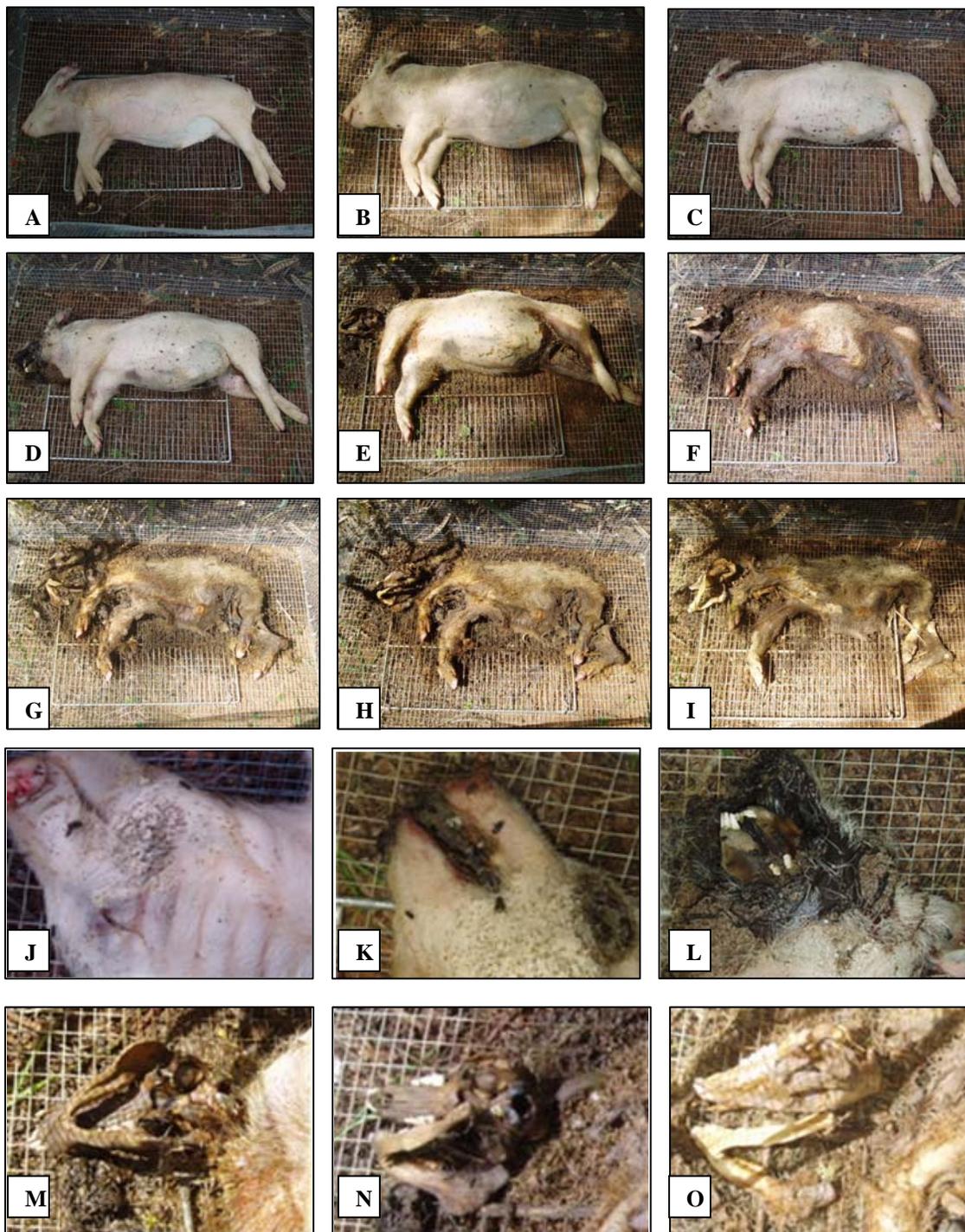
Datos de temperatura y humedad relativa dentro de las incubadoras durante el experimento con *Cochliomyia macellaria* bajo los tres regímenes de temperatura.

Régimen 25 °C		Régimen 30 °C		Régimen 35 °C	
Temp. °C	HR %	Temp. °C	HR %	Temp. °C	HR %
23.1	90.0	30.5	82.0	35.0	79.0
23.6	88.0	30.0	78.0	35.5	80.0
23.1	93.0	30.2	76.0	35.9	70.0
24.0	90.0	30.5	81.0	35.3	81.0
25.1	92.0	30.2	83.0	35.5	83.0
25.0	89.0	30.1	80.0	34.9	80.0
25.8	92.0	30.1	80.0	34.9	70.0
25.2	78.0	30.1	81.0	35.4	70.0
26.0	91.0	30.1	70.0	36.0	72.0
25.6	89.0	30.8	79.0	35.4	73.0
25.8	93.0	30.7	81.0	35.7	71.0
27.0	88.0	30.2	80.0	34.5	70.0
25.8	93.0	30.8	81.0	36.1	70.0
25.1	94.0	30.4	86.0	34.8	70.0
25.9	89.0	30.4	81.0	34.0	71.0
26.0	89.0	31.9	89.0	34.4	72.0
25.2	86.0	30.9	81.0	34.9	71.0
25.2	75.0	29.8	82.0	35.3	73.0
29.8	93.0	29.7	81.0	35.5	82.0
23.6	70.0	30.0	81.0	34.9	81.0
24.9	73.0	30.1	83.0	35.4	79.0
24.5	70.0	30.8	84.0	36.0	75.0
25.8	70.0	30.4	79.0	36.1	76.0
24.9	70.0	30.2	78.0	34.8	75.0
25.2	70.0	30.1	81.0	NA	NA
26.0	92.0	29.9	88.0	NA	NA
24.8	70.0	NA	NA	NA	NA
25.6	80.0	NA	NA	NA	NA
24.8	93.0	NA	NA	NA	NA
24.9	70.0	NA	NA	NA	NA
24.0	76.0	NA	NA	NA	NA

APÉNDICE G

ESTADOS DE DESCOMPOSICIÓN DEL CERDO

Estado de descomposición del cerdo. Estado fresco (A, B Y J), Estado hinchado (C Y D), estado activo (E y L), estado avanzado (F, G y M) y estado esquelético (H, I, N y O).



APENDICE H**MASAS LARVALES DE *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* DURANTE EL PROCESO DE DESCOMPOSICIÓN.**

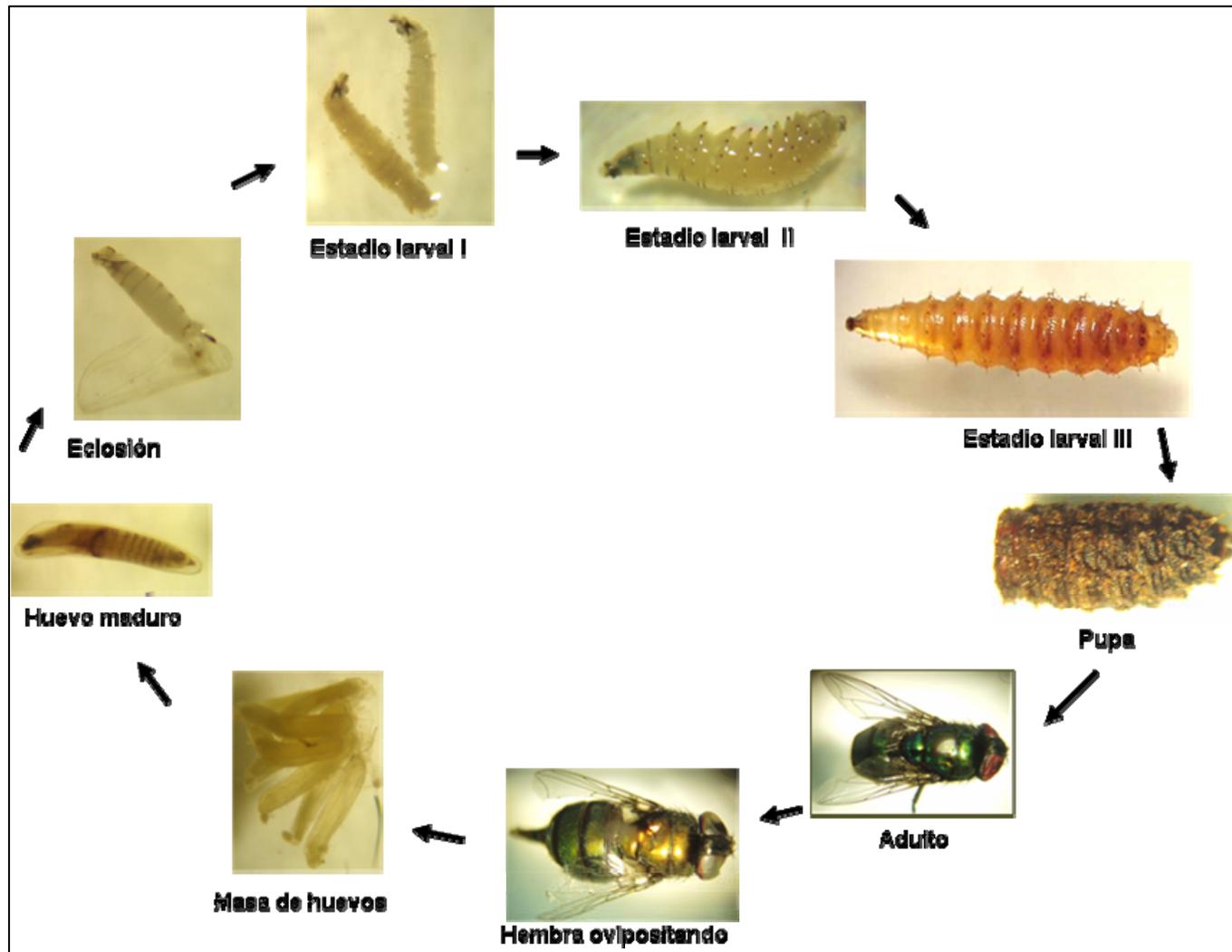
Masas larvales de *C. rufifacies* dentro del cadáver en estado de descomposición activo.



Masas larvales de *Co. macellaria* empupando fuera del cadáver por la presencia de *C. rufifacies* en estadio III en el cadáver.



APENDICE I
CICLO DE VIDA DE *Chrysomya rufifacies* DESDE HUEVO HASTA ADULTO



APÉNDICE J
 CLAVE PICTÓRICA DE LARVAS DE DíPTEROS CON IMPORTANCIA FORENSE

