



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CICLO DE
DESARROLLO DE *SARCOPHAGA HAEMORROIDALIS* (FALLEN)
(DIPTERA: SARCOPHAGIDAE) BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO.”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A:

BLANCA ESTELA MIRANDA GALLARDO

Director de Tesis: Biól. Alberto Morales Moreno

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México.

Febrero 2013.



INDICE

Resumen.....	3
1. Introducción.....	5
1.2. <i>Sarcophaga haemorrhoidalis</i> (Fallen).....	6
2. Antecedentes.....	9
3. Objetivo general.....	13
3.1. Objetivos particulares.....	13
4. Materiales y Método.....	14
4.1. Fase de campo.....	14
4.2. Fase de laboratorio.....	16
4.2.1. Selección y crecimiento de <i>Sarcophaga haemorrhoidalis</i>	16
4.2.2. Sexado de adultos.....	18
4.2.3. Desarrollo de larvas y pupas con variación de temperatura.....	19
4.2.4. Toma de datos morfológicos de estadios inmaduros.....	21
4.2.5. Transferencia de larvas a cámaras de desarrollo.....	22
4.2.6. Emergencia de adultos.....	23
5. Resultados y discusión.....	24
5.1. Tiempos de desarrollo de <i>Sarcophaga haemorrhoidalis</i>	25
5.2. Análisis del desarrollo a 21°C.....	26
5.3. Análisis del desarrollo a 24°C.....	30
5.4. Análisis del desarrollo a 27.5°C.....	34

5.5. Análisis del desarrollo a 30.5°C.....	37
5.6. Descripción de los estadios de larva, pupa y adulto de <i>Sarcophaga haemorrhoidalis</i>	41
6. Conclusiones.....	46
7. Sugerencias.....	49
8. Literatura citada.....	50
Anexo I..... Técnica de aclarado y montaje: modificada de Palacios y Mejía, 2007.	54
Anexo II. Medios nutritivos para dípteros (adultos).	57
Anexo III. Solución de Kahle.	58
Anexo IV. Criterios para la determinación de las fases de desarrollo de estadios inmaduros de <i>Sarcophaga haemorrhoidalis</i> .	59

RESUMEN

Se realizaron muestreos en la Ciudad de México para recolectar larvas de dípteros de la especie *Sarcophaga haemorrhoidalis*, con la finalidad de poder criarlas bajo condiciones controladas de laboratorio y obtener las etapas de maduración de larvas, pupas y adultos. El estudio consideró la duración de cada uno de los estadios, los cuales se sometieron a variaciones de temperatura de 21°C, 24°C, 27.5°C y 30.5°C, con un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 de oscuridad, con una intensidad luminosa de 9 watts; el sustrato utilizado para el crecimiento de las larvas consistió en proteína animal, carbohidratos y agua. Los tiempos de desarrollo de *S. haemorrhoidalis*, incluyendo maduración sexual de los adultos, periodo de prelarvificación, desarrollo larval y de la pupa, hasta la fase adulta fueron de 736.3 horas a 21°C, 516.4 horas a 24°C, 574 horas a 27.5°C y 470.6 horas a 30.5°C. Se estableció la duración del crecimiento larval cuando se sometieron a variación de temperatura determinando que a 21°C fue de 132.6 horas, a 24°C 211.2 horas, a 27.5°C 152 horas y a 30.5°C solo requirió de 143.8 horas. Igualmente se obtuvieron datos de la pupa en el siguiente orden: 389.20, 145.60, 232.8 y 163.6 horas, en los rangos de temperatura ya mencionados.

La densidad poblacional reportada para esta especie bajo condiciones de laboratorio se presentó en el siguiente orden: 246 larvas, 136 pupas y 128 adultos cuando se criaron a 21°C; 262 larvas, 135 pupas y 76 adultos cuando se criaron a 24°C; 270 larvas, 216 pupas y 128 adultos cuando se criaron a 27.5°C; 254 larvas, 167 pupas así como 125 adultos cuando se desarrollaron a 30.5°C.

Se obtuvo una proporción sexual de 2:1 (dos hembras por macho) a 21°C, 24°C y 30.5°C. Por otro lado, se observó la proporción de 1:1 (hembra-macho) a 27.5°C.

Se reportó el tiempo de prelarvificación de *S. haemorrhoidalis*, con valor máximo de 214.5 horas a 21 °C y mínimo de 160 horas a una temperatura de 24 °C.

Se realizó una breve descripción de *S. haemorrhoidalis*, tomando en cuenta criterios de identificación taxonómica para larvas, considerando la morfología del cefaloesqueleto, espiráculos anteriores, discos espiraculares posteriores, así como la orientación vertical de los *slits*. En cuanto a la pupa, se describieron estructuras como la abertura anal y los tubérculos presentes en el segmento caudal. En los adultos se hizo mención de características morfológicas y de quetotaxia que permitieron determinar el sexo de la especie, destacando las sedas parafaciales, distancia interocular entre machos y hembras así como las características generales de la genitalia.

Los resultados aquí presentados sobre crecimiento larval, fueron comparados con datos obtenidos por Byrd y Butler (1998); Aspoas (1991), y Madubunyi (1986), determinando que *S. haemorrhoidalis* criada a temperaturas de 21°C, 24°C, 27.5°C y 30.5°C emplea un tiempo mayor al reportado por estos autores. Las variaciones observadas son explicadas considerando las oscilaciones de temperatura, espacio de crianza, dieta, fotoperiodo y competencia inter e intra específica.

1. INTRODUCCIÓN

La Clase Insecta incluye alrededor de cuarenta órdenes, entre ellos se encuentra el Diptera. Su número es variable, si bien diversos autores hablan de 86,000 especies descritas a nivel mundial, el análisis de los catálogos específicos estima una cifra de 125,000 a 153,000 especies de dípteros, los cuales están clasificados en 140 familias, de ellas de 18,000 a 31,000, se distribuyen en la región Neotropical (Castner, 2010; Amorim y Papavero, 2008; Brown, 2005).

Los dípteros son organismos cosmopolitas, explotan casi cualquier hábitat, tanto en las regiones Neárticas como Tropicales. Es común encontrar que una misma especie presente hábitos alimentarios que varían en estados adultos e inmaduros y llegan a considerarse como parte principal del componente biótico, al ser transformadores de la materia orgánica (Castner, *op cit*; Anderson y Cervenka, 2002; Magaña, 2001; Haskell *et al.* 1996; Barnes, 1989).

El Orden Diptera tiene gran importancia ecológica y explota diferentes hábitats. Utilizan la materia orgánica como recurso trófico en sus distintos estadios inmaduros. Su desarrollo es regulado entre otros factores por la temperatura ambiental existiendo alteraciones que pueden retardarlo o acelerarlo; aprovechando esta condición, es posible predecir la sucesión de especies, de acuerdo con las variaciones ambientales (Mavárez *et al.*, 2005; Castillo, 2001). El conocimiento sobre el efecto que tiene la temperatura en el ciclo de desarrollo de estos organismos, es aplicado al campo de la Entomología Forense, disciplina que se ocupa del estudio de los artrópodos asociados a cadáveres para responder preguntas básicas en torno a la causa, tiempo y lugar en que se da la muerte de un individuo (Byrd y Castner, 2010; Hall y Huntington, 2010).

Dentro de los grupos más conocidos de dípteros, que presentan importancia en investigaciones forenses, se encuentran los miembros de la familia Sarcophagidae. Esta familia, cuenta con cerca de 2,000 especies, con

dispersión en todo el mundo, la mayoría ubicadas en zonas tropicales o regiones cálidas (Mulieri *et al.*, 2010; Kamal, 1958).

Los sarcófagidos, constituyen un grupo de interés médico y forense, considerado como parte importante del componente biótico, se identifican como consumidores y/o degradadores secundarios; presentan hábitos sinantrópicos y algunos géneros se reportan como vectores de agentes patógenos, en tanto que otros, son considerados como causantes de miasis en vertebrados (Soler, 2000; Martínez *et al.*, 2000).

1.2. *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Fallen)

Uno de los dípteros pertenecientes a la familia Sarcophagidae es *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Fallen), conocido comúnmente como “mosca de la carne” o “mosca de cola roja”, es una especie de distribución mundial. Diversos autores la han asociado a restos humanos en descomposición. Su apariencia es muy similar a las moscas pertenecientes a la familia Muscidae pero en términos generales, es más grande; su abdomen termina en un punto rojo, el cual en la actualidad se reconoce como la parte externa de la genitalia; el cuerpo es oscuro, cubierto con sedas muy finas que le da una apariencia grisácea o arenosa (Byrd y Castner, 2010; James, 1947; Aldrich, 1916).

Presenta metamorfosis holometábola lo que le permite explotar diferentes hábitats. Su desarrollo lo determinan las variables climáticas, los recursos alimentarios y el espacio que ocupa (Romera *et al.*, 2003; Byrd y Butler, 1998; Aspoas, 1991; Madubunyi, 1986).

El adulto larviposita directamente sobre los restos de materia orgánica y solo en condiciones óptimas de laboratorio ovoposita huevos fértiles. Sus hábitos son necrófagos o saprófagos durante el desarrollo de la larva hacia su estado adulto (Castillo, 2001; Martínez *et al.*, 2000; Aspoas, 1991; Cantrell, 1981).

S. haemorrhoidalis, muestra un patrón de tres bandas longitudinales sobre el tórax a nivel de la base de las alas. En cuanto al abdomen, se observa un

patrón de rayas oscuras y grises cruzadas, con apariencia de un tablero de ajedrez. Los estadios adultos tienen sedas frontales que se extienden por debajo de la base de las antenas en hileras divergentes; cuentan con dos sedas postsuturales dorsocentrales, cerca del escutelo, no obstante, llega a presentar tres o cuatro sedas débilmente implantadas; no tienen sedas acrosticales anteriores o posteriores o bien un par débilmente implantado al frente del escutelo; los márgenes medios están desnudos en los dos primeros metámeros abdominales. En el macho, la genitalia es de color rojo a amarillo, no obstante su primer metámero es más o menos oscuro en la región posterior. La parte posterior de la tibia del macho, generalmente es sedosa y cuentan con sedas negras y largas. La vena R1 sin sedas y se determina la clave R 4+6, con presencia de setulas en su base. La longitud del adulto varía de 10 a 14 mm (Byrd y Castner, 2010; James, 1947; Aldrich, 1916).

Pasan por tres fases de desarrollo larval, cuyos caracteres morfológicos varían en función del estadio en que se encuentran. Se trata de larvas de tipo vermiforme sin procesos laterales, con medidas variables desde 2 mm en larvas pequeñas, hasta 22 mm en las más grandes; muestran una región anterior y una posterior conformada por doce metámeros, de los cuales los tres primeros corresponden a los torácicos y el resto a los abdominales. El segmento cefálico está compuesto por el cefaloesqueleto, el cual se considera como la única estructura esclerotizada y dura de la larva. El cefaloesqueleto cuenta con dos brazos o cuernos, de ellos el dorsal es más largo que el ventral. En la parte externa en el segundo metámero, hacia los costados laterales, presenta los espiráculos protorácicos, cuyos dígitos o aberturas tiene un número variable desde 12 a 14 lóbulos. Los espiráculos posteriores se encuentran en una depresión, localizada en el último metámero abdominal, por encima de la cloaca o abertura anal, circundada por una corona de espinas; estos espiráculos, pueden variar de acuerdo con el estadio larval. El peritrema está incompleto, y no exhibe un botón bien definido, las aperturas espiraculares (*slits*) están dirigidas hacia abajo del peritrema, en forma recta y no hacia el botón. En larvas L1 y L2, se observan de uno a dos *slits* y tres en el L3. El

esclerito mandibular, es de tamaño medio y está dirigido hacia el frente, en forma recta y no curva como en otras especies, la base de este esclerito es pequeña y se articula al cefaloesqueleto. La coloración de las larvas, varía del amarillo claro, al beige en las larvas hasta llegar a un tono café cuando entra a pupa. La pupa presenta un color café-rojizo, con una depresión caudal ubicada en el eje horizontal; hay dos pares de tubérculos por encima de la línea central y una placa donde se localizan los espiráculos con tres *slits* de color más claro (Stojanovich *et al.*, 1969; Greene, 1925).

S. haemorrhoidalis presenta una preferencia por áreas urbanas, forma parte del componente necrófago de la comunidad, como degradadores secundarios de materia orgánica, realizando la remoción y degradación de cuerpos de animales en el ambiente, incluido el humano. Si bien se ha excluido como especie no propia de los cadáveres en putrefacción, mucha de la literatura en Entomología Forense, refieren su preferencia por las heces y la carne en descomposición, considerando a esta especie, una causante de miasis facultativa y parte fundamental de la degradación cadavérica, principalmente en su fase larval. Al igual que en otras especies de dípteros, el desarrollo es de tipo holometábolo, situación que le permite explotar diferentes hábitats, aprovechando los distintos tiempos en que se llevan a cabo cada uno de los estadios. De esta manera tenemos que las larvas de esta especie, pueden ser depositadas en la carroña, excremento, alimentos contaminados u otros sustratos de alimentación, en tanto que los adultos pueden llegar a ser omnívoros, siendo atraídos a la materia orgánica principalmente para larvipositar (Byrd y Castner, 2010; Romera *et al.*, 2003; Magaña, 1999; Byrd y Butler, 1998; Madubunyi, 1986).

La maduración, desarrollo y crecimiento de esta especie, al igual que en otras moscas pertenecientes a las familias Sarcophagidae y Calliphoridae, están determinadas por las características y concentración de sustrato, la humedad relativa y la temperatura ambiental, al igual que la regulación interna de las masas larvales (Kamal, 1958).

2. ANTECEDENTES

Martínez *et al.*, (2000), estudiaron la distribución y hábitos de *Sarcophaga haemorrhoidalis* en las zonas más septentrionales de Europa y África asociada con asentamientos humanos. Determinaron el desarrollo de esta especie sobre heces y cuerpos en descomposición durante los primeros días de transformación cadavérica. Con ello establecieron que *S. haemorrhoidalis*, como la mayoría de los sarcófagidos, es una especie necrófaga y coprófaga con hábitos sinantrópicos que crece en materia orgánica, presentando una actividad mayor durante los meses cálidos.

Higley y Haskell, (2001) mencionan que *S. haemorrhoidalis* puede llevar a cabo sus reacciones metabólicas básicas y completar su ciclo de vida en un rango amplio de temperatura desde los 10°C y por encima de los 30°C. El valor mínimo de 10°C ha sido denominado como umbral mínimo de desarrollo específico para esta especie.

De acuerdo con Aspoas, (1991) y tomando en cuenta el umbral mínimo de desarrollo, se realizó un estudio comparativo sobre la micromorfología y biología de la reproducción de *Sarcophaga exuberans*, *Sarcophaga nodosa*, *Sarcophaga tibialis*, *Sarcophaga cruentata*. De este análisis se establecieron los tiempos requeridos para el desarrollo de *S. haemorrhoidalis* (*Sarcophaga cruentata*) completando su ciclo desde el estadio larval hasta el adulto en 20.3 días. Es importante mencionar que los tratamientos se llevaron a cabo bajo condiciones constantes de temperatura en el rango de 25±1°C y con una dieta rica en proteína animal, resaltando que el estadio de pupa se alcanzó en 12.3±1 días, este tiempo es menor al requerido para las demás especies.

Se determinó que el desarrollo de huevo a adulto de *S. haemorrhoidalis* se llevó a cabo en aproximadamente 32 días. Considerando un rango de temperatura de 23-28°C bajo condiciones estándar de laboratorio; se evaluó el porcentaje de sobrevivencia de los estadios de larva y pupa, obteniendo valores cercanos a los 80 y 90% respectivamente. Este hecho sugiere que la estrategia ecológica seguida por *esta especie* corresponde más a un estrategia

“*k*” ya que habitualmente se alimenta en ambientes inestables donde el recurso es escaso y las condiciones de sucesión ecológica son muy variables (Mandubunyi, 1986).

Se observaron variaciones en el ciclo de vida de *S. haemorrhoidalis*, cuando las larvas de esta especie fueron criadas bajo condiciones de laboratorio, utilizando rangos de temperatura desde 15.6°C hasta 32.2°C. Se determinó que a tratamientos de 15.6°C transcurrieron 812 horas desde el primer estadio hasta lograr el estadio de pupa. En los tratamientos de 26.7°C a 32.2°C, se vio acelerado el tiempo de crecimiento, oscilando entre las 252 a 360 horas, para llegar al estadio adulto. Durante la cría de *esta especie* sujeta a oscilaciones térmicas, se determinaron diferencias en los tiempos de crecimiento, principalmente en el segundo estadio, pudiendo establecer que las larvas con tratamiento de 15°C, cuadruplicaron su tiempo de desarrollo respecto al tratamiento a una temperatura de 32.2°C (Byrd y Butler, 1998).

Existen discrepancias en los resultados obtenidos sobre el tiempo que emplea *S. haemorrhoidalis* en su desarrollo; mientras Byrd y Butler, (1998) establecieron un tiempo de 110 horas para alcanzar el estadio de pupa a temperatura de 26.7°C, Madubunyi *op cit.*, determinó que en un rango de 23°C a 28°C se requieren 253.68 horas para concluir este estadio.

Aspoas, (1991) reportó que en condiciones de laboratorio a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, *S. haemorrhoidalis* requirió de 192 horas para llegar al estadio de pupa, en tanto que Romera *et al.*, 2003 mencionan que en condiciones de laboratorio en ambientes cálidos con temperatura superior a los 20°C obtienen su estadio de pupa en 168 horas.

Por otro lado Zumpt, (1965 citado en Romera *et al.*, 2003), reportó que en climas cálidos, son necesarias 96 horas para el estadio de pupa. Este, como la mayoría de los dípteros, requiere más tiempo para transitar de pupa a adulto, que el tiempo requerido para su desarrollo larval.

Sin embargo, González *et al.*, (2006) reportaron datos distintos sobre los tiempos previamente expuestos acerca del desarrollo de *S. haemorrhoidalis*. Al

realizar observaciones sobre el crecimiento larval bajo dos criterios experimentales, determinaron un crecimiento gradual de las larvas hasta alcanzar una longitud total de 2.05 cm a las 47 horas, llegando al estadio de pupa a las 64 horas, bajo condiciones denominadas de “exposición del recurso” donde se desarrolló este díptero. Resultados similares se obtuvieron cuando se le dio tratamiento a *S. haemorrhoidalis* utilizando una cubierta de plástico de color negro, reportando oscilaciones de “mayor intensidad” entre las 26 a 37 horas, alcanzando lo que denominaron como condiciones de crecimiento total en 66 horas. Es importante resaltar que durante estas observaciones, los datos acerca de los tiempos del crecimiento larval, no se asociaron con datos ambientales fundamentales para este díptero como son: área geográfica, temperatura, humedad relativa, exposición luz-oscuridad, entre otros factores.

Como se ha mencionado, *S. haemorrhoidalis* es un díptero de distribución mundial asociado con la materia orgánica en descomposición, es un organismo necrófago y elemento fundamental en la sucesión de artrópodos sobre el recurso trófico. Debido a esto, los estudios que se llevan a cabo sobre los efectos que causan las variables ambientales sobre su desarrollo, en su mayoría se han concentrado en el área forense, principalmente en los estadios inmaduros. Para México, a la fecha solo existe el estudio realizado por González *op cit.*, cuyos resultados no están asociados con ningún efecto ambiental que condicione su desarrollo.

De acuerdo con la información previamente vertida, surge la necesidad de ampliar los estudios sobre la biología de *Sarcophaga haemorrhoidalis* con la finalidad de determinar los efectos que producirán las variaciones de temperatura sobre los diferentes estadios de desarrollo larval y el efecto producido en la población de adultos.

Ahora bien, si se asocia la morfología y desarrollo de esta especie y se obtiene el tiempo empleado en el desarrollo de sus fases en diferentes condiciones de temperatura, los resultados obtenidos bajo condiciones controladas de

laboratorio, podrán ser empleados como una referencia bibliográfica confiable, auxiliando investigaciones en áreas como Ecología, Parasitología Humana y Animal, Medicina, Medicina Veterinaria y Entomología Forense.

3. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que tiene la variación de temperatura sobre los tiempos del desarrollo de las larvas, pupas y adultos de *Sarcophaga haemorrhoidalis*, bajo condiciones controladas de laboratorio.

3.1. Objetivos particulares

- Establecer los tiempos de desarrollo larval de *Sarcophaga haemorrhoidalis* del primer al tercer estadio bajo condiciones controladas en los promedios de temperatura de 21°C, 24°C, 27.5°C y 30.5°C.
- Establecer los tiempos de desarrollo de pupa de *Sarcophaga haemorrhoidalis* bajo condiciones controladas en los promedios de temperatura de 21°C, 24°C, 27.5°C y 30.5°C.
- Determinar la densidad poblacional de larvas, pupas y adultos emergentes en cada uno de los tratamientos/promedios de temperatura.
- Determinar la proporción por sexo de *Sarcophaga haemorrhoidalis* en cada uno de los tratamientos/promedios de temperatura.
- Estimar los periodos previos a la ovoposición y/o larviposición de *Sarcophaga haemorrhoidalis* en condiciones controladas en los promedios de temperatura de 21°C, 24°C, 27.5°C y 30.5°C.
- Describir las estructuras morfológicas de los tres estadios de *Sarcophaga haemorrhoidalis*.

4. MATERIALES Y MÉTODO

Se determinaron las variaciones de desarrollo que presentan los distintos estadios de *S. haemorrhoidalis*, observando los efectos que tienen al modificar la temperatura, bajo condiciones controladas de laboratorio.

Por tal motivo, el trabajo se desarrolló en dos fases; la primera de ellas se denominó de campo, donde se recolectaron dípteros de *S. haemorrhoidalis*, en cinco zonas de muestreo del Distrito Federal, quedando conformadas de la siguiente manera:

- Zona Norte (Delegaciones Azcapotzalco y Gustavo A. Madero).
- Zona Sur (Delegaciones Coyoacán, Magdalena Contreras, Tlalpan, Xochimilco y Milpa Alta).
- Zona Oriente (Delegaciones Iztacalco, Iztapalapa y Tláhuac).
- Zona Poniente (Delegaciones Álvaro Obregón, Miguel Hidalgo y Cuajimalpa).
- Zona Centro (Delegaciones Cuauhtémoc, Venustiano Carranza y Benito Juárez) Molina *et al.*, (2006).

En la segunda fase, esta especie se crió bajo condiciones controladas de laboratorio registrando los tiempos de crecimiento en sus distintos estadios.

4.1. Fase de campo

Se realizaron muestreos en cinco zonas ecogeográficas del Distrito Federal realizándose las colectas en las agencias del Ministerio Público de las distintas coordinaciones territoriales de las zonas en que fue dividido el D.F. La recolecta de la especie se llevó a cabo en zonas urbanas, compuestas por conjuntos de oficinas, que se incluyen en las zonas previamente descritas (Figura 1).



Figura 1. Zonas en donde se efectuaron las recolecciones de *S. haemorrhoidalis* (INEGI, 2005).

Para recolectar los dípteros se utilizaron trampas aéreas, elaboradas con contenedores de polietileno transparentes con medidas de 30x15x12 cm, a las cuales se les realizaron aberturas laterales para facilitar la entrada y salida de los adultos asegurando la ovoposición y/o larviposición (Figura 2). Cada trampa, fue identificada con etiquetas de los datos generales de la recolección, ubicación, hora de colocación y retiro, así mismo, se incluyeron etiquetas con señalamientos preventivos y de contingencia. Las trampas se colocaron a una altura mayor de 2 metros sobre el nivel del piso, ubicándolas en espacios abiertos con acceso restringido a personas y animales domésticos. A cada trampa se le colocó una porción de carne de cerdo (*Sus scrofa*) de 350 a 500 g, compuesto de tejido muscular y tejido graso. El sustrato sobre el cual se colocó la carne, fue conformado de dos perfiles, una capa de arena de 2 cm, seguida de una capa de 5 cm de tierra previamente esterilizada.



Figura 2. Trampas aéreas, usadas para la recolección de estadios inmaduro de dípteros.

Fueron colocadas dos trampas en cada zona de muestreo las cuales permanecieron durante cinco días, una vez transcurrido el periodo señalado y habiendo observado la presencia de larvas de dípteros, fueron trasladadas al Bioterio del Laboratorio de Entomología Forense de la Coordinación General de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, institución en donde se llevo a cabo el trabajo de laboratorio.

4.2. Fase de laboratorio

4.2.1. Selección y crecimiento de *Sarcophaga haemorrhoidalis*

Ya en el laboratorio las trampas permanecieron bajo condiciones de temperatura y humedad relativa ambiente, con un fotoperiodo de 12 horas luz artificial y 12 horas oscuridad para completar el desarrollo de las larvas, hasta su estadio de pupa. Se les adicionó constantemente fragmentos de carne de cerdo similar a la empleada en las trampas.

Durante su desarrollo, el cual se llevo a cabo en el bioterio, fueron recolectadas las larvas en tercer estadio y mediante análisis al microscópico, se identificaron por morfoespecie (Stojanovich *et al.*, 1969). Para la observación de los caracteres morfológicos, se sacrificaron diez larvas que se encontraron en tercer estadio y fueron sometidas a la técnica de aclarado con

Hidróxido de Potasio al 10% de acuerdo con la técnica descrita por Palacios y Mejía, (2007), posteriormente se montaron en portaobjetos para su identificación taxonómica (Anexo I).

Una vez identificadas y habiendo alcanzado el estadio de pupa, fueron seleccionadas únicamente las pertenecientes a la especie *S. haemorrhoidalis*, de las cuales diez de ellas se fijaron en solución de alcohol etílico al 70%, realizando las disecciones para observar la maduración hacia el estadio adulto. El resto de las pupas, se colocaron en contenedores de plástico con medidas de 10x15 cm. con un sustrato de aserrín para completar su desarrollo hasta el estadio adulto (Figura 3).

Los contenedores se colocaron en incubación en un rango de temperatura de 29°C a 31°C con un promedio de 30°C y humedad relativa del 40-70% manteniendo el fotoperíodo artificial de 12:12 con una intensidad luminosa de 9 Watts durante la maduración de las pupas (Figura 4).

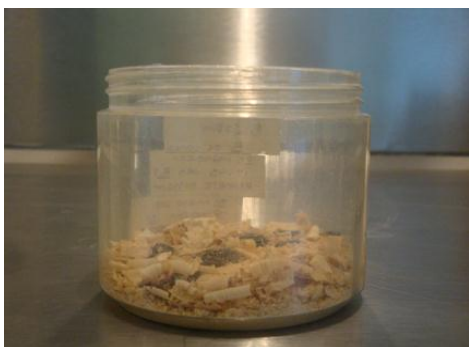


Figura 3. Contenedores para desarrollo de pupa a adulto.

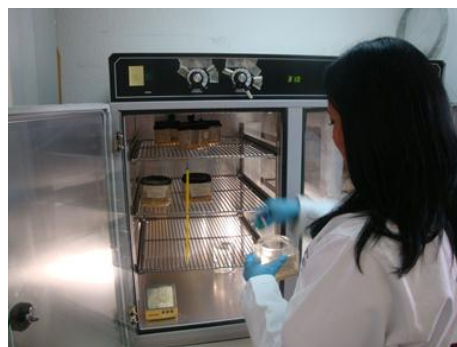


Figura 4. Colocación de los contenedores en la incubadora.

Una vez que todos los adultos emergieron, fueron seleccionados para ser transferidos a cámaras de apareamiento. La cuales consistieron en contenedores de polietileno transparente con medidas de 90x50x40 cm, contando con recipientes y orificios para el suministro de soluciones nutritivas y

agua, cubiertas con malla tipo mosquitero en la parte posterior para permitir el flujo de aire (Figura 5).



Figura 5. Colocación de las cámaras de apareamiento en incubación.

4.2.2. Sexado de adultos

Se realizó la identificación por sexo y cuantificación de los individuos. Para ello, se colocaron los dípteros en recipientes de boca ancha, manteniéndolos en refrigeración durante 10 minutos con la finalidad de disminuir su actividad y facilitar su manipulación. Los criterios para sexar esta especie se basaron en la distancia interocular que muestran los machos y las hembras, la disposición que presentan las sedas así como la valoración de la genitalia tanto en machos como hembras.

La proporción sexual fue estimada utilizando la siguiente fórmula de χ^2 para una proporción hipotética propuesta por Montemayor, (1973).

$$\chi^2 = \frac{(a - kb)^2}{k(a + b)}$$

Dónde:

a= número de machos

b= número de hembras

k= proporción variable 1:1, 2:1 y 3:1

Una vez estimada la proporción sexual, se utilizó la siguiente fórmula de corrección de continuidad, restando al valor absoluto de la diferencia antes de elevarlo al cuadrado:

$$\frac{k + 1}{2}$$

Ya diferenciados por sexo, los dípteros se colocaron en cámaras de apareamiento, en una proporción de 1:3, esto es un macho por cada tres hembras en cada una de las cámaras. Se les suministraron fragmentos de carne de cerdo como fuente de proteína, agua y una mezcla de carbohidratos con proteína (Anexo II). Se observó el comportamiento y actividad sexual, registrando los tiempos de la cópula. Una vez que se efectuaron las primeras cópulas, fueron sustituidos los contenedores anteriores por unos de plástico con medidas de 10x15 cm provistos con una porción de 250 g de carne y vísceras de cerdo para la ovoposición y/o larviposición. Los contenedores que se retiraron se etiquetaron con una clave de diferenciación, fecha y hora de colocación. Estos contenedores se mantuvieron dentro de la cámara de apareamiento hasta visualizar la presencia de huevos y/o larvas sobre el sustrato, estos se retiraron y fueron sustituidos por nuevos una vez realizada la ovoposición y/o larviposición hasta completar un total de cinco repeticiones por cada tratamiento de temperatura.

Para estimar los tiempos de preovoposición y/o prelarviposición se tomó como criterio, el momento en el que emergieron los primeros adultos (tiempo inicial) hasta el momento en el que se observaron las primeras puestas (tiempo final).

4.2.3. Desarrollo de larvas y pupas con variación de temperatura

Los contenedores de plástico que se retiraron de las cámaras de apareamiento, fueron colocados para su desarrollo en una incubadora bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. Se obtuvo la densidad poblacional, considerando la sumatoria total de larvas de cada una de las

repeticiones y se dividió entre el número total de individuos por tratamiento de variación de temperatura.

En tiempos distintos fueron colocadas en la incubadora cinco repeticiones de cada uno de los tratamientos, considerando los tiempos totales en que tardaron en desarrollarse los dípteros bajo las siguientes variaciones de temperatura:

- a) Tratamiento 1: con una temperatura de 21°C y humedad relativa del 50-70%, fotoperiodo 12:12 luz-oscuridad.
- b) Tratamiento 2: con una temperatura de 24°C y humedad relativa del 50-70%, fotoperiodo 12:12 luz-oscuridad.
- c) Tratamiento 3: con una temperatura de 27.5°C y humedad relativa del 50-70%, fotoperiodo 12:12 luz-oscuridad.
- d) Tratamiento 4: con una temperatura de 30.5°C y humedad relativa del 50-70%, fotoperiodo 12:12 luz-oscuridad.

Considerando como tiempo inicial de desarrollo larval, el momento en que se transfirieron a incubación, los recipientes de cada una de las repeticiones que se sometieron a los distintos tratamientos de temperatura. Durante el tiempo que permanecieron bajo incubación, todos los contenedores se cubrieron con malla tipo mosquitero para evitar las ovoposiciones y/o larviposiciones de otros insectos, se les suministro continuamente fragmentos de carne de cerdo para evitar estrés de las larvas por falta de recurso y así evitar sesgos en la determinación del tiempo de transformación hacia el estadio de pupa.

4.2.4. Toma de datos morfológicos de estadios inmaduros

Para realizar las mediciones de las larvas, se tomaron al azar cinco de ellas de cada uno de los tratamientos y se colocaron en cajas de Petri. Estas fueron previamente secadas con papel y ubicadas en canastillas de polietileno para determinar el peso promedio; se empleo una balanza semianalitica (Setra modelo SI-410S). Se dividió el peso total entre el número de larvas pesadas, este procedimiento se realizó en conjunto hasta el momento en que alcanzaron el tercer estadio, a partir del cual fueron pesadas de manera individual registrando los datos. Estos se relacionaron con el desarrollo larval, sin embargo, en el presente trabajo solo se reportan datos de longitud

Una vez pesadas las larvas y con el objeto de precisar la longitud máxima de las mismas, se transfirieron a un vaso de precipitados (250 ml) con agua a una temperatura de 70-80°C, donde se colocaron durante 30 segundos. Se obtuvieron las medidas longitudinales considerando los extremos de la parte anterior hacia la parte posterior de la larva; para obtener las medidas del diámetro, se consideraron las membranas laterales en el cuarto metámero a partir de la región posterior que forman parte de los metámeros abdominales. Para realizar las mediciones se utilizó un vernier (Mitutoyo, 0.01 mm de precisión) complementándose con un micrómetro acoplado a los oculares del microscopio estereoscópico.

El registro de los datos se efectuó cada cuatro horas desde el tiempo inicial en que se colocaron las larvas de los distintos tratamientos en incubación, hasta que alcanzaron el tercer estadio. Cuando se observó que las larvas llegaron al tercer estadio, el registro de datos se realizó cada seis horas, hasta el estadio de pupa.

Se identificaron los distintos estadios de desarrollo en las larvas considerando criterios morfológicos previamente establecidos donde se involucraron el número de *slits*, la diferenciación del cefaloesqueleto y el número de lóbulos de los espiráculos anteriores, con la finalidad de caracterizar los tres estadios larvales (Anexo IV).

Preservación de larvas. Obtenidos todos los datos de las larvas, estas fueron preservadas en solución de Kahle (Anexo III), en frascos con capacidad de 8 ml (Byrd, 2010)

4.2.5. Transferencia de larvas a cámaras de desarrollo

Previo al momento de la migración de las larvas, el contenedor fue transferido al interior de otro recipiente de plástico de color oscuro con medidas aproximadas de 12x10x11 cm, el cual contenía una capa de aserrín de aproximadamente 10 cm. Este recipiente sirvió para el desarrollo del estadio de pupa. Se consideró el inicio del estadio de pupa el momento en que se logró observar que las larvas que migraron se enterraron en el sustrato y no se observó contenido gástrico ni movilidad. La recolección se llevó a cabo cada 24 horas, hasta el momento en que emergieron los primeros adultos.

Preservación de pupas. De cada uno de los tratamientos se tomaron dos pupas al azar las cuales se fijaron en una solución de alcohol etílico al 70%. Se procedió a tomar medidas con un vernier y con un micrómetro acoplado al microscopio estereoscópico. Al igual que en las larvas se registraron los datos de peso y una vez tomados todos los datos, se procedió a realizar la disección de ellas para observar su maduración, asociando la longitud y el color de la misma a su fase de desarrollo.

Durante el periodo de desarrollo larval y de adultos, se registraron los datos de temperatura y humedad tanto del interior de la incubadora como del bioterio utilizando un higrotermómetro digital y cotejando estos datos con los que se obtuvieron de la estación meteorológica de la Escuela Nacional Preparatoria 6 Antonio Caso (ENP6) del Sistema de Monitoreo Ambiental de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM-PEMBU).

4.2.6. Emergencia de adultos

En el momento en que los adultos de *S. haemorrhoidalis* emergieron, se colocaron en recipientes de boca ancha, manteniéndolos en refrigeración durante algunos minutos, esto con la finalidad de disminuir su actividad y facilitar su manipulación para efectuar la diferenciación sexual de acuerdo con la metodología y los criterios previamente descritos.

Una vez sexados los adultos, se transfirieron a cámaras de apareamiento siguiendo el procedimiento inicial, en la proporción de sexos establecida (1:3), un macho por tres hembras para asegurar las cópulas. Se suministraron fragmentos de carne de cerdo, agua y una mezcla de carbohidratos con proteínas (Anexo II).

Se observó el comportamiento y actividad sexual de los adultos, registrando los tiempos promedio de copulación. Una vez que se llevaron a cabo las primeras cópulas, se colocaron dentro de cámaras de apareamiento, las cuales consistieron en contenedores de plástico con las medidas previamente descritas y provistas con una porción de 250 g, de carne y vísceras de cerdo para la ovoposición o larviposición. Estos contenedores se mantuvieron dentro de la cámara de apareamiento hasta que se visualizó la presencia de larvas y/o huevos sobre el sustrato, el cual se sustituyó por uno nuevo.

Preservación de adultos. Los adultos sobrevivientes fueron sacrificados colocándolos en congelación (-20°C) durante 20 minutos y posteriormente fueron montados con alfileres entomológicos siguiendo las técnicas de montaje para adultos (Márquez, 2005).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de realizar el muestreo en las cinco zonas geográficas fue posible identificar dípteros pertenecientes a las familias Calliphoridae, Phoridae y Sarcophagidae, reportando seis especies pertenecientes a la familia Calliphoridae y una especie para cada una de las otras familias (Cuadro 1).

FAMILIA	ESPECIE	TOTALES
Calliphoridae	<i>Calliphora latifrons</i> (Hough)	1,368
	<i>Calliphora vicina</i> (Robineau-Desvoidy)	363
	<i>Lucilia cuprina</i> (Wiedemann)	584
	<i>Lucilia sericata</i> (Meigen)	700
	<i>Cochliomyia macellaria</i> (Fabricius)	644
	<i>Phormia regina</i> (Meigen)	713
Phoridae	<i>Megacelia scalaris</i> (Rondani)	1,064
Sarcophagidae	<i>Sarcophaga haemorrhoidalis</i> (Fallen)	508

Cuadro 1. Especies identificadas en las cinco zonas de muestreo.

Se identificó a *Sarcophaga haemorrhoidalis* en las cinco zonas geográficas, confirmando la distribución de esta especie en el Distrito Federal. Por lo tanto, el muestreo utilizado, fue el adecuado para asegurar la presencia de la especie, la cual sirvió de base para dar inicio a los ciclos de desarrollo y con ello continuidad al estudio efectuado en el laboratorio.

El tiempo obtenido de desarrollo del huevo a adulto para las familias Calliphoridae y Phoridae fue menor al tiempo empleado por *S. haemorrhoidalis*, siendo este de 18 a 20 días, desde el momento en que se colocaron las trampas hasta el momento en que emergieron los primeros adultos.

5.1. Tiempos de desarrollo de *Sarcophaga haemorrhoidalis*

Una vez determinado el momento de larviposición y para establecer los tiempos empleados por la larva y pupa, hasta la emergencia de los primeros individuos, se colocaron en contenedores de plástico bajo condiciones controladas de temperatura y humedad en diferentes tiempos. Se observó una variación significativa en los distintos tratamientos desde el estadio larval hasta el adulto, indicando que *S. haemorrhoidalis*, concluyo su ciclo en el orden descrito en el cuadro 2.

Temperatura	Tiempo promedio de desarrollo.
21°C	521.8 horas
24°C	356.8 horas
27.5°C	384.2 horas
30.5°C	320 horas

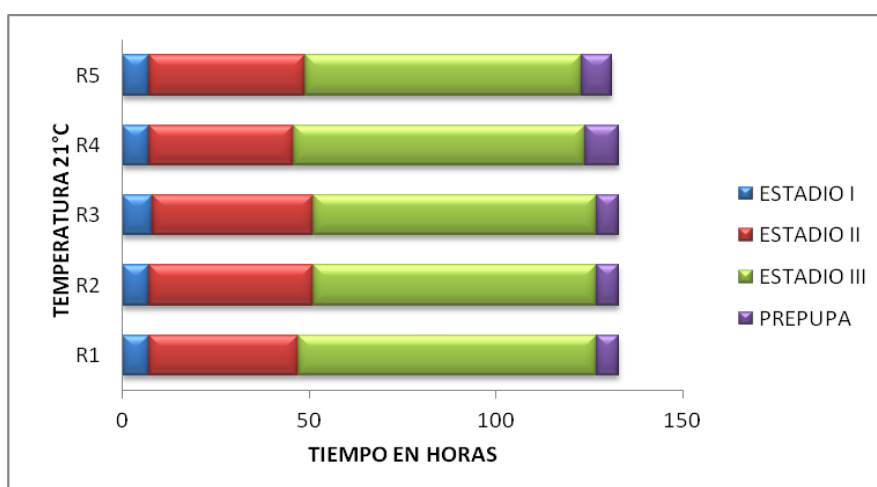
Cuadro 2. Tiempos de desarrollo de *S. haemorrhoidalis* con variaciones de temperatura.

Como muestran los datos, *S. haemorrhoidalis* presentó marcadas diferencias, correspondiendo a la temperatura de 30.5°C, el tratamiento donde se invirtió menor tiempo para concluir su ciclo de desarrollo, en tanto que el tratamiento de 21°C, requirió mayor número de horas para su conclusión. Sin embargo, existieron variaciones en los tiempos empleados durante el desarrollo de los estadios larvales, observándose promedios mínimos de 132.60 horas (5.52 días) cuando los estadios inmaduros fueron criados a 21°C. Así mismo, el promedio máximo empleado para completar la fase larval, correspondió al tratamiento de las larvas criadas a 24°C, con un tiempo de 211.20 horas (8.8 días), datos que se presentan a continuación.

5.2. Análisis del desarrollo a 21°C

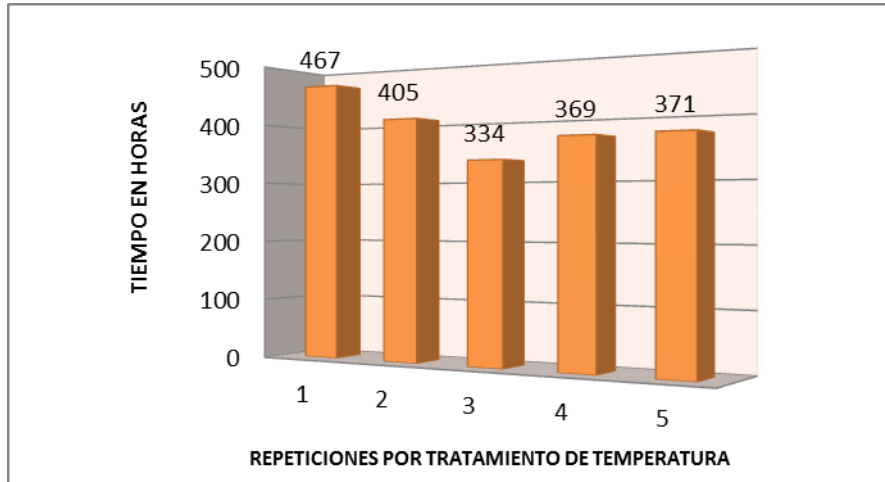
De acuerdo con los resultados de los estadios larvales de *S. haemorrhoidalis* criada a 21°C, mostraron variaciones poco significativas entre si, presentándose estas del estadio II al III y la prepupa. Los tiempos promedio determinados para la finalización de este estadio larval, van de 7.20, 41.60 y 76.80 horas. Para la prepupa se observaron diferencias de 3 horas entre las repeticiones antes de alcanzar el estadio de pupa (Cuadro 3).

Los tiempos totales para completar el estadio larval de esta especie a 21°C, presentaron un promedio de 132.60 horas, con oscilaciones mínimas y máximas de 131 a 133 horas. Este valor representa el menor de los tiempos empleados por *S. haemorrhoidalis* para completar el estadio larval comparado con el resto de las variantes de temperatura (Gráfica 1).



Gráfica 1. Tiempos de desarrollo larval de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 21°C basada en cinco repeticiones.

Una vez determinados los tiempos de desarrollo larval, se establecieron los tiempos de desarrollo de la pupa de *la especie*, mostrando que cuando se somete a 21°C, este estadio utilizó más del doble de tiempo que cuando fue criada a 24°C y 30.5°C cuyos datos se muestran más adelante (Gráfica 2).



Gráfica 2. Tiempos de desarrollo de la pupa de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 21°C basada en cinco repeticiones.

TEMPERATURA 21°C

ESTADIO	Tiempo de desarrollo larval (horas)	Densidad n individuos	% Supervivencia
I	7.20 ± 0.20	246	100
II	41.60 ± 0.92	*	*
III	76.80 ± 0.63	173	70.32
PREPUPA	7.0 ± 0.63	*	*
PUPA	389.20 ± 3.15	136	55.28
ADULTO	521.8 ± 4.62	128	52.03

Cuadro 3. Datos de los tiempos obtenidos del desarrollo de *S. haemorrhoidalis*, densidad y porcentaje de supervivencia. *Datos no reportados para estos estadios.

A esta temperatura, el estadio de pupa empleó un tiempo promedio de 389.20 horas, con una diferencia entre las repeticiones de 133 horas, es decir, desde que emergió el primer imago transcurrieron 5.54 días hasta el último de ellos.

Como se muestra en el cuadro 3, de un total de 246 larvas que fueron larvipostradas el 70.32% completo el estadio larval III, reportándose un porcentaje de viabilidad del 55.28% de pupas y una baja mortalidad de estas, al obtener el 52.03% de adultos y concluir el estadio larval y de pupa en 521.8 horas esto es, en un tiempo de 21.74 días. Del total de los individuos adultos, se obtuvieron 74 hembras y 54 machos en una proporción sexual de 2:1. En cuanto a la prelarvipostración, fue de 214.5 horas en este tratamiento.

Cuando se compararon los datos obtenidos para *S. haemorrhoidalis* a 21°C, con los obtenidos por Byrd y Butler, (1998) en un rango de temperatura de 15.6 a 21.1°C, respecto de los tiempos empleados por el estadio larval, se observó una reducción de 27.4 horas del primero al tercer estadio, es decir, mientras los citados autores indican un tiempo de 160 horas para la finalización del estadio larval, con los datos aquí presentados, esta fase de desarrollo se reduce a 132.60 horas (Cuadro 4).

Sin embargo, para la pupa se ven incrementados los tiempos al reportarse 389.20 horas utilizadas por esta especie, respecto de las 344 horas establecidas por Byrd y Butler *op cit.*, con una diferencia de 45.2 horas entre ambos trabajos (Cuadro 5). Las posibles explicaciones de este fenómeno, se deben principalmente a las condiciones metodológicas propuestas en ambos trabajos, al presentarse oscilaciones térmicas y no tener un control de la temperatura, se ve reflejado en el aumento o disminución del tiempo de desarrollo larval.

Estadios larvales: duración en horas				
	Estadio	Estadio II	Estadio III	Tiempo Total horas
Byrd & Butler, (1998) 21.1°C	12	34	114	160
Larvas D.F., (2012) 21°C	7.20	41.6	83.8	132.6
Byrd & Butler, (1998) 25°C	12	32	112	156
Aspoas, (1991) 25°C	*	*	*	144
Larvas D.F., (2012) 24°C	15.60	23.40	172.2	211.20
Byrd & Butler, (1998) 26.7°C	6	18	86	110
Madubunyi, (1986) 23-28°C	*	*	*	253.68
Larvas D.F., (2012) 27.5°C	1.0	11.0	139.4	151.4
Byrd & Butler, (1998) 32.2°C	6	18	86	110
Larvas D.F., (2012) 30.5°C	1.60	4.80	137.4	143.80

Cuadro 4. Comparación de los tiempos del desarrollo larval de *S. haemorrhoidalis* criada bajo cuatro tratamientos de temperatura con los datos reportados por Byrd y Butler, (1998); Aspoas, (1991) y Madubunyi, (1986). * No hay datos reportados para estos estadios.

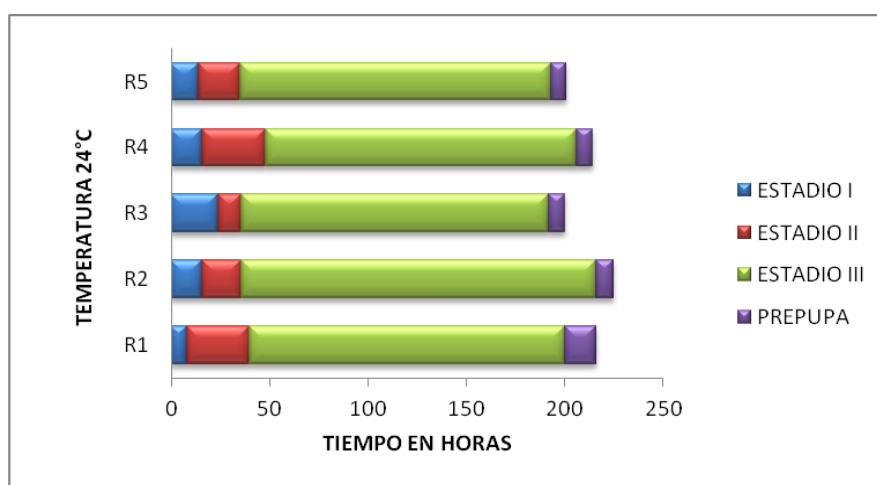
Duración en horas del estadio de Pupa	
Byrd & Butler, (1998) 21.1°C	344
Pupas D.F., (2012) 21°C	389.20
Byrd & Butler, (1998) 25°C	300
Aspoas, (1991) 25°C	295.20
Pupas D.F., (2012) 24°C	145.60
Byrd & Butler, (1998) 26.7°C	142
Madubunyi, (1986) 23-28°C	318.72
Pupas D.F., (2012) 27.5°C	232.8
Byrd & Butler, (1998) 32.2°C	264
Pupas D.F., (2012) 30.5°C	163.60

Cuadro 5. Comparación del tiempo de desarrollo de la pupa de *S. haemorrhoidalis* criada bajo cuatro tratamientos de temperatura con los datos reportados por Byrd y Butler, (1998); Aspoas, (1991) y Madubunyi, (1986).

5.3. Análisis del desarrollo a 24°C

El tiempo para completar el estadio larval de esta especie a 24°C, presentó un promedio de 211.20 horas, con oscilaciones mínimas de 200 y máximas de 225 horas. En este tratamiento de temperatura *S. haemorrhoidalis* empleó el mayor de los tiempos para completar el estadio larval

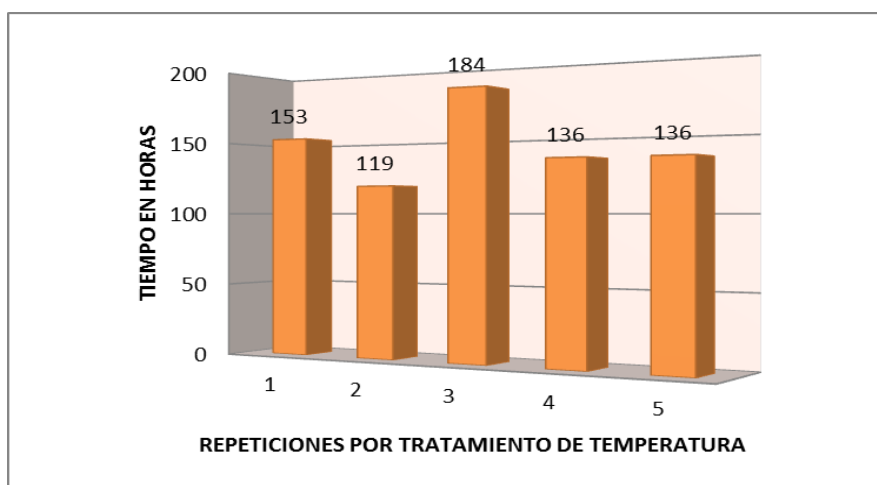
Se determinó una variación de 16 horas entre los valores máximos y mínimos para el desarrollo del primer estadio larval, completando esta fase en un tiempo promedio de 15.6 horas (Gráfica 3). El segundo estadio alcanzó un promedio de 23.4 horas con una variación de 20 horas entre los valores mínimos y máximos. Para el tercer estadio tuvo un promedio de 162.4 horas con una variación de 25 horas entre el dato máximo y el mínimo. Esta temperatura representó el tiempo más largo para el desarrollo larval de *S. haemorrhoidalis*, comparado con los tratamientos llevados a cabo en el presente trabajo.



Gráfica 3. Tiempos de desarrollo larval de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 24°C basada en cinco repeticiones.

Una vez concluido el estadio larval, se establecieron los tiempos de desarrollo de la pupa. A esta temperatura, se empleó un tiempo promedio de 145.60 horas, con una diferencia entre las repeticiones de 65 horas.

Los tiempos que utilizaron las pupas de esta especie, indican una diferencia de 65 horas (2.7 días), para la emergencia del total de los adultos (Gráfica 4). Esta temperatura representó el tiempo más corto para el desarrollo de la pupa, comparado con todos los tratamientos llevados a cabo bajo las condiciones de laboratorio planteadas en este trabajo y a los reportados por Byrd y Butler, (1998) y Aspoas, (1991) quienes señalan promedios de desarrollo de la pupa de 154.4 horas y 149.6 horas respectivamente (Cuadro 5).



Gráfica 4. Tiempos de desarrollo de la pupa de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 24°C basada en cinco repeticiones.

TEMPERATURA 24°C

ESTADIO	Tiempo de desarrollo larval (horas)	Densidad n individuos	% Supervivencia
I	15.60 ± 2.56	262	100
II	23.40 ± 3.84	*	*
III	162.40 ± 4.44	149	59.87
PREPUPA	9.80 ± 1.56	*	*
PUPA	145.60 ± 6.3	135	51.52
ADULTO	356.8 ± 15.47	76	29

Cuadro 6. Datos de los tiempos obtenidos del desarrollo de *S. haemorrhoidalis*, densidad y porcentaje de supervivencia. *Datos no reportados para estos estadios.

Como se reporta en el cuadro 6, se observó que de un total de 262 larvas que fueron larvificadas el 59.87% completó el estadio larval III, reportándose un porcentaje de viabilidad del 51.52% de pupas y una alta mortalidad, al emerger el 29% de adultos. El estadio larval y de pupa se concluyó en 356.8 horas (14.86 días). Del total de los individuos adultos, se obtuvieron 55 hembras y 21 machos en una proporción sexual de 2:1. En cuanto a la prelarvificación, fue de 160 horas para este tratamiento.

La temperatura de 24°C a la que se desarrollaron las larvas de *S. haemorrhoidalis* se encuentra dentro de los rangos de temperatura propuestos por Byrd y Butler, (1998) y Aspoas, (1991). Al efectuar el análisis comparativo del tiempo empleado por esta especie en su desarrollo larval, fue posible determinar algunas diferencias, las principales de ellas indican que el tiempo requerido para concluir el estadio larval es de 156 horas, para el reporte de Byrd y Butler, *op cit.*, en tanto que Aspoas, *op cit.*, indican que se requieren de 144 horas, para concluir este estadio (Cuadro 4).

La diferencia, si se considera el tiempo máximo reportado en este trabajo y los obtenidos por Aspoas, *op cit.*, es de 67.2 horas para el estadio larval, cabe aclarar que en las condiciones de laboratorio reportadas por este autor, existe una variación térmica de $\pm 1^{\circ}\text{C}$ y un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas oscuridad. Por otro lado, existe una diferencia de 55.2 horas con los reportes de Byrd y Butler, *op cit.*, considerando continuidad en la exposición a la luz durante el desarrollo de la especie. Las discrepancias entre los resultados obtenidos por los citados autores y los reportados en el presente trabajo, se explica parcialmente debido a que al someterse a temperaturas constantes, *S. haemorrhoidalis* mantiene constante su crecimiento, en tanto que al presentarse oscilaciones térmicas, tienden a variar sus tiempos de desarrollo en ocasiones acelerándolo.

Estas discrepancias en cuanto a los tiempos totales, para completar el estadio larval de *S. haemorrhoidalis* no es atribuible solamente a la temperatura, ya que existen variables a considerar en el ciclo de vida de algunas especies

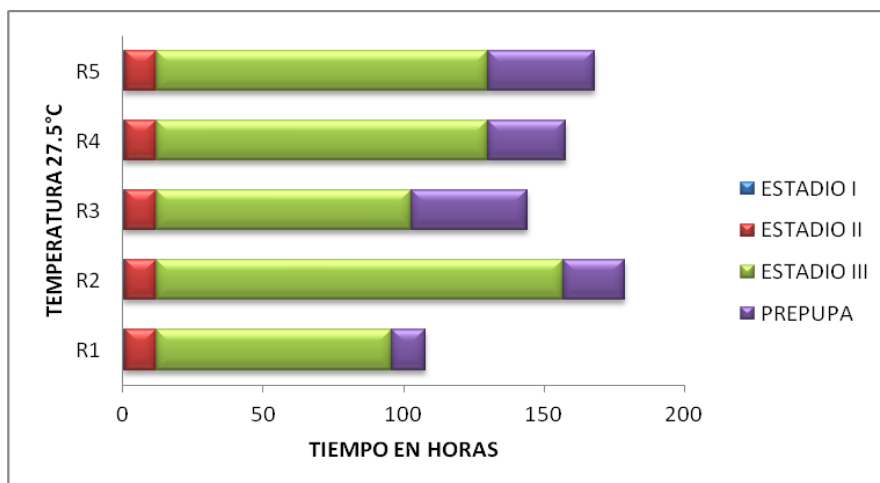
pertenecientes a la familia Sarcophagidae, entre ellas el espacio disponible, la humedad y el suministro de una dieta adecuada (Kamal, 1958).

Una de las probables respuestas del tiempo de desarrollo de *S. haemorrhoidalis* criada a 24°C puede atribuirse al espacio donde fueron criadas las larvas, sin embargo, también se puede dar respuesta atendiendo a las variaciones inter e intra especie que han sido asociadas con mayor frecuencia a la cantidad y calidad del alimento y principalmente a la edad de las hembras al momento de la larviposición (Madubunyi, 1988).

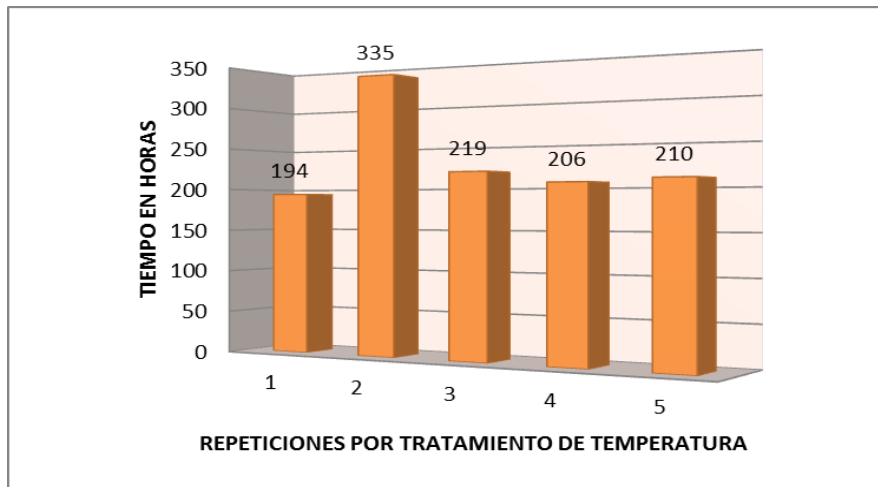
5.4. Análisis del desarrollo a 27.5°C

Se determinaron valores mínimos de 108 horas y máximos de 179 horas, obteniendo un tiempo promedio de desarrollo larval de 151.40 horas (Gráfica 5). Cabe resaltar que en esta temperatura se observó el mayor tiempo que esta especie requiere para concluir el estadio larval.

Los estadios larvales I y II, no exhibieron variaciones, mostrando una sincronización en sus tiempos de desarrollo, en tanto que en el estadio III y prepupa, se determinaron variaciones de hasta 71 horas. Se observó en este tratamiento de temperatura que el estadio de prepupa, se extendió en un tiempo mayor que el resto de los tratamientos, obteniendo un promedio de 28.20 horas.



Gráfica 5. Tiempos de desarrollo larval de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 27.5°C basada en cinco repeticiones.



Gráfica 6. Tiempos de desarrollo de la pupa de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 27.5°C basada en cinco repeticiones.

TEMPERATURA 27.5°C

ESTADIO	Tiempo de desarrollo larval (horas)	Densidad n individuos	% Supervivencia
I	1.0 ± 0.0	270	100
II	11.0 ± 0.0	*	*
III	111.20 ± 10.91	233	86.29
PREPUPA	28.20 ± 5.29	*	*
PUPA	232.8 ± 22.84	216	80
ADULTO	384.2 ± 23.03	128	47.40

Cuadro 7. Datos de los tiempos obtenidos del desarrollo de *S. haemorrhoidalis*, densidad y porcentaje de supervivencia. *Datos no reportados para estos estadios.

El tiempo de desarrollo de las pupas, indican una marcada diferencia, al observarse 141 horas de variación desde que emergió el primero de los adultos hasta el último de ellos. El tiempo promedio requerido de desarrollo fue de 232.8 horas (9.7 días), (Gráfica 6).

A esta temperatura, el estadio de pupa empleó un tiempo promedio de 232.8 horas como se reportó en el cuadro 7, se observó que de un total de 270 larvas que fueron larvositadas el 86.29% completo el estadio larval III, reportándose

un porcentaje de viabilidad del 80% de pupas y una alta mortalidad, al emerger el 47.40% de adultos y concluir el estadio larval y de pupa en 384.2 horas (16 días). Del total de los individuos adultos, se obtuvieron 68 hembras y 60 machos en una proporción sexual de 1:1. En cuanto a la prelarviposición, fue de 190.5 horas.

Al analizar los datos obtenidos por Byrd y Butler, (1998), sobre el desarrollo larval de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 26.7°C se señaló una variación de 53.4 horas comparado con los datos reportados para el Distrito Federal.

Al comparar los tiempos de desarrollo larval, se observaron una serie de diferencias: Byrd y Butler *op cit*, reportaron un tiempo de 110 horas a una temperatura de 26.7°C mientras que Madubunyi, (1986), reportó un tiempo de 253.68 horas para finalizar el estadio larval en el rango de 23-28°C. En el presente trabajo fueron necesarias 151.4 horas para la finalización del estadio larval (Cuadro 4). La diferencia en los tiempos de desarrollo larval para los tratamientos analizados, puede ser explicada por diversos factores, sin embargo, como se mencionó previamente, las variaciones inter e intra especie han sido asociadas con mayor frecuencia a la cantidad y calidad del alimento y principalmente a la edad de las hembras, adicionando el factor espacio, el cual es fundamental para el desarrollo de las masas larvales y longevidad de los adultos (Kamal, 1958).

Una vez obtenido el tiempo promedio, fue comparado con los datos reportados por Byrd y Butler (1998), sobre el desarrollo de las pupas a 26.7°C. Se observó una variación de 90.8 horas entre ambos reportes siendo menor el tiempo empleado en el presente trabajo.

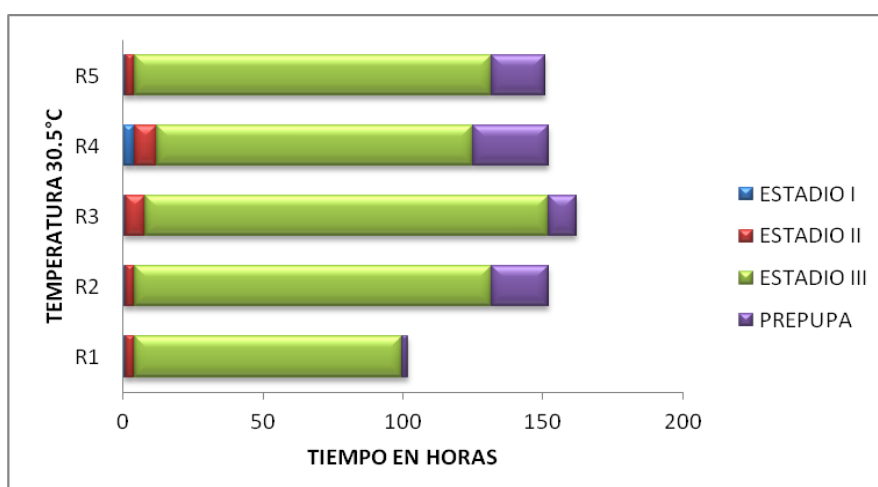
Con respecto a los datos propuestos por Madubunyi, (1988) y comparados con el desarrollo de la pupa en el presente trabajo, se establecen 85.92 horas de diferencia, siendo mayor el tiempo empleado por la pupa de *S. haemorrhoidalis* a 27.5°C. (Cuadro 5).

5.5. Análisis del desarrollo a 30.5°C

Los tiempos totales para completar el estadio larval de esta especie a 30.5°C, presentaron un promedio de 156.4 horas, con oscilaciones mínimas y máximas de 102 a 162 horas.

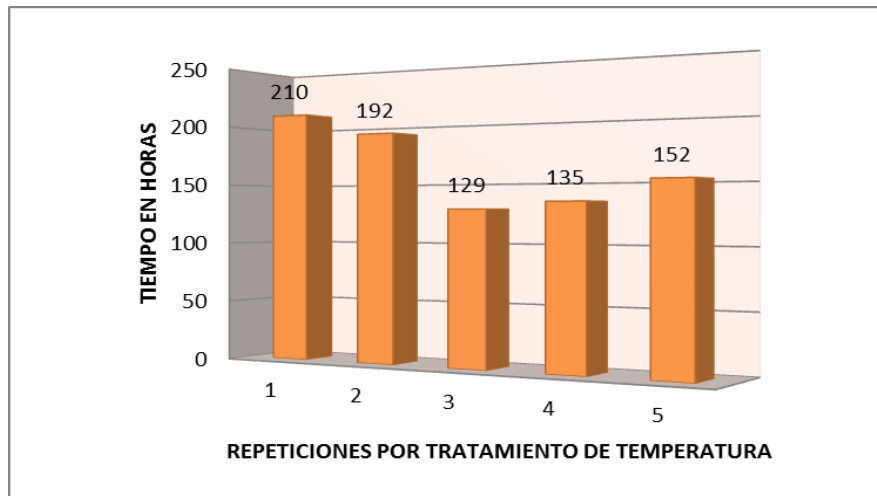
De acuerdo con los resultados de los estadios larvales de *S. haemorrhoidalis* se observaron variaciones principalmente en el estadio III con una diferencia de hasta 56 horas entre el tiempo mínimo y el máximo de desarrollo. Es importante destacar que el tratamiento a 30.5°C fue uno de los que menor tiempo requirió para completar el estadio larval.

En el estadio de prepupa, se observó una variación de hasta 25 horas, considerando que el tiempo mínimo fue de 2 horas y el máximo de 27 horas.



Gráfica 7. Tiempos de desarrollo larval de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 30.5°C basada en cinco repeticiones.

Una vez determinados los tiempos de desarrollo larval, se estableció el tiempo de desarrollo de la pupa mostrando que cuando se sometió a 30.5°C requirió de menor tiempo al igual que a 24°C, para finalizar este estadio.



Gráfica 8. Tiempos de desarrollo de la pupa de *S. haemorrhoidalis* a una temperatura de 30.5°C basada en cinco repeticiones.

TEMPERATURA 30.5°C

ESTADIO	Tiempo de desarrollo larval (horas)	Densidad n individuos	% Supervivencia
I	1.60 ± 0.60	254	100
II	4.80 ± 1.11	*	*
III	121.80 ± 8.10	193	75.98
PREPUPA	28.20 ± 5.29	*	*
PUPA	163.60 ± 12.15	167	65.74
ADULTO	320 ± 20.41	125	49.21

Cuadro 8. Datos de los tiempos obtenidos del desarrollo de *S. haemorrhoidalis*, densidad y porcentaje de supervivencia. *Datos no reportados para estos estadios.

A esta temperatura, el estadio de pupa empleó un tiempo promedio de 163.6 horas (6.81 días), observándose una diferencia de 81 horas desde que emerge el primero de los adultos, hasta que emergió otro adulto en la última de las repeticiones.

Como se reporta en el cuadro 8, de un total de 254 larvas que fueron larvificadas el 75.98% completo el estadio larval III, reportándose un porcentaje de viabilidad del 65.74% de pupas y una baja mortalidad, al emerger

el 49.21% de adultos. Se concluyó el estadio larval y de pupa en 307.4 horas (12.80 días). Del total de los individuos adultos, se obtuvieron 89 hembras y 36 machos en una proporción sexual de 2:1. En cuanto a la prelarviposición, fue de 163.5 horas en este tratamiento de temperatura.

Byrd y Butler, (1998), reportaron para *S. haemorrhoidalis*, que el primero y segundo estadio, requirieron un tiempo mayor que el reportado en este trabajo para el D.F., cabe destacar que para el tercer estadio se marca una diferencia de 51.4 horas, esto es, mientras a una temperatura de 32.2°C se requieren de 86 horas, a 30.5°C son necesarias 137.4 horas para concluir el desarrollo larval.

Haciendo un comparativo del tiempo de desarrollo para el primer y segundo estadio se observó una reducción drástica, comparada con el tercer estadio, incrementándose en más de 51 horas, respecto del tratamiento reportado por Byrd y Butler, *op cit.* Este comportamiento muy probablemente se debió a las fluctuaciones térmicas de hasta 5.5°C, las cuales semejan más las condiciones naturales de desarrollo de la especie.

Se obtuvieron datos sobre el periodo previo a la larviposición el cual tuvo como promedio 163.5 horas. Una vez concluido el estadio larval se observó que de un total de 254 larvas, solo el 65.74% alcanzó el estadio de pupa.

Byrd y Butler, *op cit.* señalan para *S. haemorrhoidalis*, que a una temperatura de 32.2°C el tiempo requerido para completar el estadio de pupa es de 264 horas, existiendo una diferencia de más de 100 horas respecto del promedio reportado en el presente trabajo.

Una vez analizados los tiempos de desarrollo de la pupa de *S. haemorrhoidalis*, fue posible determinar un patrón similar al observado en las fases de prepupa permitiendo establecer que a mayor temperatura, menor fue el tiempo de desarrollo requerido por ambos estadios.

Kamal, (1958), estima que la competencia por el espacio y principalmente por alimentación tiene un efecto significativo reflejado en el tamaño de la pupa y en

el acortamiento del estadio de la prepupa. Al respecto, algunos de los datos presentados en este trabajo pueden ser explicados bajo la perspectiva de una competencia intraespecífica, la cual se manifiesta en el tamaño de las pupas a las cuales se les realizó las mediciones establecidas. También se ve reflejado en la alta mortalidad principalmente en los tratamientos en donde se incrementó la temperatura.

5.6. Descripción de los estadios de larva, pupa y adulto de *Sarcophaga haemorrhoidalis*

Se presenta una breve descripción de la morfología de *S. haemorrhoidalis*, haciendo hincapié en criterios de identificación taxonómica. Para el caso de la larva, esta cuenta con una región cefálica, incluido en ella el cefaloesqueleto. En la parte externa, en el segundo metámero hacia los costados laterales, se observan los espiráculos anteriores con un número variable de 12 a 14 branquias; presentando en el primer segmento, órganos terminales y en este mismo los antenómeros (Figura 6A-D).

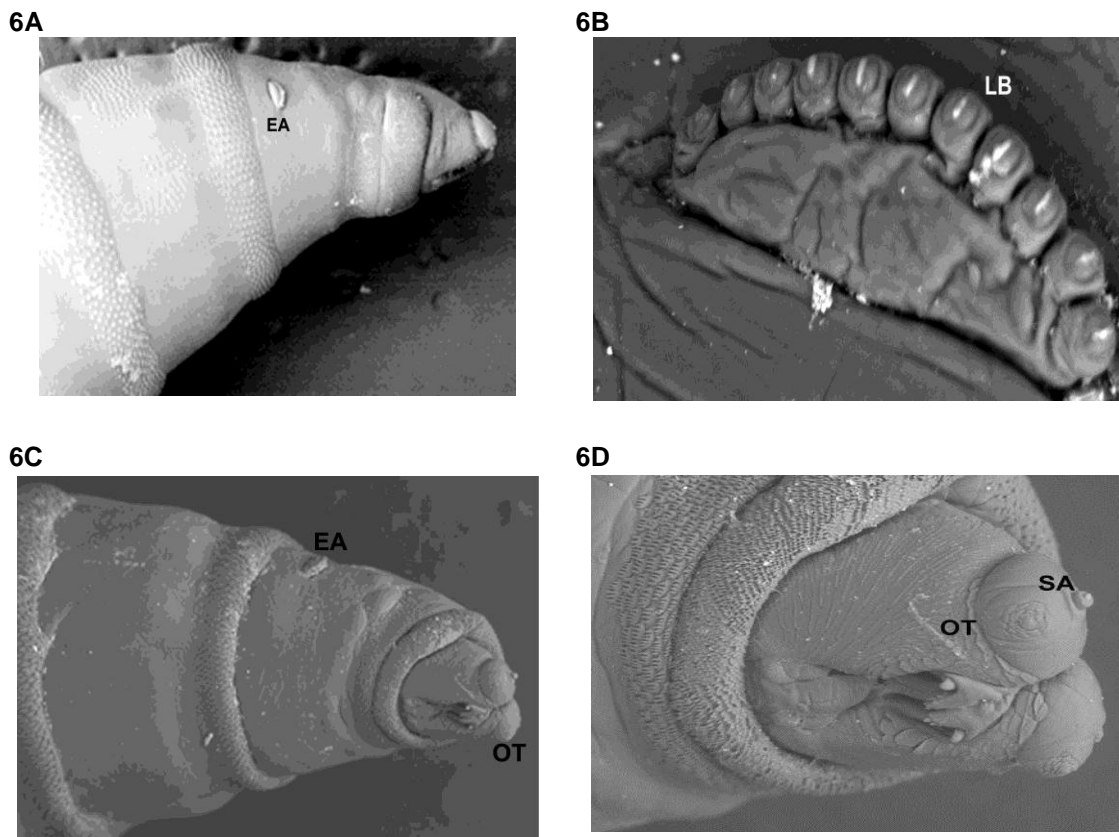
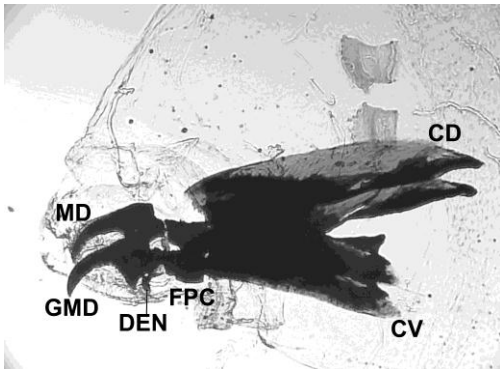


Figura. **6.A)** Vista lateral de la larva de *S. haemorrhoidalis*, tercer estadio de desarrollo (**EA**) espiráculos anteriores. **6.B)** Vista lateral de espiráculos anteriores (**LB**) lóbulos. **6.C)** Vista general del costado de la larva mostrando los espiráculos anteriores (**EA**) y órganos terminales (**OT**). **6.D)** Vista ventral del metámero cefálico mostrando el órgano terminal (**OT**) y el antenómero (**SA**).

El cefaloesqueleto, considerado como la única región esclerotizada y dura de la larva, está compuesto por dos brazos o cuernos. La región dorsal es más larga que la ventral. Hacia la región anterior del cefaloesqueleto se ubican

proyectados hacia el exterior, los dientes o mandíbula unida en su parte posterior el esclerito dental. Articulado entre la mandíbula y esclerito dental, se encuentra el fragma paraclipectal (Figura 7A).

7A



7B

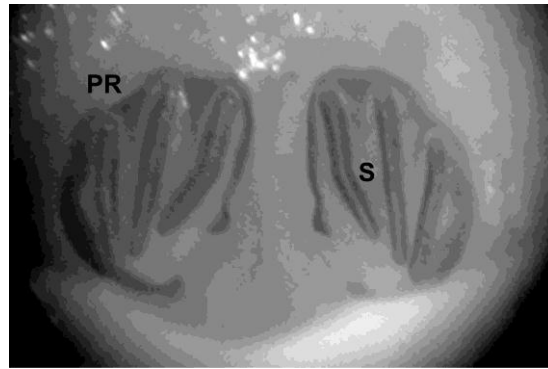


Figura 7.A) Se muestran la mandíbula (**MD**), esclerito dental (**DEN**), fragma para clipectal (**FPC**), cuerno ventral (**CV**) y cuerno dorsal (**CD**). 7.B) Discos espiraculares posteriores mostrando tres aberturas con orientación vertical (*slits* o **S**) y peritrema incompleto (**PR**).

Los espiráculos posteriores se encuentran en una depresión, localizada en el último metámero abdominal; por encima de la cloaca o abertura anal se observa el peritrema incompleto, el cual no tiene botón bien definido, con *slits* dirigidos hacia abajo del peritrema, en forma recta (Figura 7B).

En cuanto a la pupa, se mencionan estructuras como la depresión espiracular con la orientación vertical de los *slits* y se resaltan estructuras como la abertura anal y los tubérculos presentes en el segmento caudal.

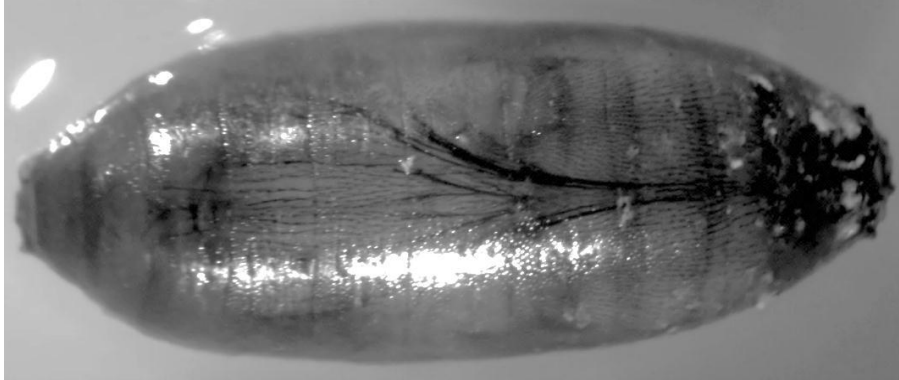
La pupa tiene un color café-rojizo, con una depresión caudal localizada en el eje horizontal. Se observan dos pares de tubérculos por encima de la línea central y una placa donde se localizan los espiráculos con tres *slits*, de color

más claro; en la corona de espinas se aprecian tubérculos ventrales y dorsales los cuales se clasifican en internos, medios y laterales (Figura 8A-D).

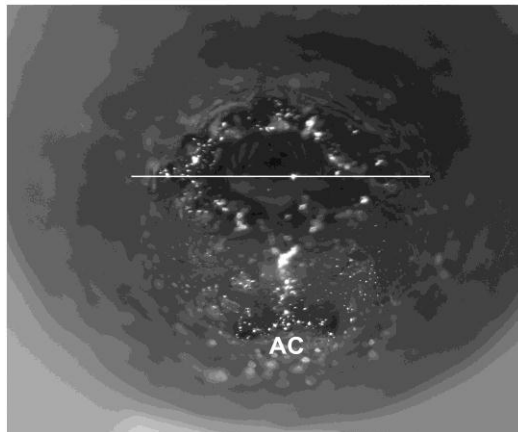
En los adultos se hizo mención de características morfológicas y de quetotaxia que permitieron determinar el sexo de la especie, destacando las sedas parafaciales, distancia interocular entre machos y hembras y el acrófalo, *epandrium* y esternitos terminales que determinan el sexo en el macho.

Se muestra la distancia inter ocular que presentan las hembras siendo mayor esta respecto de los machos. En cuanto a la genitalia del macho se observa el acrófalo, *epandrium*, sintergosternito y el *cercus*, en tanto que para la hembra: se observan los tergitos seis a ocho y los gonoporos (9A-C).

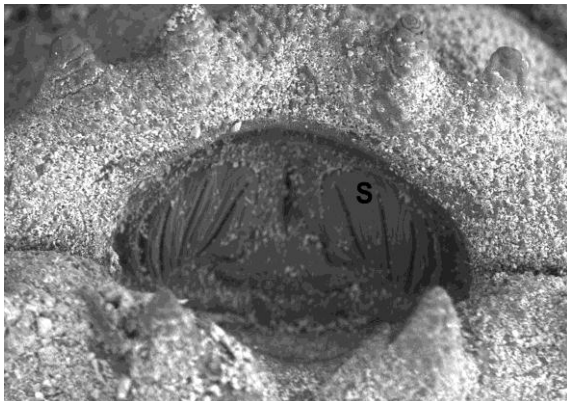
8A



8B



8C



8D

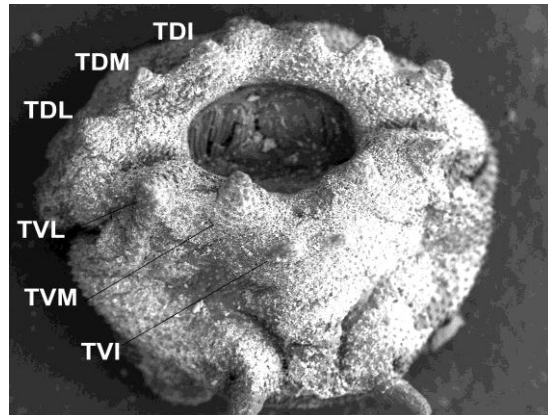
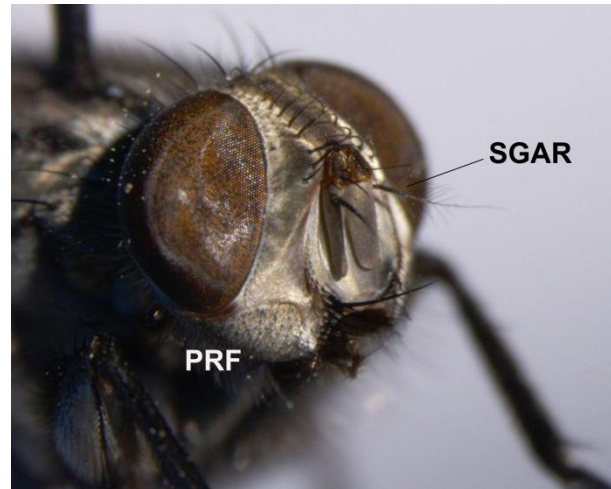


Figura. **8.A)** Vista ventral de la pupa de *S. haemorrhoidalis* donde se aprecia el imago formado y a punto de emerger. **8.B)** Vista posterior del metámero caudal mostrando la disposición circular de la depresión espiracular, localizada centralmente sobre el eje horizontal y se distingue la abertura anal (**AC**). **8.C)** Vista posterior, se observa la depresión espiracular, mostrando tres aberturas (slits o **S**) con orientación vertical. **8.D)** Metámero caudal donde se observan los procesos, tubérculos dorsales y ventrales: tubérculo dorsal interno (**TDI**), tubérculo dorsal medio (**TDM**), tubérculo dorsal lateral (**TDL**), tubérculo ventral interno (**TVI**), tubérculo ventral medio (**TVM**) y tubérculo ventral lateral (**TVL**).

9A



9B



9C

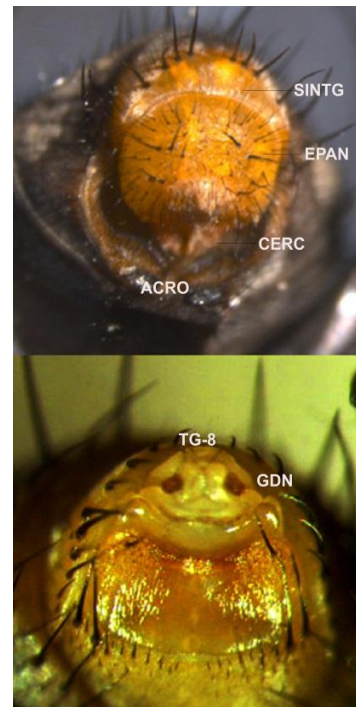


Figura 9.A) Vista frontal de la cabeza de la hembra de *S. haemorrhoidalis*, donde se observan las sedas parafaciales (*PRF*), segmentos antenales y arista (*SGAR*).9.B) Diferencia entre la distancia inter ocular que presentan machos y hembras.9.C) Vista posterior de genitalia de macho: se observa el acrófalo (*ACRO*), epandrium (*EPAN*), sintergosternito (*SINTG*) y el cercus (*CERC*). Hembra: se observan los tergitos seis a ocho (*TG8*) y los gonoporos (*GDN*).

6. CONCLUSIONES



Se determinó el efecto que tiene la temperatura sobre los tiempos del desarrollo de larvas, pupas y adultos de *Sarcophaga haemorrhoidalis*, estableciendo de manera general que al incrementarse la temperatura, esta especie requirió de menor tiempo para concluir su ciclo de desarrollo. El tiempo mínimo y máximo empleado por esta especie fue de 307.4 a 521.8 horas.



Los patrones de crecimiento observados durante el estadio larval indicaron una disminución de los tiempos de desarrollo cuando se incrementa la temperatura, sin embargo, no es posible establecerlo como una tendencia en el estadio larval, pudiendo explicar este fenómeno por la presencia de oscilaciones térmicas.



Se observó un patrón general del desarrollo de pupa que indicó que a mayor temperatura, esta especie utiliza menos tiempo para concluir este estadio. La variación del tiempo de desarrollo a 24°C puede ser explicada en términos de longevidad de los adultos. Los rangos del desarrollo de la pupa oscilan entre 145.6 a 389.2 horas.



No se observaron patrones que relacionen los resultados obtenidos de densidad poblacional con respecto a la temperatura. Se determinó una mortalidad baja en la transición del estadio de larva a pupa en un rango de 70-86%, y una mortalidad alta en un rango de 47-52% en la transición de pupa a adulto.



Se determinó una proporción sexual de 2:1, es decir dos hembras por cada macho cuando fueron criadas a 21°C, 24°C y 30.5°C; en tanto que la proporción sexual fue 1:1 cuando se criaron a 27.5°C.



S. haemorrhoidalis se reporta bajo las condiciones metodológicas del presente trabajo, como especie larvípara. Se establece un periodo previo de larviposición en un rango de 160 a 214.50 horas.



Se establece de manera general que el ciclo de vida de *S. haemorrhoidalis*, el cual incluye la maduración sexual de adultos, periodo de prelarviposición, desarrollo larval y desarrollo de la pupa hasta la fase adulta, concluye en el siguiente orden:



A 21°C: 737 horas.



A 24°C: 516.4 horas.



A 27.5°C: 574 horas.



A 30.5°C: 470.6 horas.



Se identificaron y describieron las estructuras morfológicas de los estadios de la larva, pupa y adulto de *S. haemorrhoidalis*, las cuales se utilizaron para identificación taxonómica y determinación de sexo.



Los tiempos de desarrollo de *S. haemorrhoidalis* obtenidos en el presente trabajo presentan diferencias con los reportados por otros autores, los cuales pueden ser explicados por condiciones de variación de temperatura, fotoperiodo, variación intraespecie y modificaciones en la dieta.



Los datos obtenidos en este trabajo, se constituyen como los primeros reportados para el díptero *S. haemorrhoidalis* bajo condiciones sistematizadas de laboratorio para el Distrito Federal. Esta información servirá de referencia para trabajos posteriores en Ecología, Parasitología Humana y Animal, Medicina, Medicina Veterinaria y con especial referencia en la Entomología Forense auxiliando en la determinación del Intervalo Post Mortem.

7. SUGERENCIAS

Se sugiere como complemento de este trabajo, hacer variaciones en la dieta de los adultos, sustituyendo carbohidratos, proteínas y agua de forma sistemática para observar el efecto sobre la fecundidad o producción de larvas.

De igual forma se propone hacer modificación en las cámaras de desarrollo, donde se críen los adultos, ampliando las dimensiones de estas con la finalidad de observar si hay variaciones en cuanto a la fecundidad, periodos de copulación y larviposición así como la longevidad de los adultos. Así mismo se propone que se amplíen las dimensiones de los contenedores larvales, para determinar si existen diferencias en los tiempos de desarrollo; junto con esta modificación, se propone cambiar el sustrato o alternar los sustratos, para verificar si hay variaciones en los tiempos de desarrollo y en tamaño de las larvas.

Y con la finalidad de establecer con precisión el umbral máximo de desarrollo de *Sarcophaga haemorrhoidalis* se requiere ampliar el rango de temperatura mayor a lo propuesto, así como considerar temperaturas inferiores a las trabajadas en el presente reporte, con el objetivo de obtener datos de desarrollo de sus estadios inmaduros y longevidad de los adultos.

Finalmente se sugiere seleccionar individuos de un solo sexo para confirmar si manteniéndolos aislados reproductivamente pueden incrementar su longevidad como adultos.

9. LITERATURA CITADA

- Aldrich, J. M. 1916. *Sarcophaga* and Allies in North America. En: The Thomas Say Foundation of the Entomological Society of America. La Fayette, Indiana. 189-193.
- Amorim, D. S., Papavero, N. 2008. A journal for the systematics and biogeography of Neotropical Diptera, 250 years after the publication of the tenth edition of the *Systema Nature*. *Neotropical Diptera*. 1: 1-5.
- Anderson, G.S. y Cervenka, V. J. 2002. Insects Associated with the body: Their use and Analysis. **En:** Haglund W.D y Sorg N.H. Edit. *Advances in Forensic Taphonomy: Method Theory and Archaeological Perspectives*. CRC Press. U.S.A. 173-200 pp.
- Aspoas, B.R. 1991. Comparative micromorphology of third instar larvae and the breeding biology of some Afrotropical *Sarcophaga* (Diptera: Sarcophagidae) *Medical and Veterinary Entomology* 5:437- 445.
- Barnes, R. D. 1989. *Zoología de los Invertebrados*. ed. 5^a. Ed. Interamericana, México. 957 pp.
- Brown, B. V. 2005. Malaise trap catches and the crisis in Neopropical Dipterology. *American Entomology*. 51(3) 180-183.
- Byrd, H.J. 2010. Laboratory rearing of Forensic Insects. **En:** Byrd, J.H y Castner, J.L. Edit. *Forensic Entomology. The utility of Arthropods in Legal Investigations*. ed. 2^a. CRC Press U.S.A. 121-142 pp.
- Byrd, H.J. y Butler, F.J. 1998. Effects of Temperature on *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Diptera: Sarcophagidae) Development. *Journal of Medical Entomology*. 35(5): 694-698.
- Byrd, H.J. y Castner, J.L. 2010. Insects of Forensic Importance. **En:** Byrd, J.H y Castner, J.L. Edit. *Forensic Entomology. The utility of Arthropods in Legal Investigations*. ed. 2^a. CRC Press U.S.A. 39-126 p.
- Castillo, M. M. 2001. Artrópodos presentes en carroña de cerdos en la comarca de La Litera (Huesca). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 28: 133-140.
- http://www.sea-entomologia.org/PDF/BOLETIN_28/B28-036-133.pdf
(Consultado: 18 de noviembre de 2011).

- Castner, J. L. 2010. General Entomology and Insect Biology **En:** Byrd, J.H y Castner, J.L., Edit. Forensic Entomology The utility of Arthropods in Legal Investigations. Segunda edicion. CRC Press U.S.A. 17-38 pp.
- Cantrell, B. K. 1981. The immature stages of some Australian Sarcophaginae (Diptera: Sarcophagidae). Journal Australian Entomology Society. 20: 237-248.
- González, G. I., Rodríguez, C. A., Quiroz, M. H. 2006. Observaciones sobre el crecimiento de *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Fallen) (Diptera: Sarcophagidae), insecto de importancia forense. Entomología Mexicana, 2006. 5(1):387-390.
- Greene, T.Ch. 1925. The puparia and larvae of Sarcophagid flies. Proceedings of the U.S. National Museum. 66(29): 1-33.
- Hall, D. R., y Huntington, T. E. 2010. Perceptions and Status of Forensic Entomology. **En:** Byrd, J.H., y Castner, J.L. Edit. Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. Segunda edición. CRC Press U.S.A. 1-16 pp.
- Haskell, H. N., Hall, D. R., Cervenka, J. V. y Clark, A. M. 1996. On the body: Insects' life stage presence and their postmortem artifacts. **En:** Haqglund, D. W., and Sorg, H. M., Eds. Forensic Taphonomy: The postmortem fate of human remains. CRC Press. Florida U.S.A. Pags. 415-448 pp.
- Higley, L.G., y Haskell, N.H. 2001. Insect Development and Forensic Entomology. **En:** Byrd, J.H., y Castner, J.L. Eds. Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. Segunda edición. CRC Press U.S.A. 287-302 pp.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2005. Mapa división delegacional
http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/entidades/div_municipal/dfdeleg.pdf. (Consultado: 22 de Octubre de 2011).

- INEGI, Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2005. Mapa de relieves.
http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/entidades/relieve/dfrel_col.pdf
(Consultado: 22 de Octubre de 2011).
- James, T.M. 1947. The flies that cause myiasis in man. United States Department of Agriculture. Miscellaneous publication No. 631. Washington, D. C.
- Kamal, A. S. 1958. Comparative study of thirteen species of Sarcosaprophagous Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) I. Bionomic. *Annals Entomological Society of America*. 51:261-271.
- Madubunyi, L.C. 1986. Laboratory life history parameters of the red-tailed flesh fly, *Sarcophaga haemorrhoidalis*(Fallen) (Diptera: *Sarcophagidae*). *Insect Science Application*. 7 (5): 617-621.
- Magaña, L. C. 1999. *Sarcophaga haemorrhoidalis*. *Revista española de medicina Legal*. 23:86-87.
<http://www.anmf-reml.es/resources/8687.html#anchor178505> (Consultado: 21 de Octubre de 2011).
- Magaña, L.C. 2001. La Entomología Forense y su aplicación a la medicina legal. Data de la muerte. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 23: 49-57.
http://www.sea-entomologia.org/PDF/BOLETIN_28/B28-004-049.pdf
(Consultado: 21 de Octubre de 2011).
- Márquez, L.J. 2005. Técnicas de colecta y preservación de insectos. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*. Num.37 385-408.
http://www.uaeh.edu.mx/sistema_investigacion/funciones/bajarArchivo_web.php?producto=4107&archivo=Teccollectpres05.pdf (Consultado: 18 de noviembre de 2011).
- Martínez, S.A., Rojo, S., y Marcos, G.M.A. 2000. Sarcófagos necrófagos y coprófagos asociados a un agroecosistema de Dehesa (Díptera, *Sarcophagidae*). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*. 24(3-4):171-185.
<http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/12306/1/Sarcophagidae-dehesas-red.pdf> (Consultado: 24 de Octubre de 2011).

- Mavárez, C. M. G., Espina de Fereira, A., Barrios, F. A., y Fereira, P. J. L. 2005. La Entomología Forense y el Neotrópico. Cuadernos de Medicina Forense. 11 (39): 23-33.
- Molina, Ch. H., Luy, Q. J., Nava, H.M., y Galindo, M.N. 2006. Datos preliminares de la captura de dípteros relacionados con el proceso de descomposición cadavérica en la Cd. de México. Entomología Mexicana. 5 (2):925-930.
- Montemayor, G. F. 1973. Fórmulas de Estadística para Investigadores. Colección Científica Manuales. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México Distrito Federal. 416 pp.
- Mulieri, P.R., Mariluis, J.C., y Patitucci, L.D. 2010. Review of the Sarcophaginae (Diptera: Sarcophagidae) of Buenos Aires province (Argentina), with key and description of a new species. Zootaxa. 2575: 1-37 <http://www.mapress.com/zootaxa/2010/f/z02575p037f.pdf> (Consultado: 7 de noviembre de 2011).
- Palacios, V. J., y Mejía, R. B. 2007. Técnicas de colecta montaje y preservación de microartrópodos edáficos. Ed. UNAM. México 75 pp.
- Romera, E., Arnaldos, M., García, M., y González-Mora, D. 2003. Los Sarcophagidae (Insecta, Diptera) de un ecosistema cadavérico en el sureste de la Península Ibérica. Anales de Biología. 25: 49-63. <http://www.um.es/analesdebiologia/numeros/25/PDF/06-LOS%20SARCOPHAGIDAE.pdf> (Consultado: 18 de noviembre de 2011).
- Soler, C.M. 2000. El estudio de las miasis en España durante los últimos cien años. Ars. Pharmaceutica. 41(1): 19-26. <http://farmacia.ugr.es/ars/articulo.php?178> (Consultado: 18 de noviembre de 2011).
- Stojanovich, C.J., Pratt, H.D., y Bennington, E.E.1969. Fly larvae. Key to some species of public health importance. **En:** U.S. Department of health, education, and welfare. Eds. Pictorial keys to arthropods, reptiles, birds and mammals of public health significance. Public Health Service Publication. No 155. Washington, U.S.A. 125-133 pp.

ANEXO I

Técnica de aclarado y montaje: modificada de Palacios y Mejía 2007.

Aclarado

Después de la extracción de los ejemplares fijados en alcohol al 70%, se siguen los pasos que se dan a continuación (dichos pasos pueden variar dependiendo del grupo particular que se va a montar entre portaobjetos y cubreobjetos)

1. En un tubo de 6 ml conteniendo una solución de Hidróxido de Potasio al 10% (KOH), se colocan las larvas de dípteros que se van a aclarar. Los tiempos para aclararlas dependerán del estado de desarrollo y de la visualización del contenido gástrico que presenten al momento de su inclusión en la solución. De esta manera, se dejaron de 6 a 8 horas en la solución las larvas que estén en un estadio I, en tanto que para las larvas de estadios II y III los tiempos variarán desde 8 hasta 24 horas de inclusión en la solución antes de proceder con el siguiente paso.
2. Una vez que se observe que las larvas comienzan a tomar una coloración rojiza en la región anterior del tracto digestivo (buche) o tornarse transparente a lo largo de la larva, se retira de la solución aclaradora.
3. La larva aclarada se coloca en una caja Petri y con ayuda de unas pinzas de disección y bulbos de plástico se enjuagan las larvas con abundante agua destilada para eliminar el exceso de KOH.
4. Utilizando alcohol etílico al 70 y 80%, se enjuagan las larvas para eliminar el excedente de KOH.
5. Una vez enjuagada la larva se coloca en un portaobjetos y con ayuda del microscopio estereoscópico y bisturí se realizaron cortes en la región ventral de la larva al nivel del segundo y octavo metámero.
6. La larva se transfiere a una caja Petri y utilizando agujas de disección y microjeringas se extrae el contenido gástrico y el tejido interno de la larva; se enjuaga con abundante agua destilada hasta extraer todo contenido interno de la misma.

7. Una vez que la larva esté libre de tejido, principalmente la región que conforma el cefaloesqueleto y que no estén adheridas las tráqueas a los espiráculos, se enjuaga con abundante agua destilada.
8. Se transfiere la larva a un portaobjetos limpio y se coloca un cubreobjetos sobre la larva aclarada.
9. Colocar la preparación en un termo bloque a una temperatura de 40-45°C durante una hora o bien a temperatura ambiente durante 24 horas con la finalidad de eliminar el agua (deshidratación). Nota: no retirar el cubreobjetos durante el proceso de deshidratación para evitar que la larva se contraiga.

Montaje

La preparación puede utilizarse para ser montada de manera permanente en Bálsamo de Canadá o líquido de Hoyer. Hoy en día el Bálsamo de Canadá se ha dejado de utilizar debido al costo del mismo y a la utilidad que otros medios de montaje brindan para el tratamiento de las muestras. En el caso del líquido de Hoyer se debe tener cuidado en secar bien la preparación, debido a que es un reactivo hidrófilo y por lo tanto tiende a absorber el agua de la atmósfera. Otro método de montaje de muestras permanentes lo constituye el uso de la resina de DMHF (2, 5 dimetil-4hidroxi-3(2H) furanona), una de las ventajas de este método es que no se necesita deshidratar a los ejemplares, sin embargo, es fácil dejar burbujas si no se tiene cuidado.

Una vez que la larva este aclarada y deshidratada, se procede a hacer el montaje, como se describe a continuación:

1. Se retira el cubreobjetos de la larva con ayuda de unas pinzas ya que la larva se puede romper debido a que se encuentra totalmente deshidratada.
2. Una vez retirado el cubreobjetos se le agregara con un bulbo una gota de xilol en el centro de la larva con la ayuda de agujas de disección se acomoda en posición lateral.
3. Una vez acomodada en posición lateral y con ayuda de una microjeringa y observando al microscopio estereoscópico, se acomoda

de manera que se puedan observar los espiráculos posteriores, los espiráculos protorácicos y el cefaloesqueleto. Nota: este procedimiento debe realizarse lo más rápido posible para evitar que el xilol deshidrate y endurezca el cefaloesqueleto.

4. Se agrega una gota de resina sintética en el centro de la larva a una distancia relativamente baja con el fin de evitar la formación de burbujas.
5. Una vez que se le ha colocado la resina sobre la larva con ayuda de microjeringas y agujas de disección se retiran las burbujas que se hayan formado antes de colocar el cubreobjetos.
6. Se toma un cubreobjetos con el cual se cubrirá la preparación y sin hacer presión se deja deslizar en un ángulo de inclinación de 30° suavemente sobre la larva.
7. Se coloca la laminilla en un termobloque durante 24 horas a una temperatura de 40-50°C para que seque.
8. Una vez que ha secado se retira del termobloque y se limpia la preparación con algodón húmedo y finalmente se sella con barniz transparente cada uno de los bordes de la laminilla.
9. Se rotulará con los datos de especie, hora de colecta, colector y se almacenará.

ANEXO II

Medios nutritivos para dípteros (adultos) Byrd, (2010).

Se conoce que un medio nutritivo debe contener por lo menos Carbohidratos Proteína y un complemento de agua que asegure una dieta para un máximo de longevidad en los dípteros. Por sí solo, cada uno de estos elementos arroja resultados distintos de longevidad en tanto que su combinación asegura una longevidad mayor en los adultos y en el caso de la familia Sarcophagidae. Aun cuando se ha establecido que algunas especies de esta familia no requieren de proteína para lograr su maduración sexual, los siguientes medios nutritivos aseguran la longevidad y favorece la maduración:

Carbohidratos-Proteínas: combinar 100 g, de leche entera en polvo, 50 g, de azúcar y una pieza de huevo. Secar la preparación en un horno y triturar hasta obtener una consistencia homogénea. Almacenar en un frasco ámbar.

Agua-Carbohidratos: combinar 100 ml. de agua con 25 g, de azúcar.

ANEXO III

Solución de Kahle Byrd, (2010).

Este es otro medio muy común que puede ser usado para guardar muestras de insectos en laboratorios forenses. Esta solución puede ser usada para sacrificar y preservar insectos adultos y también para preservar muestras de larvas. Si bien se puede combinar con el empleo de la solución KAAD, de esta última es poco común su uso.

Preparación:

Alcohol etílico al 95%.....	30 ml
Formol.....	12 ml
Ácido Acético Glacial.....	4 ml
Agua.....	60 ml

ANEXO IV

Criterios para la determinación de las fases de desarrollo de estados inmaduros de *Sarcophaga haemorrhoidalis*

Primer estadio: Se trata de larvas de tipo vermiforme sin procesos laterales, con medidas longitudinales de 2-3 mm, la coloración varía del blanco al beige claro presentan un tagma anterior y uno posterior conformado por doce metámeros, de los cuales los tres primeros corresponden a los torácicos y el resto a los abdominales. Presenta una cavidad cercana a la porción media del metamero caudal, donde se encuentran los espiráculos posteriores presentando el peritrema incompleto y esclerosado. Cada espiráculo caudal presenta uno o dos *slits* verticales dirigidos hacia abajo y sin presencia de botón, los espiráculos anteriores, se encuentran en diferenciación, distinguiéndose más de ocho papilas o lóbulos.

Segundo estadio: La larva ha alcanzado una medida longitudinal de 4-6 mm. En este estadio la larva presenta dos *slits* en los espiráculos posteriores; en cuanto a los espiráculos anteriores se encuentran más diferenciados al igual que el esclerito mandibular, este último es de tamaño medio y están dirigido hacia el frente, en forma recta y no curva como en otras especies, la base de este esclerito es pequeña y se articula al cefaloesqueleto. La transición del primer al segundo estadio, se pone de manifiesto con la muda de la cutícula por una más elástica, la coloración es de una tonalidad beige claro debido a que la larva ya cuenta con contenido gástrico.

Tercer estadio: La larva ha alcanzado una medida longitudinal de hasta 22 mm. En esta fase la larva muda la cutícula del exoesqueleto; presenta tres *slits* en los espiráculos posteriores; los espiráculos anteriores más anchos que altos, se encuentran bien diferenciados observándose de 12 a 14 papilas por espiráculo. Los escleritos mandibulares se encuentran totalmente diferenciados. Se alcanza a observar la apertura anal la cual está localizada a corta distancia de la cavidad.