



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**DÍPTEROS DE INTERÉS FORENSE, ASOCIADOS A
CADÁVERES DE CERDOS (*Sus scrofa* L.): SU
IDENTIFICACIÓN, DINÁMICA DE COLONIZACIÓN Y
CARACTERIZACIÓN DE SUS HIDROCARBUROS
CUTICULARES**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Bachiller Maryeling V. Grau G.

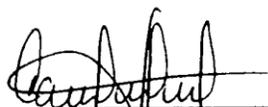
Tutor 1: Prof. José V. Hernández. Laboratorio de Ecología y Química del Comportamiento. Departamento de Biología de Organismos. USB

Tutor 2: Prof. Rubén Candia. Laboratorio de Invertebrados, Ecología de Insectos, Centro Museo de Biología de la UCV. Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Facultad de Ciencias. UCV.

OCTUBRE 2014

CARACAS, VENEZUELA

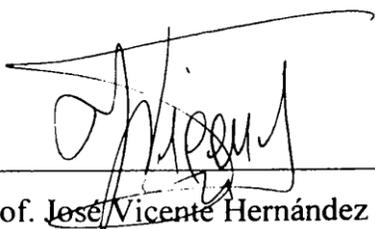
Los abajo firmantes, asignados por la Universidad Central de Venezuela como integrantes del jurado evaluador del Trabajo Especial de Grado titulado: **“Dípteros de interés forense asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.): su identificación, dinámica de colonización y caracterización de sus hidrocarburos cuticulares”**, presentado por la Br. Maryeling Virginia Grau Gómez, testifican que el mismo fue presentado y aprobado en discusión pública efectuada en la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela el día 31 de Octubre de 2014, certificando que el mismo cumple con los requisitos exigidos por esta Magna Casa de Estudios para optar al título de Licenciado en Biología.



Dra. Carmen Virginia Liendo
(Jurado)



M. Sc. Arianna Thomas
(Jurado)



Prof. José Vicente Hernández
(Tutor)



Prof. Rubén Candia
(Tutor)

DEDICATORIA

A mis padres,

Virginia Gómez de Grau y José Luis Grau

Al siempre recordado, profesor;

Hermes Piñango

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría estas líneas sirvieran para expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que con su apoyo han colaborado en la realización del presente trabajo.

Principalmente a mis padres quienes me han brindado su apoyo incondicional, por creer en mí, por animarme a esforzarme día a día en lograr mis metas. Enseñándome a lo largo de la vida que para lograr las cosas se requiere de impulso y dedicación, a quienes les agradezco por todo lo aprendido, por la paciencia y tolerancia en mis momentos más difíciles. Son un ejemplo de lucha, constancia y perseverancia. Me siento honrada de ser parte de ustedes. Los amo con el alma.

A mis hermanas Maryory y Mayling, de quienes aprendo diariamente, la palabra “lucha” es sinónimo de ellas, que defienden la idea que en los momentos difíciles la unión familiar es la bandera. Han sido y serán mis guías, mis amigas, mis consejeras, mis confidentes en muchos aspectos de la vida. Ante todo gracias por el apoyo que siempre han representado en mí.

A Mis sobrinos Nathan, Michelle, Alvarito y Estefanía por ser una inspiración para mejorar cada día y ofrecerles lo mejor de mí en cada instante de sus vidas.

A Gustavo Ramírez, mi amigo incondicional, es difícil describir todo lo que representas en mi vida, por cada palabra de aliento, por tener fé en mí, por no dejarme caer y si llegué a hacerlo me levantaste con sutileza y una sonrisa inspiradora. Le agradezco a la vida enormemente por ponerte en mi camino, eres una bendición.

Al profesor José Vicente Hernández, por la maravillosa oportunidad de permitirme trabajar en el Laboratorio de Ecología Química del comportamiento de la Universidad Simón Bolívar que se convirtió en mí otra casa de estudio. Por brindarme su apoyo y colaboración con éste proyecto. Gracias por toda la confianza ofrecida y la amistad brindada.

Al profesor Rubén Candia, por haber formado parte de este proyecto, por brindarme su apoyo y dedicación durante largas horas en el desarrollo del mismo. Por corregirme y orientarme durante este tiempo. Muchas gracias por todo.

A Beatriz Herrera, Audry Arias e Ignacio Buscema, por su amistad, los conocimientos compartidos, el apoyo en los momentos difíciles y por tantas risas en el Laboratorio de Ecología Química del Comportamiento.

Al señor Gabriel Mendoza por facilitarme la oportunidad de desarrollar los experimentos de campo en su hacienda, con una sonrisa siempre y muy interesado en apoyar el proyecto de investigación.

Al señor Freddy, amigo de la familia. Por su apoyo durante todos los días de trabajo en campo.

Agradezco a todos y todas que incluso desde lejos,
nunca dejaron de estar allí...

RESUMEN

Los dípteros son insectos megadiversos y algunas de sus especies son cosmopolitas. Poseen varias familias cuyas especies son de interés forense debido a sus hábitos necrófagos, por ello pueden actuar como indicadores para la determinación del intervalo postmortem a partir del estudio de su ciclo de biológico. En Venezuela se han realizado pocos trabajos en este campo, con el fin de conocer la diversidad de insectos asociados a cadáveres, usando distintos biomodelos. El presente trabajo consistió en identificar, determinar la dinámica de colonización y caracterizar hidrocarburos cuticulares de dípteros de interés forense, en cadáveres de cerdos *Sus scrofa* Linnaeus, en un área rural del municipio Tomás Lander, Ocumare del Tuy, estado Miranda. Se observó un patrón de sucesión en las especies de dípteros asociados a los cadáveres en el que la especie *Chrysomya albiceps* de la Familia Calliphoridae resultó ser la más abundante durante los 15 días de estudio. Igualmente se registró el patrón de aparición de la especie *Cyrtoneurina* sp de la Familia Muscidae, pudiendo ser tomadas en cuenta como indicadores en estudios de entomología forense. El Orden Coleoptera se hizo presente durante los estados avanzados de la descomposición, en el que resaltaron por su abundancia las especies *Necrobia rufipes* (Cleridae), *Dermestes maculatus* (Dermestidae) y *Anotylus* sp (Staphylinidae). Se utilizaron especies adultas de dípteros de las Familias Muscidae, Calliphoridae y Sarcophagidae, tanto machos como hembras, para caracterizar los hidrocarburos cuticulares mediante la técnica de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas. Se encontraron diferencias entre hidrocarburos de cadena lineal y metil ramificados presentes en las especies analizadas, tanto en composición como en cantidades relativas. Los alcanos lineales como C₂₇ y C₂₉ fueron comunes para ambos sexos.

Palabras claves: díptera, entomología forense, sucesión heterotrófica, hidrocarburos cuticulares.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	ii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
INTRODUCCIÓN	
<hr/>	
1.1 ORDEN DIPTERA	15
1.2 ENTOMOLOGÍA FORENSE	17
1.2.1 Especies de interés forense.....	19
1.2.2 Principales familias de dípteros de interés forense	22
1.3 SUCESION DE INSECTOS EN CADÁVERES	26
1.3.1 Sucesión heterotrófica o degradativa:	27
1.4 CAMBIOS FÍSICOS Y QUÍMICOS EN UN CADÁVER A PARTIR DE LA MUERTE	28
1.4.1 Elementos y factores que actúan en el proceso de la descomposición.....	29
1.4.2 Etapas del proceso de descomposición	31
1.4.3 Grupos de especies involucradas en el proceso de descomposición	33
1.5 EL TEGUMENTO DE LOS INSECTOS.....	34
1.6 HIDROCARBUROS CUTICULARES	35
1.6.1 Función de los hidrocarburos cuticulares en los insectos	36
1.6.2 Biosíntesis de hidrocarburos cuticulares y quimiotaxonomía.....	37

1.7 VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN EL USO DE LOS HIDROCARBUROS CUTICULARES EN QUIMIOTAXONOMÍA	40
1.7.1 Ventajas	40
1.7.2 Desventajas.....	42
1.8 TÉCNICAS USADAS PARA EL AISLAMIENTO Y PRECONCENTRACIÓN DE HIDROCARBUROS CUTICULARES EN INSECTOS.	45
1.8.1 Microextracción en fase sólida (MEFS).....	45
1.8.2 Extracción con solvente (Sólido-líquido).....	46
1.8.3 Muestra sólida	47
1.9 MÉTODOS PARA LA SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HIDROCARBUROS CUTICULARES.....	49
1.9.1 Cromatografía de gases – espectrometría de masas	49
1.9.2 Índices de retención.....	51
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
<hr/>	
2.1 OBJETIVOS	54
2.2 JUSTIFICACIÓN	54
ANTECEDENTES	
<hr/>	
3.1 Insectos y su asociación a cadáveres	56
3.2 Hidrocarburos cuticulares en insectos	61
MATERIALES Y MÉTODOS	
<hr/>	
4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL	63
4.1.1 Zona de estudio	63

4.1.2 Modelo biológico de experimentación.....	65
4.1.3 Diseño de las jaulas	66
4.2 RECOLECTA DE ESPECÍMENES.....	67
4.2.1 Determinación taxonómica de los ejemplares recolectados.....	71
4.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS SÓLIDAS PARA ANÁLISIS QUÍMICO.....	72
4.3.1 Análisis de muestras sólidas por CG-EM	74
4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	77
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
<hr/>	
5.1. MUESTREOS EN CAMPO	79
5.1.1 Datos ambientales	79
5.1.2 El proceso de descomposición cadavérica (Observaciones diarias de los cerdos)	82
5.1.3 Cría de dípteros inmaduros.	85
5.1.4 Composición e identificación de las especies de insectos y otros artrópodos capturados en los cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L).	86
5.1.5 Dinámica de colonización y sucesión de los insectos y otros artrópodos en los cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L.).	90
5.1.6 Análisis de hidrocarburos cuticulares	104
REFERENCIAS CITADAS.....	129
ANEXOS	150
Anexo 1. Registro fotográfico durante los 15 días de muestreo en campo.	150

Anexo 2. Matriz de coeficientes de la función discriminante para las especies de dípteros asociados a cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L.)	156
Anexo 3. Matriz de presencia-ausencia de las especies de insectos asociados a cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L.), editada para el Análisis de Seriación.....	157
Anexo 4. Matriz de abundancia de las especies de insectos asociados a cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L.).....	155

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla.1. Insectos comúnmente asociados al proceso de descomposición de cadáveres.	19
Tabla 2. Registro de peso, longitud y temperatura externa de los cadáveres de cerdos (<i>Sus scrofa</i> L.) una vez sacrificados.	65
Tabla 3. Parámetros usados en el análisis mediante CG-EM de los escleritos torácicos de los dípteros.....	75
Tabla 4. Concentración de patrones para determinación de los índices de retención de Kováts de las muestras de los escleritos de dípteros dispuestos para el análisis.....	77
Tabla 5. Estados de descomposición observados los cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L.) durante los 15 días de muestreo en campo.	83
Tabla 6. Media aritmética y desviación estándar de los registros de temperatura y humedad relativa por intervalos de hora, durante los 15 días, en la cámara dispuesta para la cría de los dípteros inmaduros provenientes de cadáveres de <i>S. scrofa</i> L.....	85
Tabla 7. Distribucion porcentual del total de insectos asociados a cadáveres de <i>S. scrofa</i> L.	87
Tabla 8. Matriz de presencia-ausencia (sucesional) de las especies de insectos asociados a cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L.).	91
Tabla 9. Distribución porcentual de especies de insectos diarios asociados a cadáveres de cerdo (<i>Sus scrofa</i> L.).....	93
Tabla 10. Procedimiento: Seriación restringida (constreñida)	98
Tabla 11. Matriz presencia-ausencia de la composición de hidrocarburos cuticulares de los dípteros asociados a cadáveres de cerdos (<i>Sus scrofa</i> L.) y sus índices de retención.	116

Tabla 12. Media y desviación estándar de la proporción relativa de Hidrocarburos
Cuticulares presentes en dípteros de interés forense asociados a cadáveres de cerdos (*Sus
scrofa* L.). 118

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Lucilia cluvia</i> . (Gayle and Jeanell Strickland. 2007)	23
Figura 2. <i>Peckia (Pattonella) intermutans</i> . (Scratchpad Team. 2014.)	24
Figura 3. <i>Hydrotaea cyrtoneurina</i> . (Storey, M. 2011.)	24
Figura 4. Distribución en capas del tegumento de los insectos (Jawale 2010).	35
Figura 5. Variación de perfiles de hidrocarburos cuticulares (HC) de cuatro especies de termitas..	41
Figura 6. Esquema de un cromatógrafo de gases (CG) acoplado a un espectrómetro de masas (EM).....	50
Figura 7. Gráfico de $\log tr'$ vs el número de átomos de carbono de la molécula para la serie homóloga de <i>n</i> -alcanos (Fuente: Kováts 1965).	53
Figura 8. Zona de estudio.	64
Figura 9. Diseño de las jaulas para experimentación.	66
Figura 10. Disposición de las jaulas con los cerdos en el campo.	67
Figura 11. Recolecta y captura de insectos.....	69
Figura 12. Cámaras para la cría de dípteros inmaduros.	70
Figura 13. Adultos emergidos, mantenidas por un día de vida.	71
Figura 14. Preparación de muestras del tórax de dípteros de interés forense, asociado a cadáveres de cerdos en descomposición.....	74
Figura 15. Introducción de la muestra sólida (capilar) en el inyector tipo Keele instalado en el puerto de inyección del CG-EM.	76
Figura 16. Gráfico de registros de temperatura ambiental y humedad relativa diarios.....	79

Figura 17. Gráfico del registro de las mediciones con el pluviómetro de litros por metros cuadrados. Mediciones tomadas cada 24 h. al día de experimentación.	80
Figura 18. Gráfico del registro de las mediciones de temperatura ambiental y temperatura externa de los cadáveres durante los días de muestreo.....	81
Figura 19. Proporción Hembras/Machos de dípteros asociados a cadáveres de cerdos (<i>Sus scrofa</i> L.)	89
Figura 20. Dendograma de agrupamiento de las especies, basado en la similitud de Jaccard y según una matriz editada sobre la presencia-ausencia de las mismas.	100
Figura 21. Dendograma de agrupamiento de los días o etapas de la descomposición, basado en la similitud de Jaccard y según una matriz editada sobre la presencia-ausencia de las especies en las mismas.	102
Figura 22. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de <i>Cyrtoneurina</i> sp (Diptera: Muscidae).....	105
Figura 23. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae).....	106
Figura 24. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de <i>Peckia (Pattonella) intermutans</i> . (Diptera: Sarcophagidae).	107
Figura 25. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de <i>Hemilucilia</i> sp (Diptera: Calliphoridae).....	108
Figura 26. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de <i>Hemilucilia segmentaria</i> (Diptera: Calliphoridae).....	109
Figura 27. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de <i>Lucilia eximia</i> (Diptera: Calliphoridae).....	110
Figura 28. Cromatogramas comparados de iones totales de hidrocarburos cuticulares de dípteros hembra de las especies: <i>Cyrtoneurina</i> sp. (azul), <i>Peckia (Pattonella) intermutans</i> (rojo) y <i>Chrysomya albiceps</i> (Negro).....	112

Figura 29. Cromatogramas comparados de iones totales de hidrocarburos cuticulares de dípteros machos de las especies: *Cyrtoneurina* sp. (azul), *Peckia (Pattonella) intermutans* (rojo) y *Chrysomya albiceps* (negro)..... 113

Figura 30. Análisis discriminante de hidrocarburos cuticulares de dípteros asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.) (Ca: *Chrysomya albiceps*, Ct: *Cyrtoneurina* sp, Hs: *Hemilucilia segmentaria*, Hemi: *Hemilucilia* sp, Le: *Lucilia eximia*, PPI: *Peckia (Pattonella) intermutans*)..... 122

Figura 31. Diagrama de dispersión de los principales *n*-alcanos de hidrocarburos cuticulares de dípteros asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.) (Ca: *Chrysomya albiceps*, Ct: *Cyrtoneurina* sp, Hs: *Hemilucilia segmentaria*, Hemi: *Hemilucilia* sp, Le: *Lucilia eximia*, PPI: *Peckia (Pattonella) intermutans*)..... 123

INTRODUCCIÓN

Los insectos pertenecen al grupo de animales con mayor diversidad de especies del mundo. Se estima que alrededor de un tercio de las especies de organismos vivientes corresponde a los insectos. Su gran diversidad puede deberse a que fueron uno de los primeros grupos de animales que conquistaron la tierra (Jaffé 1993). Se diversificaron aprovechando de múltiples maneras el medio circundante y permitiéndoles adaptarse a diversos ambientes. Dentro de esa gran diversidad de insectos encontramos cuatro órdenes que son considerados como megadiversos: Coleoptera, Lepidoptera, Diptera e Hymenoptera.

1.1 ORDEN DIPTERA.

El orden Diptera (Insecta), está conformado por mosquitos y moscas, con cerca de 150.000 especies descritas en 158 familias. Este orden está dividido en dos sub-órdenes: Nematocera y Brachyptera (Thompson 2006; Scudder y Cannings 2006). El más numeroso de los linajes del orden Diptera está conformado por los pertenecientes a la División Calyptratae, ya que incluye familias de gran diversidad (Thompson 2006). Los dípteros tienen solamente un par de alas (anterior) en el mesotórax y de este carácter diagnóstico el orden deriva su nombre de las raíces griegas: *di*= dos y *ptera*= ala “Dos alas”. Además, en el metatórax poseen unos pequeños halterios o balancines que los ayudan a estabilizar el vuelo, sin embargo algunas especies parasitas carecen de éstos.

En cuanto a su morfología, las alas son membranosas, funcionales y su patrón de venas es crítico en la clasificación e identificación de las distintas familias. Presentan tamaños que oscilan entre 0,5 a 60 mm de largo, muy variables en forma y en color. Tienen ojos compuestos que generalmente ocupan la mayor parte de la cabeza, que pueden unirse en la parte superior de la cabeza o pueden estar bien separados. A menudo, en una misma especie, los machos muestran la condición anterior, pero las hembras este último. Casi siempre tienen tres ocelos, pero éstos se reducen o se pierden en muchos grupos, como las

familias acuáticas del suborden Nematocera. Las antenas son extremadamente variables en forma y pueden presentar de tres a cuarenta segmentos. Las piezas bucales son modificadas y combinadas en una trompa de succión, la cual es muy variable en su estructura (Thompson 2006).

Las patas son normalmente bastante simples y se utilizan principalmente para posarse; en algunos grupos se modifican para la captura de presas o para la señalización durante el cortejo. Los tarsos son casi siempre de 5 segmentos (Bellés 2009).

Las moscas adultas se alimentan de una amplia variedad de sustancias, generalmente materiales líquidos como: agua, materia orgánica en descomposición, secreciones animales y vegetales, tales como la de insectos y el néctar de las flores, fluidos de los tejidos de los animales, incluida la sangre de los vertebrados; sólidos solubles licuados por la saliva (Scudder y Cannings 2006).

Los dípteros son insectos holometábolos, eclosionan en forma de larva con una morfología bastante diferente a la del adulto, crecen progresivamente a través de mudas hasta llegar a la última fase larvaria, tras la cual sigue la fase pupal, a menudo quiescente y parecida al adulto, y finalmente la fase adulta, con alas voladoras y genitalia completamente formada (Bellés 2009).

El asombroso éxito de las moscas se debe a su gran versatilidad en la colonización y explotación de los hábitats acuáticos y terrestres (húmedos y secos), y a su capacidad de utilizar cada posible tipo de recurso alimenticio (Scudder y Cannings 2006).

Su importancia en salud pública radica en que pueden ser potenciales vectores y productores de enfermedades para los humanos y animales... Son importantes por su interacción con humanos y animales, o indirectamente debido a sus afinidades con las fases de descomposición de materiales orgánicos, de ese modo (Carvalho y Mello-Patiu 2008). Cumplen con una parte importante del ciclo de descomposición y constituyen la primera oleada de necrófagos que aparece inmediatamente después del deceso de un cuerpo. Estos últimos están representados principalmente por los dípteros pertenecientes a las familias Calliphoridae y Sarcophagidae (Magaña 2001).

Existen referencias de la llegada temprana de los dípteros al cuerpo una vez acaecida la muerte y también sobre la presencia de pupas en cuerpos aún con vida, bien por la existencia de heridas abiertas o por procesos inflamatorios purulentos (Nuorteva 1977).

1.2 ENTOMOLOGÍA FORENSE

En los últimos años hemos visto como la violencia ha alcanzado valores muy altos, en los que la mayoría de los criminales intentan evadir las leyes tratando de ocultar las pruebas de tales crímenes. En los casos en los que los estudios forenses clásicos no son útiles, es posible sumar a las investigaciones el uso de otras ciencias asociadas, como la biología, o más específicamente la entomología, estudiando la comunidad de insectos distribuidos en cuerpos con distintos estados de descomposición.

Los artrópodos representan una enorme diversidad biológica y adaptativa y se encuentran presentes en todos los ambientes del planeta. Por ello se relacionan e interactúan con los humanos en distintos ámbitos de interés aplicado (Arnaldos y col. 2006).

El aspecto central del uso de artrópodos como indicadores en el ámbito forense, con respecto a la data de la muerte, estado del cadáver, posible traslado, entre otros; radica en el reconocimiento adecuado de las especies implicadas y en la recolecta, conservación y envío de muestras para sus posteriores análisis (Haskell y col. 2001).

La entomología forense es un área de la biología que se encarga del estudio de los insectos asociados a cadáveres, con alta aplicabilidad en procesos de índole judicial, con los cuales se intenta determinar la posible causa de muerte, establecer si el cadáver fue trasladado de una localidad a otra, o bien realizar estudios entomotoxicológicos con los que se puedan determinar posibles casos de envenenamiento. Estos estudios se realizan con los insectos necrófagos asociados a un cadáver y sus alrededores, a los fines de determinar el Intervalo Postmortem (IPM). Al establecer este intervalo, el entomólogo forense intentará establecer la edad de las larvas más antiguas de las especies colonizadoras (Amendt y col. 2004, Arnaldos y col. 2006). Esta disciplina científica interpreta información relacionada con la muerte, utilizando para ello la fauna de insectos asociada a los cadáveres (Benecke 2001, Wolff y col. 2001). Esta fauna incluye a distintos artrópodos, entre los que se destacan, por su importancia, a los insectos. Los ciclos biológicos de las distintas especies pueden permitir establecer la fecha de la muerte a través del cálculo del Intervalo Post Mortem (IPM). El IPM se estima según: a) las especies de artrópodos presentes y b) su etapa de desarrollo (Oliva 1997).

El uso de la entomofauna cadavérica para estimar el IPM requiere de un conocimiento de las especies involucradas en el proceso de descomposición, su ciclo de

vida, su relación con los distintos estados de la descomposición y con el hábitat en el cual son registrados, por lo que es necesario contar con información básica acerca de la entomofauna presente en diferentes lugares geográficos (Goff 1993a).

Los artrópodos representan una enorme diversidad biológica y adaptativa y se encuentran presentes en todos los ambientes del planeta. Por ello se relacionan e interactúan con los humanos en distintos ámbitos de interés aplicado (Arnaldos y col. 2006).

El aspecto central del uso de artrópodos como indicadores en el ámbito forense, con respecto a la data de la muerte, estado del cadáver, posible traslado, entre otros; radica en el reconocimiento adecuado de las especies implicadas y en la recolecta, conservación y envío de muestras para sus posteriores análisis (Haskell y col. 2001).

Para mejorar los análisis, se deben realizar un conjunto de estudios que ayuden en la ampliación de esta área de las ciencias biológicas. Sin embargo, el uso de cadáveres humanos no es permitido por razones éticas y morales, por tal motivo se hace inevitable el uso de otros modelos biológicos que se puedan extrapolar a los sistemas humanos, como son los animales, entre los que se destacan los cerdos. De esta manera es posible determinar la composición de insectos asociados al cadáver y realizar estudios ecológicos (Smith 1986). Un ejemplo es el empleo de cerdos como modelo biológico en estudios de entomología forense. Este modelo requiere el sacrificio de los cerdos, el cual debe realizarse a través de un procedimiento de eutanasia humanitaria. Los puntos clave para determinar si el método de la eutanasia es humanitario son: un mínimo de dolor y sufrimiento del cerdo durante su administración, una pérdida rápida de la conciencia y una muerte rápida; este procedimiento debe repetir los mismos resultados toda vez que sea vuelto a utilizar (Pork-Checkoff 2009).

Otro procedimiento para sacrificar a los cerdos es el traumatismo contundente, que consiste en un golpe rápido y firme en la parte superior de la cabeza, precisamente sobre el cerebro. Es esencial que el golpe que se dé sea preciso y con determinación para asegurar la eutanasia y no una conmoción. La pérdida de la conciencia es rápida cuando el golpe se efectúa adecuadamente. Por lo regular, el cerdo mostrará movimientos tónicos y clónicos. En la actividad tónica, el cuerpo se tensa extremadamente, seguido de una relajación gradual. Normalmente, este periodo es seguido por un movimiento de pataleo y pedaleo durante unos minutos (Pork-Checkoff 2009).

1.2.1 Especies de interés forense

Desde que Bergeret realizó en 1855, la primera determinación del momento de la muerte de un individuo basándose en el desarrollo de larvas y pupas (Goff, 1993; Méndez, 1996), el análisis de la entomofauna como evidencia criminal ha adquirido cada vez mayor reconocimiento (Haskell y col. 2001). Así, los insectos son los primeros organismos en llegar a un cuerpo en descomposición (Catts y Goff, 1992). Según Carvalho y col. (2004), esto ocurre en determinada secuencia, produciéndose una sucesión de especies. Siguiendo este patrón predecible, el cual varía con el lugar y la época del año, y teniendo en cuenta el tiempo de desarrollo y los estadios larvales de los insectos, se puede determinar con bastante precisión el IPM y la posible causa de muerte (Turchetto y col., 2001). Donde el entomólogo forense es aquel que entiende estos patrones y puede proveer tanto al médico forense, como a las entidades judiciales información sumamente útil para dilucidar posibles casos criminales.

La Tabla 1 muestra los principales grupos de insectos que se encuentran involucrados de manera directa o indirecta con el proceso de descomposición de un cadáver. Se indica para cada grupo su actividad sobre el mismo (Gunn 2006) y la categoría a la que pertenece.

Tabla.1. Insectos comúnmente asociados al proceso de descomposición de cadáveres.

<i>Orden/Familia</i>	<i>Categoría(*)</i>	<i>Asociación</i>
Diptera		
Calliphoridae (adultos)	Especies necrófagas, coprófagas y saprófagas	Depositán huevos en el cadáver durante las primeras etapas de descomposición. Se alimentan de cadáveres en todas las etapas de la descomposición. Son también coprófagas, saprófagas y nectívoros.
Calliphoridae (larvas)	Especies necrófagas y carnívoras y/o depredadoras	Se alimentan de cadáveres durante las primeras etapas de descomposición. Productores de miasis.

Sarcophagidae (adultos)	Especies necrófagas coprófagas y saprófagas	Depositán larvas en Instar 1 en el cadáver durante las primeras etapas de descomposición Se alimentan de cadáveres en todas las etapas de descomposición.
Sarcophagidae (larvas)	Especies necrófagas	Se alimentan de cadáveres durante las primeras etapas de descomposición.
Muscidae (adultos)	Especies necrófagas, coprófagas y saprófagas	Depositán huevos en la ropa sucia y las heces, también en el cadáver, pero en la segunda etapa. Se alimentan de cadáveres en todas las etapas de la descomposición.
Muscidae (larvas)	Especies necrófagas y saprófagas	Se alimentan de las heces y regiones sucias, también se encuentra en etapas posteriores de putrefacción cuando el cadáver aún está húmedo, y cuando la abundancia de larvas de mosca azul (Calliphoridae) está disminuyendo.
Phoridae (larvas)	Especies necrófagas y saprófagas	Se alimentan de cadáveres durante las etapas posteriores de descomposición. Puede colonizar cadáveres enterrados.
Stratiomyidae (larvas)	Especie necrófaga, parásita y depredadoras de los necrófagos	Se alimentan de cadáveres una vez que el cuerpo se ha secado.
Piophilidae (larvas)	Especie necrófaga	Se alimentan de cadáveres durante las etapas posteriores de descomposición.
<i>Eristalis</i> sp (larvas de Syrphidae)	Especie necrófaga	Se alimentan de las regiones sucias y licuadas.
Nematocera (larvas)	Especie necrófaga	Se alimentan de cadáveres durante los meses más fríos, cuando las moscas azules (Calliphoridae) están inactivas o su número es bajo.
Fanniidae (Larvas)	Especies saprófagas	Se les encuentra en toda clase de materia orgánica en descomposición, especialmente materia vegetal, pero

		también en carroña y excrementos.
Fanniidae (Adultos)	Especies saprófagas	Se alimentan de la materia de cadáveres en descomposición.
Coleoptera		
Carabidae	Especies parásitas y depredadoras de los necrófagos	Depredadores como adultos y larvas. Se alimentan de otros insectos del cadáver.
Staphylinidae	Especies parásitas y depredadoras de los necrófagos	Depredadores como adultos y larvas. Se alimentan de otros insectos del cadáver.
Histeridae	Especies parásita y depredadora de los necrófagos	Depredadores como adultos y larvas. Se alimentan de otros insectos del cadáver. Llega unos días después de los moscardones.
Silphidae	Especie necrófaga	Depredadores como adultos y larvas. Se alimentan de otros insectos y del cadáver. Adultos llegan durante las primeras etapas de descomposición.
Dermestidae	Especie necrófaga	Detritívoros como adultos y larvas. Se alimentan de restos de tejidos en los huesos del cadáver, una vez que se hasecado.
Trogidae	Especies necrófagas	Las especies de esta familia tanto larvas como adultos generalmente se encuentran asociadas al último estado de la descomposición de cadáveres, alimentándose de los restos secos.
Hymenoptera		
Véspidos (avispas)	Especies omnívoras y fuertemente carnívora	Los adultos serán depredadores de otros insectos. Removerán carne del cadáver.
Avispas parasitoides	Especies omnívoras	Los adultos ponen huevos en las larvas o pupas de dípteros.
Hormigas	Especies omnívoras	Algunas especies depredadoras de otros insectos. Remueven carne del cadáver.

Lepidoptera		
Polillas (Pylalidae)	Especies accesorias o accidentales	Las larvas se alimentan del cadáver, una vez que se ha secado.
Polillas (Tineidae)	Especies accesorias o accidentales	Las larvas se alimentan del cadáver, una vez que se ha secado.
Blattodea		
Cucarachas	Especies accesorias o accidentales	Las ninfas y los adultos se alimentan de cadáver en todas las etapas de descomposición.
Anoplura		
Piojos de cabeza y cuerpo	Especies accesorias o accidentales	Parásitos que dejan el cadáver cuando este se empieza a enfriar.
Collembola		
Colémbolos	Especies accesorias o accidentales	Detritívoros generales encontrados debajo de los cuerpos dejados en el suelo, sobre todo en etapas posteriores de descomposición.
Diplura		
	Especies accesorias o accidentales	Detritívoros generales encontrados debajo de los cuerpos dejados en el suelo, sobre todo en etapas posteriores de descomposición.
Dermaptera		
	Especies accesorias o accidentales	Detritívoros generales se alimentan de materia vegetal o animal en descomposición.

(*) Columna anexada a la tabla original.

1.2.2 Principales familias de dípteros de interés forense

Los dípteros necrófagos son organismos fundamentales en los procesos de descomposición cadavérica, con un potencial aplicable a la investigación forense. Por su capacidad de detectar un cadáver a gran distancia tras el deceso, son pioneros en su colonización (Pellitero y Saloña-Bordas, 2007). Se encuentra una diversidad de especies

asociadas a los cuerpos en descomposición, y se reconocen tres familias de mayor interés forense.



Figura 1. *Lucilia cluvia*. (Gayle and Jeanell Strickland. 2007)

La familia Calliphoridae pertenece a la superfamilia Oestroidea. En la región Neotropical esta familia está conformada por cinco subfamilias (Mesembrinellinae, Calliphorinae, Chrysomyinae, Toxotarsinae y Rhiniinae) y representada por 126 especies (Amorim et al. 2002; James (1970); Peris (1992) y Mello (2003)).

Estos dípteros tienen una amplia distribución, desde el extremo norte continental, hasta las Islas subantárticas; la mayor diversidad corresponde a la región afrotropical, siendo América del Sur la que posee menor diversidad específica (Mariluis y Mulieri, 2005). Un representante de esta familia es el caso de la especie *Lucilia cluvia* (Figura 1). El ciclo de vida de esta familia comprende los estados de huevo, larva I, larva II, larva III, pupa y adulto, tal como lo describe Mariluis (1982). Previo a la fase de pupa, la larva III entra en un periodo post alimentario, en el cual abandona el cuerpo y se aleja para buscar un terreno idóneo para proceder a pupar.

Según Trigo (2006), las larvas de esta familia son vermiformes, sin cabeza visible, con el extremo anterior subcónico; el extremo posterior es truncado y forma un disco más o menos cóncavo rodeado por seis pares de tubérculos cónicos, y en el cual se abren los espiráculos posteriores. Morfológicamente los adultos de la familia Calliphoridae se caracterizan por ser moscas robustas de colores azules o verdes con brillo metálico, aunque algunas especies pueden ser opacas; todas poseen una hilera de setas en el margen posterior del *merón* y dos setas en la *notopleura*, los machos son holópticos (aquellos que presentan los ojos unidos sobre la cabeza, por al menos un punto) o subholópticos (aquellos con presencia de una frente más estrecha que las hembras) (Amat y col. 2008).

Los califóridos son moscas de hábitos principalmente descomponedores, sarcosaprófagos y coprófagos. Son, por sus hábitos necrófagos, muy útiles en el área forense, por ser parte de los insectos que están asociados a los cadáveres, pudiendo ser tomados en cuenta para el esclarecimiento de diversos casos en dicha área.

Por su parte, la **Familia Sarcophagidae** forma parte también de la superfamilia Oestroidea. Esta familia puede dividirse en tres subfamilias: Miltogramminae, Paramacronychiinae y Sarcophaginae; las cuales contienen más de 2500 especies, ampliamente distribuidas en el trópico y en las regiones cálidas (Pape 1996; Mello-Patiu y Pape 2000; Byrd y Castner 2001).



Figura 2. *Peckia (Pattonella) intermutans*. (Scratchpad Team. 2014.)

Los sarcófagos, se caracteriza por presentar morfológicamente cuerpos robustos (Figura 2), con el mesotórax marcado con tres bandas conspicuas o *vittae* más oscuras que su cuerpo, que generalmente son de color gris y con el extremo del abdomen de los machos color rojo o naranja, según Flores y col. (1996) y Scudder y Cannings (2006). Constan de la presencia de dos a cuatro setas notopleurales, la coxa posterior con setas sobre la superficie posterior y arista comúnmente plumosa. Las hembras son vivíparas u ovovivíparas, depositando larvas vivas de primer instar (Shewell 1987). En un importante número de especies las larvas son carroñeras, alimentándose de materia orgánica en descomposición, lo cual las ubica dentro de los insectos de importancia forense como uno de los primeros organismos que colonizan cadáveres (Smith 1986). Los dípteros de la familia Sarcophagidae son elementos muy importantes del componente necrófago, debido a que ciertas especies de esta familia aparecen frecuentemente en cadáveres humanos (Goff 1991, Anderson 1995, Oliva 1997).



Figura 3. *Hydrotaea cyrtoneurina*. (Storey, M. 2011.)

Dentro del grupo de los dípteros caliptrados, **Muscidae** es una de las familias más diversas. Contiene aproximadamente 4500 especies conocidas y su distribución abarca desde ambientes tropicales hasta las zonas frías, pasando por aéreas costeras y hasta los 5000 metros de altura (Skidmore 1985). Esta familia se encuentra dividida en ocho subfamilias: Achantipterinae, Atherigoninae, Muscinae, Azeliinae, Phaoniinae, Mydaeinae, Coenosiinae y Cyrtoneurinae

(Carvalho 2002, Nihei y Dominguez 2008). La Figura 3 representa una especie de esta familia cuyas características morfológicas son típicas de los adultos de Muscidae. Los múscidos adultos son de 4 -12mm de largo, con alas que sobrepasan el abdomen. El color del tegumento varía de marrón, gris a negro, con frecuencia con estrías longitudinales oscuras en el tórax, llamadas *vittae*. La cabeza tiene tres ocelos y un par de ojos compuestos prominentes, que en los machos son holópticos y en las hembras dicópticos (los ojos no se tocan en ningún punto por encima de la cabeza, están separadas por una frente). (Pesante 2007).

Todas las especies de múscidos en norteamérica son ovíparas (las hembras depositan huevos fertilizados en el medio ambiente) y de estos emergen las larvas, pero también hay especies que son larvíparas en el viejo Mundo. (Pesante 2007).

Los hábitos alimenticios de las especies de esta familia son extremadamente variados. La mayoría de sus larvas son carroñeras y tienen un profundo impacto en todos los ecosistemas ya que contribuyen con la descomposición de la materia orgánica (Skevington y Dang 2002). Los adultos pueden ser depredadores de otros insectos, hematófagos, polinizadores, saprófagos o coprófagos (Carvalho y col., 2005). Varias especies necrófagas (*Ophyra* spp., *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp), *M. stabulans*), poseen importancia para la entomología forense, al intervenir a los procesos de la descomposición de cadáveres (Oliva 2001, Aballay y col., 2008)

Los trabajos sobre fauna cadavérica alrededor del mundo reportan especies de insectos, que en algunos casos, dependen de la zona biogeográfica estudiada, pero en otros, se trata de especies que tienen una amplia distribución y que se pueden encontrar en la mayoría de los continentes. Byrd y Castner (2001) mencionan algunas de las especies más comunes en casos forenses en Norteamérica, como los dípteros *Phaenicia* (= *Lucilia*) *sericata*, *Lucilia illustris*, *L. cuprina*, *Phormia regina*, *Calliphora vicina*, *C. vomitoria*, *Chrysomya megacephala*, *C. rufifacies*, *Cochliomyia macellaria*, *Fannia canicularis*, *Sarcophaga haemorrhoidalis*, *Piophilina casei*, *Hermetia illucens*, *Megaselia scalaris*, entre otros. En cuanto a los coleópteros, los más comunes son *Nicrophorus* sp., *Tanatophilus* sp., *Dermestes ater*, *D. caninus*, *D. maculatus*, *Creophilus maxillosus*, *Platydracus* sp., *Hister* spp., *Saprinus* sp, *Necrobia rufipes*, *N. violacea*, *Trox* sp, *Omosita* sp., etc.

En Venezuela se han realizado estudios de la entomofauna asociado a cadáveres (Mavárez-Cardozo y col., 2005; Magaña y col., 2006; Liria 2006, Núñez y Liria 2014), en

donde se reportan algunas especies de coleópteros y dípteros mencionadas con anterioridad, así como algunas especies diferentes como *Phaenicia* (= *Lucilia*) *cluvia*, *Cochliomyia megacephala* y *Ravininae* sp, del orden Diptera y *Dermestes frishii*, *Anthrenus verbasci* y *Omorgus suberosus* representantes del orden Coleoptera.

1.3 SUCESION DE INSECTOS EN CADÁVERES

La fauna de invertebrados que colonizan los cuerpos en descomposición consiste principalmente en moscas y escarabajos necrófagos y su forma más simple de aplicación forense es el estudio de la secuencia en que aparecen los insectos en el cadáver (sucesión). Sin embargo, es importante recordar que no todos los insectos se alimentan de tejidos en descomposición. Sólo pocas especies participan activamente en las etapas de putrefacción de un cadáver acelerando la tasa de descomposición (Smith 1986).

El análisis de los insectos y otros artrópodos como evidencia en investigaciones criminales está basado en el concepto ecológico de sucesión (Anderson y Vanlerhover, 1996), de esta manera la sucesión de insectos y las características biológicas de las especies asociadas, son empleadas como indicadores entomológicos para la resolución de crímenes convirtiéndose en un método confiable en la estimación del intervalo post mortem.

La sucesión, en sentido más general, es el esquema continuo, aparentemente direccional y no estacional de colonización y extinción de las poblaciones de especies en una localidad. Esta definición general comprende una gama de secuencias de sucesión que se producen en escalas de tiempo muy distintas y a menudo como resultado de mecanismos diferentes. Del mismo modo, la importancia relativa de las especies varía en el espacio, y sus esquemas de abundancia pueden cambiar con el tiempo. En cualquier caso, una especie solo se presentará donde y cuando es capaz de alcanzar un crecimiento, existen allí las condiciones de recursos apropiados y los competidores junto con los depredadores no la eliminan (Begon y col., 1996).

Las especies iniciales o tempranas de la sucesión (a menudo llamadas especies pioneras o colonizadoras) se caracterizan habitualmente por una elevada tasa de crecimiento, amplia dispersión y rápido crecimiento poblacional; en contraste, las especies tardías generalmente presentan tasas de dispersión y colonización menores (Curtis y Barnes

2000); el patrón de reemplazamiento de especies en el tiempo no es aleatorio (Smith 2000). Un ejemplo de esto es que, a cada estado de descomposición se encuentran asociados diferentes insectos debido a los cambios físicos y químicos en el sustrato, que posteriormente dan origen a nuevos recursos y por tanto son atraídas nuevas especies (Campobasso y col. 2001).

De acuerdo al tipo de organismos que intervienen en primer lugar en la sucesión y al sustrato sobre el que se desarrolla podemos distinguir dos tipos de sucesión: la autotrófica y la heterotrófica o **degradativa** (Begon y col. 1996). La primera se refiere básicamente a organismos productores, como las plantas en ecosistemas terrestres, mientras que la segunda está referida a los organismos heterótrofos, cuyo sustrato de colonización y posterior desarrollo es muy variable.

1.3.1 Sucesión heterotrófica o degradativa:

Los cambios en la composición de especies en una sucesión heterotrófica, generan series que pueden recibir el nombre de *sucesiones o etapas heterotróficas o degradativas* y pueden producirse en una escala de tiempo relativamente breve, o contrario a lo anterior en escala de tiempos mayores, de meses o años. Ocurren en cualquier tipo de materia orgánica en descomposición, ya sea animal o vegetal, y es explotado por microorganismos, animales detritívoros y necrófagos. Habitualmente diferentes especies aparecen y desaparecen una tras otra, a medida que la degradación de la materia orgánica agota ciertos recursos y convierte en disponibles a otros, mientras los cambios que ocurren en la condición física del detritus favorecen a una especie y luego a otra (Smith 2000). Finalmente las sucesiones degradativas llegan a su fin porque el recurso ha quedado ya completamente metabolizado y mineralizado (Begon y col. 1996), como lo puede ser, por ejemplo, el último estado de descomposición (esqueletización) de un cuerpo.

1.4 CAMBIOS FÍSICOS Y QUÍMICOS EN UN CADÁVERA PARTIR DE LA MUERTE

Una vez que se produce la muerte se presentan cambios en la constitución física y química del cadáver. Uno de esos cambios es la **decoloración verdosa**, que ocurre debido a compuestos volátiles producidos en el cuerpo. Aunque la composición del cuerpo puede variar, un componente importante de estos compuestos es el Sulfuro de Hidrógeno (H_2S), que reacciona con la hemoglobina de la sangre y forma la sulfahemoglobina. Este pigmento es de color verdoso y puede ser visto en los vasos sanguíneos y en otras áreas del cuerpo, sobre todo cuando el *livor mortis* se ha formado (Goff 2010).

El *livor mortis*, conocido como **lividez cadavérica**, es uno de los primeros cambios que se presentan una vez producida la muerte. Cuando ocurre la muerte, al detenerse el corazón y la circulación, la sangre empieza a asentarse por gravedad hasta las partes más bajas del cuerpo. Los primeros signos del *livor* se observan aproximadamente 1 hora después de la muerte (Goff 2010).

Seguidamente al proceso de lividez cadavérica se presentan otros cambios que no son físicos. El *rigor mortis*, conocido como **rigidez cadavérica**, es un cambio químico que resulta del endurecimiento de los músculos del cuerpo después de la muerte, debido a las modificaciones en las microfibrillas de los tejidos musculares. El ATP se convierte en ADP y el ácido láctico produce un descenso en el pH celular, hay un bloqueo de puentes químicos formado entre la actina y la miosina que resulta en la formación del *rigor* o rigidez. Por lo general, el inicio de la rigidez muscular se observa entre las 2 a 6 h posteriores a la muerte y se desarrolla durante las primeras 12 h (Goff 2010). Se inicia desde los músculos de la cara y luego se extiende a todos los músculos del cuerpo durante un periodo de 4-6 h (Gill-King 1997). El comienzo y la duración de la rigidez actúa según dos factores principales: la temperatura ambiental y el estado metabólico del cuerpo. Bajas temperaturas en el ambiente tienden a acelerar el inicio de este proceso y a prolongar su duración, a temperaturas más cálidas ocurre lo contrario (Goff 2010).

El rigor mortis se prolonga a bajas temperaturas y es constante a 4 °C, puede durar por lo menos 16 días con endurecimiento parcial aún detectable hasta los 28 días después de la muerte (Varetto y Curto 2004). La extensión y el grado del rigor mortis por tanto, no es una medida especialmente precisa de tiempo desde la muerte.

Posteriormente a los dos primeros procesos que se desencadenan a raíz de la muerte, se presenta el *algor mortis*, conocido como **enfriamiento cadavérico**, el cual ocurre una vez que el cuerpo deja de regular su temperatura interna y ésta empieza a aproximarse a la temperatura externa, es decir, la temperatura ambiente. En la mayoría de los casos, esto implica un enfriamiento del cuerpo hasta que se alcanza la temperatura ambiente, con mayor frecuencia en un periodo de 18 a 20 h (Fisher 2004).

1.4.1 Elementos y factores que actúan en el proceso de la descomposición

Son numerosos los factores que se han identificado como responsables de los cambios que se producen en un cadáver hasta su total descomposición. Estos factores, aunque se encuentran muy relacionados, pueden dividirse en dos grupos: 1) Factores intrínsecos (bacterias intestinales, condiciones del cuerpo, causa de muerte) y 2) Factores extrínsecos al cadáver, tales como las condiciones ambientales (temperatura, humedad, vientos, tipos de suelos, etc.) (Magaña y col. 2006).

En el proceso de descomposición de cadáveres se presentan como elementos fundamentales las bacterias. Las **Bacterias** juegan un papel importante en la descomposición de los cadáveres, ya que están asociadas con los aspectos externos e internos del cuerpo humano. Algunas de éstas existen normalmente en nuestros intestinos, tales como *E. coli*, y siempre y cuando se mantengan en su lugar no hacen daño y puede ayudar en la descomposición de los alimentos.

Hay un gran componente de bacterias anaerobias relacionadas con el sistema digestivo humano. Una vez que el individuo muere hay pocas barreras para evitar que cualquier lugar y tejidos sean excelentes medios de crecimiento para ellas, siendo sus actividades metabólicas los principales componentes de los procesos de la descomposición.

Así como las bacterias, también tenemos un segundo grupo de organismos involucrados en los procesos de descomposición, como son los **Insectos**. Su llegada empieza poco después de haberse producido la muerte, a menudo en menos de 10 minutos, y rápidamente comienzan sus actividades.

Como tercer grupo importante encontramos a los **Carroñeros vertebrados**; este grupo está conformado por una diversidad animal, desde roedores hasta aves de rapiña,

gatos, perros entre otros, que pueden dañar rápidamente al cadáver, modificando su proceso de descomposición. En la naturaleza puede tomar menos de una semana a los carroñeros el esqueletizar un cuerpo (Goff 2010).

Como se detalló anteriormente, vemos que hay organismos invertebrados y vertebrados que con su actividad sobre un cadáver son capaces de acelerar el desarrollo de la descomposición. Sin embargo, también podemos encontrar factores que permiten demorar el proceso de descomposición. Estos obstáculos a la descomposición se pueden dividir en tres grandes grupos: barreras físicas, químicas y elementos climáticos.

Las Barreras físicas impiden el acceso al cuerpo, como por ejemplo la ropa, o bien en el caso de cuerpos enterrados, lo que también influye en el proceso de descomposición de un cadáver.

Un ejemplo de barreras químicas lo constituye el proceso de embalsamamiento, diseñado para evitar la descomposición del cuerpo; en este proceso los fluidos naturales del cuerpo se drenan y reemplazan con diferentes líquidos preservativos (Goff 2010). En algunos casos criminales, los causantes del hecho delictivo modifican la escena del crimen, específicamente al cuerpo, agregando distintos sustancias que modifican la condición del cadáver, retrasando los procesos de putrefacción, con la intención de evitar ser capturados. La presencia de insecticidas en el cuerpo o en las proximidades del mismo, también puede servir para retrasar la aparición de la actividad de los insectos por un periodo de tiempo. En muchos casos, los insectos inmaduros (principalmente estadios larvales) son capaces de sobrevivir en un cuerpo con concentraciones de un insecticida que sería fatal para los adultos de la misma especie (Gunatilake y Goff 1989).

Los Elementos climáticos son los modificadores de mayor importancia en el proceso de descomposición, ellos pueden promover el avance de este proceso o bien retrasarlo. Entre estos elementos, uno de los más importantes es la temperatura. A temperaturas altas se promueve la actividad microbiana, acelerando el proceso de desarrollo bacteriano, así como la aparición de insectos que pueden acelerar la descomposición. A temperaturas por debajo de 6 °C la actividad de la mayoría de los insectos disminuye, volviendo a la actividad una vez que se alcance una temperatura por encima del umbral (Goff 2010). También juegan un papel importante otros elementos, como lo son los vientos y las precipitaciones, que inciden directamente sobre la temperatura.

1.4.2 Etapas del proceso de descomposición

Los primeros grupos de insectos llegan al cadáver atraídos por el olor de los gases desprendidos en el proceso de la degradación de los principios inmediatos (glúcidos, lípidos, y próticos), gases como el amoníaco (NH_3), ácido sulfúrico (SH_2), nitrógeno libre (N_2) y anhídrido carbónico (CO_2) (Magaña 2001).

Lord y Goff (2003) describen cinco etapas de la descomposición a partir de un estudio realizado en Hawái; estas etapas pueden aplicarse a investigaciones que se realicen en zonas templadas.

Un rasgo común en la mayoría de los estudios ha sido el intento de evitar ver a los procesos de descomposición como una serie de etapas discretas; sin embargo, a pesar de que la descomposición es un proceso continuo, en la naturaleza se producen combinaciones discretas de parámetros físicos y asociaciones de artrópodos (Flores 2009). El valor de esas etapas es el poder aportar puntos de referencia que permitan explicar alguno de los hechos asociados con la descomposición y sea viable su exposición ante un tribunal o jurado (Schoenly y Reid 1987).

En la actualidad, la ciencia forense reconoce y acepta cinco fases o estados de descomposición (Early y Goff 1986). Estos corresponden a: estado fresco o cromático, hinchado o enfisematoso, descomposición activa o colicuativa, descomposición avanzada y restos óseos o esqueletización (Magaña 2001, Wolff y col. 2001, Calabuig y Villanueva 2004).

La fase fresca es la primera etapa, esta es la que empieza en el momento de la muerte y continúa hasta que la hinchazón del cuerpo se hace evidente (Goff 2010). En este estado los primeros insectos en llegar son las moscas de las familias Calliphoridae y Sarcophagidae. Las hembras adultas inspeccionan el cadáver, se alimentan con frecuencia de él y, según las especies, depositan huevos o larvas alrededor de las aberturas naturales. Estas serán, en principio, las asociadas con la cabeza (ojos, nariz, boca y orejas) y región anogenital (Goff y col. 2004).

La descomposición cadavérica continúa con la **fase hinchada**; en esta etapa hay una gran influencia de todo el conjunto bacteriano anaeróbico que está presente en el cuerpo y es el componente principal de la descomposición una vez producida la muerte. Sus procesos metabólicos dan como resultado la producción de gases, cuyo efecto causa una

inflamación leve en el abdomen. Los procesos combinados de la putrefacción bacteriana y las actividades metabólicas de las larvas de los insectos comienzan a causar un aumento en la temperatura interna del cuerpo. Estas temperaturas pueden estar por encima de la temperatura ambiente (>50 °C) y el cuerpo se convierte en un hábitat distinto en muchos aspectos, independiente del medio ambiente circundante (Goff 2010). En esta etapa las presiones internas causadas por la producción de los gases provoca la filtración de líquidos a través de los orificios naturales del cuerpo y es notable el fuerte olor a amoníaco. Estos líquidos se filtran en el sustrato por debajo del cuerpo y se convierte este en un suelo alcalino (Goff 2010).

Posteriormente, la **fase de decaimiento o descomposición activa** ocurre cuando el conjunto de actividades de la alimentación de las larvas y la putrefacción bacteriana resultan en la ruptura de la capa externa de la piel, se escapan los gases del abdomen y los olores de la descomposición están presentes en el ambiente (Goff 2010). En este estado, las larvas de dípteros son predominantes y forman grandes masas. Mientras que otros depredadores, como los escarabajos, avispas y hormigas, están presentes en el estado hinchado. Al final del estado de descomposición activa se observan tanto estos depredadores como algunos necrófagos. La mayoría de las larvas de los Calliphoridae y Sarcophagidae han completado su desarrollo y abandonan el cuerpo para pupar. En esta etapa los restos suelen sufrir una repentina pérdida de humedad. Las larvas de dípteros habrían eliminado la mayoría de los tejidos blandos del cuerpo (Goff y col. 2004).

Seguidamente se enfrenta un nuevo cambio en el cuerpo, denominada **fase postdecaimiento o descomposición avanzada**, en la que, a medida que el cuerpo se reduce a piel, cartílago y huesos, los dípteros dejan de ser predominantes, siendo diversos coleópteros los más abundantes (Goff 2010).

Finalmente, transcurrido un tiempo, nos encontramos con el último evento en un proceso de descomposición de un cuerpo, y es la **fase esquelética**; ésta etapa se alcanza cuando sólo quedan huesos y cabellos. El pH del suelo comienza a volver a su nivel original y hay un retorno gradual de los componentes de la fauna del suelo normal durante esta etapa. En la fase esquelética no aparecen insectos claramente asociados y se produce una vuelta gradual de la fauna edáfica normal en el suelo subyacente. No existe un momento final definido para esta fase y las variaciones en la fauna edáfica pueden detectarse meses e incluso años después de la muerte, en función de las condiciones locales

(Goff y col. 2004). En cada una de estas fases de descomposición, y como resultado de los cambios físicoquímicos que tienen lugar, se da la colonización por parte de diferentes grupos de insectos necrófagos, así como de sus especies depredadoras (Turcheto y Vanin 2004, Catts y Goff 1992).

1.4.3 Grupos de especies involucradas en el proceso de descomposición

Como hemos visto, hay especies de insectos que están asociadas a los cuerpos una vez producida la muerte, y específicamente con alguna de las fases de descomposición. Estos insectos son de gran importancia forense ya que permiten establecer una data de muerte, lugar de la muerte, determinar si hubo traslado del cadáver y también tienen utilidad para análisis entomotoxicológicos. La descomposición de un cadáver ocurre en una determinada secuencia, la cual determina la sucesión de las especies observadas (Carvalho y col. 2004).

Entre los insectos que tienen relación directa con el cadáver se reconocen habitualmente cuatro categorías (Goff 1993a):

Especies necrófagas: Son las especies que en alguna etapa de su ciclo de vida se alimentan del cuerpo. Incluyen dípteros (Calliphoridae y Sarcophagidae) y coleópteros (Dermestidae y Silphidae).

Especies parásitas y depredadoras de los necrófagos: Es el segundo grupo más significativo presente en el cadáver. Incluye coleópteros (Silphidae, Staphylinidae e Histeridae), dípteros (Calliphoridae y Stratiomyidae) e himenópteros parásitos de las larvas y pupas de dípteros.

Especies omnívoras: Se incluyen aquí grupos como las avispas, hormigas y otros coleópteros que se alimentan tanto del cadáver como de los artrópodos asociados a él.

Especies accesorias o accidentales: Aquí se incluyen las especies que utilizan el cuerpo como una extensión de su hábitat normal, como por ejemplo Collembola, arácnidos, miriápodos. Algunas familias de ácaros pueden alimentarse de hongos y moho que crece en el cuerpo.

1.5 EL TEGUMENTO DE LOS INSECTOS

Los insectos presentan externamente en su estructura, un tegumento que consta de una membrana basal, una capa celular o epidermis y una capa externa no celular o cutícula que constituye el exoesqueleto (Viñuela y col. 1991), (Figura 4).

La cutícula es la capa más importante. Tiene una estructura laminar con capas dispuestas en paralelo a la superficie, que van atravesadas por numerosos poros o canales. En la capa más exterior o *epicutícula* se distinguen, de afuera hacia adentro, la *capa cemento* (para protección), la *capa de ceras* (que evita la pérdida de agua y es una barrera a la entrada de insecticidas) y la *cuticulina*, que es quizás la capa más importante por ser barrera permeable selectiva y limita el crecimiento al ser inelástica (Grillot 1980).

La *procutícula* o zona interna, está formada esencialmente por una matriz proteica en la que van embebidas gran número de largas fibras de quitina que adoptan una disposición helicoidal (Hillerton 1984, Reynolds 1987).

En todos los insectos, la cutícula se cubre con una capa muy delgada de cera epicuticular. Dicha capa consta de lípidos libres, una clase de compuestos que incluye hidrocarburos, alcoholes, ácidos grasos, ceras, aciglicéridos, fosfolípidos y glicolípidos (Gibbs y Crockett 1998). En la mayoría de los insectos, y en casi todos los insectos sociales estudiados hasta el momento, los lípidos libres son denominados hidrocarburos (Lockey 1988).

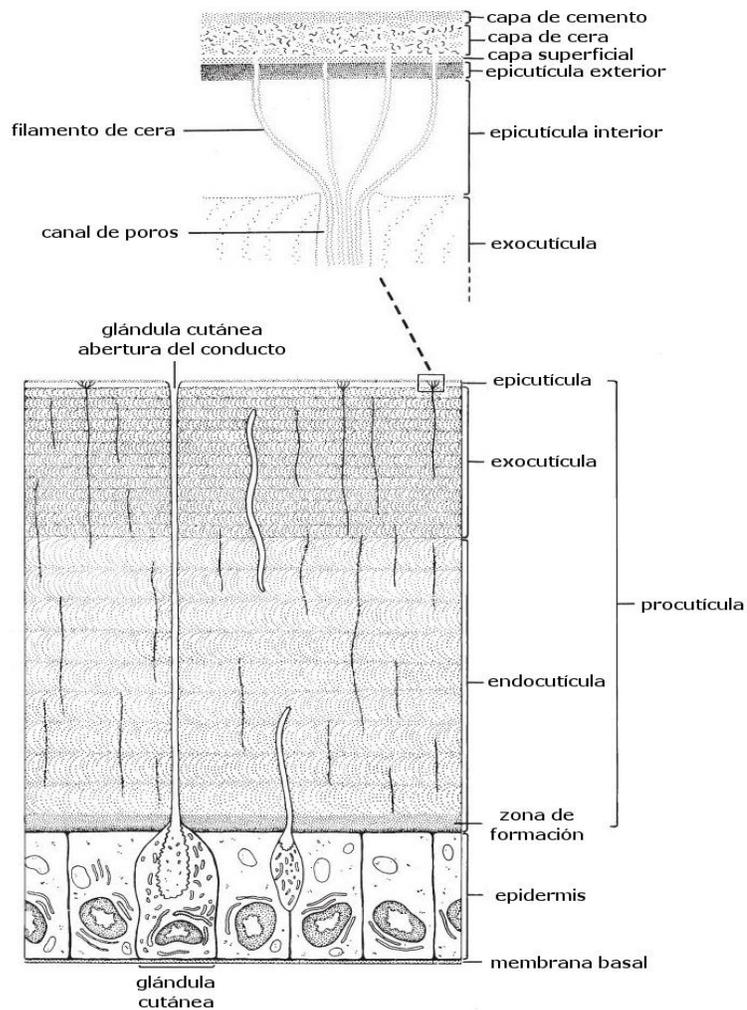


Figura 4. Distribución en capas del tegumento de los insectos (Jawale 2010).

1.6 HIDROCARBUROS CUTICULARES

Los hidrocarburos tienen largas cadenas lineales o ramificadas con un grupo metilo (C_{19} a C_{40}) que pueden ser saturados o insaturados dependiendo de la longitud de la cadena, o bien pueden ser volátiles o actuar sobre distancias cortas o por contacto, dependiendo del insecto. Su biosíntesis implica las siguientes fases: la síntesis de ácidos grasos de la cadena mediante una enzima sintetasa (FAS), su desaturación por la enzima desaturasa, seguido de su alargamiento a una cadena larga por medio de la actividad de la enzima elongasa, posteriormente una descarboxilación para así dar lugar a los hidrocarburos (Dillwhit y col. 1981, 1982; Blomquist y col. 1987).

Los insectos sintetizan los hidrocarburos por alargamiento del acetil-CoA para producir los ácidos grasos de cadena muy larga que luego son convertidos en hidrocarburos mediante la pérdida de un grupo carboxilo (Nelson y Blomquist 1995; Howard y Blomquist 2005).

Los hidrocarburos cuticulares (HC) son compuestos constituidos exclusivamente por átomos de carbono e hidrógeno y todos tienen la misma estructura básica, que consta de una cadena carbonada larga, que en insectos de vida social parecen tener entre 19 y 35 átomos de carbono de longitud (Drijfhout 2010). La aparente abundancia de C₁₉- C₃₅ en los hidrocarburos cuticulares puede ser un reflejo de las limitaciones de las técnicas de detección, ya que las nuevas columnas de alta temperatura, con técnicas como CG (Akino 2006) y MALDI-MS (Cvacka y col. 2006), están revelando hidrocarburos cuticulares con cadena de hasta 70 átomos de carbono.

La aplicación combinada de la cromatografía de gases y la espectrometría de masas fue clave para el rápido y eficiente análisis de los hidrocarburos de insectos. A finales de 1960 y durante los próximos años, se estableció el uso del CG-EM para el análisis de los hidrocarburos cuticulares en insectos (Nelson y Sukkestad 1970; Martin y MaConnell 1970), y es así como en los años siguientes se analizaron los hidrocarburos cuticulares de cientos de especies. Se reconoció que existen para muchas especies de insectos mezclas muy complejas de compuestos lineales, metil ramificados y compuestos insaturados con longitudes que van desde 21 a 50 átomos de carbono o menos.

En retrospectiva, la mezcla extremadamente compleja de componentes podría haber sugerido que los hidrocarburos podrían desempeñar un papel importante en la comunicación química, pero solo después del reconocimiento del número y variedad de funciones que hacen es que se ha llegado a apreciar más plenamente la importancia de los hidrocarburos de los insectos en la comunicación química (Blomquist y Bagnères 2010).

1.6.1 Función de los hidrocarburos cuticulares en los insectos

La capacidad de los insectos para resistir la desecación es debida a la capa epicuticular de la cutícula. En las capas superiores de la cutícula existe un complejo graso o sustancia cerosa, conocida como “cuticulin” (Wigglesworth 1933). En la cera de la epicutícula están presentes hidrocarburos (Blount y col. 1937, Chibnall y col. 1934). Los

hidrocarburos tienen importancia en la cera de los insectos (Baker y col. 1963), ya que sirven principalmente como una barrera de protección (a la desecación, la abrasión y enfermedades), como un órgano para reconocer a compañeros, otras especies e incluso para atraer pareja (Hamilton 1995) y también han considerado a los hidrocarburos cuticulares como excelentes adsorbentes de compuestos volátiles (Jaffé y Mercuse 1983; Jaffé y Marquez 1987; Hernández y col. 2002)

Baker y col. (1963) demostraron que los tres hidrocarburos cuticulares de la cucaracha americana (*Periplaneta americana*) son: *n*-pentacosano, 3-metilpentacosano y (Z,Z)-6,9-heptacosano, que representan las tres principales categorías de hidrocarburos en insectos: *n*-alcanos, alcanos metil ramificados y alquenos (Blomquist y Bagnères 2010). La composición de los hidrocarburos cuticulares de este insecto es simple, pues más del 90% de los hidrocarburos presentes en la cutícula está constituido por sólo tres compuestos (Jackson 1972).

Los hidrocarburos cuticulares son térmicamente estables, cuando se liberan hacia la cutícula mantienen su estructura química (Kaib y col. 1991) y se pueden separar mediante cromatografía de gases. La composición de los hidrocarburos cuticulares es específica de las especies (Hamilton 1995).

Los hidrocarburos cuticulares se encuentran en todas las fases de vida de los insectos y son biológicamente muy estables. Su biosíntesis está modulada genéticamente por factores como el estado reproductivo (Monnin 2006), la etapa de desarrollo (Martin y col. 2001), la dieta (Buczowski y col. 2005), o la temperatura (Toolson 1982, Savarit y Ferveur 2002, Rouault y col. 2004).

Es importante enfatizar que los hidrocarburos cuticulares son hereditarios y varios genes implicados en la biosíntesis de estos compuestos han sido identificados (Kather y Martin 2012).

1.6.2 Biosíntesis de hidrocarburos cuticulares y quimiotaxonomía

Una serie de estudios con insectos de diversas especies han establecido que el sitio principal de biosíntesis de hidrocarburos se produce en unas células asociadas con la capa de la epidermis o del cuerpo de grasa periférica, específicamente los oenocitos. La localización anatómica de los oenocitos varía entre especies de insectos e incluso a través

del desarrollo de etapas. En algunos insectos tales como *Tenebrio molitor* (Jackson y Locke 1989), los oenocitos están dispuestos en grupos discretos dentro de la hemolinfa y son fácilmente accesibles. En otros insectos, incluyendo la cucaracha americana, *P. americana*, la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, y la cucaracha alemana o chiripa, *Blattella germanica*, los oenocitos se encuentran dentro del tegumento abdominal.

Los hidrocarburos recién sintetizados salen de las células epidérmicas conocidas como oenocitos y se transportan a través de los canales de los poros, formándose después una capa externa en la cutícula (Locke 1965), modelo que prevaleció hasta principio de los años 1980.

Schal y col. (1998) revisaron la literatura disponible en ese momento y llegaron a la conclusión que los hidrocarburos internos en muchos insectos fueron cualitativamente similares a los hidrocarburos cuticulares. Para los insectos con oenocitos dentro de la hemolinfa, es necesario un sistema de transporte de lípidos para ser transportados los hidrocarburos a la superficie de la cutícula. Por el contrario los insectos con oenocitos que están dentro de la membrana basal, no necesariamente se requiere un sistema de este tipo. Sin embargo, parece que en ambos grupos de insectos, con grandes cantidades de hidrocarburos se encuentran asociados con una lipoproteína.

Esta lipoproteína que no está ligada al sexo, está involucrada específicamente en el transporte de diacilglicerol (lípido cuantitativamente más importante en la hemolinfa de los insectos), desde el cuerpo graso a los sitios de utilización (Laino 2011). Chino y col. (1981), denominaron a esta lipoproteína “lipoforina”.

Actualmente se acepta que las lipoforinas transportan hidrocarburos desde los oenocitos para su deposición sobre la superficie del insecto. Sin embargo, el mecanismo de deposición, incluyendo la captación y el cruce en las células epidérmicas y el tegumento, se desconoce (Schal y col. 1998).

Los insectos biosintetizan la gran mayoría de los hidrocarburos que poseen interna y externamente, por lo tanto, la composición de hidrocarburos puede ser considerada una parte del genotipo de un insecto y es posible utilizarla a nivel taxonómico (Blomquist y Bagnères 2010). El papel de los hidrocarburos cuticulares en taxonomía química ha sido reconocido en varios estudios (Jackson 1970, Jackson y Baker 1970, Jackson y Blomquists 1976, Carlson y Service 1979, Carlson y Service 1980, Lockey 1980, Carlson 1988, Carlson y Brenner 1988). Uno de los métodos para identificar las especies podría implicar

la identificación de los hidrocarburos presentes en la cutícula de los insectos adultos o incluso en sus pupas y puparios, en donde también están presentes este tipo de compuestos (Gilby y Mckellar 1970).

Los perfiles de hidrocarburos cuticulares muestran una gran divergencia entre especies. Las especies difieren en los hidrocarburos cuticulares, tanto en los isómeros que se presentan, como en las cantidades relativas de éstos. Las especies estrechamente relacionadas muestran perfiles similares de hidrocarburos, que pueden ser diferenciadas por las cantidades o proporciones entre los mismos hidrocarburos (Page y col. 2002).

Las cadenas de hidrocarburos se producen en su forma saturada o insaturada y puede tener uno o más grupo metilo (CH_3) ramificado (Drijfhout 2010). Los alcanos son los hidrocarburos de cadena abierta (alíclicos) que constituyen la serie homóloga, únicamente tienen enlaces simples y, por consiguiente, se dice que son saturados (Meislich y col. 2001).

Los compuestos insaturados, pueden ser alquenos o alquinos. Los llamados alquenos (oleofinas), son isómeros de los ciclo alcanos saturados. Estos compuestos pueden tener uno (alquenos o monoenos), dos (alcadienos o dienos) o tres (alcatrienos o trienos) dobles enlaces distribuidos a lo largo de la cadena carbonada. Además de acuerdo a la distribución de los sustituyentes en el o los dobles enlaces, estos compuestos pueden tomar la forma: cis (*Z*) o trans (*E*). Sin embargo, todos los alquenos cuticulares de insectos conocidos tienen la configuración “*Z*” (Drijfhout 2010).

La forma de los hidrocarburos saturados (alcanos), permite el empaquetamiento compacto de las moléculas y por lo tanto son ideales para funcionar como moléculas de impermeabilización (Drijfhout 2010). A medida que aumenta la longitud de la cadena son menos volátiles y son mejores en la producción de películas con baja permeabilidad al agua. Por lo tanto, un alcano C_{33} es mejor en la reducción de flujo transcuticular de agua que un alcano C_{23} . Esto se debe a que a mayor tamaño molecular aumentan las fuerzas de estabilización intermolecular entre los hidrocarburos, tipo Van der Waals (Drijfhout 2010).

1.7 VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN EL USO DE LOS HIDROCARBUROS CUTICULARES EN QUIMIOTAXONOMÍA

1.7.1 Ventajas

La utilización de hidrocarburos cuticulares como característica taxonómicamente confiable, presenta ciertas ventajas al compararse con los métodos de identificación morfológica tradicionales. Los beneficios taxonómicos que genera el uso de los hidrocarburos cuticulares son: a) variación alta de caracteres bajo selección directa, b) identificación de especies crípticas y c) aislamiento e identificación de HC mediante técnicas rápidas y no destructivas (Kather y Martin, 2012).

a) Variación alta de caracteres bajo selección directa

Los perfiles de hidrocarburos cuticulares son únicos para cada especie, esto ha sido demostrado en hormigas (Martin y Drijfhout 2009). La diferencia de HC entre una especie y otra puede estar determinada por la presencia o ausencia de un compuesto en particular, o bien en las proporciones en las que se presentan los hidrocarburos para cada especie.

Seppä y col. (2011) encontraron que la diferenciación genética de dos especies de hormigas hermanas (*Formica fusca* y *Formica lemni*), era más grande entre los individuos de la misma especie, que entre las dos especies; esto fue a pesar de que las dos especies de hormigas poseían muchas diferencias y distintos perfiles de HC. También en feromonas de insectos se ha determinado que los HC son específicos, y desempeñan un papel importante en la especiación. Un cambio en el perfil HC puede conducir a un apareamiento selectivo y aislamiento reproductivo, como se observó en dos poblaciones de *Drosophila mojavensis* (Stennett y Etges 1997; Etges 1998).

En conclusión, se puede predecir que eventos recientes de especiación y el aislamiento reproductivo se pueden ver reflejados en los perfiles de HC. Además, la variación de HC puede ser observado entre especies fácilmente antes que se manifiesten cambios morfológicos o genéticos de las especies (Kather y Martin, 2012).

b) Especies crípticas

Se conoce como especie críptica aquellas que morfológicamente son muy similares. La identificación de este tipo de especies sigue siendo un gran desafío para los taxónomos (Winston 1999). A pesar de ser morfológicamente indistinguibles, especies crípticas son fáciles de distinguir en función de sus perfiles de hidrocarburos cuticulares (Haverty y col. 1990, Page y col. 1997, Lucas y col. 2002, Martin y col. 2008). En un trabajo realizado por Kaib y col. (1991), se estudiaron cuatro especies de termitas. Se observó que los perfiles de hidrocarburos cuticulares de dos de las especies diferían en los compuestos, mientras que las otras dos especies tenían la misma composición pero variaba la cantidad entre ellos (Figura 5).

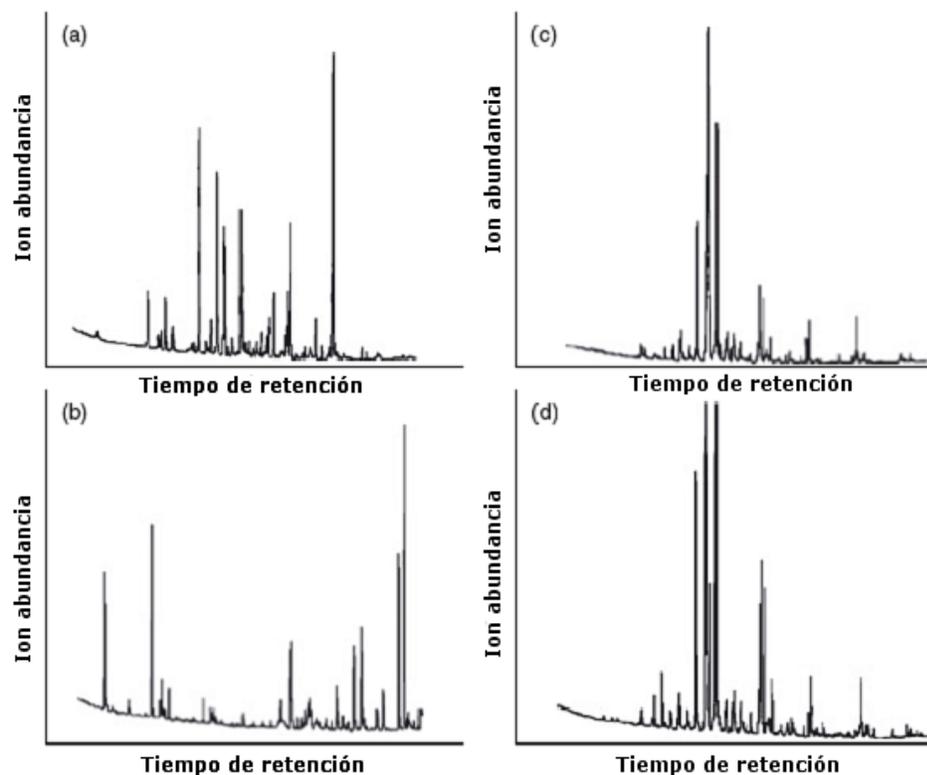


Figura 5. Variación de perfiles de hidrocarburos cuticulares (HC) de cuatro especies de termitas. (a) *Odontotermes tanganicus* difiere de (b) *Odontotermes zambesiensis* en la presencia y ausencia de compuestos de HC, mientras que (c) *Odontotermes badius* y (d) *Odontotermes kibarensis* comparten los mismos tipos de compuestos, pero éstos varían en cantidad relativa. Basado en Kaib y col. (1991).

c) Aislamiento e identificación de HC mediante técnicas rápidas y no destructivas

En estudios de insectos existen varias técnicas para el aislamiento de los HC, mediante extracción con solvente, análisis directo con muestra sólida y micro-extracción en fase sólida (MEFS).

Las muestras se pueden extraer de manera no destructiva utilizando la técnica de MEFS, donde la fibra elaborada con material absorbente y/o adsorbente se frota repetidamente en contra de la cutícula del insecto y posteriormente es analizada mediante CG-EM (Kather y Martin 2012).

La extracción de los hidrocarburos cuticulares de las muestras mediante otras técnicas como la extracción con solvente, implica generalmente el lavado de las mismas con un disolvente, tal como *n*-hexano o *n*-pentano, durante un periodo específico de tiempo (Kather y Martin 2012).

Por lo general, las muestras se analizan en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM). Con esta técnica se separan los constituyentes de las muestras de acuerdo con su afinidad con la fase estacionaria de la columna cromatográfica, y posteriormente se obtiene información estructural de los compuestos mediante EM (Gillem y col. 2012).

1.7.2 Desventajas

Los hidrocarburos cuticulares presentan limitaciones en su utilidad como herramienta taxonómica, como, por ejemplo, a) las causas de la variación intraespecífica, b) el problema en la definición de un límite en el número de hidrocarburos cuticulares que permitan la determinación de una especie y c) los problemas técnicos asociados con los hidrocarburos cuticulares (Kather y Martin 2012).

a) Causas de la variación intraespecífica

Hay factores que pueden conducir a la variación intraespecífica en los perfiles de hidrocarburos cuticulares, en función del sexo, la edad, insectos sociales, castas y el origen de la colonia (Kather y Martin 2012).

En los climas cálidos y secos, los insectos producen los alcanos de cadena larga, que son los que lo protegen de la desecación (Chapman y col. 1995, Wagner y col. 2001). Esta sensibilidad a los efectos climáticos provoca un cambio en el perfil de HC, e incluso puede llevar a cambios estacionales en la composición de HC (Haverty y col. 1996). Otro factor importante es la dieta. Algunas veces las plantas y especies que son presas contienen hidrocarburos que se presentan en la cutícula del insecto, o proteínas sin la cual los HC determinados no podían ser producidos (Espelie y col. 1994, Liang y Silverman 2000).

Seguidamente, podemos tomar en consideración otro factor de variación de los hidrocarburos cuticulares: la edad. En muchos insectos sociales con sistemas de castas, los perfiles de HC cambian con la edad. Este efecto de la edad se ha demostrado en *Drosophila* (Bartelt y col. 1986), los saltamontes (Chapman y col. 1995) y las termitas (Haverty y col. 1996). Pero incluso en insectos solitarios los perfiles de HC pueden cambiar con la edad. Así, por ejemplo, en las moscas (Bartelt y col. 2002), los saltamontes (Chapman y col. 1995) y escarabajos (Page y col. 1997), sólo los individuos maduros producen las feromonas sexuales (HC) y esto los hace químicamente diferentes de los individuos inmaduros.

Los efectos del medio ambiente o la biología, a menudo resultan en diferencias en las cantidades de los hidrocarburos, por lo que estas características pueden ser un rasgo taxonómico pobre. Por lo tanto, los taxónomos deben estar conscientes de que la cantidad de HC que producen varían y no son necesariamente especies diferentes. (Kather y Martin 2012).

b) Límite en el número de HC que determinen a una especie

El problema de encontrar un límite o un rango más allá del cual una especie puede ser clasificada como independiente es común a todas las herramientas taxonómicas (Sites y col. 2004) y los hidrocarburos cuticulares no son la excepción.

Debido a que los HC están involucrados en el apareamiento y pueden causar aislamiento reproductivo (conducta y mecanismos fisiológicos que impiden el mestizaje y el intercambio de genes entre las especies animales), un cambio visible en estos HC en la selección de pareja podría ser un primer signo de aislamiento reproductivo. Especialmente cuando las especies difieren en la presencia o ausencia de

compuestos, esto podría indicar una falta de flujo de genes, aunque la diferenciación de HC puede ocurrir potencialmente a través de la deriva genética por una **especiación alopátrica** (es una especiación por aislamiento geográfico, en el que algo extrínseco al organismo impide que dos o más grupos se apareen entre sí con regularidad y, finalmente, lleva a la especiación del linaje). Mientras las diferencias entre los grupos son consistentes, la variación intra-grupo es significativamente menor que la variación inter-grupo, esto es una buena indicación del apareamiento selectivo (selección de pareja en función de su genotipo) (Kather y Martin 2012).

Sin embargo, cuando dos grupos de individuos sólo se diferencian en las cantidades de sus HC, no es del todo cierto que pertenezcan a dos especies diferentes, sobre todo porque las cantidades de HC pueden ser influenciadas por el medio ambiente y factores biológicos discutidos anteriormente. Las pruebas basadas en las diferencias cuantitativas deben ser apoyadas por evidencia adicional para verificar el aislamiento reproductivo. Por ejemplo, Hay-Roe y col. (2007), apoyó estas conclusiones utilizando experimentos de hibridación. Debe ser puesto más énfasis en aquellos compuestos que se sabe que están o pueden estar involucrados en la comunicación, y por lo tanto actúan como una barrera reproductiva, en la especie en cuestión.

En muchos insectos, los hidrocarburos insaturado y ramificados, juegan un papel importante en el reconocimiento de sus congéneres. Estos compuestos llevan doble enlace o grupos metilo, que les dan una forma tridimensional más compleja en comparación con los hidrocarburos simples, como los *n*-alcanos. Se ha demostrado que son las formas más complejas las que hacen que sean más fáciles de detectar (Chaline et al., 2005; Dani et al., 2005). Esto no significa que los compuestos tales como *n*-alcanos deben ser excluidos del análisis *per se*, aunque los investigadores tienen que entender la función de los compuestos para llegar a una mejor conclusión (Kather y Martin 2012).

c) Problemas técnicos para la detección de HC

Los hidrocarburos de cadena larga (más de 30 átomos de carbono) requieren altos puntos de ebullición (>300 °C) para ser detectados por el CG-EM. La temperatura de funcionamiento de la columna puede representar un problema técnico. Recientemente, el uso de una columna de alta temperatura ha revelado la presencia de hidrocarburos

cuticulares de cadena larga (hasta 48 átomos de carbono), que son 17 carbonos más larga que los encontrados previamente con columnas estándar (Akino 2006).

1.8 TÉCNICAS USADAS PARA EL AISLAMIENTO Y PRECONCENTRACIÓN DE HIDROCARBUROS CUTICULARES EN INSECTOS.

1.8.1 Microextracción en fase sólida (MEFS)

Este método fue creado por Arthur y Pawliszyn (1990), consiste en poner en contacto o exponer una fibra de sílica fundida recubierta con un material absorbente a una muestra sólida, acuosa o gaseosa hasta que se establezca un equilibrio entre los analitos de la muestra y la fibra. El absorbente es químicamente inerte, estable a altas temperaturas y es reusable, con una vida útil alrededor de 100 inyecciones.

La MEFS involucra dos procesos: partición de analitos entre la capa y la muestra, y la desorción de analitos concentrados en el instrumento analítico. En el primer proceso, la capa de la fibra es expuesta a la muestra y los analitos son extraídos de la muestra matriz a la capa de fase estacionaria. Luego, la fibra con analitos concentrados es transferida al equipo para la desorción térmica (Zhang y col. 1994).

Según Señoráns (2011), la extracción con la técnica MEFS presenta las siguientes ventajas:

- Es una técnica rápida y relativamente sencilla.
- Existen diferentes fibras adsorbentes disponibles en el mercado que permiten cierta selectividad.
- Se puede acoplar fácilmente a otras técnicas de separación (GC y HPLC).
- No requiere ningún disolvente y el SPME es una técnica económica (reutilizable).

Así como también, esta técnica tiene varias desventajas:

- Está limitada a muestras líquidas o compuestos volátiles (mediante la aplicación de la técnica denominada “espacio de cabeza”).
- No permite conservar el extracto para otros análisis.

1.8.2 Extracción con solvente (Sólido-líquido)

Esta técnica consiste en extraer los componentes de una muestra mediante el contacto del solvente con la parte del cuerpo del insecto o el insecto entero. Se preparan los extractos colocando la parte del insecto en contacto con el solvente, por un periodo de 15-30 min. La eficiencia de este método depende de varios factores, tales como: el tiempo de extracción, la volatilidad, polaridad, pureza y volumen del solvente utilizado.

Los lípidos en la superficie de la cutícula se extraen con disolventes orgánicos que son relativamente permeables al agua. Los aceites vegetales, lecitina y una serie de agentes humectantes y detergentes muestran efectos muy diferentes en la permeabilidad de la cutícula al agua (Beament 1945).

El empleo directo de disolventes para la extracción de analitos de muestras medioambientales es uno de los métodos de extracción más antiguos y usados en química analítica (Dean 1998). Podemos clasificar estos métodos en dos grupos: aquellos que necesitan un aporte de calor (Soxhlet) y aquellos que no necesitan calor, pero necesitan algún tipo de agitación (agitación o sonicación).

La extracción Soxhlet fue introducida a mitades del siglo XIX y desde entonces siempre se ha considerado como método de referencia para asegurar la eficiencia de extracción de cualquier nueva metodología. Para su funcionamiento la muestra se introduce en un cartucho poroso de celulosa, que actúa como filtro, acompañada de la misma cantidad de sulfato sódico anhidro.

La extracción con Soxhlet presenta las siguientes ventajas:

- La muestra está en contacto repetidas veces con porciones frescas de disolventes.
- La extracción se realiza con el disolvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos.
- No es necesaria la filtración después de la extracción.
- La metodología empleada es muy simple.
- Es un método que no depende de la matriz.
- Se obtienen excelentes recuperaciones, existiendo gran variedad de métodos oficiales cuya etapa de preparación de muestra se basa en la extracción con Soxhlet.

Por otra parte, las desventajas más significativas de este método de extracción son:

- El tiempo requerido para la extracción, normalmente está entre 6-24 horas.
- La cantidad de disolvente orgánico (50 a 300 ml).
- La descomposición térmica de la temperatura del disolvente orgánico esta próxima a su punto de ebullición.
- No es posible la agitación del sistema, la cual podría acelerar el proceso de extracción.
- Es necesaria una etapa final de evaporación del disolvente para la concentración de los analitos.
- Esta técnica no es fácilmente automatizable.

La extracción asistida por ultrasonido (Sonicación), junto con la extracción Soxhlet son los métodos convencionales de lixiviación (proceso físico de transferencia de materia que ocurre cuando un “solvente líquido” atraviesa un “sólido” produciendo una elución de algún “componente soluble” (soluta) en dicho sólido), más utilizados.

Esta técnica utiliza ondas de ultrasonido para agitar la muestra sumergida en el disolvente orgánico. La muestra sólida se deposita en un tubo de vidrio, se añade la cantidad de disolvente y se agita con ultrasonido, y se separa por centrifugación y/o filtración el disolvente orgánico con el analito extraído.

Las ventajas de este método:

- El tiempo requerido para la extracción, normalmente de 3-60 min.
- Como la temperatura que se alcanza no es muy elevada, es adecuada para extraer analitos termolábiles que se alteran en las condiciones de extracción típicas del Soxhlet.

La extracción por este método de sonicación también tiene su desventaja:

- Se repite el proceso de extracción tres o más veces, añadiendo a cada extracción un nuevo volumen de disolvente.

1.8.3 Muestra sólida

Esta técnica permite la inyección directa del material biológico en el puerto de inyección de un Cromatógrafo de Gases (CG). El método de inyección directa de muestras

sólidas fue desarrollado por Morgan y Wadhams (1990). La muestra se sella en un capilar y los volátiles son liberados cuando éste es destruido dentro del puerto de inyección de un CG.

Una ventaja de este método es que la muestra puede ser colectada directamente en el campo, colocando en el capilar una parte del cuerpo del insecto, la glándula o la secreción que interesa estudiar, se sella el capilar y luego se traslada al laboratorio para su análisis (Jones y Oldham 1999).

Otras ventajas según Jones y Parker, 2005 de esta técnica incluyen:

- Toda la muestra es utilizada.
- No hay dilución o contaminación con disolvente.
- No hay pérdida rápida de los compuestos eluyendo.

Pero esta técnica tiene sus desventajas:

- Pueden aparecer compuestos producto de la contaminación al inyectar un capilar que se haya tomado con las manos y se pueden transferir compuestos que van a aparecer en los cromatogramas, es por eso que se requiere limpiarlos con solventes como el hexano antes del análisis.
- La acumulación de vidrio en el “solid simple” así como también en el “liner” dentro del puerto de inyección cuando se tritura en capilar, requiere que cada 3-4 inyecciones se limpie los restos de vidrio acumulado.
- Al realizarse la inyección manual, y debido a que los capilares no se rompen con la misma facilidad aun cuando han sido preparados con el mismo tipo de vidrio, genera en los cromatogramas desplazamiento en los tiempos de retención de los picos de una muestra a otra.
- El capilar al no ser de vidrio blando puede ocasionar daños en el “solid simple” y en esos casos no es posible colocar más muestra en el capilar.
- Los compuestos que se encuentran en cantidades cercanas al límite de detección del equipo, podrían estar enmascarados por el aumento de la señal base del detector.

- Las inyecciones se hacen de manera manual y eso en comparación con las otras consume más tiempo ya que en el caso de inyección líquida, cuando prepararas extractos puedes usar el muestreo automático.

Por otro lado, las partículas de vidrio del capilar pueden reaccionar con algunos compuestos polares, tales como ácidos grasos, por lo que es necesaria una limpieza de la conexión entre el inyector y la entrada de la columna antes de cada inyección. Además, existe evidencia de que compuestos como los ácidos carboxílicos, son absorbidos en las partículas de vidrio y en la lana de vidrio colocada en la entrada de la columna, por lo que no resulta recomendable utilizar esta técnica en el análisis cuantitativo de muestras que presenten este tipo de compuestos (Maile y col. 1998).

1.9 MÉTODOS PARA LA SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HIDROCARBUROS CUTICULARES

1.9.1 Cromatografía de gases – espectrometría de masas

La espectrometría de masas es sin duda la técnica analítica instrumental más útil y completa que existe hoy en día, al ser rápida, universal y tremendamente específica, presentando una excelente capacidad de identificación y cuantificación. Esta técnica también proporciona información estructural de moléculas orgánicas, que nos ayuda a su correcta identificación.

El acoplamiento entre cromatografía de gases y espectrometría de masas, introducido por primera vez por Golhke en 1959 (Golhke1959), combina la cromatografía de gases que produce la separación de muestras complejas y la espectrometría de masas, que proporciona información estructural de los analitos que eluyen, estén separados o no de otros componentes de la matriz de la muestra. La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas es la técnica más usada hoy en día para la determinación de compuestos volátiles en muestras ambientales (Santos 2003).

El gran desarrollo de la microelectrónica en las últimas décadas, ha permitido la fabricación de sistemas GC-MS de baja resolución con un costo moderado y de manejo

muy simple, que permite el empleo de esta técnica en laboratorios de rutina. Las limitaciones que presentan estos equipos para su uso cotidiano son: posee un reducido rango de masas de trabajo (hasta 600-1000 uma) y la falta de versatilidad en el uso de distintas técnicas de ionización. Por otro lado, los equipos de alta resolución no sólo presentan un elevado costo, difícil de asumir por un laboratorio de análisis convencional, sino que además requieren de unas instalaciones y un mantenimiento mucho más complejo (Esteban 1993).

Un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas consta de las siguientes partes, esquematizadas en la Figura 6:

- Cromatógrafo: Separa los distintos componentes de la muestra, con el consiguiente aislamiento del analito del resto de la matriz.
- Interfase: es la unión entre cromatógrafo y espectrómetro, por la que se introduce la muestra al espectrómetro de masas.
- Sistema de vacío: mantener un vacío del orden de 10^{-6} torr es esencial para el buen funcionamiento del equipo.
- Ionización: es el lugar donde se ioniza la muestra.
- Analizador: los iones previamente formados se separan según sus valores de m/z.
- Electrónica: un estricto control electrónico de todas las partes constituyentes del equipo es imprescindible.

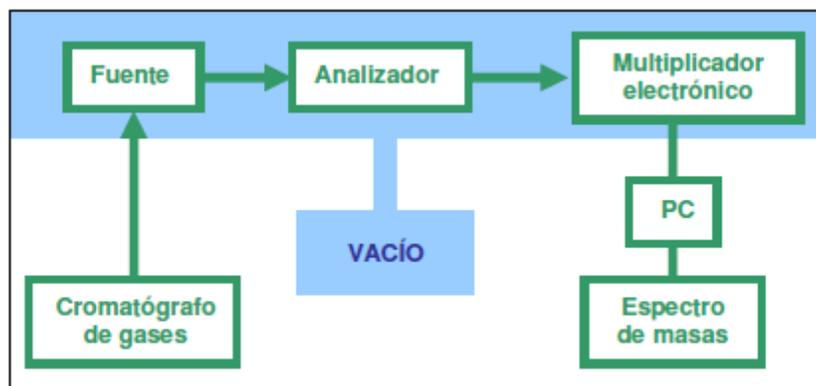


Figura 6. Esquema de un cromatógrafo de gases (CG) acoplado a un espectrómetro de masas (EM).

La conectividad entre éstas técnicas se consigue fácilmente gracias a que ambas trabajan en fase gaseosa y requieren una cantidad muy pequeña de muestra para realizar el análisis. La interfase debe transferir cuantitativamente todo el analito y reducir el flujo de gas portador para obtener un vacío apropiado para que pueda operar el espectrómetro de masas. El único obstáculo que presenta este acoplamiento directo es la diferencia de presiones entre: atmosférica a la salida de la columna y un alto vacío a la entrada del espectrómetro de masas, pero se solventa con el empleo de columnas capilares que al requerir flujos de gas portador de solo 1-2 ml/min, son tolerados perfectamente por el espectrómetro de masas. El gas portador a emplear debe ser fácilmente eliminable de la fuente iónica y no debe reaccionar con la muestra ni interferir en su espectro, siendo Helio el más frecuentemente empleado.

1.9.2 Índices de retención

La identificación de algunos componentes por CG-EM a veces no es posible, pues algunos compuestos se encuentran en cantidades ínfimas (en el orden de los ng), o bien generan espectros similares, no siempre fáciles de interpretar, y en el caso de isómeros estructurales proveen poca información. Por lo tanto, una alternativa ha sido el uso de los Índices de Retención en CG, comparando el índice de retención del compuesto desconocido con patrones de los posibles compuestos, en dos o más columnas cromatográficas con fases estacionarias de diferente polaridad, esto reduce las posibles estructuras que corresponde al compuesto observado en la muestra. En el caso que no se disponga en el laboratorio los estándares para realizar esta comparación, se recurre a tablas de Índices de Retención publicadas en la literatura, siempre tomando en consideración las condiciones bajo las cuales se ha llevado a cabo el análisis.

El sistema de índices de retención fue introducido por Kováts (1958), siendo el parámetro práctico más aceptado para la caracterización de la retención de solutos. Este parámetro expresa la retención relativa de un compuesto con respecto a sus homólogos *n*-alcanos examinados bajo las mismas condiciones experimentales. El índice de retención de un compuesto en particular es definido como el número de carbono por 100 de un *n*-alcano hipotético que ha dado exactamente el mismo valor de retención del compuesto de interés medido bajo condiciones idénticas (Kováts 1958).

La ecuación (1), constituye la definición dada por Kováts (1965), expresada considerando el tiempo de retención ajustado (tr'), el cual está dado por la diferencia entre el tiempo de retención neto de un compuesto (tr) y el tiempo muerto (t_M); y utiliza los tr' de n -alcanos consecutivos:

$$I_X = 100n + 100 \frac{\log tr'_x - \log tr'_n}{\log tr'_{n+1} - \log tr'_n} \quad (1)$$

Donde tr'_x , tr'_n y tr'_{n+1} son los tiempos de retención ajustados del analito y de los n -alcanos que poseen n y $n+1$ átomos de carbono.

Los índices de retención de los n -alcanos usados como compuestos de referencia son por definición igual a $100n$ para cualquier fase estacionaria y a cualquier temperatura de columna. Con este método, la retención relativa de una sustancia no está referida a un simple compuesto, sino que está dada en relación a los términos obtenidos por los miembros de una serie de referencia homóloga, así pues, al tener tiempos de retención cercanos al compuesto de interés se minimizan los errores en estas medidas.

La ecuación antes descrita está basada en la relación existente entre la retención ajustada y el número de átomos de carbono para los miembros de una serie homóloga, como se muestra en la ecuación (2), que representa una línea recta:

$$\log tr'_n = a + bn \quad (2)$$

Donde n es el número de átomos de carbono y a y b son constantes.

La curva de los n -alcanos, por lo general, se ajusta a la ecuación (2), es decir es lineal, excepto para los primeros siete miembros de la serie homóloga. La razón es que los n -alcanos de bajo número de átomos de carbono, específicamente los primeros seis miembros de la serie homóloga, contienen diferentes tipos de enlaces individuales e interactúan de formas diferentes con la fase estacionaria. La desviación de la linealidad decrece del metano al hexano. La relación lineal empieza a partir de C_7 , desde el cual, cada molécula de alcano contiene el mismo tipo de enlace y difieren entre sí sólo en el número de enlaces. (Ver Figura 7).

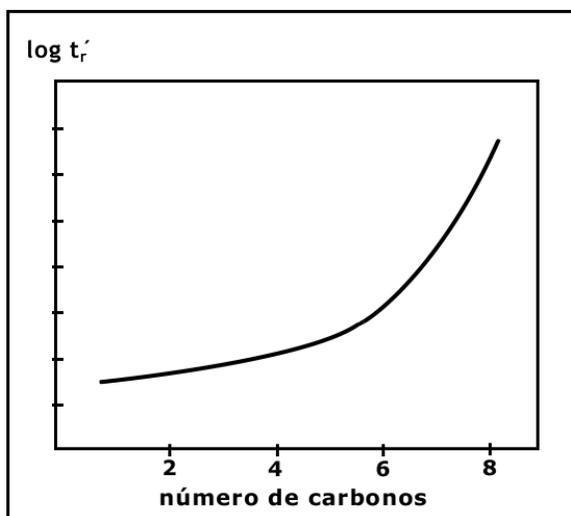


Figura 7. Gráfico de $\log t_r'$ vs el número de átomos de carbono de la molécula para la serie homóloga de *n*-alcanos (Fuente: Kováts 1965).

La pendiente y el intercepto son obtenidos aplicando el método de mínimos cuadrados para los valores de retención de los *n*-alcanos. La interpolación matemática de la línea recta es también usada para el cálculo del índice de retención. Una estricta aplicación de la ecuación 1 reduce los efectos observados por la curvatura del gráfico t_{r_z} vs *n*, de manera que esta curvatura puede considerarse como insignificante para dos o tres términos contiguos de la serie homóloga.

Solamente un valor de índice de retención puede corresponder a una estructura química particular bajo condiciones determinadas, sin embargo, lo contrario de esta afirmación no es cierto; varias estructuras químicas pueden corresponder a un mismo índice de retención dadas ciertas condiciones. Así mismo, en la identificación o eliminación de un pico con la ayuda de los índices de retención, una determinación simple (sobre una columna a una determinada temperatura) no es suficiente, tal es el caso de los índices de retención de isómeros los cuales suelen ser muy similares. Un grupo de índices de retención, particularmente determinados sobre dos o más columnas de diferente polaridad, pueden al menos reducir los compuestos posibles a unas pocas estructuras (Marques y col. 2000).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 OBJETIVOS

General

- Identificar, determinar la dinámica de colonización y caracterizar hidrocarburos cuticulares de dípteros de interés forense, en cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.).

Específicos

- Identificar dípteros y otros artrópodos asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.), utilizando taxonomía clásica.
- Determinar la dinámica de colonización de los dípteros y otros artrópodos en las distintas etapas de descomposición de los cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.).
- Analizar e identificar los hidrocarburos cuticulares presentes en dípteros que colonizan cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.).
- Determinar la aplicabilidad del uso de los hidrocarburos cuticulares para la identificación taxonómica de las especies de dípteros, asociados a los cuerpos de cerdos en descomposición.

2.2 JUSTIFICACIÓN

Los dípteros son insectos megadiversos y algunas de sus especies son cosmopolitas. Posee varias familias cuyas especies son de interés forense, ya que son excelentes indicadores para la determinación del IPM a través del estudio sobre su desarrollo.

Algunos trabajos preliminares se han realizado en el país utilizando una variedad de modelos biológicos de experimentación, con el fin de conocer la diversidad de insectos asociados; sin embargo, es necesario diseñar otros experimentos alternativos para el estudio de estos insectos necrófagos, conocer la fauna asociada a distintos ambientes y zonas de trabajo, su dinámica de colonización y crear una base de datos con las especies asociadas a las distintas regiones y su variación temporal.

Una alternativa de estudio cuya efectividad ha sido comprobada para conocer sobre la diversidad de especies de dípteros asociados a los cadáveres y su dinámica de colonización, lo constituye el uso de cadáveres de cerdos como modelo biológico de experimentación. El estudio de los insectos en cadáveres de cerdo ha sido de gran interés al ser éste un excelente modelo por sus características fisiológicas parecidas a los seres humanos. La identificación de las especies asociadas a cerdos en descomposición es posible mediante el uso de claves taxonómicas, así como también mediante análisis quimiotaxonómicos de los hidrocarburos cuticulares presentes en los insectos. Esta última técnica permite contribuir al desarrollo de la entomología forense en el país al contar con una nueva herramienta de identificación de posibles especies crípticas que se puedan presentar en el trabajo.

El análisis de los hidrocarburos cuticulares, compuestos presentes comúnmente en los insectos, ha demostrado ser de gran utilidad en la identificación de las especies, pues se presentan diferencias en la composición y la abundancia, pudiendo de tal modo diferenciarse por los componentes que lo constituyen. Soto y col. (2011) en su investigación encontraron diferencias en la composición química en las cutículas de dos especies de ácaros, *Tetranychus urticae* y *Tetranychus evansi*.

La identificación de los componentes de los HC de los insectos encontrados en cadáveres en descomposición permitirá posteriormente crear una base de datos para las especies analizadas y así puedan ser empleados, junto a claves taxonómicas, como aspectos característicos de las especies, haciendo de tal manera más fácil, segura y rápida la identificación.

3.1 Insectos y su asociación a cadáveres

El primer caso documentado de entomología forense fue tras la muerte de Sung TEU en el siglo XIII, en el que se describe un caso de apuñalamiento. El investigador hizo colocar a todos los trabajadores sus herramientas de trabajo (hoz) en el suelo, en una de ellas, tras los rastros invisibles de la sangre, se posaron moscas sobre dicho instrumento. Posterior a ese acontecimiento el mismo dueño confesó su delito. En los siglos XVIII y XIX, durante las exhumaciones en Francia, los médicos observaron la presencia de artrópodos habitando en los cuerpos enterrados.

El doctor Jean Pierre Mégnin comenzó a desarrollar su teoría de las olas de vida de los insectos en los cadáveres, publicando en 1894 su libro más importante “La faune des Cadáveres”, en el mismo expuso que los insectos asociados a los cadáveres están presentes en ocho oleadas de sucesión. Además de avanzar en la ciencia de la entomología forense, contribuyó al conocimiento de la fauna de artrópodos de las tumbas, la fauna y la flora general de los cuerpos momificados.

Inspirados por Mégnin, en 1895 los investigadores canadienses Wyatt Johnston y Geoffrey Villeneuve, comenzaron una serie de estudios sistemáticos sobre la entomología forense en seres humanos.

En los años 1899 y 1900, el médico forense Eduard Ritter von Niezabitowski, del Instituto de Medicina Legal de la Universidad de Cracovia, realizó experimentos utilizando fetos abortados y cadáveres de otros animales, como perros, gatos, zorros y ratas. Sus observaciones describen la presencia de las moscas Califóridas: *Lucilia caesar*, *Sarcophaga carnaria* y *Piophilina nigriceps* y Coleópteros como *Silpha* y *Dermestes*. Su importante contribución en el campo experimental demuestra que cadáveres humanos comparten la misma fauna de cadáveres animales, vertebrados e invertebrados (Niezabiotwski 1902).

Entre los años 1960 y mediados de 1980, la entomología forense se mantuvo principalmente por médicos como el doctor Marcel Leclecq (Bélgica) y el profesor de biología Pekka Nuorteva (Finlandia). Nuorteva trabajaba principalmente con la ecología y sinantropía de las moscas, su trabajo no es dedicado exclusivamente a la entomología

forense.

Desde entonces, la investigación básica y la aplicación avanzada de la entomología forense en los EE.UU, Rusia, Canadá, Francia y Japón, así como trabajos en otros países como Inglaterra y la India, han abierto el camino a que sean tareas de rutina. Por ahora, los investigadores de todo el mundo utilizan la entomología en la investigación criminal incluyendo el asesinato y otros casos de alto perfil.

Son varios los trabajos que recientemente se han realizado sobre la Entomología Forense. En España, Castillo (2001) se encargó de estudiar los artrópodos presentes en carroña de cerdos en la comarca de La Litera (Huesca), en las que recolectaron artrópodos pertenecientes a ocho órdenes distintos, de los que identificaron 273 taxones de 73 familias.

Magaña (2001), en su trabajo “*La entomología forense y su aplicación a la medicina legal. Data de muerte*”, detalla la valiosa ayuda de esta ciencia para fijar la data de la muerte en ciertos casos, así como otros aspectos relacionados con las circunstancias de la muerte y el lugar de los hechos.

Así mismo en España, García-Rojo (2004) realizó un estudio de la sucesión de insectos en cadáveres de cerdos en Alcalá de Henares, en primavera. Utilizando tres cerdos como modelo animal para la investigación, en un área peri-urbana, estableció la sucesión de insectos que invaden a dichos cadáveres, elaborando una base de datos con las especies de interés forense capturadas, siendo de gran utilidad para la estimación del intervalo postmortem. Encontró que especies como *Lucilia sericata* y *Calliphora vicina*, fueron las colonizadoras primarias del recurso y los dípteros adultos de las especies *Chrysomya albiceps* y la familia Sarcophagidae accedieron a los cadáveres como colonizadores secundarios.

Pellitero y Saloña-Bordas (2007), presentan los primeros resultados de califóridos (Diptera, Calliphoridae) de interés forense recogidos en el entorno universitario del campus de Leioa (Vizcaya, España). Empleando trampas con riñón de cerdos como sustrato, identificaron un total de tres géneros y nueve especies, destacando la abundancia de *Calliphora vicina* (28 %) y *Lucilia caesar* (33 %), constituyendo entre ambas más de la mitad del total de ejemplares identificados y siendo *C. vicina* la especie más abundante en los meses invernales, mientras que *L. caesar* alcanzó su máxima población en los meses pertenecientes al periodo estival (clima cálido).

En Latinoamérica los estudios sobre entomología forense comienzan a ser más abundantes a partir del nuevo milenio. Por ejemplo, Carvalho y col. (2004) realizaron un estudio de observación de la sucesión de insectos necrófagos en cadáveres de cerdos en un área urbana en Brasil. Colocaron cadáveres de cerdos expuestos a condiciones naturales en un bosque en Sao Paulo; 4 familias de 36 recolectadas fueron consideradas de interés forense, entre esas: Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae (Diptera) y Dermestidae (Coleoptera).

Por su parte, Oliveira y Mello-Patiu (2004) estudiaron la aplicación de la entomología forense en la estimación del intervalo postmortem en investigaciones de homicidios, realizadas por el Departamento de Policía de Río de Janeiro, en Brasil. En dos casos la estimación del IPM fue basado en la biología de *Chrysomya megacephala* y *Cochliomyia macellaria*.

En Costa Rica, Calderon y col. (2005) estudiaron la sucesión de larvas de muscoideos durante la degradación cadavérica de 3 conejos “New Zeland” en un bosque premontano húmedo tropical. Esto les permitió establecer que existe una variación en la composición de la entomofauna asociada a las fases de la descomposición; también describen que las especies de la familia Calliphoridae fueron buenos indicadores de la fase coagulativa.

En el mismo año, se realizó una determinación de la entomofauna asociada a cadáveres de tres cerdos vestidos (prendas de vestir), en el puerto de Vacamonte, en Panamá. Garcés y col. (2004) registraron cuatro estados de descomposición y un total de 50 especies, incluidas en 28 géneros y 8 órdenes. Los dípteros de la familia Calliphoridae: *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya rufifacies* y *C. megacephala*, y los Sarcophagidae: *Peckia gulo* y *P. intermutans* fueron los primeros en arribar sobre los cadáveres.

Horenstein y col. (2005), desarrollaron un estudio preliminar de la comunidad de artrópodos entomosarcosaprófagos, en Argentina. Empleando como dispositivos de recolecta una trampa de Schoenly modificada, cebada con un cadáver de ave, recolectaron un total de 3427 artrópodos adultos y 456 inmaduros, identificando como díptero primario a la especie *Phaenicia sericata*; *Chrysomya albiceps* mostró una distribución típica de díptero secundario

Yusseff (2006) analiza los insectos en la escena del crimen, indicando, además, que en Colombia son pocos los trabajos sobre el área de la entomología forense.

Oliva (2007) realizó un estudio de la frecuencia y la distribución temporal de moscas cadavéricas (Diptera) en la ciudad de Buenos Aires, con un total de 407 peritajes entre los años 1995-2005, confirmando la predominancia de *Calliphora vicina* desde otoño hasta la primavera y de *P. sericata* en verano.

En un trabajo sobre insectos de interés forense de Buenos Aires (Argentina) realizado por Oliva (2004) con muestras obtenidas de pericias entomológicas y en un curso de cría de insectos en dicho país, obtuvo datos sobre tres especies relacionadas con la sucesión faunística cadavérica. Ofreciendo por primera vez tiempos de desarrollo para *Spiniphora bergenstammi* y *Puliciphora rufipes* y *Megaselia scalaris*.

En el año 2001, Oliva, en su trabajo “Insectos de importancia forense en Argentina”, haciendo muestras de experticias forenses y utilizando trampas con cebos de carne de res, mostró que las especies que dominan (*Calliphora vicina* y *Phaenicia sericata*) presentaron diferencias en el comportamiento en cada zona latitudinal. Las moscas *Cochliomyia macellaria* y *Chysomya albiceps*, fueron encontradas en el interior de cadáveres y en cuerpos al aire libre, así como también asociados otros insectos entre los que se destacan Dermestidos y Silfidios (Coleoptera).

Carvalho y Mello-Patiu (2008) ofrecen una clave para dípteros adultos de interés forense en América del Sur. Fue realizada para 12 familias de dípteros cuyas especies fueron encontradas en cuerpos humanos.

Buenaventura y col. (2009) estudiaron los Sarcophagidae (Diptera) de importancia forense en Colombia, realizando claves taxonómicas, notas sobre su biología y distribución. A través del estudio con tejidos de cerdos y humanos en descomposición lograron identificar 16 géneros asociados.

Aballay y col. (2011) realizaron un estudio sobre Sarcophagidae (Diptera) de importancia forense en la puna de Catamarca, Argentina, utilizando cadáveres de cerdos dispuestos en sol y sombra; recolectaron 597 individuos pertenecientes a 5 especies de Sarcophagidae. Así mismo, determinaron que la ovoviviparidad representa una ventaja en condiciones de extrema aridez.

Beltrán y Villa (2011), desarrollaron un estudio de la sucesión de insectos en seis cadáveres de ratas en un bosque húmedo Premontano, en Colombia. Encontraron que la especie *Lucilia peruvianase* constituyó una de las especies colonizadoras y una de las más abundantes y *Lucilia eximia*, presentó el mayor número de individuos. Corroboraron el

patrón sucesional en los insectos, con los órdenes que se presentaron y el tiempo de aparición de cada una de las especies.

Amat y col. (2013) estudiaron la variación temporal de la abundancia en familias de moscas carroñeras (Diptera: Calyptratae) en un valle andino antropizado de Colombia. Utilizando trampas Van Someren-Rydon cebadas con vísceras de pollo y cabezas de pescado, encontraron un total de 33834 moscas, representando a las familias Calliphoridae (39 %), Sarcophagidae (23 %), Fanniidae (18 %), Muscidae (16 %) y otras (4 %).

Son pocos los trabajos realizados en Venezuela, relacionados a la Entomología Forense. Uno de los primeros fue realizado por Marváres-Cardozo y col (2005), quienes realizaron una investigación y revisión sobre la entomología forense en el neotrópico. Haciendo una recopilación bibliográfica y comparando los resultados con los obtenidos con cadáveres de pequeños mamíferos en el estado Zulia (Venezuela), concluyen que *Chrysomya* sp., fue la especie dominante sobre los otros dípteros. Posteriormente, Liria (2006) realiza un estudio de los insectos de importancia forense en cadáveres de ratas de laboratorio, en Carabobo, Venezuela. Encontró que el orden Diptera fue el más abundante, representado por un (94,2 %) seguido por Coleoptera e Hymenoptera (0,2 %).

Magaña y col. (2006) realizaron un estudio preliminar de la fauna de insectos asociada a cadáveres de ratas albinas y conejos, en Maracay, Venezuela. Encontraron que estaba conformada principalmente por dípteros (Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae) y coleópteros (Dermestidae y Cleridae).

Vásquez y Liria (2012), realizaron un estudio de la morfometría geométrica alar para la identificación de dos especies de importancia forense como lo son *Chrysomya albiceps* y *C. megacephala*, pertenecientes al orden Diptera y familia Calliphoridae. Fotografiaron 168 alas de *C. albiceps* (n= 11) y *C. megacephala* (n= 57) y registraron configuraciones de coordenadas (x,y). El análisis estadístico encontró diferencias en el tamaño isométrico del ala, encontrando que las principales diferencias entre ambas especies: ruptura de la subcosta, unión de R2+3 con el borde del ala, entre otras características, que confirma que la morfometría alar es una herramienta idónea en la discriminación de especies de Calliphoridae.

Núñez y Liria (2014), utilizando vísceras de res, efectuaron recientemente un estudio sobre la secuencia sucesional de especies de importancia forense en el estado Carabobo (Venezuela). Obtuvieron 127 individuos adultos de Diptera pertenecientes a las

familias Calliphoridae (67,9 %) (*Chrysomya megacephala*, *C. albiceps*, *Lucilia cuprina* *Cochliomyia macellaria*), Muscidae (23,1 %), Piophilidae (5,3 %) y Sarcophagidae (3,7 %), además de 7 ejemplares de Coleoptera pertenecientes a las familias Dermestidae (*Dermestes maculatus*) y Cleridae (*Necrobia rufipes*).

3.2 Hidrocarburos cuticulares en insectos

El estudio de los Hidrocarburos Cuticulares en insectos ha sido estudiado hace ya algún tiempo, un ejemplo es el caso de Bagnères y Morgan (1990), quienes diseñaron un método sencillo para el análisis de los hidrocarburos cuticulares de cinco especies de hormigas (*Formica selysi*, *Manica rubida* y *Myrmica rubra*), un adulto de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), y una especie de díptero adulto de *Calliphora vomitoria* (Diptera: Calliphoridae). Introduciendo las muestras en capilares de vidrio y analizados utilizando un cromatógrafo de gases acoplado con un espectrómetro de masas, encontraron que para las cinco especies estudiadas, las mismas mezclas de hidrocarburos se encuentran en todas las partes del cuerpo, estos principios aplican tanto para los insectos sociales y no sociales de los tres órdenes estudiados.

Roux y col. (2008), realizaron un estudio ontogenético de tres califóridos de importancia forense a través del análisis de los hidrocarburos cuticulares. Las especies *Calliphora vomitoria*, *Calliphora vicina* y *Protophormia terraenovae*, fueron analizadas por cromatografía de gases, examinando estados desde huevo, hasta adultos mayores. Los perfiles de hidrocarburos revelaron que los alcanos lineales impares dominan en las tres especies. Mediante un análisis discriminante de los perfiles de hidrocarburos, se muestra una clara diferencia entre los diferentes estados. Por medio de este estudio pudieron concluir que el IPM puede ser determinado por la composición de hidrocarburos cuticulares en la cutícula de los dípteros de la familia Calliphoridae en situaciones forenses.

Por su parte Kather y col., (2012), desarrollaron una descripción sobre los perfiles de hidrocarburos cuticulares como una herramienta taxonómica. Esta revisión resume no solo cómo los taxónomos pueden diferenciar especies basándose en los perfiles de hidrocarburos, sino el incentivo para el uso de la composición de hidrocarburos cuticulares como una herramienta de uso taxonómico. Expone las ventajas respecto a la identificación

de especies crípticas y los primeros signos de aislamiento reproductivo, dando ejemplo de los estudios de taxonomía, el comportamiento y la biosíntesis. Así como también los posibles problemas causados por efectos ambientales, la variación intraespecífica en los perfiles y sugerencias en cuanto a su prevención.

Motivados por los trabajos realizados en esta área, y al ver que no está muy desarrollada en el país, decidimos llevar a cabo este proyecto con la idea de incrementar los conocimientos de los insectos asociados a cuerpos en descomposición, utilizando cerdos como modelo biológico de experimentación, así como también el estudio del análisis de los hidrocarburos cuticulares de los dípteros como una posible técnica de identificación de insectos de interés forense.

4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

4.1.1 Zona de estudio

La parte experimental se realizó en una Finca de 9ha, parcela La Conejera, ubicada en el sector Paragua, Colonia Mendoza, municipio Tomás Lander, Ocumare del Tuy, estado Miranda, Venezuela (Figura 8a). Con coordenadas $10^{\circ}05'55.98''\text{N}$ y $66^{\circ}49'25'.66''\text{O}$, altitud de 455 m.s.n.m., precipitación total anual de 1200 mm, una temperatura máxima media anual de 30°C , una temperatura mínima media anual de 18°C , resultando en una temperatura media anual de 24°C . Los ensayos fueron realizados en un terreno que tiene 15° de inclinación (Figura 8b), donde fueron colocadas las jaulas separadas a una distancia de 5 m entre ellas (Fig. 10), que contaba con un tipo de vegetación, según Holdridge (1967), de bosque deciduo, presentando una asociación matorral herbazal. Al terreno dispuesto para la instalación de las jaulas, se le realizó una limpieza dejándolo desprovisto de vegetación, esto con el fin de mantener todas las jaulas bajo las mismas condiciones de incidencia de luz y oscuridad (Figs. 8b y 10).

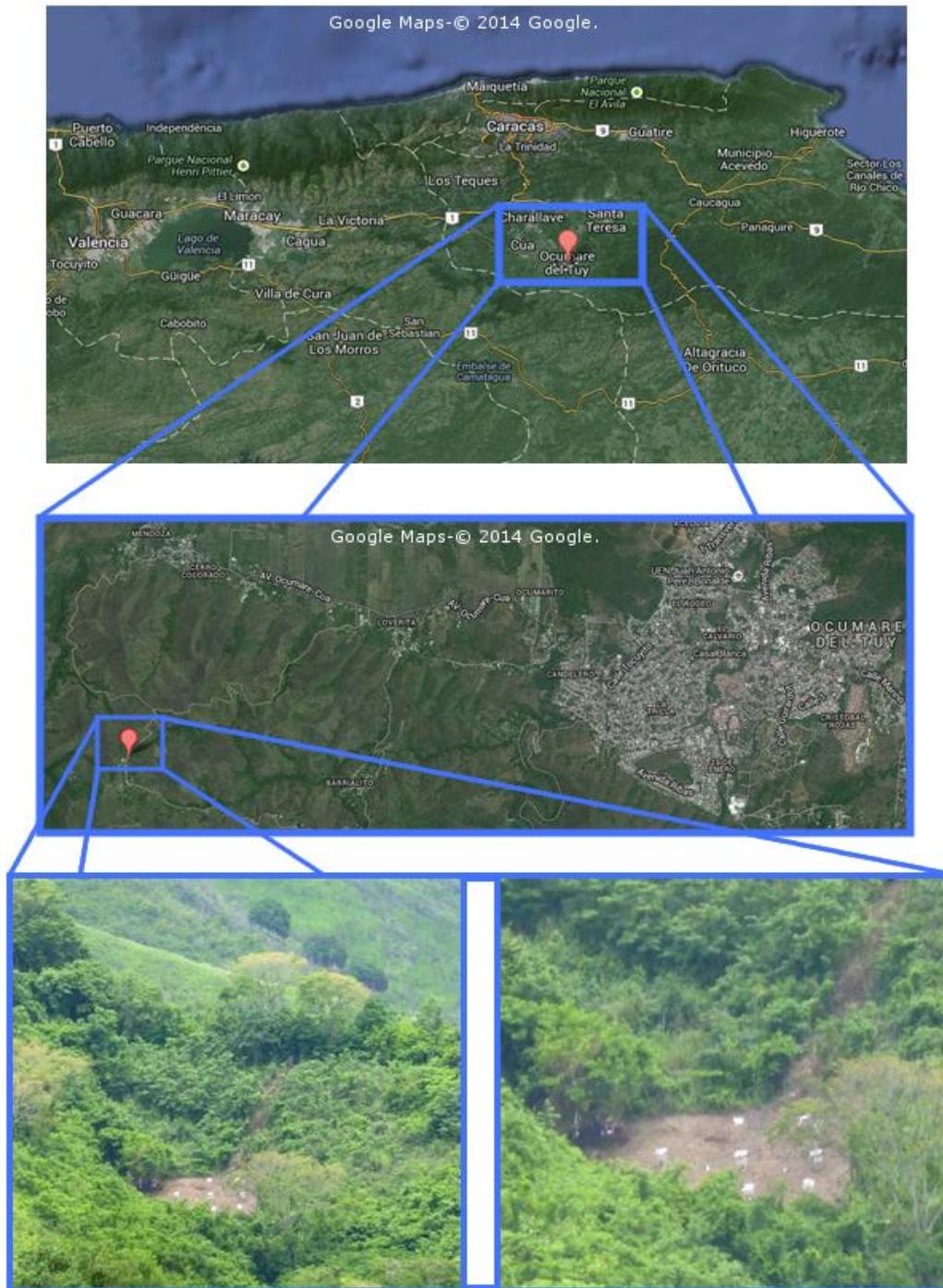


Figura 8. Zona de estudio a) Vista satelital del sitio de muestreo. Imagen tomada y modificada de Google Maps-© 2014 Google. b) Vista aérea de la disposición de las jaulas en el entorno paisajístico.

4.1.2 Modelo biológico de experimentación

Se emplearon como modelos experimentales, 15 cerdos domésticos *Sus scrofa* Linnaeus con pesos entre 4,0 Kg y 10,4 Kg, obtenidos de una empresa beneficiadora de cerdos. Los cerdos se sacrificaron mediante una técnica de traumatismo contundente y posteriormente los cerdos se colocaron en posición lateral en sus respectivas jaulas lo más rápido posible para disminuir el marco de tiempo entre las muertes de los animales. La recolecta de los insectos en los cuerpos comenzó a las 24 h posteriores a la muerte de los cerdos y concluyó a los 15 días posteriores, correspondiente al número de cerdos evaluados.

Los trabajadores de la finca se encargaron de sacrificar a los cerdos. Para cada cerdo se registro el peso, longitud y temperatura corporal externa antes de introducirlos en las jaulas ispuetas en el terreno mediante un termómetro digital Black & Decker modelo TLD100 (Tabla 2).

Tabla 2. Registro de peso, longitud y temperatura externa de los cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.) una vez sacrificados.

Día	Peso (Kg)	Longitud (Cm)	Temperatura externa (°C)
1	4	45	38,1
2	4,02	47	36,6
3	4,25	51	37,6
4	4,48	52	37,8
5	4,56	48	36,7
6	4,7	52	35,2
7	4,97	52	38,3
8	5,46	55	36,7
9	5,78	55	36
10	7,22	63	35,1
11	7,96	55	36,2
12	8,29	67	36,8
13	8,71	67	36,7
14	9,24	66	35,5
15	10,38	67	32,5

4.1.3 Diseño de las jaulas

Las jaulas utilizadas para porteger a los cadáveres de posibles carroñeros vertebrados se contruyeron con madera y mallas metálicas de 1 m largo x 0,5 m ancho x 0,5 m alto (Figuras 9 y 10).

Debido a las condiciones de lluvia durante las fechas de trabajo, para proteger a las especies asociadas al cadáver y la posible pérdida del material, sobre dichas jaulas fueron colocados techos de plástico, sujetos al suelo por medio de dos estacas.

Las jaulas se encontraban separadas una distancia de 5m entre ellas, distribuidas a lo largo del terreno de arriba hacia abajo en el sentido de la pendiente formando líneas horizontales; 2 jaulas en la primera línea, 3 jaulas en la segunda línea, 4 jaulas en la tercera línea, 3 jaulas en la cuarta línea y finalmente 2 jaulas en la quinta y última línea (Figura 10).



Figura 9. Diseño de las jaulas para experimentación.



Figura 10. Disposición de las jaulas con los cerdos en el campo.

4.2 RECOLECTA DE ESPECÍMENES

La recolecta de los insectos se efectuó diariamente como un muestreo sin reemplazo, en donde cada cerdo representó un día de experimentación, con un total de 15 cerdos correspondientes a los respectivos 15 días del desarrollo del trabajo. De esta manera la recolecta de los insectos en un cerdo no afectó la secuencia de la experimentación, al no haber modificación de los otros cadáveres. Con este método se evitó modificar el microambiente que representa cada cadáver, así como el desarrollo de los insectos que lo colonizan.

Los muestreos en campo se iniciaron el 15 de Junio del año 2013 y se continuaron durante los 15 días posteriores. Las recolectas del material biológico se realizaron cada día, entre la 13:00 y 16:00 horas.

Siguiendo el protocolo previamente establecido, al llegar a la zona de trabajo y antes de proceder a los muestreos, se tomaron los datos diarios de temperatura ambiente y humedad relativa, mediante un termohigrómetro digital con sonda marca *Minipa* modelo MT-242, la precipitación mediante un pluviómetro casero diseñado con un envase de plástico y un embudo con una boquilla de 9cm de diámetro , el volumen fue medido

mediante un cilindro graduado; seguidamente se tomaron notas sobre la nubosidad o cualquier otra incidencia, así como también se realizaron registros fotográficos utilizando una cámara digital.

Posteriormente se realizaron las capturas de los artrópodos voladores mediante el empleo de mallas entomológicas. La recolecta se centró específicamente en ejemplares del orden Diptera, no obstante se realizaron la capturas de otros grupos cuya presencia en los cadáveres pudieran ofrecer información adicional. Previamente se retiraba el techo y la jaula que cubría al cerdo a muestrear, y se ubicaron en un sector del terreno alejado del resto de las jaulas. La abertura de la malla entomológica se colocó sobre el cadáver para que las moscas subieran solas. Los individuos capturados se colocaron en bolsas plásticas aireadas y se mantuvieron bajo refrigeración para su posterior determinación taxonómica (Figura 11a).

Posteriormente se procedió a registrar el estado de descomposición y la temperatura externa del cadáver, mediante un termómetro digital Black & Decker modelo TLD100, así como el de las masas larvianas en los estados en los que estuvieran presentes, mediante un termómetro de mercurio de hasta 250 °C.

Las larvas de Diptera y Coleoptera, se recolectaron con pinzas entomológicas, cucharillas y pinceles (Figura 11b). Los ejemplares fueron colocados en envases de plástico y como sustrato alimentario se adicionaron restos del cadáver del cerdo, y fueron trasladados al laboratorio para la cría.

Los adultos recién emergidos fueron capturados manualmente empleando pinzas entomológicas. Finalmente, la recolección de las pupas se realizó cavando con una pala de jardinero a una profundidad entre 5-10 cm debajo del cadáver y alrededor del mismo, y luego fueron colocadas en los envases dispuestos para la cría, con orificios en la parte superior que permitían la entrada de aire a su interior.

También se recogieron muestras de tierra de la zona situada debajo del cuerpo muerto para poder recolectar la fauna presente. Todas estas muestras se recogieron diariamente a los fines de establecer el momento de colonización y la presencia de los distintos grupos de artrópodos en el cadáver.



Figura 11. Recolecta y captura de insectos a) Captura de dípteros adultos. b) Recolecta de inmaduros del cadáver.

Parte de las larvas recolectadas del cadáver fueron hervidas durante 1-3 min y posteriormente colocadas en envases con Etanol al 70 %; esta operación resulta ser importante para evitar la retracción del tejido larvario y el oscurecimiento de los ejemplares y favorece su identificación taxonómica. La otra parte de larvas se crió hasta la obtención de los adultos. La cría de estas se realizó mediante el empleo de cámaras de cría caseras (Figura 12a y b) utilizando envases plásticos de 26 oz. Dichos envases contenían en su parte interior una base de aserrín (3-4 cm), que proporcionó un espacio para la migración de las larvas para su pupación. Sobre la mencionada base estaba dispuesto un “saco” o bolsa de aluminio que contenía el alimento para las larvas. Finalmente, para permitir la entrada de aire al interior de la cámara, así como para evitar la huida de las larvas, de los adultos emergentes, y también para evitar la incorporación de otros dípteros o himenópteros parasíticos al interior del envase, en la tapa del mismo se realizó una abertura central de 8cm de diámetro y se le colocó una malla de tela tipo dopiovelo, la cual se sujetó al borde de la abertura con el uso de silicón.

Diariamente, durante en el proceso de cría de los dípteros inmaduros, se realizó el chequeo de los envases en la mañana y en la tarde, manteniéndolas con alimento hasta que alcanzaron su estado adulto.

Para la cría de pupas se utilizaron envases de 8 oz, con una capa de 2 cm de aserrín, en la parte superior del envase se colocó la tapa descrita anteriormente, para permitir la entrada de aire al interior (Figura 12c).



Figura 12. Cámaras para la cría de dípteros inmaduros. A) Ubicación de las cámaras de crías de inmaduros de dípteros. B) Envases de cría de adultos y muestra del termo-higrómetro digital. C) Envases de cría de pupas de dípteros.

Los envases con las muestras fueron colocados en el laboratorio para la cría. Este laboratorio fue improvisado en un espacio correspondiente a una habitación exterior en una casa de la urbanización el Ave María, manzana 71, en los Valles del Tuy, Estado Miranda, (Figura 13). Dicha habitación, de aproximadamente 5 m², contaba con ventilación suficiente para mantener las condiciones de temperatura lo más estable posible, así como también con un extractor de aire, que mantenía las condiciones de temperatura y olores estables. Se mantuvo un seguimiento diario de las condiciones de temperaturas y humedad,

así como el control de luz, donde las crías se mantuvieron bajo 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

La cría de los adultos se llevó a cabo en el laboratorio improvisado disponible. Mediante el empleo de cámaras de cría, los dípteros inmaduros se mantenían hasta su eclosión a adultos. En el caso de los huevos y larvas, estos eran mantenidos con sustrato alimenticio (carne de cerdo), el cual era constantemente chequeado para evitar competencia entre los individuos contenidos en los envases. Una vez avanzaba su estado de desarrollo al siguiente estadio (Pupas), estas se encontraban enterradas en la capa de aserrín hasta el momento de su eclosión. Los individuos adultos recién emergidos eran extraídos de los envases y colocados en bolsas aireadas con algodón remojado en agua azucarada, manteniéndolas en alimentación por un día de vida y finalmente colocadas bajo refrigeración.



Figura 13. Adultos emergidos, mantenidas por un día de vida.

4.2.1 Determinación taxonómica de los ejemplares recolectados.

Una vez emergidos los dípteros adultos, se realizó la determinación taxonómica de los ejemplares de las familias Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae obtenidos, mediante el uso de claves taxonómicas, siguiendo los trabajos de McAlpine y col. (1987), Stehr (1991), Arnett y col. (2002), Triplehorn y Jhonson (2005), Amat y col. (2008), Amat (2009), Barros de Carvalho y Mello-Patiu (2008), Buenaventura y Pape (2013), Florez y Wolf (2009), Kosmann y col. (2013) y Whitworth (2006).

La determinación taxonómica fue realizada por el Profesor Rubén Candia del Laboratorio de Invertebrados del Centro Museo de la UCV del Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, y por la Lic. Arianna Thomas del Centro de Ecología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Los ejemplares fueron confinados previamente en cámara húmeda para el reblandecimiento de sus partes corporales y apéndices, especialmente de la genitalia de los machos.

Posteriormente se procedió a la identificación de los demás ejemplares de insectos asociados a los cerdos en descomposición, especialmente los del orden Coleoptera.

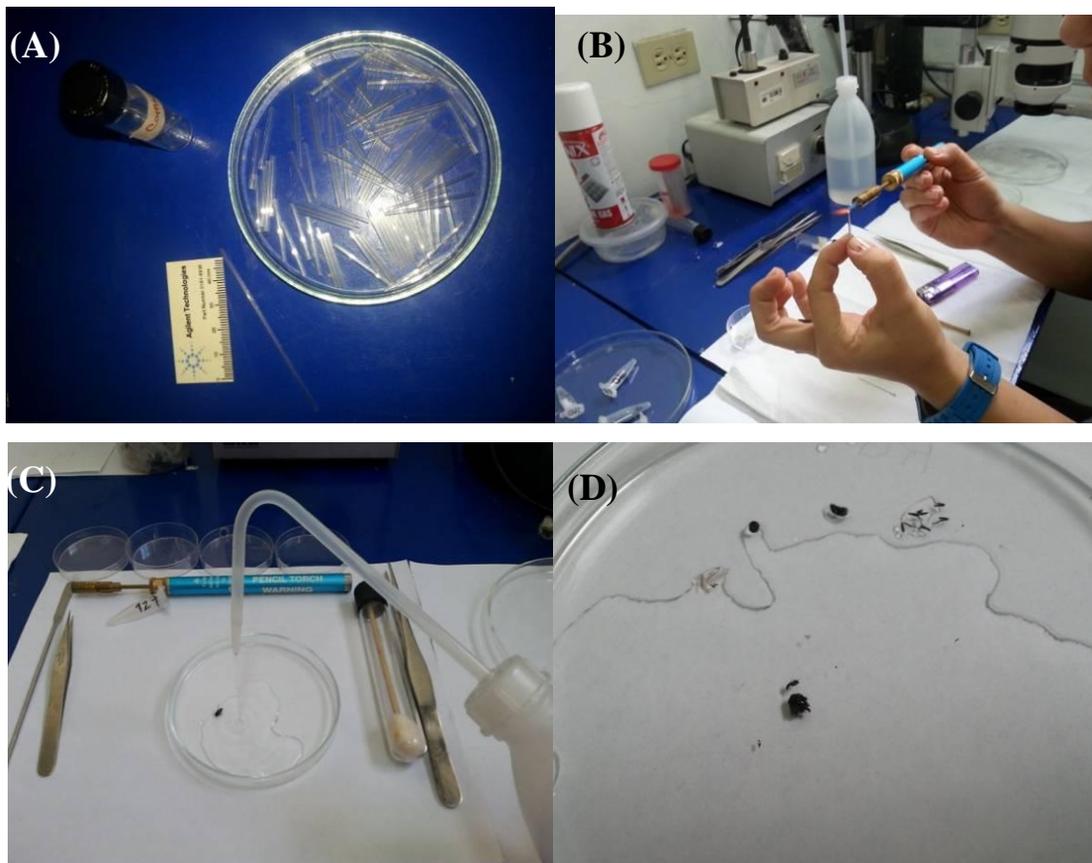
Una vez identificado todo el material se procedió a establecer el patrón de sucesión de los insectos, ubicándolos cronológicamente en cada uno de los cinco estados de descomposición determinados. Se realizó una base de datos y una matriz de presencia-ausencia para cada una de las fases de descomposición (Wells y La Motte, 2001). El patrón de sucesión obtenido se comparó con el de trabajos previos realizados en Venezuela y otros países (Castillo, 2002; Arnaldos y col., 2001, Núñez y Liria 2014).

4.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS SÓLIDAS PARA ANÁLISIS QUÍMICO

Se utilizó la técnica de muestras sólidas para el aislamiento de los componentes de los Hidrocarburos Cuticulares. Este método es idóneo, sencillo y rápido, muy recomendable para este tipo de estudios. Al presentarse en la cutícula de los insectos hidrocarburos que no son muy volátiles, se analiza la muestra o parte del insecto entero, y al no tener dilución de la muestra ni pérdida del material, no hay riesgo de pérdida de analitos.

Los diferentes especímenes de dípteros de las distintas familias fueron disecados bajo una lupa estereoscópica marca Wild Heerbrugg, modelo M-10. Los capilares utilizados para colocar las muestras para análisis químico son de vidrio blando, marca Doles, que fueron previamente cortados al tamaño de interés (Figura 14a) y posteriormente lavados con isopropanol, seguidamente con *n*-hexano. Los capilares luego fueron colocados en la estufa para evaporar dichos solventes. Una vez secos los capilares, se selló uno de los extremos del mismo usando una microllama generada en mechero (marca NimrodEurope, modelo PT-200) (Figura 14b).

Las moscas, previamente identificadas, se lavaron con agua destilada y se procedió a realizar el disecado (Figura 14c y d). Como primer paso se retiró la cabeza, las alas y las patas, y posteriormente la región abdominal. Una vez separado el tórax de las otras regiones del cuerpo, se le hizo un corte en el medio de la región torácica y se le retiró todo el material interno. Los escleritos torácicos se limpiaron con agua destilada, y luego se colocaron sobre una toalla absorbente para retirar el exceso de agua destilada. Posteriormente, a los escleritos torácicos se le realizaron cortes para generar fracciones de menores dimensiones (aprox 1-3 mm), que permitieran introducirlos en el extremo abierto del capilar, luego se selló y se almacenó a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta el momento del análisis (Figura 14f).



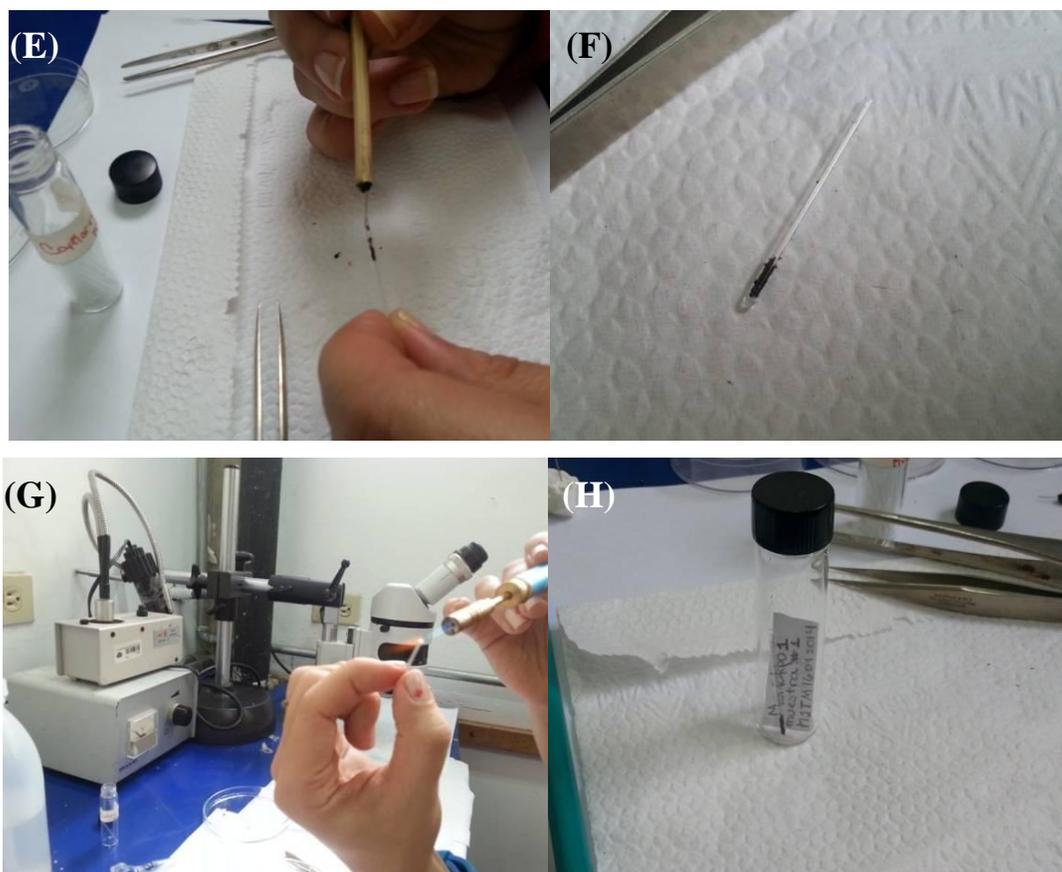


Figura 14. Preparación de muestras del tórax de dípteros de interés forense, asociado a cadáveres de cerdos en descomposición. A) Capilares de vidrio blando. B) Sellado de uno de los extremos del capilar a utilizar. C) Lavado con agua destilada al díptero a evaluar. D) Separación del tórax del resto de las partes del díptero. E) Introducción de los escleritos torácicos en el interior del capilar. F) Capilar con muestra introducida. G) Sellado del extremo abierto del capilar con la muestra en el interior. H) Rotulado de la muestra y colocación del capilar en el vial para su posterior almacenamiento en refrigeración.

4.3.1 Análisis de muestras sólidas por CG-EM

Los capilares con muestras sólidas de escleritos torácicos se analizaron en un Cromatógrafo de Gases (CG, marca Agilent, modelo 7890A), acoplado a un Espectrómetro de Masas (EM, marca Agilent, modelo 5975C), empleándolo en modo de ionización por impacto electrónico. Los parámetros usados en el CG-EM fueron los que se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros usados en el análisis mediante CG-EM de los escleritos torácicos de los dípteros.

Parámetros	Valor ajustado o descripción
Columna capilar	5 % Fenil-95 % Metilsilicona – (DB5), 30 m; 0,25 mm DI; 0,25 μ m. Agilent Technologies
Gas de arrastre	Hidrógeno
Presión inyector	10,0 psi (constante)
Temperatura inyector	310 °C
Modo inyección	Sin división, con presión constante
Flujo de venteo del inyector	50 ml/min
Temperatura inicial horno	120 °C, sostenido 4 min
Gradiente de calentamiento 1	6 °C/min hasta 31 °C sostenido por 10min.
Temperatura interfase CG-EM	2 °C
Modo de ionización	Impacto de electrones (70 eV)
Modo de barrido	SCAN
Intervalo de masas para barrido	40 – 500 m/e
Velocidad de barrido	3,15 barridos/s
Temperatura Fuente ionización	280 °C
Temperatura Cuádruplo	150 °C

Los capilares preparados fueron lavados con *n*-hexano para eliminar cualquier contaminante. Para el análisis de las muestras sólidas se instaló en el puerto de inyección del CG un inyector tipo Keele (Figura 15). El análisis de las muestras se realizó de la siguiente manera: se introdujo el capilar con la muestra en el inyector Keele, el émbolo se subió para permitir la entrada del capilar al interior. Luego se cerró el inyector y se inició la corrida de la muestra una vez el equipo mantuvo la presión en el inyector.



Figura 15. Introducción de la muestra sólida (capilar) en el inyector tipo Keele instalado en el puerto de inyección del CG-EM.

También se inyectaron capilares con una mezcla de patrones de *n*-alcanos desde C₁₉-C₂₆, C₂₈, C₃₀, C₃₂, C₃₆, C₃₈ y C₄₀ en 20 ppm, con la finalidad de determinar los índices de retención de Kováts de las muestras de los escleritos dispuestos para el análisis (Tabla 4). Los patrones fueron pesados en una balanza analítica marca AND modelo GR-200 con capacidad 210 g, resolución 0,0001g y tamaño del plato de 8 mm.

Tabla 4. Concentración de patrones para determinación de los índices de retención de Kováts de las muestras de los escleritos de dípteros dispuestos para el análisis.

Carbono	Masa (g)	<i>n</i>-Hexano (ml)	Concentración (% m/v)
C ₁₉	0,0133	1	1,33
C ₂₀	0,0111	1	1,11
C ₂₁	0,0141	1	1,41
C ₂₂	0,0103	1	1,03
C ₂₃	0,0102	1	1,02
C ₂₄	0,0106	1	1,06
C ₂₅	0,0103	1	1,03
C ₂₆	0,0106	1	1,06
C ₂₈	0,0102	1	1,02
C ₃₀	0,0103	1	1,03
C ₃₂	0,0107	1	1,07
C ₃₆	0,01	2	0,5
C ₃₈	0,0101	3	0,336
C ₄₀	0,01	3	0,333

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Con la finalidad de observar la dinámica de colonización y asociación de las especies con las distintas etapas de la descomposición (sucesión heterotrófica o degradativa), se realizó un Análisis de Seriación restringida (Brower y Kile, 1988; Hammer 2014) de las especies de mayor importancia, basado en una matriz de presencia-ausencia editada de los insectos de interés forense (Anexo 3). Para ello se utilizó el programa PAST.

Para visualizar las asociaciones entre las especies y con las distintas etapas de la descomposición, se realizaron dos análisis de agrupamiento (Análisis Cluster) basados en el índice de similitud de Jaccard, uno para las especies y otro para las etapas (días) de la descomposición. Se utilizó la misma matriz de presencia-ausencia editada (Anexo 3). Se utilizó el programa PAST (Hammer 2014).

Por otro lado, para determinar los valores de las medias y desviaciones estándar de las proporciones relativas de los hidrocarburos cuticulares de los dípteros analizados,

inicialmente se aplicó la prueba T de student, utilizando la función Prueba T de Microsoft Excel ®, para la comparación entre los dos grupos (Hembra y Macho) en cada uno de los compuestosy para determinar el valor de probabilidad (Valor p); posteriormente se realizó la comparación mediante un analisis de varianza ANOVA. Para visualizar las diferencias presentadas en las especies de acuerdo a las abundancias relativas en sus compuestos, se realizó un análisis discriminante canónico lineal, mediante el programa StatGraphics.

5.1. MUESTREOS EN CAMPO

5.1.1 Datos ambientales

En la Figura 16 se presenta la temperatura y humedad relativa diarias en la zona de estudio, durante los quince días de muestreo.

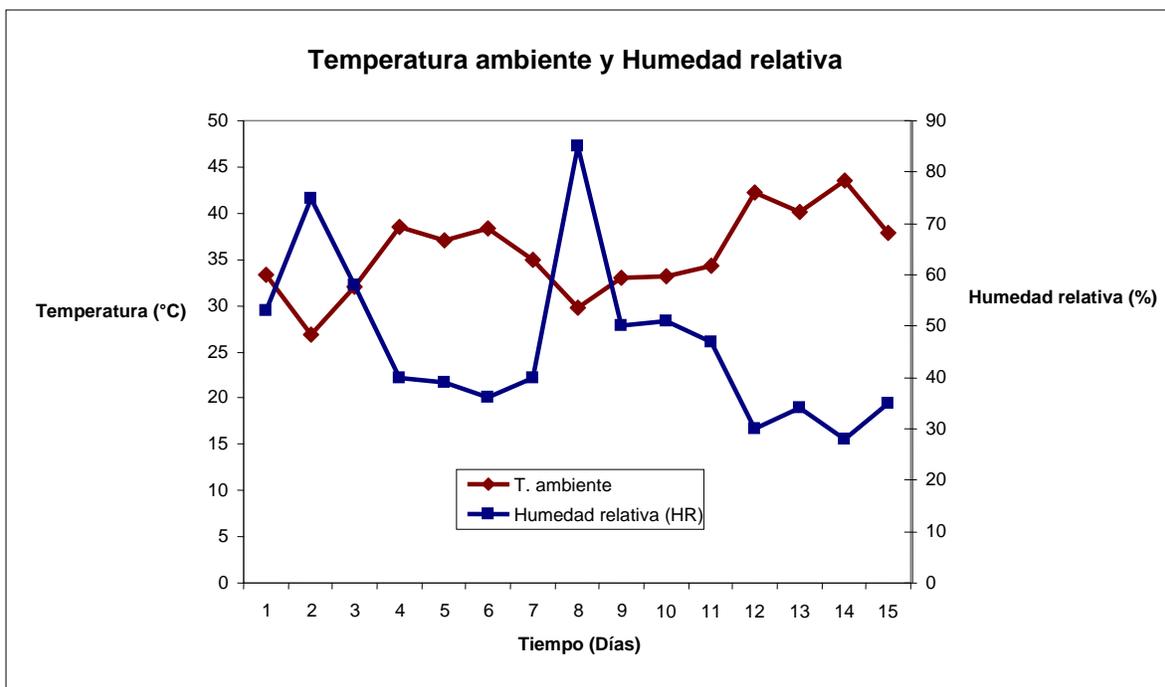


Figura 16. Gráfico de registros de temperatura ambiental y humedad relativa diarios.

Como podemos observar, existe una relación inversa entre temperatura y humedad relativa. Durante los 4 últimos días del muestreo se presentaron las mayores temperaturas, ubicándose alrededor de los 40 °C. Las menores coincidieron con los días de mayor humedad relativa, producto de la mayor nubosidad presente y precipitaciones acaecidas la noche anterior. La temperatura media para los 15 días de muestreo fue de 39,6 °C y la humedad relativa media fue del 49,9 %.

Los valores de temperatura ambiental promedio y humedad relativa promedio en el

Estado Carabobo registrados por Núñez y Liria (2014) tienen mucha cercanía con los valores obtenidos durante el desarrollo de nuestro experimento (Figura 16). La variabilidad climática es apreciable en trabajos sobre insectos asociados a cadáveres en descomposición y son factores que pueden influir en el desarrollo de distintas especies, en la sucesión de la entomofauna y la tasa de descomposición de un cadáver. (Ortloff-tratman y col. 20013; Aballay y col. 2011; Calderon y col. 2005; Liria 2006; Núñez y Liria 2014).

Las fluctuaciones en los registros climáticos se pueden deber a diversos factores, como la hora en las que se toman registros, las precipitaciones, la topografía, los vientos; es decir, las distintas localidades están lejos de ser ambientes homogéneos entre sí y por el contrario, presentan una alta variabilidad. Sin embargo, al comparar las sucesiones que se desarrollan en los distintos tipos de ambientes, se ha concluido que la abundancia de las especies de insectos se relacionan mucho más con el tipo de ambiente que con los estados de descomposición de un cuerpo (Nuñez, 2012).

En la Figura 17 se muestra el gráfico con los datos de pluviosidad (l/m^2) evaluados durante el muestreo. Estas mediciones fueron tomadas cada 24 h del día de experimentación, empleando un pluviómetro casero.

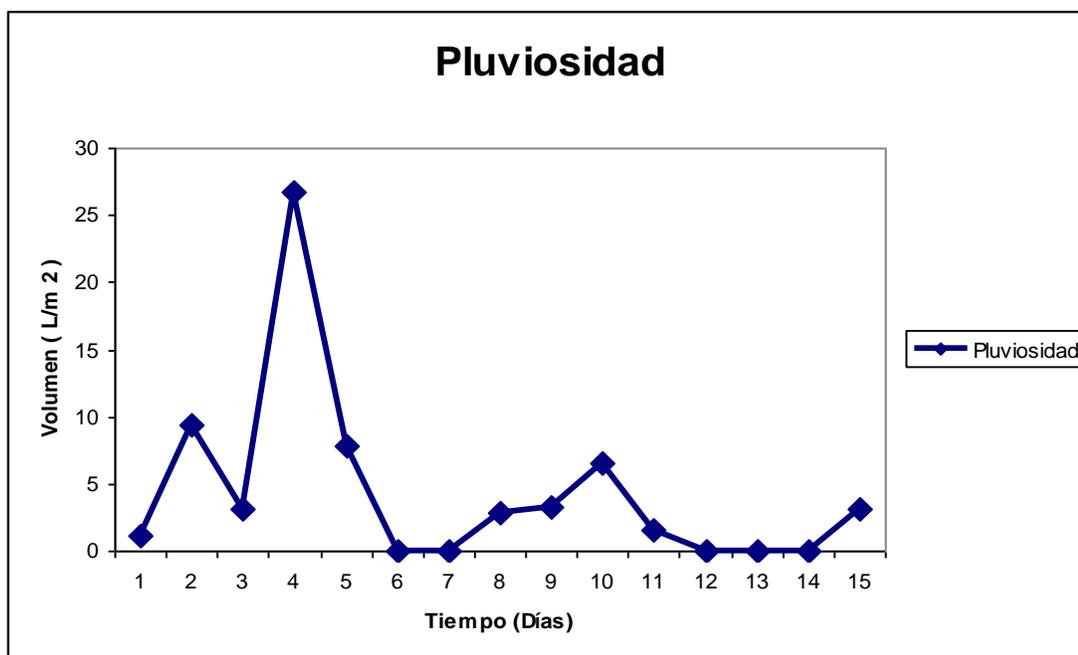


Figura 17. Gráfico del registro de las mediciones con el pluviómetro de litros por metros cuadrados. Mediciones tomadas cada 24 h. al día de experimentación.

Se observa como durante la noche del cuarto día se registró el mayor valor de pluviosidad, superior a los 25 l/m², manteniéndose el resto de los días por debajo de 10 l/m². Como ya ha sido demostrado, el desarrollo de los insectos se encuentra influenciado por factores externos, principalmente por las condiciones climática (Pietrusky y Leo 1929). Es por eso que son registrados en estudios con insectos asociados a cadáveres (Calderon y col. 2005; Beltrán y Villa 2011; Carvalho y col. 2004). Los datos de las precipitaciones son registros importantes que pueden permitir, quizás, explicar alguna posible variación en las temperaturas que influyen directamente sobre el desarrollo biológico de las especies de insectos, así como en la tasa de descomposición del cadáver.

La comparación entre la temperatura ambiental y la temperatura externa de los cerdos el día del muestreo de los mismos, se presenta en la Fig. 18.

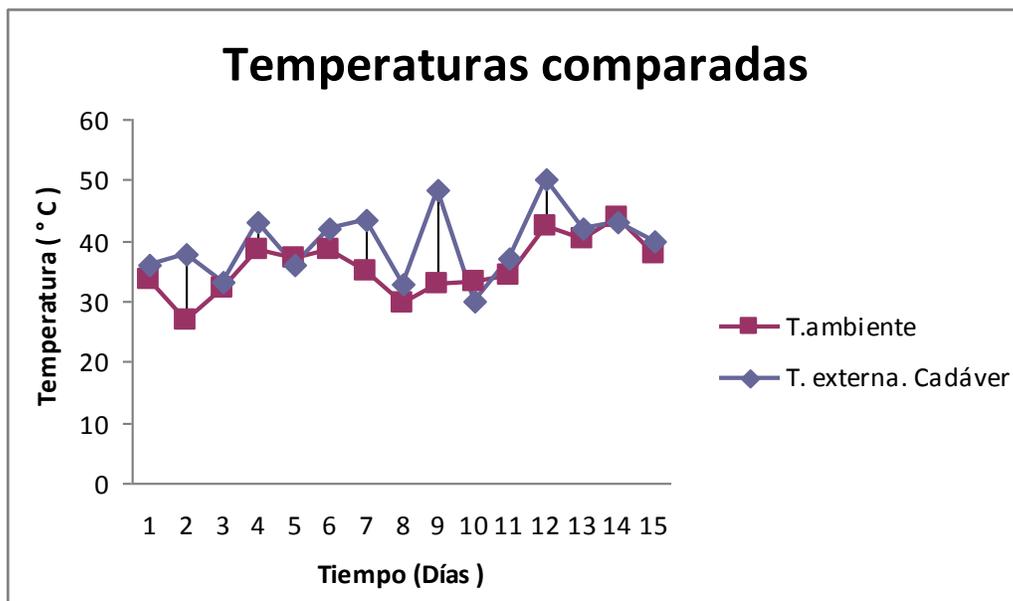


Figura 18. Gráfico del registro de las mediciones de temperatura ambiental y temperatura externa de los cadáveres durante los días de muestreo.

Como se puede observar, las temperaturas externas en los cadáveres, poseían valores de temperatura mayores que los registrados en el ambiente durante los primeros días de la descomposición de los cuerpos. En general, no hubo diferencias significativas entre las temperaturas (Prueba T; $p = 0,054 > 0,05$). El patrón de temperaturas inicial es similar a los observados en otros trabajos (Ortloff-Trautmann y col. 2013; Carvalho y col.

2004; Aballay y col. 2011), en las primeras fases de la descomposición se presentan las mayores temperaturas en el cadáver, que superan a la ambiental. Generalmente, este gran aumento en la temperatura del cadáver se debe a los procesos combinados de la putrefacción bacteriana y las actividades metabólicas de las larvas de los insectos, que con su actividad comienzan a causar un aumento en la temperatura interna del cuerpo. Estas temperaturas pueden estar por encima de la temperatura ambiente ($>50\text{ }^{\circ}\text{C}$) y el cuerpo se convierte en un hábitat distinto en muchos aspectos, e independiente del medio ambiente circundante (Goff 2010). Al transcurrir los días, la temperatura del cadáver comienza a igualarse con la temperatura ambiental, especialmente en los días finales; esto es debido a que en los restos del cadáver, una vez que hay una ruptura de la capa externa de la piel, ya no hay grandes concentraciones de gases en el interior del cuerpo, la actividad larvaria disminuye, por ende los valores de las temperatura externa del cadáver o los restos, se aproximan con el tiempo a la temperatura ambiente.

5.1.2 El proceso de descomposición cadavérica (Observaciones diarias de los cerdos)

El proceso de descomposición cadavérica se dividió en cinco fases: 1) fresco, 2) hinchado, 3) descomposición activa, 4) descomposición avanzada y 5) esqueletización, según la nomenclatura recomendada por los entomólogos forenses internacionales. Los cadáveres siguieron patrones de descomposición similares, pasando por cada uno de los citados estados de manera continua, bajo condiciones climáticas poco variables y con una temperatura promedio de $39,6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Según Payne (1965), altas temperaturas durante los días más cálidos intensifican la actividad de los insectos, resultando en un rápido agotamiento del sustrato.

A continuación, en la Tabla 5 se describen las distintas etapas y su duración que se presentaron para cada uno de los cerdos, según la secuencia cronológica de los 15 días de muestreos en campo.

Tabla 5. Estados de descomposición observados los cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.) durante los 15 días de muestreo en campo.

Cerdo / Estado	Descomposición				
	Fresco (Cromático)	Hinchado (Enfisematoso)	Activa (Colicuativo)	Descomposición Avanzada	Esqueletización
0	X				
1	X				
2	X	X			
3	X	X	X		
4	X	X	X	X	
5	X	X	X	X	X
6	X	X	X	X	X
7	X	X	X	X	X
8	X	X	X	X	X
9	X	X	X	X	X
10	X	X	X	X	X
11	X	X	X	X	X
12	X	X	X	X	X
13	X	X	X	X	X
14	X	X	X	X	X
15	X	X	X	X	X

Estado Fresco (Cromático): Corresponde al primer día, los cadáveres presentaron signos básicos de la descomposición, especialmente un abultamiento de la zona abdominal (Anexo 1.1). Fue importante notar que el pelaje en las distintas zonas del cuerpo, como la parte externa de las orejas, cuello, lomo y piernas, presentaron cantidades importantes de huevos de dípteros.

Estado hinchado (Enfisematoso): corresponde al segundo día; el cerdo evaluado presentó en el ojo izquierdo, la región nasal y la región abdominal, una cantidad importante de masas larvarias, y un gran deterioro de los tejidos debido a su actividad (Anexo 1.2).

Descomposición activa (colicuativo): Al tercer día, el cadáver presentó gran actividad larvaria en distintas zonas del mismo. Larvas y moscas adultas con distintos tipos de morfología, se hicieron presentes circundando al cadáver (Anexo 1.3a y b). Igualmente se recolectó una especie de coleóptero adulto.

Descomposición avanzada: Al cuarto día se observó un claro estado de descomposición avanzada (Anexo 1.4). Presencia de actividad larvaria y la movilización de larvas migratorias hacia la periferia del cadáver, así como también algunas ya enterradas para empezar a pupar.

Restos óseos (esqueletización): A partir ya del quinto día se observa un solapamiento de los fenómenos de descomposición cadavérica, haciéndose complicado diferenciar el estado de descomposición avanzada y la esqueletización en distintas partes del cuerpo del animal. Con una duración de 11 días, rápidamente los cuerpos descompuestos llegaron a este estado, reduciéndose a piel, cartílago, huesos y, en varios casos, restos de tejidos.

Producto de la fuerte lluvia de la noche anterior los restos del quinto cerdo se rodaron de su posición original, siendo acumulados en los bordes de la jaula debido a la inclinación del terreno (Anexo 1.5). No había presencia de masas larvarias alimentándose de los restos del cadáver, pero sí larvas de dípteros en estado migratorio, así como la presencia de coleópteros.

Los cadáveres de los días 6 al 9 estuvieron compuestos de restos de piel, huesos y pelo (Anexo 1.6 y 1.7a). En el interior de la piel aún se observaba presencia de larvas de dípteros en poca cantidad, alimentándose de pequeños restos del cerdo (Anexos 1.8a y b y 1.9). También se observó la presencia de coleópteros en el interior del cráneo. Paralelamente a los muestreos en campo, en el sexto día comenzaron a aparecer pupas en las cámaras de cría dispuesta en el laboratorio improvisado. En la inspección de los restos de los cadáveres de los días 7 y 8, se encontraron pupas enterrados debajo de ellos y en su periferia, con las distintas coloraciones propias de la esclerotización (Anexos 1.7b y 1.8c).

Los cerdos correspondientes a los días 10 y 11, presentaron un claro estado de esqueletización, al igual que los cerdos de los días 12 y 13 (Anexo 1.12a y b y 1.13a). Hubo presencia de coleópteros y puparios enterrados de dípteros (Anexo 1.10 y 1.13b). Igualmente, empieza a apreciarse adultos de dípteros emergiendo a partir del día 10 (Anexo 1.11a y b).

Los restos esqueletizados de los cerdos 14 y 15 presentaron pequeñas larvas y coleópteros adultos (Anexo 1.14a y 1.15b). No se encontraron pupas o adultos emergiendo, pero sí puparios en grandes cantidades (Anexo 1.14b). Presencia de larvas pequeñas de

dípteros, así como también de otras más grandes y agresivas y con comportamiento caníbal (Anexo 1.15a).

Los ejemplares de larvas y pupas capturados en las distintas etapas de descomposición de los cerdos, fueron llevadas y criadas en el laboratorio improvisado hasta su emergencia como adultos. Los ejemplares adultos fueron sacrificados directamente y preservados en frascos con alcohol etílico al 75%, para su posterior identificación.

5.1.3 Cría de dípteros inmaduros.

En la Tabla 6 se muestra la media aritmética y desviación estándar de los registros de control diario de temperatura (°C) y humedad relativa (%), correspondientes a cuatro horas distintas durante los días de cría de los dípteros inmaduros recolectados durante los 15 días de muestreo.

Tabla 6. Media aritmética y desviación estándar de los registros de temperatura y humedad relativa por intervalos de hora, durante los 15 días, en la cámara dispuesta para la cría de los dípteros inmaduros provenientes de cadáveres de *S. scrofa* L.

	Horas				Promedio
	08:00 am	10:00 am	06:30 pm	09:30 pm	
Temperatura (°C)	27,2 ± 0,09	28,7 ± 0,02	29,3 ± 0,02	29,8 ± 0,03	$\bar{X} t = 28,5 \pm 0,2$
Humedad relativa (%)	74,35 ± 0,45	65 ± 0,3	65,6 ± 0,2	68,1 ± 0,01	$\bar{X} hr = 68,2 \pm 1,6$

Como se puede observar, no hubo diferencias significativas, tanto en la temperatura como en la humedad relativa para una misma hora de medición, durante todos los días de cría de los inmaduros; los valores de las desviaciones estándar no son mayores a 0,5 para todas las horas. Así mismo, se observa poca diferencia en los promedios de las

mediciones para la temperatura y la humedad relativa, ya que presentan una desviación estándar de solo el 0,2 y 1,6 respectivamente. Según otros reportes, las crías pueden llevarse a cabo de una manera efectiva a una temperatura que oscile entre los 27 a 30 °C y entre 80-90 % de humedad relativa (Byrd, 1995). De acuerdo a lo anterior, nuestros valores de temperatura de cría están dentro del rango sugerido por Byrd (1995), más no así los de humedad relativa; sin embargo, es importante considerar que valores alrededor del 70 % de HR parecen ser viables para una cría exitosa de estas larvas de dípteros necrófagos.

5.1.4 Composición e identificación de las especies de insectos y otros artrópodos capturados en los cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L).

Se capturaron 2716 individuos pertenecientes a 4 órdenes de insectos y al orden Acari de la Clase Arachnida. Los 2 órdenes con mayor riqueza y abundancia representativa fueron Diptera y Coleoptera (Tabla 7). El orden Diptera fue el de mayor abundancia relativa (92,8 %) distribuida en 12 especies distintas, con la familia Calliphoridae como la más representativa con 9 especies y las demás (Sarcophagidae, Muscidae y Phoridae) con 1 sola especie cada una. El orden Coleoptera presentó 10 especies distribuidas en 9 familias distintas y representó apenas el 7 % de la abundancia relativa. La presencia de una ninfa de la familia Cicadidae del orden Hemiptera se considera incidental, por cuanto fue extraída de las muestras de suelo alrededor del cadáver analizadas y muy seguramente está asociada a las raíces de los árboles y arbustos talados en la finca. Igualmente incidentales pueden considerarse los individuos adultos de las familias Chrysomelidae y Curculionidae (Coleoptera), pues la gran mayoría de sus especies son herbívoras, así como las larvas de Elateridae, asociadas también a raíces de plantas. El orden Hymenoptera estuvo representado por hormigas del género *Paraponera* (Formicidae). El orden Acari estuvo representado por unos pocos individuos de distintas especies y familias.

En cuanto a la abundancia relativa de las especies capturadas, los dípteros de la familia Calliphoridae (82 %) fueron claramente los más dominantes, especialmente a través de la especie *Chrysomya albiceps* (66 %), seguida de *Hemilucilia segmentaria* (11 %), *Lucilia eximia* (3 %) y *Chrysomya megacephala* (2 %). Para Coleoptera, las especies *Necrobia rufipes* (5 %) y *Dermestes maculatus* (1, 5%) fueron las más abundantes,

seguidas de *Anotylus* sp (0,7 %) (Staphylinidae), *Omorgus suberosus* (0,3 %) (Trogidae) y *Euspilotus nigrita* (0,2 %) (Histeridae). (Tabla 7). Las 2 especies de dípteros restantes presentaron bajas abundancias relativas: *Cyrtoneurina* sp (11 %) (Muscidae) y *Peckia (Patonella) intermutans* (0,8 %) (Sarcophagidae).

Tabla 7. Distribucion porcentual del total de insectos asociados a cadáveres de *S. scrofa* L.

Orden	Familia	Especie / Días	Hábito alimenticio	Especie (%)	Familia (%)	Orden (%)
Diptera	Calliphoridae	<i>Chrysomya albiceps</i>	Necrófago	65,98	81,55	92,78
		<i>Chrysomya megacephalla</i>	Necrófago	1,99		
		<i>Chrysomya rufifacies</i>	Necrófago	0,04		
		<i>Hemilucilia segmentaria</i>	Necrófago	10,49		
		<i>Hemilucilia</i> sp	Necrófago	0,41		
		<i>Lucilia eximia</i>	Necrófago	2,54		
		<i>Lucilia</i> sp	Necrófago	0,04		
		<i>Cochliomyia macellaria</i>	Necrófago	0,04		
		<i>Hemilucilia semidiaphana</i>	Necrófago	0,04		
	Sarcophagidae	<i>Peckia (Patonella) intermutans</i>	Necrófago	0,77	0,77	
Muscidae	<i>Cyrtoneurina</i> sp	Necrófago	10,46	10,46		
Phoridae	Phoridae sp	Necrófago y Saprófago	0,00	0,00		
Coleoptera	Histeridae	<i>Euspilotus nigrita</i>	Depredador	0,22	0,22	7,03
	Cleridae	<i>Necrobia rufipes</i>	Necrófago	4,42	4,42	
	Dermestidae	<i>Dermestes maculatus</i>	Necrófago	1,25	1,25	
	Trogidae	<i>Omorgus suberosus</i>	Necrófago y Saprófago	0,26	0,26	
	Scarabaeidae	<i>Onthophagus</i> sp	Necrófago y coprófago	0,04	0,04	
	Staphylinidae	<i>Anotylus</i> sp	Parasitas y Depredadoras	0,66	0,66	
	Chrysomelidae	Chryso. sp1	Fitófagos	0,04	0,04	
	Chrysomelidae	Chryso. sp2	Fitófagos	0,04	0,04	
	Curculionidae	Curcu. sp	Fitófagos	0,04	0,04	
	Elateridae	Elate. sp (larva)	Fitófagos	0,07	0,07	
Hemiptera	Cicadidae	Cicadi. sp (Ninfa)	Fitófagos	0,04	0,04	0,04
Hymenoptera	Formicidae	<i>Paraponera</i> sp	Omnívoros	0,04	0,04	0,04
Acari	Varias	Ácaros	Muy variados	0,11	0,11	0,11

La mayor parte de las especies de insectos capturados, incluyendo a los dípteros criados hasta adultos, corresponden al grupo de especies necrófagas, aun cuando algunas pueden ser parcialmente coprófagas y saprófagas. Igualmente se capturaron algunas especies depredadoras, principalmente coleópteros (Tabla 7).

En la Figura 19 se muestra la relación hembra/macho para cada una de las especies de dípteros capturadas. Como se puede observar, las especies del género *Chrysomya*, así como *Cyrtoneurina* sp y *Peckia (Patonella) intermutans*, muestran una relación 2:1. Las especies de *Hemilucilia* sp *H. segmentaria* y *Lucilia eximia* presentaron una proporción más homogénea (menor a 1,5:1). Según Campobasso y col. (2001), la gran abundancia de ejemplares hembras se debe a su mayor capacidad olfativa, por lo que apenas unos minutos después de la muerte de un animal, las moscas son rápidamente atraídas por el olor desprendido del cuerpo, pudiéndose observar las primeras puestas de huevos sobre el cadáver (Anderson y Van Lerhoven, 1996). Como estrategia de colonización y aprovechamiento del recurso presente, la presencia de una mayor cantidad de hembras parece ser la más apropiada para ejercer dominancia y control del citado recurso.

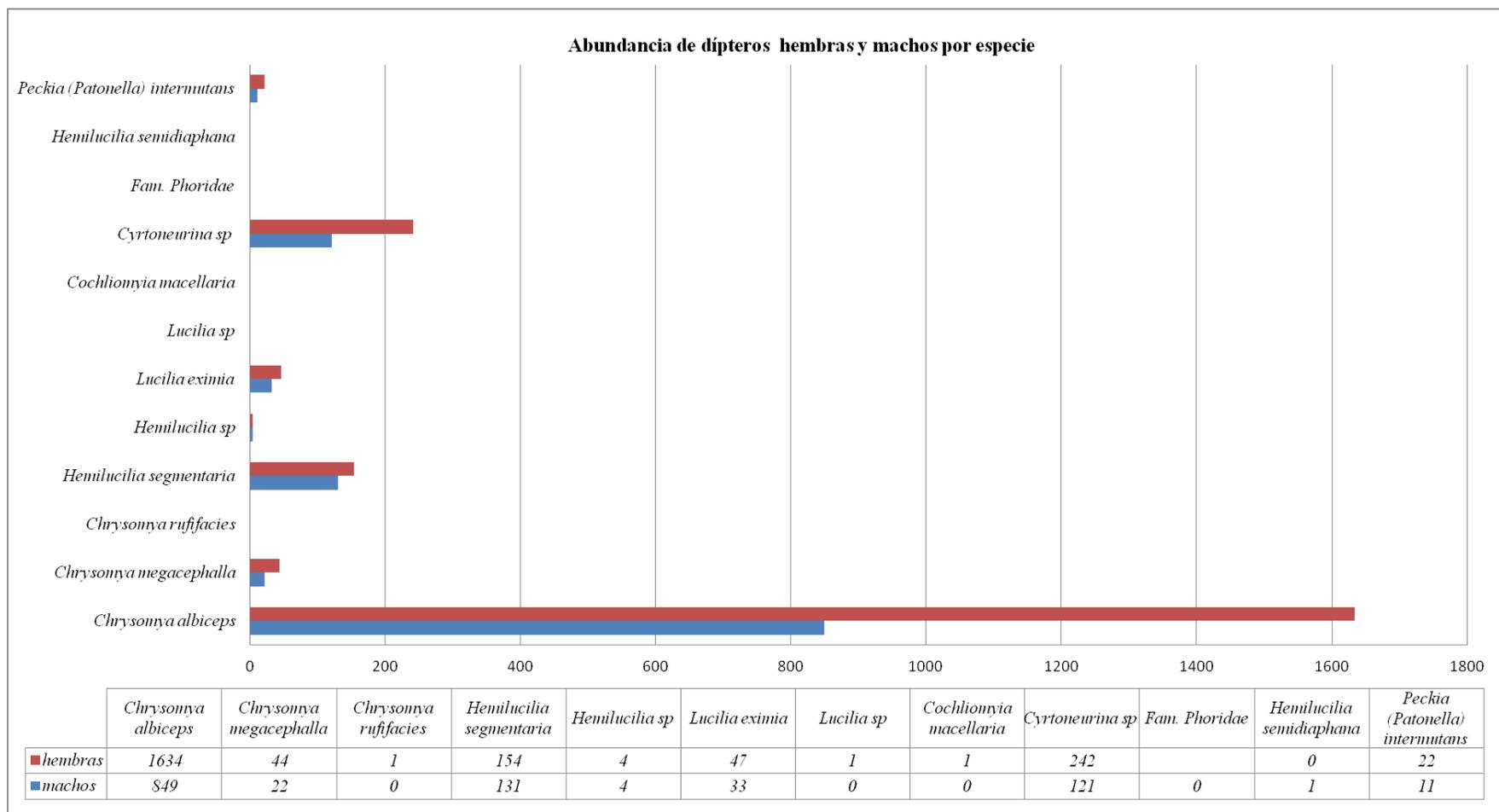


Figura 19. Proporción Hembras/Machos de dípteros asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.)

5.1.5 Dinámica de colonización y sucesión de los insectos y otros artrópodos en los cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.).

La distribución de las especies en un espacio determinado y explotando un recurso, como lo es un cuerpo en descomposición, representa un nicho en el que ocurre una interacción de diversas especies asociadas. El patrón de sucesión heterotrófica que se observa durante el desarrollo de los distintos estados de descomposición, responde a una dinámica de explotación de los distintos tipos de recursos que se van presentando a lo largo del tiempo. Existe un grupo de especies que son colonizadoras tempranas y altamente dominantes, algunas otras que son capaces de coexistir en un mismo espacio y momento determinado, pero otras solo son capaces de aparecer ante la ausencia de las más dominantes. Por lo tanto, la dinámica de sucesión heterotrófica dependerá del tipo y duración del recurso y del tipo y biología de la especie explotadora del mismo.

La Tabla 8 muestra la matriz de presencia-ausencia (sucesional) de las distintas especies de insectos asociados a los distintos estados de descomposición de los cadáveres de cerdos basados en la matriz de abundancia general (Anexo 4).

En primer lugar, podemos observar como la mayoría de las especies de dípteros estuvieron presentes durante los primeros estados de la descomposición, con la especie *Chrysomya albiceps* presente prácticamente en todas las etapas o días de muestreo. Los coleópteros estuvieron presentes principalmente durante los estados de descomposición más avanzada y esqueletización de los cadáveres. Este patrón general es consistente con la mayoría de los trabajos consultados (Núñez y Liria 2014; Beltrán y Villa 2011; Martínez y col. 2009; Magaña y col. 2006).

Tabla 8. Matriz de presencia-ausencia (sucesional) de las especies de insectos asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.).

Orden	Familia	Especie / Días	Estados de la descomposición															
			F	H	DAC	DAV	E											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Diptera	Calliphoridae	<i>Chrysomya albiceps</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X		
		<i>Chrysomya megacephala</i>			X		X											
		<i>Chrysomya rufifacies</i>			X													
		<i>Hemilucilia segmentaria</i>	X	X	X	X		X	X									
		<i>Hemilucilia</i> sp	X															
		<i>Lucilia eximia</i>	X	X	X			X	X					X				
		<i>Lucilia</i> sp	X															
		<i>Cochliomyia macellaria</i>			X													
		<i>Hemilucilia semidiaphana</i>														X		
	Sarcophagidae	<i>Peckia (Patonella) intermutans</i>	X	X														
Muscidae	<i>Cyrtoneurina</i> sp	X		X			X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	
Phoridae	Phoridae sp		X															
Coleóptera	Histeridae	<i>Euspilotus nigrita</i>			X		X	X										
	Cleridae	<i>Necrobia rufipes</i>					X			X	X	X	X	X	X	X	X	
	Dermestidae	<i>Dermestes maculatus</i>					X			X	X	X	X	X	X	X	X	
	Trogidae	<i>Omorgus suberosus</i>					X			X		X		X				
	Scarabaeidae	<i>Onthophagus</i> sp								X								
	Staphylinidae	<i>Anotylus</i> sp										X	X	X				
	Chrysomelidae	Chryso. sp1					X											
	Chrysomelidae	Chryso. sp2						X										
	Curculionidae	Curcu. sp													X			
	Elateridae	Elate. sp (larva)													X	X		
	Hemiptera	Cicadidae	Cicadi. sp (Ninfa)												X			
Hymenoptera	Formicidae	<i>Paraponera</i> sp													X			
Acari	Varias	Ácaros											X					

F: Fresco; H: Hinchado; DAC: Descomposición activa; DAV: Descomposición Avanzada;

E: Esqueletización

Tal y como se esperaba, las moscas califóridas se presentaron como el grupo con más especies (9 en total) y en mayor abundancia respecto a los múscidos y sarcófágidos (Tablas 7 y 8). Los califóridos estuvieron presentes durante los 4 primeros estados de descomposición de los cadáveres, mostrando su importancia como activos colonizadores y explotadores tempranos del recurso. El sarcófágido *Peckia (Patonella) intermutans* también estuvo presente durante los 2 primeros estados de la descomposición. En cuanto al múscido *Cyrtoneurina* sp, si bien estuvo presente en el primer y tercer estado de descomposición, su abundancia fue muy baja en comparación a la presentada durante las etapas intermedias y finales de la descomposición, especialmente cuando los cadáveres estaban en estado de esqueletización.

Como habíamos mencionado anteriormente, los patrones sucesionales pueden estar influenciados por diversos factores ambientales y biológicos; entre estos últimos tenemos las interacciones de competencia por el recurso, las cuales pueden conllevar a distintos patrones de presencia-ausencia de las especies, especialmente de las colonizadoras. Tomando en consideración los valores porcentuales diarios de las especies asociadas a los cadáveres de los cerdos (Tabla 9), pasaremos a describir los patrones observados.

En primer lugar, destacamos la amplia dominancia de *Chrysomya albiceps*, presente prácticamente en todos los estados, aunque con importancia variable. Sin embargo, aún cuando *C. albiceps* es mencionada en muchos trabajos como una especie colonizadora temprana en los cadáveres de diversos grupos de animales (Ortloff y col., 2013; Salazar, 2011; Magaña y col., 2006; Infante, 2003; Oliva, 2001), así como en vísceras usadas como biomodelos (Núñez y Liria, 2014), algunos otros autores la señalan más bien como una especie colonizadora secundaria (Pellitero y Saloña-Bordas, 2007; Battan-Horenstein y col., 2010 y 2005; García-Rojo 2004).

Tabla 9. Distribución porcentual de especies de insectos diarios asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.)

Orden	Familia	Especie/ Días	Estados de la descomposición															
			F	H	DAC	DAv	E											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Diptera	Calliphoridae	<i>Chrysomya albiceps</i>	33	27,5	97	89	50	17	2,13	6	100	47	87	8,1	0	43	0	
		<i>Chrysomya megacephala</i>	0	0	0,6	0	46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Chrysomya rufifacies</i>	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Hemilucilia segmentaria</i>	54	15,7	1	11	0	26	2,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Hemilucilia</i> sp	2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Lucilia eximia</i>	9,8	17,6	1	0	0	1,4	2,13	0	0	0	0	2,7	0	0	0	0
		<i>Lucilia</i> sp	0,22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Cochliomyia macellaria</i>	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Hemilucilia semidiaphana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,9	0	0
	Sarcophagidae	<i>Peckia (Patonella) intermutans</i>	0,22	39,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muscidae	<i>Cyrtoneurina</i> sp	0,22	0	0,1	0	0	38	93,6	94	0	3,5	1,1	5,4	68	29	20		
Phoridae	Phoridae sp	0	##	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Coleóptera	Histeridae	<i>Euspilotus nigrita</i>	0	0	0,2	0	1	2,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cleridae	<i>Necrobia rufipes</i>	0	0	0	0	0	7,2	0	0	28	8,4	32	23	7,3	77		
	Dermestidae	<i>Dermestes maculatus</i>	0	0	0	0	0	5,8	0	0	18	3,2	11	4,4	7,3	3,3		
	Trogidae	<i>Omorgus suberosus</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	1,8	0	8,1	0	1,2	0		
	Scarabaeidae	<i>Onthophagus</i> sp	0	0	0	0	0	0	0	0	1,8	0	0	0	0	0		
	Staphylinidae	<i>Anotylus</i> sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	0,9	9,8	0		
	Chrysomelidae	Chrysome. sp1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Chrysomelidae	Chrysome. sp2	0	0	0	0	0	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Curculionidae	Curcu. sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,9	0	0		
	Elateridae	Elate. sp (larva)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,9	1,2	0		
Hemiptera	Cicadidae	Cicadi. sp (Ninfa)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,9	0	0			
Hymenoptera	Formicidae	<i>Paraponera</i> sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,2	0		
Acari	Varias	Ácaros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,1	0	0	0		
Abundancia total			437	51	1381	70	100	69	47	100	16	57	95	37	113	82	61	

F: Fresco; H: Hinchado; DAC: Descomposición activa; DAv: Avanzada;

E: Esqueletización. Nota. ##: Abundancia no cuantificada

Las especies de los géneros *Hemilucilia* y *Lucilia* también aparecieron durante los 3 primeros estados de la descomposición, siendo las más dominantes *H. segmentaria* y *L. eximia*. Ambos géneros y especies han sido citados como especies colonizadoras tempranas y asociadas a las primeras etapas de descomposición (Hall, 1948; Nourteva, 1963; Lord y col., 1984; Anderson y col., 1996; Montoya y col., 2009). Sin embargo, y al igual que con *C. albiceps*, algunos autores las consideran colonizadoras secundarias (Beltrán y Villa, 2011). Estas especies, conjuntamente con el sarcófago *Peckia (Patonella) intermutans*, alternan su dominancia entre ellas y con *C. albiceps*, es decir, alguna de estas 4 siempre fue más abundante respecto a las otras en alguno de los 4 primeros estados de la descomposición. Sin embargo, *C. albiceps* fue la clara dominadora durante los estados de descomposición activa y avanzada (etapas o días 3 y 4, respectivamente) (Tabla 9). Al igual que para las especies de los califóridos mencionados, algunos autores consideran a los sarcófagos del género *Peckia* como colonizadores primarios (González, 1999; Garcés y col., 2004; Pape y col., 2004; Salazar, 2011; Wahizatul y Lim, 2013), pero otros los consideran como secundarios (García-Rojo, 2004; Arnaldos y col., 2001).

En cuanto al resto de los califóridos presentes, *C. megacephala*, *C. rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* aparecieron durante el estado de descomposición activa, siendo, quizás, la etapa con mayor riqueza de especies de califóridos. Muchos autores señalan a estas especies como colonizadoras tempranas (Garcés y col., 2004; Bermúdez y Pachar 2010; Salazar, 2011; Ortloff y col. 2013; Wahizatul y Lim 2013; Trigo y Centeno, 2014). Igualmente, cabe señalar que para nuestro caso, *C. megacephala* tuvo una gran abundancia representativa durante la etapa o día 5, una transición entre los estados de descomposición avanzada y esqueletización, tal y como se presentaron también *C. albiceps* y *H. segmentaria* en las etapas o días 5 y 6, respectivamente. Posterior a estas etapas, solo *C. albiceps* estuvo presente pero en abundancias más bajas que las presentes en las etapas de pre-esqueletización (Tabla 9). Estos patrones de presencia en el estado de esqueletización parcial probablemente dependieron mucho de la calidad, cantidad y de la forma de explotación del recurso.

La mayoría de estas especies califóridas y sarcófagidas son consideradas sinantrópicas (Nourteva, 1963, Montoya y col., 2009; Bermúdez y Pachar 2010), no siendo el caso para las especies *Hemilucilia segmentaria*, *Hemilucilia semidiaphana* y, quizás,

Hemilucilia sp., especies más bien asociadas a ambientes poco o nada perturbados. (Souza y col., 1997; Carvalho y col., 2004). En nuestro caso, es importante señalar que tanto *H. segmentaria* como *H. semidiaphana* son especies nativas por lo que la temprana aparición y alta abundancia de *H. segmentaria* en los cadáveres de cerdo, puede deberse a las características transicionales de ambiente silvestre-semiurbano presentes en el sitio de experimentación de campo. El único ejemplar de *H. semidiaphana* encontrado estuvo asociado a la etapa o día 13 (esqueletización) (Tabla 9).

En segundo lugar, destacamos la presencia de moscas de la familia Muscidae, específicamente la especie *Cyrtoneurina* sp, estando varios otros géneros de esta familia comúnmente asociados a los cadáveres de diversos grupos de animales, así como a las vísceras utilizadas como biomodelos (Carvalho y col., 2004; Beltrán y Villa, 2011; Wahizatul y Lim, 2013; Núñez y Liria, 2014). Si bien esta especie aparece asociada a los estados de descomposición 1 y 3, es a partir de las distintas etapas del estado de esqueletización donde su abundancia pasa a ser muy importante y representativa. Siendo larvas muy pequeñas, casi un tercio del tamaño de la de los califóridos y sarcófágidos, parecen ser más eficientes en la explotación de los restos de tejidos adheridos a los huesos y piel de los cerdos. Casi siempre se encontraron en grandes cantidades debajo de los restos del cuerpo y piel de los cerdos, así como debajo de una fina capa de tierra humedecida con los líquidos producto de la descomposición. No se observaron expuestas, tal como sí se pudieron observar la de los califóridos y sarcófágidos (Tabla 8 y 9). Algunos autores indican que los múscidos aparecen con frecuencia durante los estadios intermedios de la descomposición, aumentando notoriamente su número (Wolff y col., 2001; Pérez y col., 2005 y Battan-Horenstein y col., 2010).

En cuanto a los individuos de la familia Phoridae, solo se encontraron en gran número asociados al estado Enfisematoso o Hinchado (etapa o día 2). No se contabilizaron y no se consiguieron más en ninguno de los demás estados y etapas. Greenberg y Wells (1998) y García-Rojo (2004), mencionan la presencia de especies de esta familia en sus trabajos.

Por último, es importante señalar que existen otras familias de dípteros asociados a los distintos procesos de descomposición, pero que no se obtuvieron en nuestro trabajo, a saber: Fannidae y Piophilidae, los cuales son señalados muy comúnmente en otros trabajos de esta índole (Carvalho y col., 2004, Liria, 2006; Magaña y col., 2006; Beltrán y Villa,

2011; Núñez y Liria, 2014)

En tercer lugar, pasamos a considerar los patrones presentados por los coleópteros. Las especies más dominantes en abundancia fueron *Dermestes maculatus* (Dermestidae) y *Necrobia rufipes* (Cleridae) (Tablas 7 y 8). Ambas especies son necrófagas muy comunes en los cadáveres de distintos grupos de animales y están claramente asociados a las últimas etapas de la descomposición, específicamente al estado de esqueletización (Payne, 1965; Early y Goff, 1986; Anderson y Vanlaerhoven 1996; Oliva, 1997; Carvalho y col., 2000 y 2004; Kulshrestha, 2001; Infante, 2002; Liria, 2006; Bermúdez y Pachar, 2010; Núñez y Liria, 2014). Su mayor presencia y dominancia ocurre a partir de la etapa o día 10 aún cuando tuvieron presencia ya en la etapa 6 (esqueletización parcial). La otra especie asociada a los estados de esqueletización y con presencia importante igualmente a partir de la etapa o día 10, fue *Omorgus suberosus* (Trogidae), otra especie comúnmente citada como asociada a dichos estados (Oliva, 1997 y 2001; Centeno y col., 2002; Núñez y Liria, 2014). Finalmente, dentro de este grupo de coleópteros descomponedores mencionamos la aparición ocasional de la especie *Onthophagus* sp (Scarabaeidae), presente igualmente en la etapa o día 10. Las especies de este género están asociadas eventualmente a restos de animales, pero su principal recurso son las heces de diversos grupos de animales, por lo que la coprofagia y saprofagia representan su principal función en los ecosistemas.

Dentro del grupo de los coleópteros tenemos también a especies señaladas como depredadoras, principalmente de dípteros. La especie *Euspilotus nigrita* (Histeridae) es una de las más comúnmente citadas (Tullis y Goff, 1987; García-Rojo, 2004; Almeida y Mise 2009) y su presencia comenzó en el estado de descomposición activa del cadáver, uno de los estados con gran abundancia de larvas de dípteros; sin embargo, fue más abundante en las etapas 5 y 6, pertenecientes al estado de esqueletización parcial. La otra especie depredadora fue *Anotylus* sp (Staphylinidae), claramente asociada a las últimas etapas de la esqueletización, posiblemente aprovechando la presencia en altas abundancias de larvas del múscido *Cyrtoneurina* sp.

Finalmente, un grupo de artrópodos como los ácaros son un componente importante y significativo de la comunidad sarcosaprófaga. En nuestro trabajo fueron recolectados unos pocos ejemplares en la fase final del estado de descomposición (esqueletización) del cerdo correspondiente al día 12. Estos artrópodos son calificados como depredadores y saprófagos, y varios autores los consideran característicos de las últimas fases de la

descomposición (Méglin 1894, Tantawi y col., 1996, Richards y Goff, 1997). Además, constituyen una valiosa herramienta en investigaciones médico-legales, ya que su presencia no solo puede ser un indicador ambiental y biogeográfico, sino que en diferentes trabajos han sido utilizados para el establecimiento de intervalos postmortem y resolver diferentes situaciones forenses (Goff 1991). Sin embargo, es importante señalar que en un trabajo realizado con cadáveres humanos, Bermúdez y Pachar (2010) encontraron varias especies de ácaros, pero todas asociadas a los artrópodos y no a los cuerpos en descomposición. La información sobre la ecología de estos ácaros asociados a cuerpos en descomposición es escasa. De acuerdo con Braig y Perotti (2009), la ecología de los ácaros a lo largo de su distribución en los cuerpos en descomposición puede ser tan variada como la observada en los insectos asociados, lo cual mostraría la importancia de conocer más a estos organismos.

A los fines de poder visualizar mejor la distribución de las especies y ver si la misma determina algún patrón de aparición acorde a los estados de descomposición, se realizó la Prueba de Seriación (Brower y Kile 1988) para la matriz de presencia-ausencia. Se utilizó la forma de optimización restringida, a los fines de que solo las especies (filas) sean las libres de moverse, de forma tal que el ordenamiento “óptimo” de las mismas genere la mejor alineación posible respecto a los días o etapas de la descomposición (columnas); se utilizó el programa PAST (Hammer 2014) para operar la citada prueba. Se utilizó una matriz editada (Anexo 3), de donde se descartaron a las especies de coleópteros y hemíptero herbívoros, a las mosquitas de la familia Phoridae, a los ácaros y a la hormiga del género *Paraponera*.

Como podemos observar en la Tabla 10, la ordenación de las especies presenta un patrón de alineación acorde a las etapas de descomposición (sucesión), con especies presentes en casi todas las etapas, como los son *C. albiceps* y *Cyrtoneurina* sp., algunas presentes principalmente durante las primeras etapas (*Hemilucilia* sp, *Lucilia* sp, *P.(P) intermutans*, *Co. macellaria*, *C. rufifacies*, *H. segmentaria*; otras estuvieron presentes tanto en las primeras etapas como en las intermedias: *H. segmentaria*, *C. megacephala*, *E. nigrita* y *L. eximia*. Finalmente, las demás estuvieron claramente asociadas a las etapas finales o de esqueletización, como *Onthophagus* sp, *O. suberosus*, *D. maculatus*, *N. rufipes*, *Anotylus* sp, *H. semidiaphana*. Este ordenamiento resultó ser estadísticamente significativo (0,73 $p < 0,00001$).

Tabla 10. Distribución seriada de especies de insectos asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.)

Especies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Hemilucilia</i> sp	■														
<i>Lucilia</i> sp	■														
<i>Peckia (Patonella) intermutans</i>	■	■													
<i>Cochliomyia macellaria</i>			■												
<i>Chrysomya rufifacies</i>			■												
<i>Hemilucilia segmentaria</i>	■			■		■									
<i>Chrysomya megacephalla</i>			■		■										
<i>Euspilotus nigrita</i>			■			■									
<i>Lucilia eximia</i>	■		■		■		■					■			
<i>Chrysomya albiceps</i>	■		■		■		■					■		■	
<i>Cyrtoneurina</i> sp	■		■		■		■		■			■		■	
<i>Onthophagus</i> sp												■		■	
<i>Omorgus suberosus</i>					■						■	■		■	
<i>Necrobia rufipes</i>						■						■		■	
<i>Dermestes maculatus</i>						■						■		■	
<i>Anotylus</i> sp										■	■			■	
<i>Hemilucilia semidiaphana</i>												■		■	

De igual forma, y basados en la matriz editada sobre la presencia-ausencia de las especies, se realizaron dos análisis de agrupamiento basados en la similitud de Jaccard, uno para las especies y otro para los días o etapas de la descomposición (Figs. 20 y 21, respectivamente).

En cuanto a las especies, la Figura 20 muestra el dendograma de agrupamiento de las mismas, pudiéndose observar 4 bloques de asociación con distintos grados de similitud entre ellos. Describiéndolos de izquierda a derecha, se observa un primer bloque que agrupa a la especie *C. albiceps* conjuntamente con *L. eximia* y *H. segmentaria*; el segundo bloque agrupa a las especies *D. maculatus*, *N. rufipes* y *Cyrtoneurina* sp, conjuntamente con *Anotylus* sp y *O. suberosus*; el tercer bloque agrupa a las especies *C. megacephala* y *E. nigrita* conjuntamente con a las especies *Co. macellaria* y *C. rufifacies*; el último bloque agrupa a las especies *Hemilucilia* sp y *Lucilia* sp, conjuntamente con *P. (P.) intermutans*. Las especies *Onthophagus* sp y *H. semidiaphana* aparecen asociadas al dendograma general pero sin estar agrupadas a alguno de los bloques en particular. La correlación cofenética fue de 0,87.

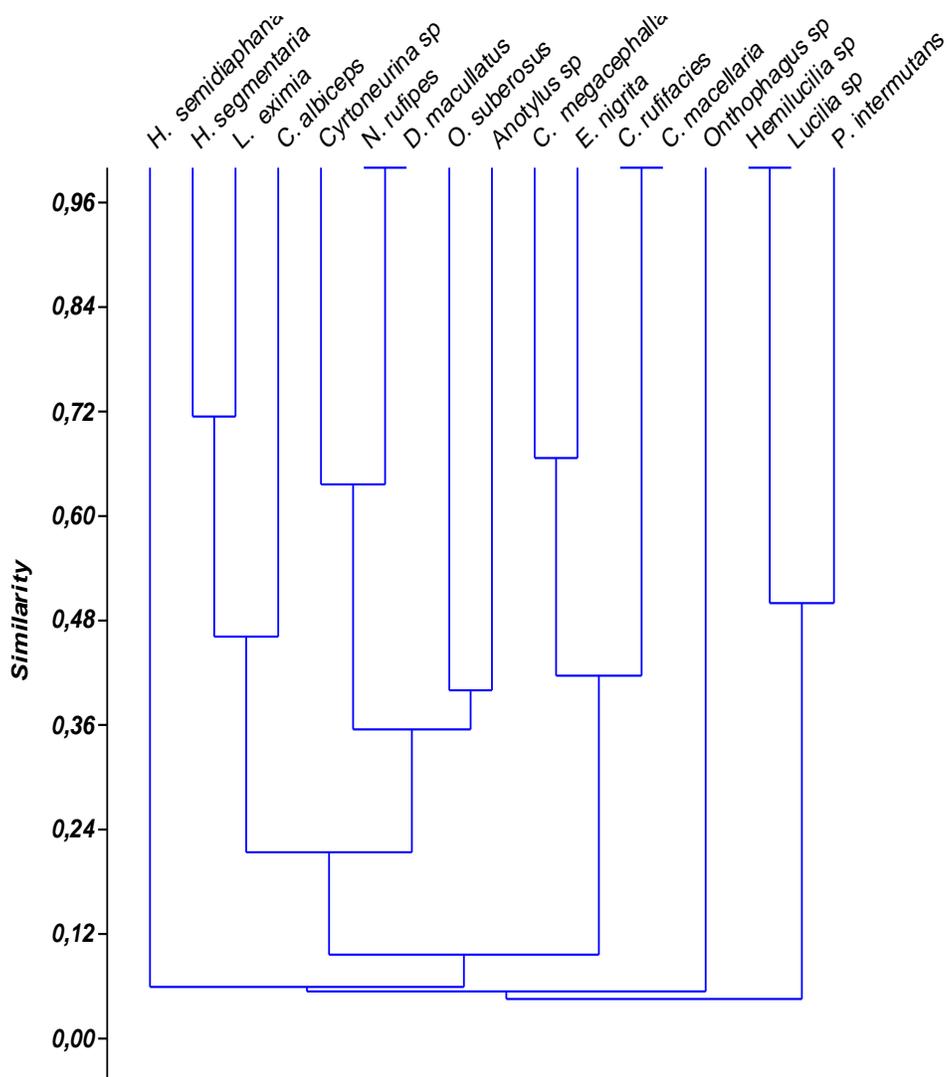


Figura 20. Dendrograma de agrupamiento de las especies, basado en la similitud de Jaccard y según una matriz editada sobre la presencia-ausencia de las mismas.

En cuanto a los días o etapas de la descomposición, la Figura 21 muestra el dendrograma de agrupamiento de los mismos, pudiéndose observar 3 bloques de asociación definida. Describiéndolos de izquierda a derecha, se observa un primer bloque que agrupa con alta similitud a los dos primeros días o etapas, correspondiente a los estados fresco e hinchado, conjuntamente con los días o etapas 3 y 4, correspondientes a los estados de descomposición activa y avanzada. El segundo bloque agrupa a los días o etapas 6 y 7,

conjuntamente con las etapas 8 y 9, correspondientes al estado de esqueletización. El último bloque agrupa a las etapas o días 10 al 15, claramente correspondientes al estado de esqueletización. El día o etapa 5 aparece sin un agrupamiento claro, lo que para nosotros significa el paso de la etapa descomposición avanzada al de esqueletización o, quizás, lo que ya habíamos definido como estado de esqueletización parcial o pre-esqueletización, donde ocurre un proceso de mezcla y sustitución de especies necrófagas devoradoras de los músculos, tejidos y órganos del animal por las especies necrófagas de los restos de tejidos y cartílagos adheridos a la piel y huesos del mismo. Muy probablemente, esta etapa 5, conjuntamente con las etapas 6, 7 y, quizás, las 8 y 9, estén definiendo esa etapa de esqueletización parcial en transición hacia la esqueletización avanzada.

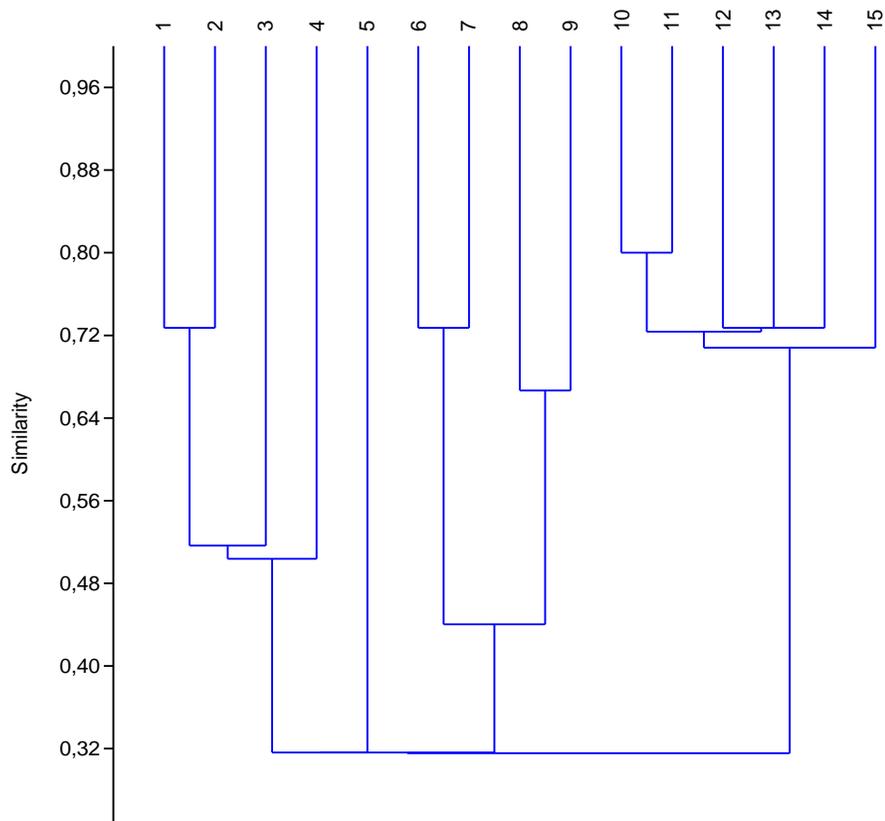


Figura 21. Dendrograma de agrupamiento de los días o etapas de la descomposición, basado en la similitud de Jaccard y según una matriz editada sobre la presencia-ausencia de las especies en las mismas.

En resumen, pudimos observar que los patrones examinados están entre los esperados, con las moscas califóridas como las especies colonizadoras por excelencia de los cuerpos de animales recién fallecidos, permaneciendo y dominando en abundancia y riqueza durante los primeros estados de la descomposición.

Inicialmente observamos que la especie dominante en casi todas las etapas o días fue la especie *Chrysomya albiceps* (Wiedemann 1819). Generalmente, en los estados de descomposición activa y avanzada, las larvas de *C. albiceps* son las más abundantes. ¿Qué hace que esta especie sea tan común y abundante en los procesos de descomposición?

Se estima que *C. albiceps* es originaria de África y que ingresó a América del Sur, por Brasil (Guimaraes y col., 1978). Varios autores han observado que su introducción al Nuevo Mundo ha tenido un gran impacto en las abundancias de los dípteros necrófagos endémicos. Es probable que este impacto se deba a la capacidad depredadora facultativa y al comportamiento agresivo de esta especie durante su etapa larvaria, pudiendo de esta manera alterar la composición de especies de dípteros que se desarrollan en un cadáver (Faria y col., 1999). Ortloff y col. (2013), observaron a esta especie depredando otros dípteros asociados a cadáveres de cerdo, y en nuestro trabajo fue posible evidenciar un comportamiento caníbal en esta especie, observaron a esta especie depredando otros dípteros asociados a cadáveres de cerdo. Sin embargo, hay que señalar igualmente que *C. albiceps* no es la única especie exótica invasora, sino que *C. megacephala* también lo es, por lo que su presencia y abundancia en alguna de las etapas de la descomposición puede ser señal de los complejos procesos competitivos que pueden presentarse entre las distintas especies presentes.

Figuroa-Roa y Linhares (2002) señalan la ausencia de *C. albiceps* en procesos de descomposición de cadáveres animales en Temuco (Chile), explicando que muy seguramente se debe a la baja temperatura media que caracteriza dicha zona y que esta especie no está adaptada a bajas temperaturas, por lo que no ha sido reportada en varias regiones de dicho país. Sin embargo, Ortloff y col. (2013) reportan la presencia de ésta especie en cadáveres expuestos a temperatura ambiental promedio de 17,7 °C, debido a que la temperatura de las masas larvarias dentro del cuerpo fue de 36,1 °C en promedio, lo que mantuvo un ambiente cálido favorable a su desarrollo. Por lo tanto, las condiciones de baja temperatura ambiental no parecen ser un impedimento en el proceso de expansión de esta especie, por lo menos en ciertas estaciones del año.

Habíamos señalado igualmente que los patrones de presencia-ausencia en los procesos sucesionales podían responder a una diversa gama de situaciones, entre ellas las ambientales y las biológicas. Entre estas últimas, los procesos de interacción competitiva y de depredación, entre otras, juegan un papel fundamental. Sin embargo, no debemos olvidar las biológicas, específicamente las referidas a los ciclos de vida de las especies. *C. albiceps* es una especie altamente competitiva y gran colonizadora, por lo que entre sus atributos de historia de vida, características como la fecundidad, fertilidad, proporción hembra: macho, tasa de crecimiento, entre otras, juegan también un papel fundamental en

su éxito como especie invasora. Ortloff y col. (2013), reportan que esta especie posee un tiempo de desarrollo de aproximadamente 8 días entre las fases de huevo a pupa, y de 12 días desde huevo a adulto. Es por ello que su abundancia en las etapas intermedias y finales del estado de esqueletización no es muy alta y siempre se consiguieron grandes cantidades de puparios en el suelo (Anexos 1.7b, 1.8c, 1.11b, 1.12b, 1.14b). De hecho, en la cámara de cría se comenzaron a ver los puparios en el día 6 y ya en el día 9 se comenzaron a ver los primeros adultos emergiendo.

En cuanto a *Cyrtoneurina* sp, esta especie fue claramente más abundante en las etapas finales de la descomposición (esqueletización), presentando, por consiguiente, un patrón de aparición contrario al de *C. albiceps* y demás especies de dípteros. Patrón semejante fue observado por Liria (2006) al trabajar con ratas como biomodelo, teniendo como comparación las abundancias de *C. albiceps* y *Musca domestica* (Muscidae). Otros autores, trabajando en otras regiones biogeográficas (Battan-Horenstein y col., 2005), señalan la importancia de considerar a las especies de Muscidae dentro de los modelos de sucesión heterotrófica, así como la cuantificación y duración de sus fases larvianas para la estimación de los IPM (Calderón y col., 2005), debido a que esta familia es muy común y con alto número de especies en la región Neotropical.

5.1.6 Análisis de hidrocarburos cuticulares

En las Figuras 22-27, se presentan los cromatogramas comparados de iones totales de hidrocarburos cuticulares, obtenidos mediante el análisis por CG-EM, de los escleritos torácicos de ejemplares macho y hembra de dípteros de las especies *Cyrtoneurina* sp, *Peckia* (*Pattonella*) *intermutans*, *Chrysomia albiceps*, *Hemilucilia* sp, *Hemilucilia segmentaria* y *Lucilia eximia*, todas ellas especies de interés forense asociadas a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.).

En la Figura 22 se observan los cromatogramas obtenidos para ejemplares macho y hembra del género *Cyrtoneurina* sp. Hay una similitud en tiempos de retención en la elución de los compuestos presentes en los especímenes, así como también en la composición relativa de los mismos. Se identificaron 4 alcanos lineales, alquenos y alcanos metil y dimetil ramificados en ambos sexos de esta especie.

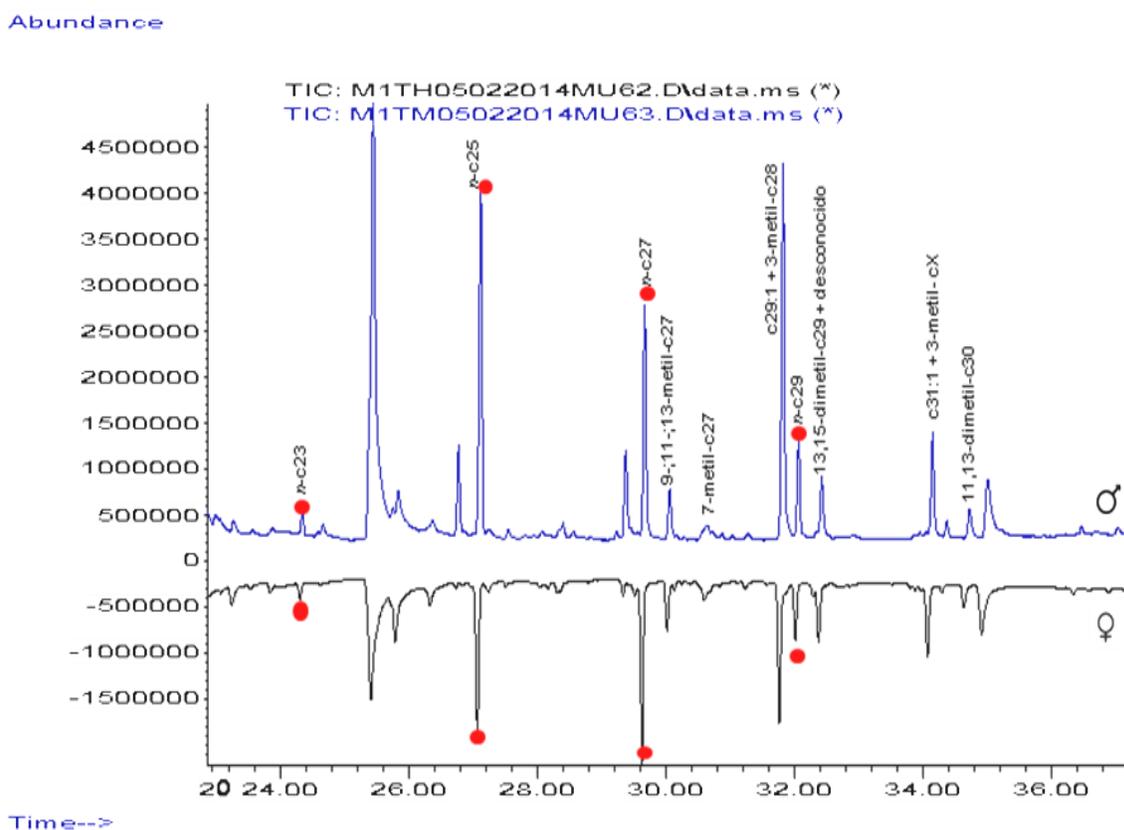


Figura 22. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de *Cyrtoneurina* sp (Diptera: Muscidae).

En la Figura 23 se presentan los cromatogramas obtenidos para ejemplares del género *Chrysomya albiceps* de la familia Calliphoridae, asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.). Se observa una similitud en los tiempos de retención en la elución de los compuestos presentes en ambos especímenes, así como también en la composición relativa de los mismos. Se identificaron un total de 6 alcanos lineales, alquenos y alcanos metil y trimetil ramificados presentes para ambos sexos de dicha especie.

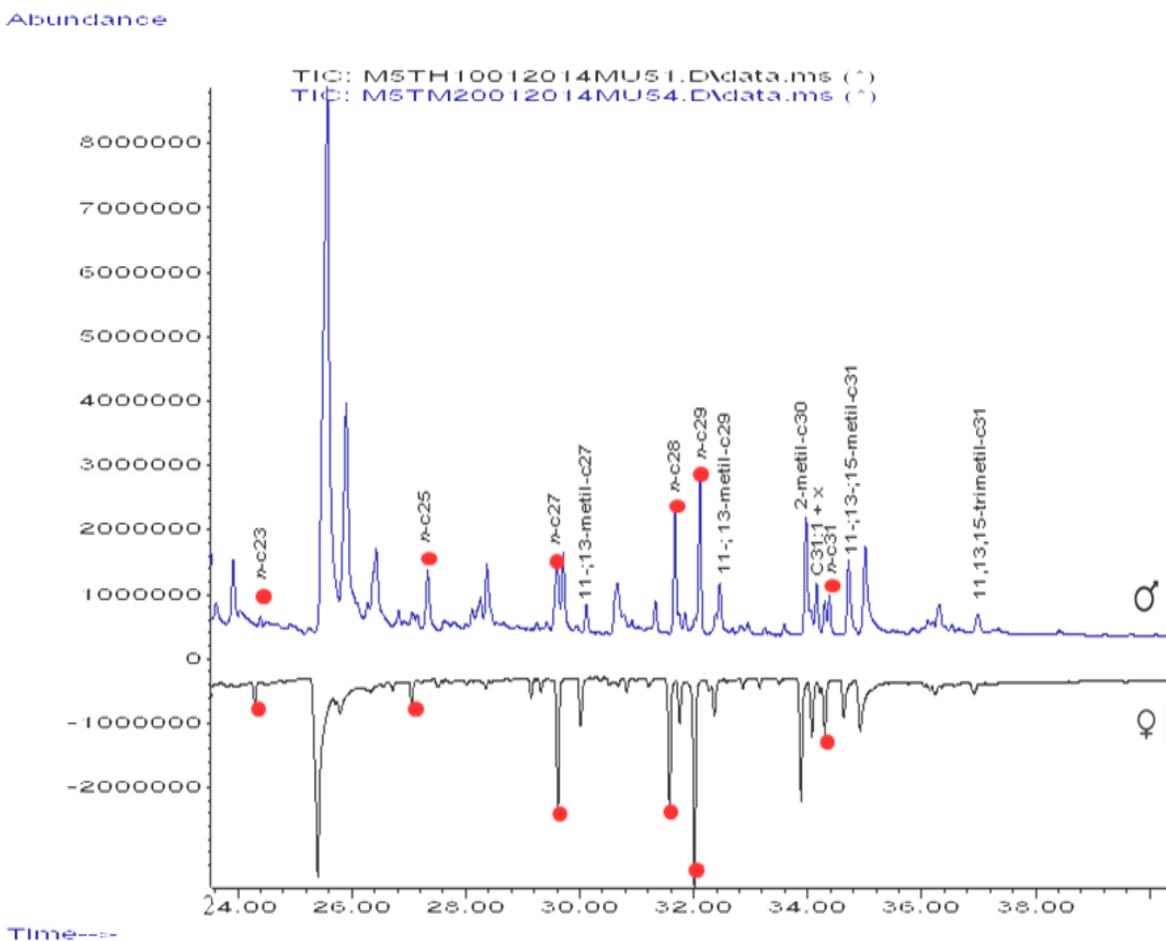


Figura 23. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae)

Los cromatogramas comparados para ambos sexos de la especie *Peckia (Pattonella) intermutans*, familia Sarcophagidae permiten observar la similitud en los picos y los tiempos de elución de los compuestos presentes, así como también en la composición de los mismos. Se identificaron 2 alcanos lineales, y alcanos metil y dimetil ramificados presentes para ambos sexos de dicha especie (Figura 24). Se puede notar la diferencia en las abundancias relativas de los compuestos, siendo mayor en la hembra.

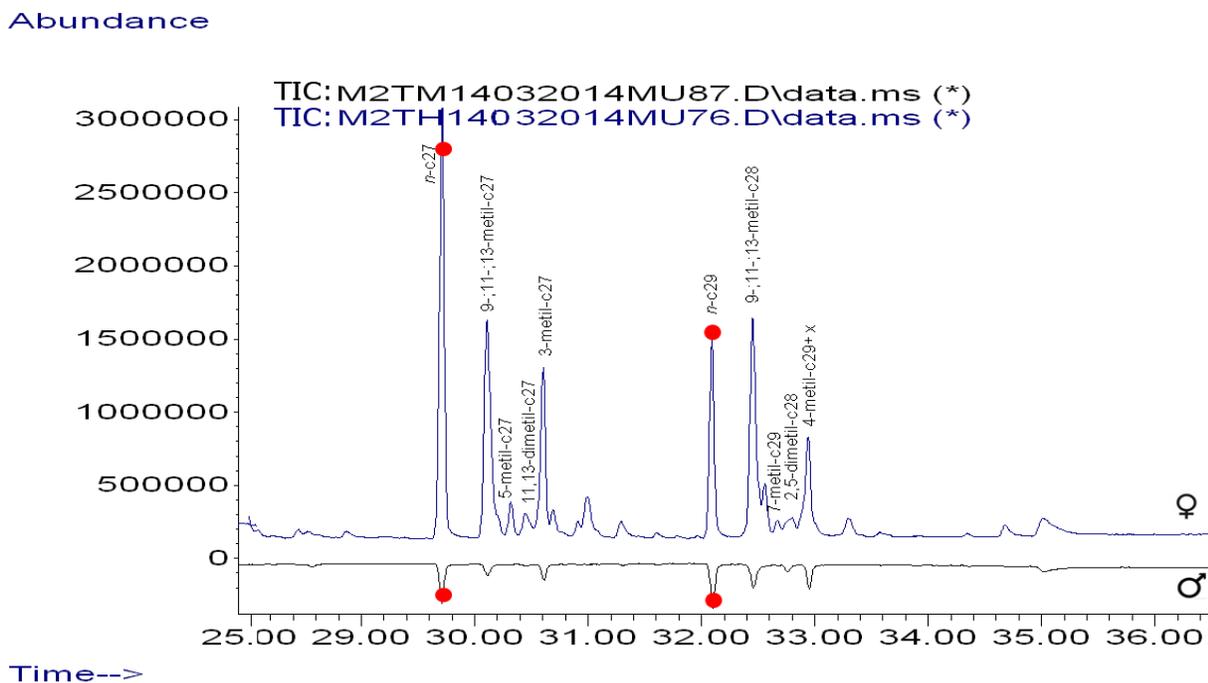


Figura 24. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de *Peckia* (*Pattonella*) *intermutans*. (Diptera: Sarcophagidae).

En la Figura 25, se presentan los cromatogramas obtenidos para ejemplares del género *Hemiluciliasp* de la familia Calliphoridae. Se observa una similitud en los tiempos de retención en la elución de los compuestos presentes en ambos especímenes, así como también en la composición relativa de los mismos. Se identificaron 2 alcanos lineales, un alqueno y alcanos metil y dimetil ramificados presentes para ambos sexos de dicha especie.

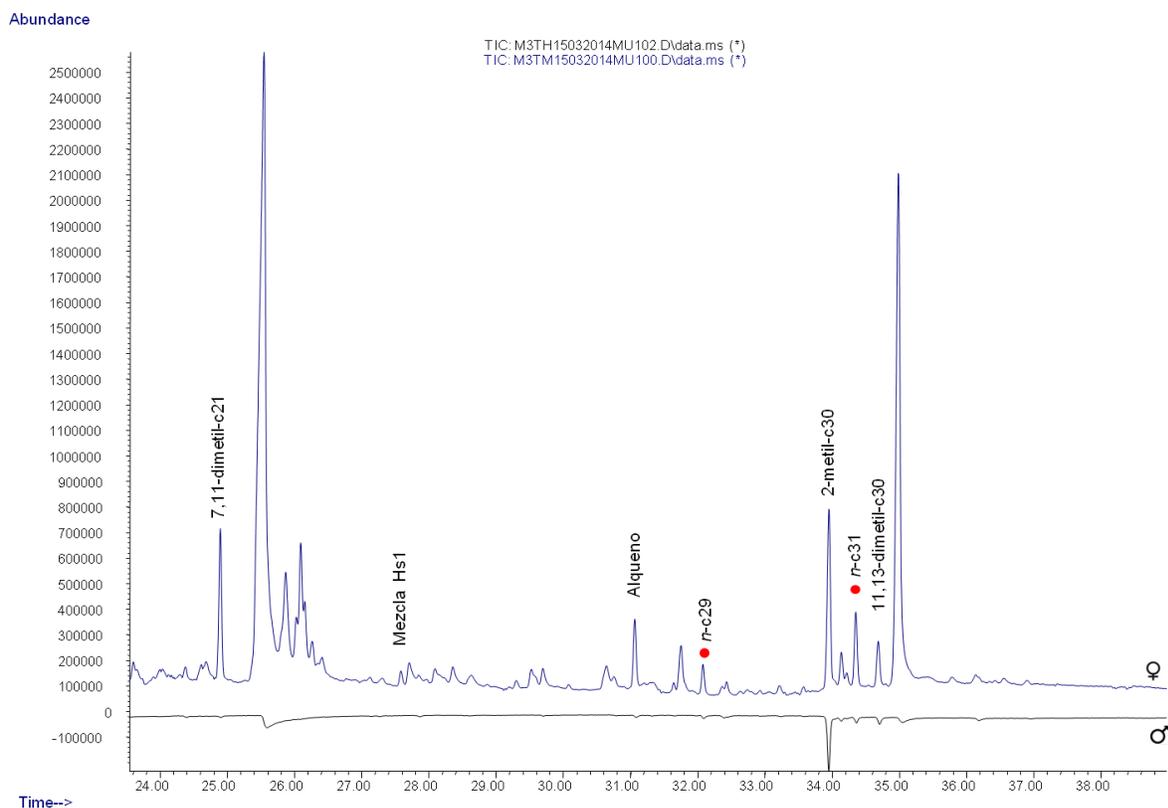


Figura 25. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de *Hemilucilia* sp (Diptera: Calliphoridae).

Los cromatogramas comparados para ambos sexos de la especie *Hemilucilia segmentaria*, familia Calliphoridae, permiten observar la similitud en los picos y los tiempos de elución de los compuestos presentes, así como también en la composición de los mismos. Se identificó el compuesto 2- metil-C₃₀ (Figura 26).

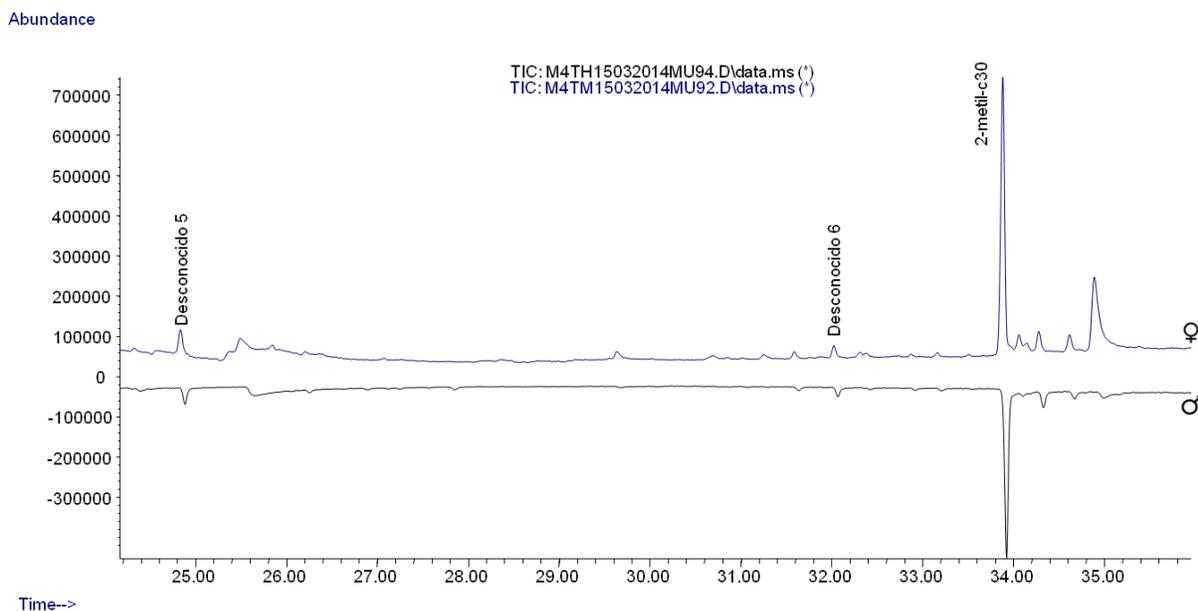


Figura 26. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de *Hemilucilia segmentaria* (Diptera: Calliphoridae).

En la Figura 27, se presentan los cromatogramas obtenidos para ejemplares de la especie *Lucilia eximia* de la familia Calliphoridae, Se observa una similitud en los tiempos de retención en la elución de los compuestos presentes en ambos especímenes, así como también en la composición relativa de los mismos. Se identificó 1 alcano lineal y alcanos metil ramificados de 24 carbonos.

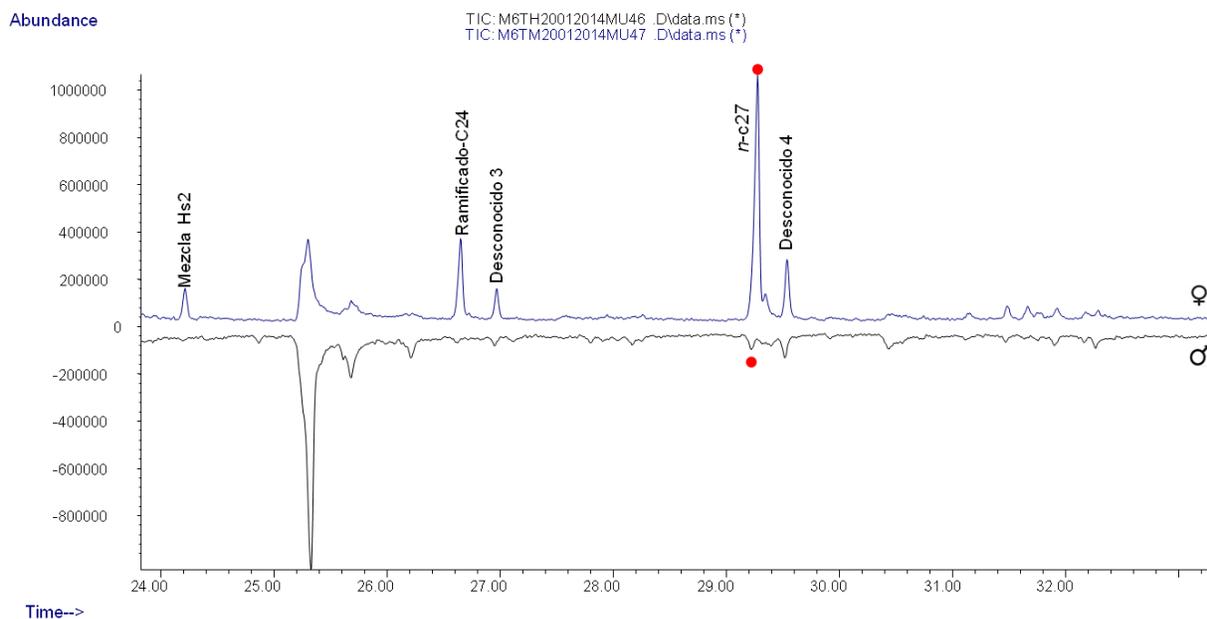


Figura 27. Cromatogramas de iones totales de hidrocarburos cuticulares de *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae).

La identificación de los compuestos presentes en la cutícula de los dípteros asociados a los cadáveres de cerdo, fue hecha con base en la comparación de los tiempos de retención con patrones específicos, utilizando el índice de Kovats, y los análisis de los espectros de masas obtenidos para cada pico registrado en los cromatogramas. Estos se compararon con los espectros de masas de los compuestos patrones (Soto y col. 2011; Roux y col. 2006; Hernández y col. 2006), y por el clivaje en los enlaces; estos puntos son claves para la identificación química de compuestos hidrocarburos en general.

Los lípidos cuticulares juegan un papel crítico en la supervivencia de los insectos en los diferentes ambientes terrestres (Blomquist y col. 1987). Entre los lípidos cuticulares, los hidrocarburos han recibido bastante atención debido a varias características (Alarie y col. 1998). En primer lugar, estos compuestos son los más abundantes en la superficie de muchos insectos, son fáciles de extraer y existen técnicas estandarizadas para lograr estudiarlos. En segundo lugar, los hidrocarburos también pueden tener varias funciones en el comportamiento de los insectos. Por último, los hidrocarburos cuticulares pueden ser usados como caracteres taxonómicos o en estudios de sistemática (Howard 1993; Blomquist y Bagnères 2010).

Los hidrocarburos de la cutícula pueden variar cualitativa y cuantitativamente, pueden encontrarse en pequeñas proporciones como en el plec6ptero *Pteronarcys californica* (Arnold y col. 1969) donde constituyen el 3% de los l6pidos cuticulares, hasta constituir el componente mayoritario de los mismos como en los blatodeos *Periplaneta japonica* y *Periplaneta americana* (85 % y 90 %) (Warthen y Uebel 1980) y *Locusta migratoria* (78 % y 92 %) (Genin y col. 1986). Usualmente se encuentran como mezclas complejas de alcanos (*n*-alcanos) saturados o insaturados, de cadena lineal o metil ramificados, alquenos (*n*-alquenos), entre otros.

Varios picos no pudieron ser identificados debido a la baja concentraci6n de estos en las muestras, por no haber sido reportados en la literatura para comparaci6n de sus tiempos de retenci6n con el 6ndice de Kovats y porque no fue posible la determinaci6n de los espectros de masas, ya que estos compuestos pueden ser el resultado de la mezcla de varios compuestos. Por lo tanto, ser6a necesario el aislamiento y an6lisis de los compuestos por medios de otras metodolog6as.

Debido a la diferencia observada en los cromatogramas obtenidos para cada una de las especies estudiadas, se deduce que la composici6n de los hidrocarburos cuticulares muestradiferencias (Figuras 28 y 29). Esto se puede evidenciar en la Figura 26, donde los cromatogramas comparados de las hembras de las tres especies de d6pteros, a saber: *Cyrtoneurina* sp., *Peckia (Pattonella) intermutans* y *Chrysomya albiceps*, presentan compuestos que son comunes y tienen un tiempo de retenci6n id6ntico; esto es observado de la misma manera para los machos de tres especies (Figura 29). Los puntos verdes representan los picos de un mismo compuesto que est6n presentes en las 3 especies, el alcano lineal C₂₇ (Heptacosano) con un tiempo de retenci6n de 29,6 min. Los puntos rojos representan otro compuesto que fue encontrado en las tres especies con tiempo de retenci6n de 32 min. Al comparar los espectros de masas de dichos picos para cada una de las especies, concuerdan y son id6nticos, identific6ndolo como un alcano lineal C₂₉ (Nonacosano).

Abundance

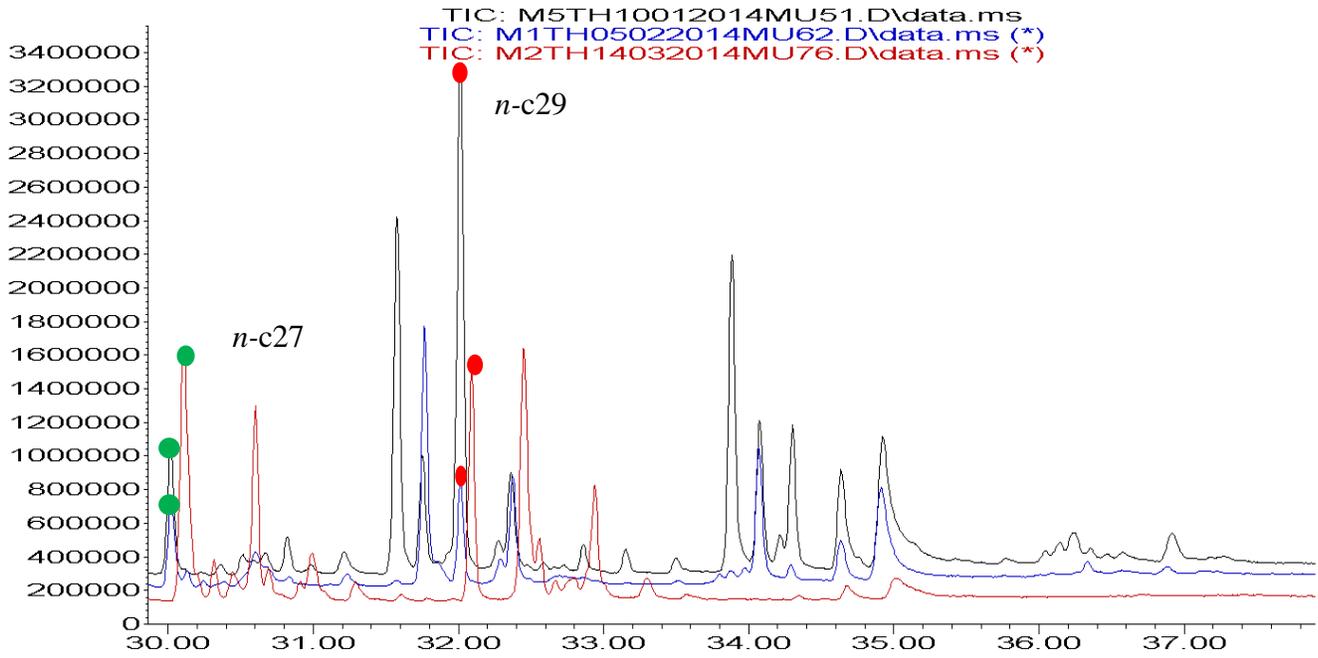


Figura 28. Cromatogramas comparados de iones totales de hidrocarburos cuticulares de dípteros hembra de las especies: *Cyrtoneurina* sp. (azul), *Peckia (Pattonella) intermutans* (rojo) y *Chrysomya albiceps* (Negro).

Abundance

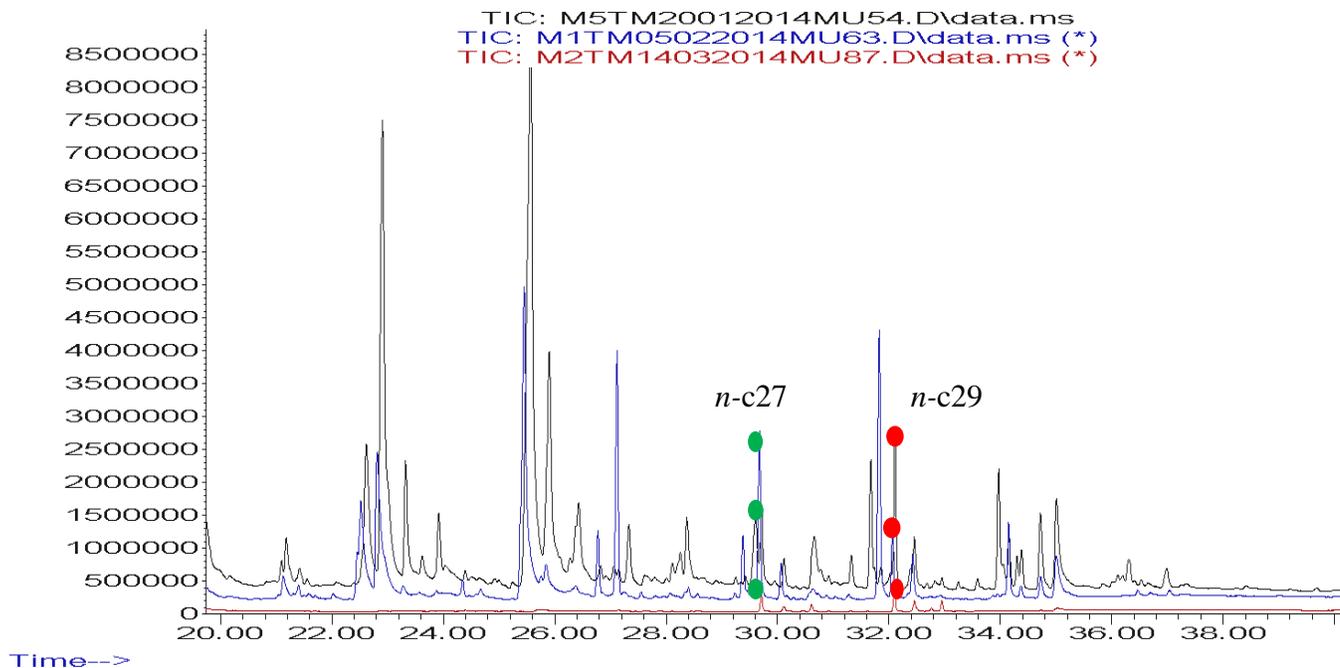


Figura 29. Cromatogramas comparados de iones totales de hidrocarburos cuticulares de dípteros machos de las especies: *Cyrtoneurina* sp. (azul), *Peckia (Pattonella) intermutans* (rojo) y *Chrysomya albiceps* (negro).

En la mayoría de las especies estudiadas, los *n*-alcanos se encontraron como series continuas homólogas de longitud variable de *n*-C₂₇ a *n*-C₃₁, tal como en la cucaracha *Arenivaga investigata* (Jackson 1983). Sin embargo, algunas especies poseen series compuestas totalmente de *n*-alcanos impares, como en el género *Melanoplus* sp. Donde la serie impar va desde *n*-C₂₃ a *n*-C₄₉ (Jackson 1981). En los HC identificados a partir de dípteros asociados a los cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L), se aprecia que hay una predominancia de las cadenas impares de *n*-C₂₃ a *n*-C₃₁.

La proporción de *n*-alquenos fue variable en las especies de dípteros estudiados, pero pueden variar su proporción en distintos insectos, desde el 0,8 % de los lípidos cuticulares en el odonato *Sympetrum danae* (Jacob y Hannsen 1979) hasta el 68 % como en el himenóptero *Pikodema alaskensis* (Bartelr y col. 1984). Estos lípidos cuticulares de la mayoría de las especies estudiadas presentaron mezclas isoméricas de metilalcanos, los

cuales se encontraron como mono o dimetilalcanos y uno solo compuesto como trimetilalcano.

La distribución de los monometilalcanos varía ampliamente entre las especies pertenecientes a un grupo determinado de insectos. En las especies de dípteros asociados a los cadáveres de cerdo se identificaron hidrocarburos cuticulares que van desde 3- a 7-metilalcano en la especie *Peckia (Pattonella) intermutans*, pero compuestos como 9-,11-,13-metilalcanos fueron comunes para la mayoría de las especies. En Ortópteros de los géneros *Anabrus* sp., *Acheta* sp., *Nemobius* sp. y *Gryllus* sp. (Blomquist y col. 1976, Jackson y Blomquist 1976), así también como en *Melanoplus* sp. (Jackson 1981, Nelson y col. 1984), se encuentran 2- y 3-metilalcanos, pudiendo ambos estar presentes o faltar alguno de ellos, mientras que en *Schistocerca americana*, *S. gregaria* y *S. vaga* (Nelson y Sukkestad 1975, Lockey 1976, Jackson 1982) se encuentran ausentes. Se encuentran también extensas series homologas de 2- y 3-metilalcanos en dípteros de los géneros *Glossina* sp y *Musca* sp (Nelson y col 1981, Nelson y Carlson 1986).

La mayoría de las especies presentan series de cadenas pares e impares de dimetilalcanos, aunque las cadenas impares suelen predominar. Del mismo modo que los monometilalcanos, estos se presentan casi siempre como mezclas isoméricas en las cuales ambas ramificaciones pueden estar separadas por 3 a 15 grupos metileno. La mezcla de isómeros puede ser escasa, con pocas series homologas o llegar hasta cerca de cuarenta dimetil isómeros, como en el grillo *Melanoplus packardii* (Nelson y col. 1984), con cadenas de 28 a 55 carbonos. En *Musca domestica* (Nelson y col. 1981) las ramificaciones van desde la posición 3- a la 17- de la cadena, por ejemplo mezclas de 3,7-, 3,9-, 3,11-, 3,13-, 9,13-, 11,15-, y 13,17-dimetil C₂₉. Compuestos dimetilalcanos estuvieron presentes en los perfiles de hidrocarburos de la especie *Peckia (Pattonella) intermutans*, mezclas como 11,13-dimetil-C₂₇ y 2,5-dimetil-C₂₈ y mezclas isoméricas como 11,13-dimetil-C₃₀ en la especie de múscido *Cyrtoneurina* sp y los dípteros del género *Hemilucilia* sp., pero a pesar de que tienen un compuesto común para ambos, mezclas como 13,15-dimetil-C₂₉ estuvieron solo presentes en la especie *Cyrtoneurina* sp; igualmente, compuestos que no son comunes para dípteros de una misma familia, como por ejemplo el 11,15-dimetil-C₃₀ en la especie *Chrysomya albiceps*, no estuvo presente en las otras especies; esto puede explicarse, como ya se ha comentado anteriormente, debido a que existe una gran variación en las combinaciones de mezclas de dimetilalcanos que pueden significar una

diferenciación entre dípteros de distintas familias; de hecho, pueden ser un componente escaso de los hidrocarburos cuticulares o constituir una gran proporción de los mismos como en hembras de la mosca tse-tse *Glossina pallidipes*, en la cual comprenden cerca del 75% (Nelson y Carlson 1986).

Los trimetilalcanos, a diferencia de lo que ocurre con los dimetilalcanos, son reportados en la mayoría de las especies analizadas, las cadenas con número par de átomos de carbono suelen predominar sobre las de número impar; el compuesto 11,13,15-trimetil-C₃₁ presente en la especie *Chrysomya albiceps*(Calliphoridae), también se presenta en algunas especies como la langosta *S. americana* (Jackson 1982), en las que solo se encuentran cadenas pares, mientras que en otros insectos como la mosca tse-tse *Glossina auteni* (Nelson y Carlson 1986) se detectaron series homologas continuas de 34 a 41 átomos de carbono de la cadena. De manera común, las ramificaciones están separadas por tres grupos metilo (Lockey 1988) siendo los isómeros 9,13,17-, 11,15,19-, 13,17,21- y 15,19,23- los más usuales.

La Tabla 11, muestra un matriz de presencia-ausencia de los compuestos identificados en las especies de dípteros asociados a los cadáveres de cerdo, para ambos sexos, así como también sus índices de retención (IR) determinados.

Tabla 11. Matriz presencia-ausencia de la composición de hidrocarburos cuticulares de los dípteros asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.) y sus índices de retención.

Compuesto	IR	<i>Cyrtoneurina</i> sp. ♀/♂	<i>Peckia (Pattonella)</i> <i>intermutans</i> ♀/♂	<i>Chrysomya</i> <i>albiceps</i> ♀/♂	<i>Hemilucilia</i> sp. ♀/♂	<i>Hemilucilia</i> <i>segmentaria</i> ♀/♂	<i>Lucilia eximia.</i> ♀/♂
tricosano	2300	X		X			
hs2	2300,2						X
Desconocido 5	2342,3					X	
7-,11-dimetil-c21	2343,7				X		
ramificado-C24	2459,3						X
Desconocido 3	2495,2						X
Pentacosano	2500	X		X			
HS1	2530,9				X		
Desconocido 4	2686,1						X
heptacosano	2700	X	X	X			X
9-;11-;13-metil-c27	2738,3	X	X				
7-metil-c27	2742,4	X					
11-;13-metil-c27	2746			X			
5-metil-c27	2759,2		X				
11-,13-dimetilC27	2768,1		X				
3-metil-c27	2774,6		X				
desconocido 1	2775,4		X				
x-,x-dimetil-c27	2769,9		X				
desconocido 2	2768,3		X				
Alqueno	2767,6				X		
octacosano	2800			X			
c29:1 + 3-metil-c28	2827	X					
Desconocido 6	2897,9					X	
nonacosano	2900	X	X	X	X		
13-,15-dimetil-c29 + desc	2931,4	X					
11-;13-metil-c29	2935			X			
9-;11-;13-metil-c28	2937,1		X				
7-metil-c29	2942,4		X				
2-,5-dimetil-c28	2965,3		X				
4-metil-c29 + desc	2962,5						
2-metil-c30	3052,6			X	X	X	
c31:1 + x	3069,1			X			
c31:1 + 3-metil-cx	3069,1	X					
11-,15-dimetil-c30	3080,6			X			
entriacontano	3100			X	X		
11-;13-;15-metil-c31	3122			X			
11-,13-dimetilC30	3123	X			X		
11-,13-,15-trimetil-c31	3227			X			

Todos los compuestos detectados en los análisis cromatográficos tuvieron su índice de Kovats calculado, y enumerado en forma creciente (Tabla 11), resaltando que para cada compuesto se presenta un valor del índice característico.

Con base en los patrones de hidrocarburos, los índices de Kovats calculados y el análisis de los espectros de masas de los compuestos, se pudo observar que las seis especies de dípteros: *Cyrtoneurina* sp, *Peckia (Pattonella) intermutans*, *Chrysomya albiceps*, *Hemilucilia* sp, *Hemilucilia segmentaria* y *Lucilia eximia*, presentan diferencias en la composición de los hidrocarburos cuticulares (Tabla 10), detallando que hay compuestos que fueron característicos de cada una de las especies y no fueron encontrados en las otras analizadas. Se puede apreciar como hay un rango de hidrocarburos que van desde cadenas de C₂₃ a C₃₁ átomos de carbono y que son los alcanos *n*-C₂₇ y *n*-C₂₉ con valores de IR de 2700 y 2900 respectivamente, siendo los que predominan.

El heptacosano (*n*-C₂₇) fue común para cuatro de las seis especies analizadas: *Cyrtoneurina* sp, *Peckia (Pattonella) intermutans*, *Chrysomya albiceps* y *Hemilucilia* sp. El alcano lineal nonacosano (*n*-C₂₉) también fue común para las mismas especies de dípteros: *Cyrtoneurina* sp, *Peckia (Pattonella) intermutans*, *Chrysomya albiceps* y *Hemilucilia* sp. Soliday y col. (1974), encontraron que en un rango de alcanos desde *n*-C₂₁ a *n*-C₃₃, los alcanos lineales heptacosano (*n*-C₂₇) y nonacosano (*n*-C₂₉) fueron los alcanos de mayor abundancia en los saltamontes *Melanoplus sanguinipes* y *Melanoplus packardii*. Se ha determinado que de la mayoría de los hidrocarburos saturados de cadena recta, el heptacosano (*n*-C₂₇) representó el compuesto de mayor importancia en los estudios realizados con hidrocarburos de polillas de la especie *Lymantria dispar* (Jurenka y Subchev 2000). Algunas especies muestran una proporción variable que depende del sexo (mayor en hembras que en los machos) como se observó en los distintos perfiles de HC analizados en las especies de triatomíneos *Triatoma garciabesi* y *T. sordida*, determinándose que existía una predominancia del alcano de cadena lineal nonacosano (*n*-C₂₉) (Calderon 2008).

La abundancia de estos compuestos en los insectos se puede deber a que al ser alcanos lineales de cadenas largas, estos compuestos encontrados en la cutícula los ayudan a mantener el balance de agua interno y los previene así de la desecación (Blomquist y col. 1987); por tal motivo, la mayoría de los dípteros asociados a cadáveres de cerdo que fueron analizados presentaron estos alcanos lineales en sus cutículas, ya sea en bajas o altas concentraciones.

Aunque la composición de los hidrocarburos cuticulares identificados para las todas las especies de dípteros procesados presentaron similitud en los compuestos presentes en ambos sexos, más no así en las abundancias relativas de los mismos. Estas similitud en la composición de los hidrocarburos en una misma especie pueda deberse a procesos en la especiación de un determinado grupo de insectos. Pero a su vez, la diferencia en las abundancias relativas de los compuestos en especies de diferente sexo podría explicarse a la posibilidad de que sean algunos de esos compuestos los que permitan un reconocimiento por contacto entre dichas especies. Por tal motivo, la función de las sustancias cuticulares como feromonas de contacto y el estudio de su composición química, es una herramienta necesaria para la comprensión del proceso de comunicación química (Bagneres y Morgan 1990).

La Tabla 12 muestra los valores de las medias y desviaciones estándar de las proporciones relativas de los hidrocarburos cuticulares de los dípteros analizados. Se aplicó la prueba **T de student**, usando la función Prueba T de Microsoft Excel ®, para los dos grupos (Hembra y Macho) en cada uno de los compuestos, para determinar el valor de probabilidad (Valor p).

Tabla 12. Media y desviación estándar de la proporción relativa de Hidrocarburos Cuticulares presentes en dípteros de interés forense asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.).

Especie/ Sexo	Cyrtoneurina sp.	Peckia (Pattonella) intermutans	Chrysomya albiceps	Hemilucilia sp	Lucilia eximia	Hemilucilia segmentaria
N	5 ♀ 5 ♂	10 ♀ 9 ♂	7 ♀ 3 ♂	5 ♀ 3 ♂	2 ♀ 1 ♂	7 ♀ 3 ♂
C23	2,3 ± 1,8 ♀ 3,6 ± 3,4 ♂	—	1,1 ± 0,3 ♀ 2,1 ± 1,2 ♂	—	—	—
HS2	—	—	—	—	2,3 ± 0,3 ♀ 2,5 ± 0 ♂	—
Descos 5	—	—	—	—	—	10,4 ± 6,2 ♀ 6,4 ± 2,9 ♂
7-,11-dime-c21	—	—	—	9,3 ± 2,2 ♀ 20,7 ± 9,9 ♂	—	—
ramifi-C24	—	—	—	—	13,5 ± 6,2 ♀ 17,3 ± 0 ♂	—
Descos 3	—	—	—	—	12,3 ± 4,4 ♀ 9,9 ± 0 ♂	—
C25	21,6 ± 9,1 ♀ 22,1 ± 6,6 ♂	—	2,1 ± 0,8 ♀ 2,1 ± 1,3 ♂	—	—	—

Hs 1	—	—	—	8,1 ± 2,8 ♀ 5,2 ± 4,2 ♂	—	—
Desco 4	—	—	—	—	26,5 ± 21,1 ♀ 19,7 ± 0 ♂	—
C27	37,4 ± 15,6 ♀ 17,1 ± 12,4 ♂	29,4 ± 11,7 ♀ * 17,4 ± 3,2 ♂ *	3,3 ± 2,2 ♀ 2,9 ± 2,3 ♂	—	45,2 ± 10,1 ♀ 50,4 ± 0 ♂	—
9-;11-;13-met-c27	4,5 ± 1,5 ♀ 3,1 ± 1,7 ♂	10,4 ± 5,2 ♀ 8,6 ± 1,7 ♂	—	—	—	—
7-met-c27	2,7 ± 1,9 ♀ 3,6 ± 4,8 ♂	—	—	—	—	—
11-;13-met-c27	—	—	14,8 ± 3,6 ♀ 13,6 ± 4,9 ♂	—	—	—
5-met-c27	—	1,3 ± 0,5 ♀ 1,3 ± 0,8 ♂	—	—	—	—
11-,13-dimetC27	—	1,1 ± 0,6 ♀ 1,4 ± 0,7 ♂	—	—	—	—
3-met-c27	—	10,3 ± 4,5 ♀ 9,4 ± 2,2 ♂	—	—	—	—
desco 1	—	1,2 ± 0,5 ♀ 1,4 ± 0,7 ♂	—	—	—	—
x-,x-dimet-c27	—	1,3 ± 0,4 ♀ 1,3 ± 0,8 ♂	—	—	—	—
desco 2	—	1,5 ± 0,4 ♀ 1,5 ± 0,6 ♂	—	—	—	—
Alqueno	—	—	—	8,1 ± 2,8 ♀ 6,7 ± 2,8 ♂	—	—
C28	—	—	6,8 ± 1,3 ♀ * 4,3 ± 1,1 ♂ *	—	—	—
c29:1 + 3-met-c28	9,3 ± 4,7 ♀ * 25,1 ± 12,9 ♂ *	—	—	—	—	—
Desco 6	—	—	—	—	5,8 ± 3,6 ♀ 4,1 ± 1,1 ♂	—
C29	10,1 ± 3,3 ♀ 6,4 ± 2,9 ♂	18,1 ± 3,7 ♀ 19,7 ± 5,3 ♂	16,1 ± 2,7 ♀ 15,4 ± 1,1 ♂	8,1 ± 2,8 ♀ 6,8 ± 2,8 ♂	—	—
13-,15-dimet-c29 + desco	4,4 ± 2,6 ♀ 3,9 ± 1,2 ♂	—	—	—	—	—
11-;13-met-c29	—	—	19,9 ± 2,2 ♀ 21,6 ± 0,6 ♂	—	—	—
9-;11-;13-met-c28	—	11,2 ± 7,4 ♀ * 18,2 ± 4,5 ♂ *	—	—	—	—
7-met-c29	—	1,5 ± 0,8 ♀ 1,3 ± 0,7 ♂	—	—	—	—
2-,5-dimet-c28	—	2,5 ± 2,2 ♀ * 6,4 ± 1,9 ♂ *	—	—	—	—
4-metil-c29 + desco	—	9,5 ± 4,3 ♀ 11,6 ± 1,6 ♂	—	—	—	—
2-met-c30	—	—	5,3 ± 1,4 ♀ 8,1 ± 6,7 ♂	48,2 ± 13,8 ♀ 42,6 ± 10,4 ♂	—	83,6 ± 8,6 ♀ 89,3 ± 3,8 ♂
c31:1 + x	—	—	13,8 ± 2,3 ♀ 10,3 ± 6,3 ♂	—	—	—
c31:1 + 3-met-cx	5,6 ± 2,7 ♀ 10,1 ± 5,7 ♂	—	—	—	—	—
11-,15-dime-c30	—	—	5,6 ± 1,8 ♀ 4,8 ± 0,6 ♂	—	—	—
C31	—	—	3,9 ± 1,9 ♀ 6,1 ± 2,6 ♂	8,4 ± 2,3 ♀ 10,1 ± 4,9 ♂	—	—

11-;13-;15-met-c31	—	—	5,3 ± 1,3 ♀ 6,4 ± 3,2 ♂	—	—	—
11-,13-dimetC30	1,6 ± 1,0 ♀ 4,6 ± 5,1 ♂	—	—	9,7 ± 2,1 ♀ 7,7 ± 2,4 ♂	—	—
11-,13-,15-trime-c31	—	—	1,5 ± 1,1 ♀ 1,8 ± 0,7 ♂	—	—	—

No se observaron diferencias significativas en la mayoría de los compuestos presentes en ambos sexos de la especie *Cyrtoneurina* sp (Muscidae), excepto para el compuesto C₂₉:1 + 3-met-C₂₈ (Prueba T; P= 0,04 < 0,05). La comparación a través del análisis de varianza (ANOVA) confirmó que existe una diferencia significativa entre ambos sexos de esta especie (ANOVA; N= 10; F= 4,638; p=0,00005 <0,05). Situación similar ocurrió con la especie *Peckia (Pattonella) intermutans* (Sarcophagidae), quien presentó una diferencia significativa entre machos y hembras en tres de sus compuestos: el alcano lineal Heptacosano (C₂₇) (Prueba T; P=0,01 < 0,05), el 9-,11-,13-met-C₂₈ (Prueba T; P=0,02 <0,05) y el 2-,5-dimet-C₂₈ (Prueba T; P= 0,0008 < 0,05). El análisis de varianza para ambos sexos permitió determinar diferencias significativas entre ambos (ANOVA; N=9; F= 6,190; p= 0,0000001 <0,05),

Para las especies de la Familia Calliphoridae: *Chrysomya albiceps* (ANOVA; N=3; F= 0,927; p= 0,463 > 0,05); *Hemilucilia* sp (ANOVA; N= 3; F= 0,068; p= 0,275 > 0,05) y *Hemilucilia segmentaria* (ANOVA; N=3; F= 1,207; p= 0,41 >0,05), no se encontraron diferencias significativas en las proporciones de los distintos HC, entre ambos sexos. Sin embargo, la especie *Chrysomya albiceps* presentó diferencia significativa entre hembras y machos en el alcano lineal Octacosano (Prueba T; P=0,02 < 0,05).

Ya se ha comentado que existen diferencias en la composición o en las abundancias relativas de los patrones de hidrocarburos cuticulares de insectos debido a diversos factores como la edad, estado de desarrollo y sexo de los insectos (Jackson y Blomquist, 1976; Blomquist y col., 1987; Tralalon y col., 1988b). Los insectos tienen un método importante y eficaz de reconocimiento antenal, que requiere de tan sólo 0,1 segundos de contacto (Clement, 1982). El trabajo de Bonavita-Cougourdan y col., (1987) en *Camponotus vago* (Formicidae) ha demostrado que los hidrocarburos de la cutícula se utilizan como señales de reconocimiento, como las feromonas de corto alcance, también denominadas de contacto; estos son compuestos hidrocarbonados que forman parte de la cutícula y permiten

reconocer una potencial pareja (Singer, 1998). Estos hidrocarburos comprenden mezclas de compuestos que incluyen, como hemos mencionado antes, *n*-alcanos, *n*-alquenos, monometilalcanos, dimetilalcanos y trimetilalcanos (Blomquist y Jackson, 1979). Se encuentra información disponible de la existencia de este tipo de compuestos en insectos de la familia Cerambycidae (Allison y col. 2004), Staphylinidae (Peschke y Metzler, 1987) y Chrysomelidae (Sugeno y col., 2006). Todas esas investigaciones concuerdan en que estos hidrocarburos de corto alcance están presentes en la cutícula de las hembras y podrían presentar menos proporción en la cutícula de los machos (Singer, 1998).

La diferencias presentadas de acuerdo a las abundancias relativas de los compuestos entre hembras y machos, podrían indicar que la relación entre compuestos o algún compuesto sexo-específico, son factores importantes para una posible actividad como feromona de contacto en los dípteros, pudiendo correlacionarlo con lo que ocurre con especies del orden Coleoptera (Zhang y col., 2003; Ginzel y col., 2006).

Se realizó un análisis discriminante canónico lineal con los valores de las abundancias relativas de los distintos HC encontrados en las distintas especies analizadas. Este análisis nos permite analizar las diferencias entre y dentro de los grupos o especies respecto a dichos compuestos presentes y sus proporciones relativas.

Gráfica de Funciones Discriminantes

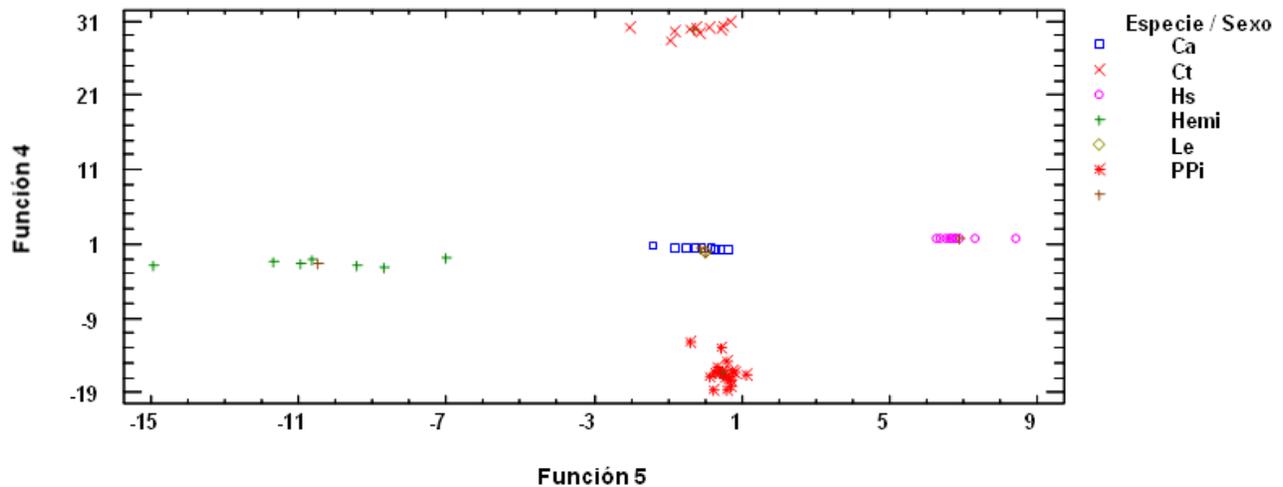


Figura 30. Análisis discriminante de hidrocarburos cuticulares de dípteros asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.) (Ca: *Chrysomya albiceps*, Ct: *Cyrtoneurina* sp, Hs: *Hemilucilia segmentaria*, Hemi: *Hemilucilia* sp, Le: *Lucilia eximia*, PPI: *Peckia (Patonella) intermutans*).

En la Figura 30 se observa que los dípteros de las especies *Cyrtoneurina* sp, *Peckia (Pattonella) intermutans*, *Chrysomya albiceps*, *Hemilucilia* sp, *Hemilucilia segmentariay* *Lucilia eximia* asociados a los cadáveres en descomposición, fueron separados en grupos claramente diferenciables, basado en los mejores parámetros que permitieron llevar a cabo la discriminación (Anexo 2).

Se conoce que si bien la composición de la mezcla de hidrocarburos cuticulares de una especie dada es genéticamente controlada (Page y col.,1991; Coyne y col.,1994), esta composición variable se puede ver afectada por factores ecológicos, ambientales, ontogénicos y fisiológicos (Espelie y col., 1994; Howard, 1998; Vander Meer y Morel, 1998). Por ejemplo, en la termita *Cyrtotermes brevis* se pueden modificar sus hidrocarburos cuticulares como respuesta a cambios de temperatura y humedad relativa (Woodrow y col., 2000). En el parasitoide *Cephalonomia tarsalis* se ha encontrado que es la alimentación en las hembras, pero no en los machos, la que afecta la cantidad de hidrocarburos presentes (Howard, 1998).

Son pocos los trabajos en los que se ha estudiado detalladamente la variabilidad de una especie mediante la caracterización de los hidrocarburos cuticulares de distintas poblaciones. Haverty y col. (1988) estudiaron el género de termitas *Zootermopsis* sp., a

partir del análisis de distintas colonias encontraron cuatro fenotipos de hidrocarburos que se correspondían con bastante precisión con las distintas especies del género, previamente determinadas mediante caracteres morfológicos. Estos resultados nos permitirían inferir, basándonos en nuestros resultados, que la separación de los grupos de especies mediante la caracterización de los hidrocarburos cuticulares puede ser válida y aplicable para insectos de interés forense.

Los compuestos *n*-alcanos tienen una predominancia en la composición de hidrocarburos de la cutícula de diversos insectos. En la Figura 31 se puede observar la dispersión de las distintas especies de dípteros estudiados en función de las proporciones relativas de los alcanos lineales *n*-C₂₇ y *n*-C₂₉.

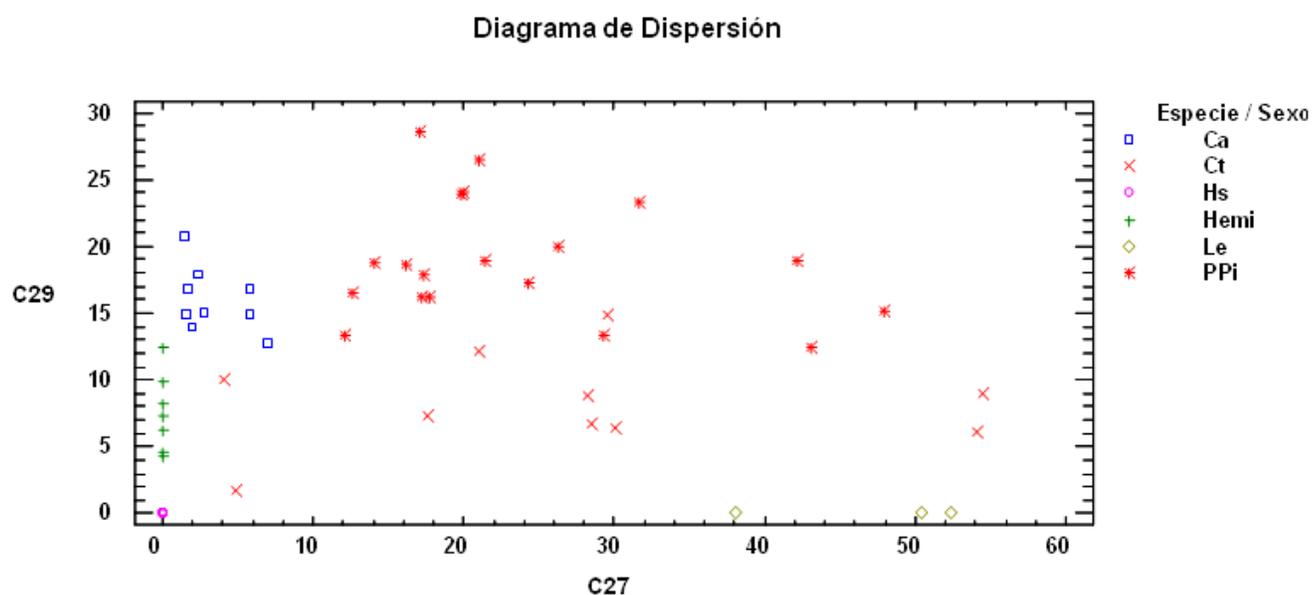


Figura 31. Diagrama de dispersión de los principales *n*-alcanos de hidrocarburos cuticulares de dípteros asociados a cadáveres de cerdos (*Sus scrofa* L.) (Ca: *Chrysomya albiceps*, Ct: *Cyrtoneurina* sp, Hs: *Hemilucilia segmentaria*, Hemi: *Hemilucilia* sp, Le: *Lucilia eximia*, PPI: *Peckia (Patonella) intermutans*).

En la mencionada figura se aprecia como las especies en su mayoría están distribuidas a lo largo del diagrama en relación a las abundancias de los compuestos *n*-C₂₇ y *n*-C₂₉. Se observa una escasez en las abundancias relativas del alcano lineal *n*-C₂₇ en las especies *Hemilucilia* y *Hemilucilia segmentaria*. Esta diferenciación genética podría estar

relacionada a una expresión o regulación de las enzimas involucradas en el proceso de elongación de cadenas metil ramificadas y de liberación a partir del sistema elongante de las cadenas de ácidos grasos lineales de 28 átomos de carbono, que son precursoras del $n\text{-C}_{27}$, lo cual coincide con los estudios que señalan diferenciación que exhiben ciertos triatomos respecto al perfil de hidrocarburos típico de la especie, un grado de diferenciación comparable al de otras especies (Calderon 2008). Importante también parece ser la mayor homogeneidad presente en las cantidades relativas de $n\text{-C}_{27}$ en la especie *Chrysomya albiceps*, respecto a las especies *Cyrtoneurina* sp y *Peckia* (*Patonella*) *intermutans*, estas últimas con una gran dispersión de sus puntos en el gráfico (Fig. 31).

Estudios han demostrado que los tres compuestos lipídicos principales de la cutícula del insecto: hidrocarburos, alcoholes grasos y ácidos grasos libres o esterificados, están relacionados biosintéticamente; y que los ácidos grasos de 26, 28, 30, 32 y 34 átomos de carbono en la cadena lineal son los sustratos para la síntesis de los principales hidrocarburos ($n\text{-C}_{25}$, $n\text{-C}_{27}$, $n\text{-C}_{29}$, $n\text{-C}_{31}$, y $n\text{-C}_{33}$) (Calderon, 2008); este último proceso ocurriría mediante una vía de decarboxilación/decarbonilación reductiva (Reed y col., 1994; Schneider-Behaddad y Kolattukudy, 2000; Blomquist, 2003). En las especies *Lucilia eximia* y *Hemilicilia segmentaria* se presenta el caso contrario, exhiben una escasez en el compuesto de cadena lineal $n\text{-C}_{29}$, lo que podría deberse a problemas experimentales como, por ejemplo, la cantidad de muestras; quizás para estas especies se requiere mayor cantidad de muestra para observar una mejor resolución en la proporción de los compuestos, o bien los picos no pudieron ser identificados debido a la baja concentración de estos en las muestras analizadas.

CONCLUSIONES

- 1) Se obtuvieron un total de 18 especies de insectos claramente asociadas a los distintos estados de descomposición de los cerdos (*Sus scrofa* L.). De ellas, 12 pertenecen al orden Diptera y 6 al orden Coleoptera. Las otras 7 especies encontradas fueron consideradas como incidentales y de nula o muy poca importancia en el proceso de la descomposición.
- 2) Del grupo de los dípteros, la familia Calliphoridae fue la más rica en especies, con 9, seguida de Sarcophagidae, Muscidae y Phoridae, con 1 especie cada una. Dentro del grupo de los coleópteros, cada especie hallada perteneció a una familia distinta.
- 3) Los géneros y especies de califóridos hallados están entre los comúnmente presentes en los procesos de descomposición y la mayoría son especies de carácter sinantrópico; a saber: *Chrysomyaalbiceps*, *C. megacephala*, *C. rufifacies*, *Hemilucilia segmentaria*, *H. semidiaphana* y *Hemilucilia* sp, *Luciliaeximia*, *Lucilia* sp y *Cochliomyiamacellaria*. El sarcófago hallado fue la especie *Peckia(Patonella) intermutans* y el múscido pertenece al género *Cyrtoneurina* sp.
- 4) Las familias, géneros y especies de coleópteros hallados están también entre los comúnmente presentes en los procesos de descomposición, a saber: *Euspilotus nigrita* (Histeridae), *Necrobia rufipes* (Cleridae), *Dermestes maculatus* (Dermestidae) *Omorgus suberosus* (Trogidae) *Onthophagus* sp. (Scarabaeidae) *Anotylus* sp. (Staphylinidae).
- 4) Se capturaron un total de 2716 individuos pertenecientes a 4 órdenes de insectos y al orden Acari de la Clase Arachnida. El orden Diptera fue el de mayor abundancia relativa (92,8 %), seguida del orden Coleoptera con apenas el 7 % de la abundancia relativa. Los demás órdenes y familias (Hemiptera: Cicadidae, Hymenoptera: Formicidae y Acari) apenas representaron el 0,2 % restante.
- 5) En cuanto a la abundancia relativa de las especies capturadas, los dípteros de la familia Calliphoridae (82 %) fueron claramente los más dominantes, especialmente a través de la especie *Chrysomya albiceps* (66 %), seguida de *Hemilucilia segmentaria* (11 %), *Lucilia eximia* (3 %) y *Chrysomya megacephala* (2 %). Las 2 especies de dípteros restantes

presentaron bajas abundancias relativas: *Cyrtoneurina* sp (11 %) (Muscidae) y *Peckia (Patonella) intermutans* (0,8 %) (Sarcophagidae). Para Coleoptera, las especies *Necrobia rufipes* (5 %) (Cleridae) y *Dermestes maculatus* (1,5 %) (Dermestidae) fueron las más abundantes, seguidas de *Anotylus* sp (0,7 %) (Staphylinidae), *Omorgus suberosus* (0,3 %) (Trogidae) y *Euspilotus nigrita* (0,2 %) (Histeridae).

5) Las especies del género *Chrysomya*, *Peckia (Patonella)* y *Cyrtoneurina*, presentaron una proporción hembra/macho alrededor de 2:1; en los géneros *Hemilucilia* y *Lucilia* fue más homogénea, menor a 1,5:1. Como estrategia de colonización y aprovechamiento del recurso presente, la presencia de una mayor cantidad de hembras parece ser la más apropiada para ejercer dominancia y control del citado recurso.

6) La mayoría de las especies de dípteros estuvieron presentes durante los 4 primeros estados de la descomposición, así como en las etapas o días 5 y 6, que consideramos como de esqueletización parcial. La especie *Chrysomya albiceps* estuvo presente prácticamente en todas las etapas o días de muestreo. Los coleópteros estuvieron presentes principalmente durante los estados de descomposición más avanzada y esqueletización de los cadáveres. Este patrón general es consistente con la mayoría de los trabajos consultados.

7) La especie *Cyrtoneurina* sp (Muscidae) estuvo principalmente asociada a las distintas etapas del estado de esqueletización. Debido a su diminuto tamaño, parece estar más adaptada al aprovechamiento de los restos de tejidos y cartílagos adheridos a la piel y huesos, estados del recurso igualmente aprovechados por los coleópteros *Necrobia rufipes* (Cleridae), *Dermestes maculatus* (Dermestidae) y *Omorgus suberosus* (Trogidae). Probablemente, los patrones de presencia-ausencia y abundancia de todas estas especies pueden estar reflejando algún proceso de interacción competitiva durante dicho estado.

8) Las especies de coleópteros depredadores *Euspilotus nigrita* (Histeridae) y *Anotylus* sp (Staphylinidae), estuvieron claramente asociadas a estados y etapas de descomposición distintos, muy probablemente alimentándose de las larvas de dípteros más abundantes presentes en cada una de ellas. Así, *E. nigrita* más asociada con larvas de califóridos en las primeras etapas y *Anotylus* sp más asociada con larvas de *Cyrtoneurina* sp en las etapas finales de la esqueletización.

9) Para el proceso de sucesión heterotrófica, además de los factores cantidad y calidad del recurso, es importante tomar en consideración los factores biológicos de historia de vida de las especies involucradas, especialmente sus ciclos de vida. Los distintos tiempos de desarrollo de sus fases pueden incidir fuertemente en los patrones observados, especialmente cómo, cuándo y cuánto varíe la cantidad y calidad del recurso.

10) En el análisis de los hidrocarburos cuticulares de los dípteros asociados a cadáveres en descomposición se pudo observar que las seis especies de dípteros analizadas: *Cyrtoneurina* sp, *Peckia (Pattonella) intermutans*, *Chrysomia albiceps*, *Hemilucilia* sp, *Hemilucilia segmentaria* y *Lucilia eximia*, mostraron diferencias en la composición de los hidrocarburos cuticulares, presentando compuestos que fueron característicos para cada una y no fueron encontrados en las otras analizadas.

11) Se encontraron hidrocarburos cuticulares de cadena lineal, metil, dimetil y trimetil ramificados para la mayoría de los dípteros analizados, así como también algunos alquenos solo presentes en las especies *Cyrtoneurina* sp y *Chrysomia albiceps*.

12) De los hidrocarburos cuticulares identificados a partir de dípteros asociados a los cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L), fueron los alcanos lineales heptacosano ($n-C_{27}$) y nonacosano ($n-C_{29}$) los de mayor abundancia en la cutícula de los dípteros, al ser alcanos lineales de cadenas largas, ayudan a mantener el balance de agua interno y previene de la desecación a los insectos.

13) Para todas las especies de dípteros: *Cyrtoneurina* sp, *Peckia (Pattonella) intermutans*, *Chrysomia albiceps*, *Hemilucilia* sp, *Hemilucilia segmentaria* y *Lucilia eximia*, asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.), se encontró que la composición de los hidrocarburos cuticulares identificados presentaron similitud entre ambos sexos de una misma especie, mas sin embargo estos variaron en sus abundancias relativas.

14) Se encontró diferencias significativas entre hembras y machos en algunos compuestos de hidrocarburos como $C_{29:1} + 3\text{-met-}C_{28}$ en la especie *Cyrtoneurina* sp; para la especie *Peckia (Pattonella) intermutans* una diferencia significativa entre machos y hembras en tres de sus compuestos: el alcano lineal Heptacosano (C_{27}), 9-,11-,13-met- C_{28} y 2-,5-dimet- C_{28}

.y la especie *Chrysomya albiceps* presentó diferencia significativa en el alcano lineal Octacosano.

13) Mediante el perfil de los hidrocarburos cuticulares de insectos, es posible separar las especies mediante análisis discriminante de acuerdo a las abundancias relativas de sus compuestos, como se evidenció en las especies: *Cyrtoneurina* sp, *Peckia* (*Pattonella*) *intermutans*, *Chrysomya albiceps*, *Hemilucilia* sp, *Hemilucilia segmentaria* y *Lucilia eximia* asociados a los cadáveres en descomposición

RECOMENDACIÓN FINAL

Este estudio intenta fomentar los trabajos relacionados en el área de la Entomología Forense como apoyo a las instituciones de investigación legal en Venezuela. Es importante realizar más estudios en esta área en distintas localidades y bajo una diversidad de condiciones climáticas lo cual podría determinar cambios tanto en la composición de especies como en su secuencia de aparición, de gran importancia para la futura creación de una base de datos de este tipo en el país.

REFERENCIAS CITADAS

1. Aballay, F.H., Murúa, A.F., Acosta, J.C., Centeno, N. 2008. Primer registro de artropodofauna cadavérica en sustratos humanos y animales en San Juan, Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* **67 (3-4)**: 157-163.
2. Aballay, H. Campón, F.F., Mulieri, P.R., Urquiza, S.V. 2011. Sarcophagidae (Diptera) de importancia forense en la puna de Catamarca, Argentina: la ovoviviparidad como una ventaja en condiciones de extrema aridez. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* **70(3-4)**: 255-266.
3. Akino, T. 2006. Cuticular Hydrocarbons of *Formica truncorum* (Hymenoptera: Formicidae): description of new very long chained hydrocarbon components. *Appl. Entomol. Zool.* **41(4)**: 667-677.
4. Alarie, Y., Joly, H., Dennie, D. 1998. Cuticular hydrocarbon analysis of the aquatic beetle *Agabus anthracinus* Mannerheim (Coleoptera: Dysticidae). *The Canadian Entomologist.* **130**: 615-629.
5. Almeida, L.M., Mise, K. M. 2009. Diagnosis and key of the main families and species of South American Coleoptera of forensic importance. *Rev. Brasil. de Entom.* **53(2)**: 227-244.
6. Amat, E., Vélez, M., Wolff, M. 2008. Clave ilustrada para la identificación de los generos y las especies de calofóridos (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Caldasia.* **30(1)**: 231-244.
7. Amat, E., Ramirez-Mora, M., Buenaventura, E., Gómez-Piñerez, L. 2013. Variación temporal de la abundancia en familias de moscas carroñeras (Diptera, Calyptratae) en un valle andino antropizado de Colombia. *Acta Zoológica Mexicana.* **29(3)**: 463-472.
8. Amendt, J., Krettek, R., Zehner, R. 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften.* **91(2)**: 51-65.
9. Anderson, G.S. 1995. Use of Insects in Death Investigations: An analysis of cases in British Columbia over a five year period. *Can. Soc. Forensic Sci. J.* **28(4)**: 227-292.
10. Anderson, G.S., Vanlerhover, S. L. 1996. Initial studies on insect succession on carrion in Southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Sciences.* **41(4)**: 617-625.

11. Arnold, M.T., Blomquist, G.J., Jackson, L.L. 1969. Cuticular lipids of insects. III. The surface lipids of the aquatic and terrestrial life forms of the big stonefly *Pteronarcys californica* Newport. *Comp. Biochem. Physiol.* **31**: 685-692.
12. Arnaldos, I.E., Romera, M.D. García, M., Luna, A. 2001. Initial study on sarcosaprophagous Diptera (Insecta) sucesión on carrion Southeastern Iberian Peninsula. *International Journal of Legal Medicine.* **114 (3)**: 156:-162.
13. Arnaldos, M., Luna, A., Presa, J.J., López-Gallego, E., García, M. 2006. Entomología forense en España: hacia una buena práctica profesional. *Ciencia Forense.* **8**: 17-38.
14. Arnett, Jr. R.H., Thomas, M.C., Skelley, P.E., Frank, J.H. (eds.) 2002. American Beetles, Volume 2: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea. CRC Press. New York.
15. Arthur, C.L., Pawliszyn, J. 1990. Solid-phase microextraction with thermal desorption using silica optical fibers. *Anal.Chem.* **62**: 2145–2148.
16. Bagnères, A.G., Morgan, E.D. 1990. A simple method for analysis of insect cuticular hydrocarbons. *Journal of Chemical Ecology.* **16(12)**: 3263-3276
17. Baker, G.L., Vroman, H.E., Padmore, J. 1963. Hydrocarbons of the American cockroach. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **13**: 360-365.
18. Bartelt, R.J., Arnold, M.T., Schaner, A.M., Jackson, L.L. 1986. Comparative analysis of cuticular hydrocarbons in the *Drosophila virilis*, species group. *Comp. Biochem. Phys.* **83B**: 731-742.
19. Bartelt, R.J., Cossé, A.A., Petroski, R.J., Weaver, D.K. 2002. Cuticular hydrocarbons and novel alkenedioldiacetates form wheat stem sawfly (*Cephuscinctus*): Natural oxidation to pheromone components. *J. Chem. Ecol.* **28**: 385-405.
20. Battan-Horestein, M., Arnaldos, M., Rosso, B., García, D. 2005. Estudio preliminar de la comunidad sarcosaprófaga en Córdoba (Argentina): aplicación a la entomología forense. *Anal. Biol.* **27**: 191-201.
21. Battan-Horestein, M., Linhares, A.X., De Ferradas, B.R., García, D. 2010. Decomposition and dipteran succession in pig carrion in central Argentina: ecological aspects and their importance in forensic science. *Med Vet Entomol.* **24(1)**: 16-25.
22. Beament, J. W. L. 1945. The cuticular lipoids of insect. *J. Exp. Biol.* **21**: 115-131.
23. Begon, M., Harper, J.L., Townsend, C.R. 1996. Ecología individuos, poblaciones y comunidades. 720 p. Ediciones Omega, S:A.

24. Bellés, X. 2009. Origen y evolución de la metamorfosis de los insectos. Instituto de Biología evolutiva (CSIC-UPF), Passeig Marítim 37, 08003 Barcelona.
25. Beltrán, C., Villa, F. 2011. Sucesión de insectos en cadáveres de ratas Wistar (Muridae: *Rattus norvegicus*) (Berkenhout, 1769) en bosque húmedo premontano (Ibagué-Colombia). *Rev Tumbaga*. **6**: 93-105.
26. Benecke, M. 2001. A brief history of forensic entomology. *Forensic Sci Int*. **120(1-2)**: 2-14.
27. Bermúdez C.S., Pachar, J.V. 2010. Artrópodos asociados a cadáveres humanos en Ciudad de Panamá, Panamá. *Rev. Colomb. Entomol.* **6(1)**: 86-89.
28. Blomquist, G.J., Blailock, T.T., Scheetz, R.W., Jackson, L.L. 1976. Cuticular lipids of insects. VII. Cuticular hydrocarbons of the crickets *Acheta domesticus*, *Gryllus pennsylvanicus* and *Nemobius fasciatus*. *Comp. Biochem. Physiol.* **54B**: 381-386.
29. Blomquist G.J., Nelson D.R., de Renobales M. 1987. Chemistry, biochemistry and physiology of insect cuticular lipids. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **6**: 227-265.
30. Blomquist, G.J., Dillwith, J.W., Adams, T.S. 1987. Biosynthesis and endocrine regulation of sex pheromone production in Diptera. Pp: 217–250 en: Blomquist, G., Prestwitch, G.D. Pheromone Biochemistry. London: Academic Press, Inc. New York, N.Y.
31. Blomquist, G.J., Bagnères, A.G. 2010. Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology. Cambridge University Press. New York.
32. Blount, B.K., Chibnall, A.C., El Mangouri, H.A. 1937. The wax of the white pine chermes. *Biochem. J.* **31(8)**: 1375-1378.
33. Braig, H., Perotti, A. 2009. Carcasses and mites. *Experimental and Applied Acarology*. **49(1-2)**: 45-84.
34. Brower, J.C., Kile, K.M. 1988. Seriation of an original data matrix as applied to palaeoecology. *Lethaia*. **21**: 79-93.
35. Buczkowski, G., Kumar, R., Suib, S.L., Silverman, J. 2005. Diet-related modification of cuticular hydrocarbon profiles of the Argentine ant *Linepithemahumile* diminishes intercolony aggression. *J. Chem. Ecol.* **31(4)**: 829-843.
36. Buenaventura, E.R., Camacho, G., García, A., Wolff, M. 2009. Sarcophagidae (Diptera) de importancia forense en Colombia, describiendo claves taxonómicas, notas sobre su biología y distribución. *Colomb. Entomol.* **35(2)**: 189-196.

37. Byrd, J.H. 1995. Efecto de la temperature sobre las moscas de importancia forense. Tesis de Maestría de la Universidad de Florida, Gainesville.
38. Byrd, J., Castner, J. 2001. Forensic Entomology: the utility of arthropod in legal investigations. CRC Press. Segunda Edición, USA.
39. Calabuig, J.A., Villanueva, C.E. 2004. Medicina Legal y Toxicología. Sexta edición. Masson, S.A. Barcelona, España.
40. Calderón-Arguedas, O., Troyo, A., Solano, M. 2005. Sucesión de larvas demuscoideos durante la degradación cadavérica en un bosque premontano húmedo tropical. *Rev. Biomed.* **16(2)**: 79-85.
41. Campobasso, C. P., G. Vella D. I., Introna, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International.* **120**: 18-27.
42. Carlson, D.A. 1988. Hydrocarbons for identification and phenetic comparisons: Cockroaches, honey bees and tsetse flies. *Florida Entomol.* **71(3)**: 333-345.
43. Carlson, D.A., Brenner, R.J. 1988. Hydrocarbon based discrimination of three North American *Blattella* cockroach species using gas chromatography. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* **81(5)**: 711-723.
44. Carlson, D.A., Service, M.W. 1979. Differentiation between species of the *Anopheles gambiae* Giles complex (Diptera: Culicidae) by analysis of cuticular hydrocarbons. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **73(6)**: 589-592.
45. Carlson, D.A., Service, M.W. 1980. Identification of mosquitoes of *Anopheles gambiae* species complex A and B by analysis of cuticular components. *Science.* **207(4435)**: 1089-1091.
46. Carvalho, C.J.B. 2002. Muscidae (Diptera) of the Neotropical Region: taxonomy. Editora Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
47. Carvalho, C.J.B., Couri, M.S., Pont, A.C., Pamplona, D., Lopes, S.M. 2005. A Catalogue of the Muscidae (Diptera) of the Neotropical Region. *Zootaxa.* **860**: 1-282.
48. Carvalho, C., Mello-Patiu, C. 2008. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Revista Brasileira de Entomologia.* **52(3)**: 390-406.
49. Carvalho, L., Thyssen, P., Linhares, A., Polhanes, F. 2000. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in South-eastern Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* **95**: 135-138.

50. Carvalho, L.M.L., Thyssen, P.J., Goff, M.L., Linhares, A.X. 2004. Observations on the succession patterns of necrophagous insects on a pig carcass in an urban area of southeastern Brazil. Anil Aggrawal's Internet J. *Forensic Med. Toxicol.* **5(1)**: 33–39.
51. Castillo-Miralbés, M. 2001. Artrópodos presentes en carroña de cerdos en la comarca de La Litera (Huesca). *Bol. S.E.A.* **28**:133-140.
52. Castillo, M. 2002. Estudio de la Entomofauna asociada a cadáveres en el Alto Aragón (España). *Monografías S.E.A.* **6**: 94.
53. Catts, E.P., Goff, M.L. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.* **37**: 253-272.
54. Centeno, N., Maldonado, M., Oliva, A. 2002. Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). *Forensic Sci Int.* **126(1)**: 63-70.
55. Chaline, N., Sandoz, J.C., Martin, S.J., Ratnieks, F.L., Jones, G.R. 2005. Learning and discrimination of individual cuticular hydrocarbons by honeybees (*Apis mellifera*). *Chemical Senses.* **30**: 327–335.
56. Chapman, R.F., Espelie, K.E., Swords, G.A. 1995. Use of cuticular lipids in Grasshopper Taxonomy: A study of Variation in *Schistocerca gossypi* (Thomas). *Biochem. Syst. Ecol.* **23(4)**: 383-398.
57. Chavez-Abasto, D., Rendón, S., Balderrama, E., Mercado, A. 2007. Investigación de fauna cadavérica de importancia forense y la determinación del intervalo post mortem a través del estudio de muestras entomológicas en Cochabamba, Bolivia. *Rev. Inv. e Info. Salud.* **3(7)**: 4-18.
58. Chibnall, A.C., Piper, S.H., Pollard, A., Williams, E.F., Sahai, P.N. 1934. The constitution of the primary alcohols, fatty acids and paraffin present in plant and insect waxes. *Biochem. J.* **28(6)**: 189-2208.
59. Chino, H., Downer, R.G., Wyatt, G., Gilbert, L.I. 1981. Lipophorins, a major class of lipoproteins of insect hemolymph. *Insect Biochem.* **11**: 491.
60. Cole, F.R. 1969. The flies of western North America. Schilinger, with the collaboration of Evert I. Schlinger. University of California Press, Berkeley.
61. Curtis, H., Barnes, S. 2000. Biología. Sexta Edición en Español. Editorial Médica Panamericana.

62. Cvacka, J., Jiros, P., Sobotník, J., Hanus, R., Svatos, A. 2006. Analysis of insect cuticular hydrocarbons using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *J. Chem. Ecol.* **32(2)**: 409-434.
63. Dani, F.R., Jones, G.R., Corsi, S., Beard, R., Pradella, D., Turillazzi, S. 2005. Nest mate recognition cues in the honeybee: differential importance of cuticular alkanes and alkenes. *Chemical Senses.* **30**: 1–13.
64. Dean, J.R. 1998. Extraction methods for environmental analysis, John Wiley and Sons, Chichester. UK.
65. Denno, R., Cothran, W. 1975. Niche relationships of a guild of necrophagous flies. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **68**: 741-754.
66. Dillwith, J.W., Blomquist, G.J., Nelson, D.R. 1981. Biosynthesis of the hydrocarbon components of the sex pheromone of the housefly, *Musca domestica* L. *Insect Biochem.* **11(3)**: 247–253.
67. Dillwith, J.W., Nelson, J.H., Pomonis, J.G., Nelson, D.R., Blomquist, G.J. 1982. A ¹³C NMR study of methyl-branched hydrocarbon biosynthesis in the housefly. *J. Biol. Chem.* **257(19)**: 11305–11314.
68. Drijfhout, F.P. 2010. Cuticular Hydrocarbons: A New Tool in Forensic Entomology? Págs. 178-203 en: Amendt, J., Goff, M.L., Campobasso, C.P., Grassberger, M. (eds.), Current Concepts in Forensic Entomology. Springer.
69. Early, M., Goff, M.L. 1986. Arthropod succession patterns in exposed carrion on the island Oahu Hawaiian Islands. *Journal Medical Entomology.* **23(5)**: 520-531.
70. Espelie, K., Chapman, R.F., Sword, G.A. 1994. Variation in the surface lipids of the Grasshopper, *Schistocerca americana* (Drury). *Biochem. Syst. Ecol.* **22(6)**: 63-575.
71. Esteban, L. 1993. La espectrometría de masas en imágenes, ACK Editores.
72. Etges, W.J. 1998. Premating isolation is determined by larval rearing substrates in cactophilic *Drosophila mojavensis*. IV. Correlated responses in behavioral isolation to artificial selection on a life history trait. *The American Naturalist.* **152**:129-144.
73. Faria, L.D.B., Orsi, L., Trinca, L.A., Godoy, W.A.C. 1999. Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya megacephala*, and *Chrysomya putoria*. *Entomol Exp Appl.* **90**: 149-155.
74. Figueroa-Roa, L., Linhares, A.X. 2002. Sinantropia de los Calliphoridae (Diptera) de Valdivia, Chile. *Neotrop Entomol.* **31**: 233-239.

75. Fisher, B.A.J. 2004. *Techniques of Crime Scene Investigation*. 6^a edition, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C: CRC Press.
76. Flores, L.R. 2009. Sucesión de entomofauna cadavérica utilizando como biomodelo cerdo blanco, *Sus scrofa* L. Tesis (Doctorado en Ciencias, especialista en Entomología y Acarología). Colegio de postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo de México.
77. Flores, V., Dale, W. 1996. Un estudio sobre la ecología de las moscas Sarcophagidae en la costa central peruana. *Rev Per Ent.* **38**: 13-17.
78. Garcés P., Bermudez S., Quintero, G. 2004. Determinación de la entomofauna asociada a carcasas de cerdos domésticos vestidos (*Sus scrofa*), en el puerto de vacamonte, Prov. De Panamá. *Tecnociencia.* **6(2)**: 59-74.
79. García-Rojo, A. M. 2004. Estudio de la sucesión de insectos en cadáveres en Alcalá de Henares (Comunidad Autónoma de Madrid) utilizando cerdos domésticos como modelos animales. *Boln. S.E.A.* **34**: 263-269.
80. Gayle and Jeanell Strickland. 2007. BugGuide.Net.
<http://bugguide.net/node/view/7176/bgpape> [Consulta: 06 septiembre 2014]
81. Genin, E., Jullien, R., Perez, F., Fuzeau-Braesch, S. 1986. Cuticular hydrocarbons of gregarious and solitary locusts *Locusta migratoria cinerascens*. *J. Chem. Ecol.* **12**: 1213-1238.
82. Gibbs, A.G., Crockett, E.L. 1998. The biology of lipids: integrative and comparative perspectives. *Am. Zool.* **38**: 265-267.
83. Gilby, A.R., Mckellar, J.W. 1970. Composition of empty puparia of a blowfly. *Journal of Insect Physiology.* **16(8)**: 1517-1529.
84. Gillem, R., Drijfhout, F., Martin, S.J. 2012. Using chemo-taxonomy of host ants to help conserve the large blue butterfly. *Biological Conservation.* **148(1)**: 39-43.
85. Gill-King, H. 1997. Chemical and ultrastructural aspects of descomposition. Pp: 93-108 en: Haglund, W.D. & Sorg, M. H. (eds), *Forensic taphonomy: The post-mortem fate of human remains*. Boca Raton, FL: CRC Press.
86. Goff, M.L. 1991. Comparison of insect species associated with descomposing remains recovered inside dwellings and outdoors on the island of Oahu, Hawaii. *J. Forensic Sci.* **36(3)**: 748-753.
87. Goff, M.L. 1993a. Estimation of postmortem interval using arthropod development and sucesional patterns. *Forensic Sci. Rev.* **5**: 81-94.

88. Goff, M.L. 1993b. Festín de pruebas de insectos al servicio forense. Informe científico patología forense 4. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Pp 28-34 en Memorias del Taller de la Academia de Ciencias Forenses, Reunión Anual de la AAFS. Boston, Massachussets.
89. Goff, M.L. 2010. Early Postmortem Changes and Stages of Decomposition. Pp: 3-24 en: Amendt, J.L., Goff, M.L., Campobasso, C. y Grassberger, M. Current concepts in Forensic Entomology. Springer.
90. Goff, M.L., García, M.D., Arnaldos, S.M., Lozano, R.E. 2004. Entomología cadavérica: fundamentos y aplicación. Referencia a la entomología española. Págs. 253-262 en Calabuig, J.A., Villanueva, C.E. Medicina Legal y Toxicología, sexta edición. Masson, S.A. Barcelona, España.
91. Golhke, R.S. 1959. Time-of-Flight Mass Spectrometry and Gas-Liquid Partition Chromatography. *Anal. Chem.* **31(4)**: 535-541.
92. Grassberger, M., Friedrich, E., Reiter, C. 2003. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *Int J Legal Med.* **117**: 75-81.
93. Greenberger, B., Szyska, M. 1984. Immature stage and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **77(5)**: 488-517.
94. Greenberger, B., Wells, J.D. 1998. Forensic use of *Megaselia abdita* and *M. scalaris* (Phoridae: Diptera): case studies, development rates and egg structure. *J. Med. Entomol.* **35(3)**: 205-222.
95. Grillot, C. 1980. Entomology. Plenum Publishing Corporation. New York.
96. Guimaraes, J.H., Prado, A.P., Linhares, A.X. 1978. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Rev Bras Entomol.* **22**: 53-60.
97. Gunatilake, K., Goff, M.L. 1989. Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae. *J. Forensic Sci.* **34(3)**: 714-716.
98. Gunn, A. 2006. Essential Forensic Biology. John Wiley & Sons Ltd. England.
99. Hall, D.G. 1948. Blowflies of North America. Lafayette. Indiana. The Thomas Say Foundation.
100. Hamilton, R.J. 1995. Waxes: Chemistry, molecular biology and functions. The Oily Press, Dundee.

101. Hammer, Ø. 2014 PAleontologicalSTatistics (PAST) Version 3.02. Reference Manual. Natural History Museum, University of Oslo. <http://folk.uio.no/ohammer/past/past3manual.pdf> [consulta: 15 octubre 2014]
102. Haskell, N.H., Lord, W.D., Byrd, J.H. 2001. Collection of Entomological Evidence during death investigations. Pp: 81-120 in: Byrd, J.H. & Castner, J.L. (eds.). Forensic Entomology. The utility of Arthropods in legal Investigations. CRC Press LLC. Boca Raton, Florida. E.U.A.
103. Haverty, M.L., Thorne, B.L., Page, M. 1990. Surface hydrocarbon components of two species of *Nasutitermes* from Trinidad. *J. Chem. Ecol.* **16(8)**: 2441-2450.
104. Haverty, M.L., Grace, J.K., Nelson, L.J., Yamamoto, R.T. 1996. Intercaste, intercolony, and temporal variation in cuticular hydrocarbons of *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Chem. Ecol.* **22**: 1813-1834.
105. Hay-Roe, M.M., Lamas, G., Nation, J.L. 2007. Pre- and postzygotic isolation and Haldane rule effects in reciprocal crosses of *Danaus erippus* and *Danaus plexippus* (Lepidoptera: Danainae), supported by differentiation of cuticular hydrocarbons, establish their status as separate species. *Biological Journal of the Linnean Society*, **91**: 445-453.
106. Hernández, J. V., López, H., Jaffe, K. 2002. Nestmate recognition signals of the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Journal of Insect Physiology*. **48(3)**: 287-295.
107. Hernández, J. V., Goitía, W., Osio, A., Cabrera, A., López, H., Sainz, C., Jaffe, K. 2006. Leaf-cutter ant species (Hymenoptera: Atta) differ in the types of cues used to differentiate between self and others. *Anim. Behav.* **71**: 945-952.
108. Hillerton, J.E., 1984. Cuticle: mechanical properties. Pp. 626-637 in: Bereiter-Hahn, J., Matolsty, A.G., Richards, K.S. (eds.). *Biology of the tegument*.t Springer- Verlag. Berlin.
109. Holldobler, B., Willson, E.O. 1990. *The ants*. Belknap Press of Harvard University Press.
110. Horenstein, M.B., Arnaldos, I., Rosso, B., García, M.D. 2005. Estudio preliminar de la comunidad sarcosaprófaga en Córdoba (Argentina): aplicación a la entomología forense. *Anales de Biología*. **27**: 191-201.

111. Howard, R.W. 1993. Cuticular hydrocarbons and chemical communication. En: *Insect Lipids: Chemistry, Biochemistry and Biology*, (ed). D. W. Stanley-Samuelson and D.R. Nelson. Lincoln: University of Nebraska Press.
112. Howard, R.W., Blomquist, G.J. 2005. Ecological, behavioral and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.* **50**: 371–393.
113. Huckins, J.N., Petty, J.P., Prest, H.F., Clark, R.C., Alvarez, D.A., Orazio, D C., Lebo, J.A., Cranor, W.L., Johnson, B.T. 2002. A guide for the use of semipermeable membrane devices (SPMDs) as samplers of waterborne hydrophobic organic contaminants, American Petroleum Institute Publication 4690.
114. Infante, C. 2003. Entomofauna asociada a restos cadavéricos de cerdo y su utilidad en la cronotanatognosis en la provincia de Ica, Octubre 2002 – Marzo 2003. Trabajo de ascenso. Universidad Nacional San Luis Gonsaga. Facultad de Ciencias Perú.
115. Jackson, A., Locke, M. 1989. The formation of plasma membrane reticular systems in the oenocytes of an insect. *TissueCell.* **21(3)**: 463–473.
116. Jackson, L.L. 1970. Cuticular lipids of insects – II. Hydrocarbons of the cockroaches *Periplaneta australasiae*, *Periplaneta brunea* and *Periplaneta fuliginosa*. *Lipids.* **5(1)**: 38-41.
117. Jackson, L.L., Baker, G.L. 1970. Cuticular lipids of insects. *Lipids.* **5(2)**: 239-246.
118. Jackson, L.L. 1972. Cuticular lipids of insect IV. Hydrocarbons of the cockroaches *Periplaneta japonica* and *Periplaneta americana* compared to other cockroach hydrocarbons. *Comp. Biochem. Physiol.* **41(2)**: 331-336.
119. Jackson, L.L., Blomquist, G.J. 1976. Cuticular lipids of insects: VIII. Alkanes of the mormon cricket *Anabrus simplex*. *Lipids.* **11**: 77-79.
120. Jackson, L.L., Blomquits, G.J. 1976. Insect waxes. Pp. 201-233: in P.E. Kolattukudy (Ed.) *Chemestry and Biochemistry of Natural Waxes*, Amsterdam: Elsevier.
121. Jackson, L.L. 1981. Cuticular lipids of insects 9. surface lipids of the grasshoppers *Melanoplus bivittatus*, *Melanoplus femurrubrum* and *Melanoplus dawsoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology B.* **70(3)**: 441-446.
122. Jackson. L.L. 1983. Epicuticular Lipid Composition of the Sand Cockroach, *Arenivaga investigata*. *Comparative Biochemical Physiology.* **74B**: 225–257.
123. Jacob, J., Hanssen, H.P. 1979. The chemical composition of cuticular lipids from dragonflies (Odonata). *Z. Naturforsch.* **34C**: 498-502.

124. Jaffe, K., Marquez, M. 1983. Nestmate recognition and territorial behavior in the ant *Odontomachus bauri* Emery (Formicidae: Ponerinae). *Insectes Sociaux*. **30(4)**: 464-481.
125. Jaffe, K., Marquez, M. 1987. On agonistic behavior among workers of the ponerine ant *Ectatomma ruidum* (Hymenoptera: Formidae). *Insectes Sociaux*. **34(2)**: 87-95.
126. Jaffe K., Perez E., Lattke J. 1993. El mundo de las hormigas. Editorial Equinoccio, Universidad Simon Bolivar.
127. James, M.T. 1970. A Catalogue of the Diptera of the Americas South of the United States: family Calliphoridae. *Museu de Zoologica, Universidade de Sao Paulo*. **102**, 1-28.
128. Jawale, C. S. 2010. Entomology For Students.
http://entomologyryk.blogspot.com/2010/09/cuticular-appendages_06.html [Consulta: 23 abril 2014].
129. Jones, G., Oldham, N. 1999. Pheromone análisis using capillary gas chromatographic techniques. *J. Chromatogr. A* **843**: 199-236.
130. Jurenka, R., Subchev, M., 2000. Identification of cuticular hydrocarbons and the alkene precursor to the pheromone in hemolymph of the female gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. **43(3)**: 108–115.
131. Kaib, M., Brandl, R., Bagine, R.K.M. 1991. Cuticular hydrocarbon profiles: Avaluable tool in termite taxonomy. *Naturwissenschaften*. **78**: 176-179.
132. Kather, R., Martin, S.M. 2012. Cuticular hydrocarbon profiles as a taxonomic tool: advantages, limitations and technical aspects. *Physiological Entomology*, **37**: 25-32.
133. Kováts, E. 1958. Gas Chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. TeilII: Retentions indices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde and ketone. *Helv. Chim. Acta*. **41**:1915-1932.
134. Kulshrestha, P. 2001. Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Science International*. **120(1-2)**: 15-17.
135. Laino, A. 2011. Bioquímica y fisiología de lipoproteínas en arácnidos. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata. Argentina.
136. Liang, D., Silverman, J. 2000. “You are what you eat”: Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithemahumile*. *Naturwissenschaften*. **87**: 412-416.

- 137.Liria, J.S. 2006. Insectos de importancia forense en cadáveres de ratas en Carabobo-Venezuela. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública*. **23(1)**: 33-38.
- 138.Núñez, J.R.,Liria, J.S. 2014. Sucesión de la entomofauna cadavérica a partir de un biomodelo con vísceras de res. *Salus*, Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud - Universidad de Carabobo. **18(2)**: 35-39.
- 139.Liu, D., Greenberg, B. 1989. Immature stages of some flies of forensic importance. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **82(1)**: 80-93.
- 140.Locke, M. 1965. Permeability of insect cuticle to water and lipids. *Science*. **147**: 295-298.
- 141.Lockey, K.H. 1976. Cuticular hydrocarbons of *Locusta*, *Schistocerca* and *Periplaneta* and their role in waterproofing. *Insect Biochem.* **6**: 457-472.
- 142.Lockey, K.H. 1980. Insectcuticular hydrocarbons. *Comp. Biochem. Physiol.* **B65**: 457-462.
- 143.Lockey, K.H. 1988. Lipids of the insect cuticle: origin composition and function. *Comp. Biochem. Physiol.* **89B**: 595-645.
- 144.Lord, W.D., Burger, J.F. 1984. Arthropods associated withherring gull (*Larus argentatus*) and great black-backedgulls (*Larus marinus*) carrion on islands in the gulf ofMaine.*Environ Entomol.* **13**: 1261-1268.
- 145.Lord, W.D., Goff, M.L. 2003. Forensic entomology: application of entomological methods to the investigation of death.Págs.423-436en: Froede, R.C. (ed) Handbook of Forensic Pathology, 2nd Ed., College of American Pathologists, Illinois.
- 146.Lucas, C., Fresneau, D., Kolmer, K., Heinze, J., Delabie, J.H., Pho, D.B.2002. A multidisciplinary approach to discriminating different taxa in the species complex *Pachycondy lavigilosa* (Formicidae). *Biol. J. Linn. Soc.* **75**: 249-259.
- 147.Magaña, C. 2001. La entomología forense y su aplicación a la medicina legal. Data de muerte. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonense (SEA)*. **28**: 49-57.
- 148.Magaña, C. y col. 2006. Estudio preliminar de la fauna de insectos asociada a cadáveres en Maracay. *Entomotropica*. **21(1)**: 53-59.
- 149.Maile, R., Dani, F., Jones, G., Morgan, E., Ortius, D. 1998 Sampling techniques for Gas Chromatographic-Mass Spectrometric analisis of long-chain free fatty acids from exocrine glands. *J. Chromatogr. A*. **816**: 169-175.

150. Marchenko, M.I. 2001. Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. *Forensic Sci Int.* **120**: 89-109.
151. Mariani, R., Varela, G., Demaría, M. Entomología forense. Los insectos y sus aportes a la investigación criminal. Universidad de la Plata. Argentina
http://intercambios.jursoc.unlp.edu.ar/index.php?option=com_content&task=view&id=206&Itemid=189. [Consulta 10 mayo 2013].
152. Mariluis J.C. 1982. Contribución al conocimiento de las Calliphoridae de la Argentina (Insecta; Diptera). Op. *Lilloana***33**: 1-58.
153. Mariluis, J.C., Mulieri, P.M..2005. Calliphoridae, Califóridos. Págs. 97-100 en: Salomón, O.R. (ed.), Artrópodos de interés médico en Argentina. Serie Enfermedades transmisibles. Publ. Monográfica. Argentina.
154. Marques, F., McElfresh, J., Milar, J. 2000. Kováts Retention Index of Monounsaturated C₁₂, C₁₄ y C₁₆ Alcoholes, Acetates and Aldehydes commonly found in Lepidopteran Pheromone Blends. *J. Braz. Chem. Sci.* **11(6)**: 592-599.
155. Martin, C., Salvy, M., Provost, E., Bagnères, A., Roux, M. y col. 2001. Variations in chemical mimicry by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* according to the developmental stage of the host honey-bee *Apis mellifera*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **31**: 365-379.
156. Martin, M.M., MacConnell, J.G. 1970. The alkanes of the ant, *Atta colombica*. *Tetrahedron.* **26**: 307-319.
157. Martin, S.J., Drijfhout, F.P. 2009b. A review of ant cuticular hydrocarbons. *Journal of Chemical Ecology.* **35**: 1151-1161.
158. Martin, S.J., Helantera, H., Drijfhout, F. 2008. Evolution of species-specific cuticular hydrocarbon patterns in *Formica* ants. *Biol. J. Linn. Soc.* **95**: 131-140.
159. Martínez, H., Jaramillo, F., Escoto, J., Rodríguez, M., Posadas, F., Medina, I. 2009. Estudio comparativo preliminar de la sucesión de insectos necrófagos en *Sus scrofa* intoxicado con paratión metílico, en tres períodos estacionales. *Rev Mex Cien Farm.* **40**: 5-10.
160. Mavárez-Cardozo, M.G., Espina de Ferreira, A.I., Barrios-Ferrer, F.A., Ferreira-Paz, J.L. 2005. La Entomología Forense y el Neotrópico. *Cuad. Med. Forense.* **11(39)**: 23-33.

161. McAlpine, J.F., Peterson, B.V., Shewell, G.E., Teskey, H.J., Vockeroth, J.R., Wood, D.M. 1987. Manual of Nearctic Diptera. Volumen 2. Agriculture Canada Monograph 28.
162. Mégnin, P. 1894. La faune des cadaveres, Encyclopédie Scientifi que des Aide-Memoire, G. Masson, Gauthier Villards et Fils.
163. Meislich, H., Nechamkin, H., Sharefkin, J., Hademenos, G. 2001. Química Orgánica. McGraw-Hill Companies, 3ra Edición.
164. Mello, R.P. 2003. Chave para a identificacao das formas adultas das espécies da familia. Calliphoridae (Diptera, Brachicera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomol Vect.* **10**: 255-268.
165. Mello-Patiu, C., Pape, T. 2000. Definitions of *Dexosarcophaga* Townsend, 1917 and *Sarcophahrtiopsis* Hall, 1993, including two new species and a redescription of *Sarcophahrtiopsis cuneata* (Townsend, 1935) (Diptera: Sarcophagidae). *Boletin de Entomología Venezolana*(N.S.) **15** (2): 181-194.
166. Ménendes, A. 1996. Fenomenología cadaverica. Trabajo de ascenso. Brasil: Facultades integradas Riopretense.
167. Monnin, T. 2006. Chemical recognition of reproductive status in social insects. *Annales Zoologici Fennici.* **43**:515–530.
168. Montoya, A., Sánchez, J., Wolff, M. 2009. Sinantropía de Calliphoridae (Diptera) del Municipio La Pintada, Antioquia – Colombia. *Revista Colombiana de Entomología.* **35**:73-82.
169. Nelson, D.R., Sukkestad, D.R. 1970. Normal and branched aliphatic hydrocarbons from the eggs of the tobacco hornworm. *Biochem.* **9**: 4601–4611.
170. Nelson, D.R., Blomquist, G.J. 1995. Insect waxes. Pp. 1–90 en: Hamilton, R.J. Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions. Dundee, Scotland: Oily Press.
171. Nelson, D.R., Carlson, D.A. 1986. Cuticular hydrocarbons of the tse-tse flies *Glossina morsitans morsitans*, *G. austeni* and *G. pallidipes*. *Insect Biochem.* **16**: 403-416.
172. Nelson, D.R., Dillwith, J.W., Blomquist, G.J. 1981. Cuticular hydrocarbons of the housefly *Musca domestica*. *Insect Biochem.* **11**: 187-197.
173. Nelson, D.R., Nunn, N.N., Jackson, L.L. 1984. Re-analysis of the methylalkanes of the grasshoppers *Melanoplus differentialis*, *M. packardii* and *M. sanguinipes*. *Insect Biochem.* **14**: 677-683.

174. Nelson, D.R., Sukkestad, D.R. 1975. Normal and branched alkanes from the cast skins of the grasshopper *Schistocerca vaga* (Scudder). *J. Lipid Res.* **16**: 12-18.
175. Nieabitowski, E., Experimentelle Beitroege zur Lehre von der Leichenfauna, Vjschr. Ger. Meds. Oeffentl. *Sanitotswesen BAND.* **1902(1)** 44-50 (in German)
176. Nihei, S.S., Domínguez, M.C. 2008. Muscidae. Págs 319-328 en: Biodiversidad de Artrópodos Argentinos, vol.2. L.E. Claps, G. Debandi and S. Roig-Juñent (eds) Mendoza, Argentina.
177. Nuñez, J. 2012. Entomología forense en Venezuela. 1era edición. Editorial Livrosca. Caracas.
178. Nuorteva, P. 1963. Synanthropy of blowflies (Dipt. Calliphoridae) in Finland. *Annals Entomologici Fennici.* **29**: 1-49.
179. Nuorteva, P. 1977. Sarcosaprophagus insects as forensic indicators. Págs 1072-1095 en: Tedeschi, C.G., Eckert, W.G., Tedeschi, L.G. (eds). *Forensic Medicine: A Study in Trauma and Environmental Hazards.*, W.B. Saunders Company.
180. Oliva, A. 1997. Insectos de interés forense de Buenos Aires (Argentina). Primera lista ilustrada y datos bionómicos. *Rev. Mus. Arg. Ciens. Nat. "Bernardino Rivadavia", Entomología.* **7(2)**: 13-59.
181. Oliva, A. 2001. Insects of forensic significance in Argentina. *Forensic Science International.* **120**: 145-154.
182. Oliva, A. 2004. Insects of forensic interest in Buenos Aires (Argentina). Addenda et Corrigenda. I. Phoridae (Diptera: Brachycera). *Physis* (Buenos Aires), **secc. C. 60 (138-139)**: 43-50.
183. Oliva, A. 2007. Frecuencia y distribución temporal de moscas cadavéricas (Diptera) en la ciudad de Buenos Aires. *Rev. Mus. Arg. Cien. Nat. "Bernardino Rivadavia", Entomología.* **9(1)**: 5-14
184. Oliveira, J.C., Mello-Patiu, C. 2004. Application of Forensic Entomology to estimate of the postmortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police Department in Brazil. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology.* **5(1)**: 40-44.
185. Ortloff-Trautmann, A, Jara-Peñailillo, A, Albornoz-Muñoz, S., Silva-Riveros, R., Riquelme-Gatica, M.P., Peña-Rehbein, P. 2013. Primer reporte en Chile de *Chrysomya*

- albiceps* (Diptera: Calliphoridae) en evidencia entomológica forense. *Arch Med Vet.* **45(1)**: 83-89.
186. Page, M., Nelson, L.J., Blomquist, G.J., Seybold, S.J. 1997. Cuticular hydrocarbons as chemotaxonomic characters of pine engraver beetles (*Ips* sp.) in the *Grandicolis* subgeneric group. *J. Chem. Ecol.* **23**: 1053-1099.
187. Page, M., Nelson, L.J., Forschler, B.T., Haverty, M.L. 2002. Cuticular hydrocarbons suggest three lineages in *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) from North America. *Comp. Biochem. Phys.* **131B**: 305-324.
188. Pape, T. 1996. Catalogue of the Sarcophagidae of the world (Insecta: Diptera). Memoirs on Entomology), Associated Publishers, Universidad de Wisconsin–Madison.
189. Pape, T., Wolff, M., Amat, E. 2004. Los califóridos, oéstridos, rinofóridos y sarcófágidos (Diptera: Calliphoridae, Oestridae, Rhinophoridae, Sarcophagidae) de Colombia. *Biota Colombiana.* **5**: 201-208.
190. Payne, J. A. 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology.* **46(5)**: 592–602.
191. Pellitero, J. M., Saloña-Bordas, M. 2007. Califóridos (Diptera, Calliphoridae) de interes forense recogidos en el entorno universitario del campus de Leioa (Vizcaya, España) *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa.* **40**: 479-483.
192. Pérez, S., Duque, P., M. Wolff. 2005. Successional behaviour occurrence matrix of carrion associated arthropods in the urban area of Medellín, Colombia. *Journal Forensic Science.* **50**: 448-454.
193. Pesante, D. G. 2007. Curso Ectoparásitos de Animales de la Finca Notas de las conferencias, Capítulo 14. Universidad de Puerto Rico.
<http://academic.uprm.edu/dpesante/0000/capitulo-14.PDF> . [consulta: 19 de junio de 2014]
194. Pietrusky, F., Leo. A., 1929. UÈber Aasfresser und ihre gerichtsz-tliche Bedeutung (On carion-feeding animals and their relevance for forensic medicine), *Z. Desinfektion/Prakt. Desinfektor.* **21(4)**: 50-53
195. Pork-Checkoff. 2009. Eutanasia en la Granja. Recomendaciones para el productor. National Pork Board, Des Moines, LA. USA.

196. Reynolds, S.E., 1987. The cuticle, growth and moulting in insects: the essential background to the action of acylurea insecticides. *Pestic. Sci.* **20(2)**: 131-146.
197. Richards, E. N., Goff, M. L. 1997. Arthropod Succession on Exposed Carrion in Three Contrasting Habitats on Hawaii Island, Hawaii. *Journal of Medical Entomology*. **34(3)**: 328-339.
198. Rouault, J-D., Marican, C., Wicker-Thomas, C., Jallon, J-M. 2004. Relations between cuticular hydrocarbons (HC) polymorphism resistance against desiccation and breeding temperature; a model for HC evolution in *D. melanogaster* and *D. stimulans*. *Genetica*, **120**: 195–212.
199. Roux, O., Gers, C., Legal, L. 2006. When, during ontogeny, waxes in the blowfly (Calliphoridae) cuticle can act as phylogenetic markers. *Biochemical Systematics and Ecology*. **34**: 406-416.
200. Roux O., Gers, C., Legal, L. 2008. Ontogenetic study of three Calliphoridae of forensic importance through cuticular hydrocarbon analysis. *Medical and Veterinary Entomology*. **22**: 309-317.
201. Salazar, J.C. 2011. Propuesta de un modelo de indicación para la determinación de la sucesión ecológica de los estados preimaginales de la artropofauna asociada a la descomposición cadavérica de *Sus scrofa* expuesto a sol y sombra en Bs-T. *Revista Ciencias Básicas Bolivarianas*. **12**: 8-14.
202. Santos, F.J., Galceran, M.T. 2003. Modern developments in gas chromatography–mass spectrometry-based environmental analysis, *J. Chromatogr. A* **1000(1-2)**: 125-151.
203. Savarit, F., Ferveur, J-F. 2002. Temperature affects the ontogeny of sexually dimorphic cuticular hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.* **205**: 3241–3249.
204. Schal, C., Sevala, V.L., Young, H., Bachmann, J.A.S. 1998. Synthesis and transport of hydrocarbons: Cuticle and ovary as target tissues. *Am. Zoologist*. **38**: 382–393.
205. Schnack; J. A., Mariluis, J.C., Centeno, N., Muzón, J. 1995. Composición específica, ecología y sinantropía de Calliphoridae en el Gran Buenos Aires (Insecta, Diptera). *Revta. Soc. Ent. Argentina*. **54(1-4)**: 161-171.

206. Schoenly, K., Reid, W. 1987. Dynamics of heterotrophic succession in carrion-arthropod assemblages: discrete series or a continuum of change? *Oecology*. **73(2)**: 192-202.
207. Scratchpad Team. 2014. *Peckia (Pattonella) intermutans*
<http://sarcophagidae.myspecies.info/taxonomy/term/1866> [Consulta: 06 septiembre 2014].
208. Scudder, G., Cannings, R. 2006. The Diptera Families of British Columbia.
http://www.for.gov.bc.ca/hfd/library/FIA/2006/FSP_Y062001b.pdf [consulta 23 de junio de 2014].
209. Scudder, G.G.E., Cannings, R.A. 2006. The Diptera Families of British Columbia.
http://www.for.gov.bc.ca/hfd/library/FIA/2006/FSP_Y062001b.pdf [Consulta: 05 julio 2014].
210. Señoráns, J. 2011. Análisis Instrumental y Sensorial de Alimentos
http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alimento/TemaJS-AISA.pdf[Consulta: 15 Julio 2014].
211. Seppä, P., Helanterä, H., Trontti, K., Punttila, P., Chernenko, A., Martin, S.J., Sundström, L. 2011. The many ways to delimit species: hairs, genes and surface chemistry. *Myrmecological News*. **15**: 31–41.
212. Shewell, G. 1987. Sarcophagidae, Págs. 1159-1186 en: McAlpine, J.; Peterson, B.; Shewell, G., Teskey, H.; Vockeroth, J.; Wood, D. (eds). Manual of Nearctic Diptera. Volumen II. Research Branch, Agriculture Canada, Monograph 28. Ottawa, Canada.
213. Sites, J.W., Marshall, J.C. 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. **35**: 99-227.
214. Skidmore, P. 1985. The biology of the Muscidae of the world. *Series Entomologica* 29: 1–550.
215. Smith, K. 1986. A Manual of forensic entomology. Department of Entomology British Museum (Natural History) and Cornell University Press. London.
216. Smith, R.L., Smith, T.M. 2000. Ecología. Cuarta Edición. Addison Wesley longmo, Inc.
217. Soliday, C.L., Blomquist, G.J., Jackson, L.L. 1974. Cuticular lipids of insects. VI. Cuticular lipids of the grasshoppers *Melanoplus sanguinipes* and *Melanoplus packardii*. *J Lipid Res*. **15(4)**: 399-405.

218. Soto, A., Venzon, M., Pallini, A. 2011. Integración de control biológico y de productos alternativos contra *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Revista U.D.C.A. Actualidad y Divulgación Científica*. **14(1)**: 23-29.
219. Souza, A.M., Linhares, A.X. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med. Vet. Entomol.* **11**: 8–12.
220. Stehr, F.W. 1991. Inmature insect. Vol. 1 y 2. Kendall/Hunt Publishing Company.
221. Stennett, M.D., Etges, W.J. 1997. Premating isolation is determined by larval rearing substrates in cactophilic *Drosophila mojavensis*. III. Epicuticular hydrocarbon variation is determined by use of different host plants in *Drosophila mojavensis* and *Drosophila arizonae*. *J. Chem. Ecol.* **23(12)**: 2803--2824.
222. Storey, M. 2011. *Hydrotaea cyrtoneurina* <http://www.discoverlife.org> [Consulta: 06 septiembre 2014].
223. Tantawi, T.I., El-Kady, E.M., Greenberg, B., El-Ghaffar, H.A. 1996. Arthropod succession on exposed rabbit carrion in Alexandria, Egypt. *Journal of Medical Entomology*. **33(4)**: 566-580.
224. Thompson, F.C. 2006. Nomenclator Status Statistics. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. The Diptera Site. The Bio-Systematic Database of World Diptera. <http://www.sel.barc.usda.gov/Diptera/names/Status/bdwdstat.htm> [Consulta: 09 febrero 2014].
225. Toolson, E.C. 1982. Effects of rearing temperature on cuticle permeability and epicuticular lipid composition in *Drosophila pseudoobscura*. *J. Exp. Zool.* **222(3)**: 249–253.
226. Trigo, A.V. 2006. Descripción de las larvas II, III y el pupario de *Comptosomyiops fulvicrura* (Diptera: Calliphoridae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*. **65(1-2)**: 87-99.
227. Trigo, A.V., Centeno, N. 2014. Abnormal Succession of Insect Fauna on Pig Carcasses in Tandil (Argentina, Buenos Aires Province). *Advances in Entomology*. **2**: 102-113.
228. Triplehorn, C.A., Jhonson, N.F. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insect. Thomson Books/ Cole. USA.
229. Tullis, K., Goff, M.L. 1987. Arthropod succession in exposed carrion in a tropical rainforest on O'ahu Island, Hawaii. *Journal of Medical Entomology*. **24**: 332-339.

230. Turcheto, M., Vanin, S. 2004. L' Entomologia forense e la globalizzazione. *Parassitologia*. **46(1-2)**: 187-190.
231. Turchetto, M., Lafisca, S., Costantini, G. 2001. Postmortem interval (PMI) determined by study sarcophagus biocenosis: three cases from the province of Venice (Italy). *Forensic Science International*. **120**: 28-31.
232. Varetto, L., Curto, O. 2004. Long persistence of rigor mortis at constant lowtemperature. *Forensic Science International*. **147**: 31-34.
233. Viñuela, E., Budia, F., DelEstal, P. 1991. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. *Bol. San. Veg. Plagas*. **17**: 391-400.
234. Wagner, D., Tissot, M., Gordon, D. 2001. Task-related environment alters the cuticular hydrocarbon composition of harvester ants. *J. Chem. Ecol.* **27(9)**: 1805-1919.
235. Wahizatul, A.A., Lim, S.P. 2013. Comparative Study of Dipteran Species Diversity and Their Succession on Rabbit Carrion in Two Different Mangrove Areas of Peninsular Malaysia. *Journal of Insects*. **2013**: 398159.
236. Warthen, J.D., Uebel, E.C. 1980. Comparison of the unsaturated cuticular hydrocarbons of the male and female house crickets, *Acheta domesticus* (L.) (Orthoptera: Gryllidae). *Insect Biochem.* **10**: 435-439.
237. Wells, J. D y L. R. Lamontte 2001. Estimating the postmortem interval. Pp 263-285 in Byrd, J. H. y Castner, J.L (eds). *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton, CRC Press.
238. Whitworth, T. 2006. Keys to the Genera and Species of Blow Flies (Diptera: Calliphoridae) of America North of Mexico. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* **108(3)**: 689-725.
239. Wigglesworth, V.B. 1933. The physiology of the cuticle and of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Triatomidae, Hemiptera); with special reference to the function of the dermal glands. *Quart. J. Micr. Sci.* **76**: 269-318.
240. Winston, J.E. 1999. *Describing Species: Practical taxonomic procedure for biologists*. New York: Columbia University Press.
241. Wolff, M., Uribe, A., Ortiz, A., Duque, P. 2001. A preliminary study of forensic entomology in Medellín, Colombia. *Forensic Science International*. **120(1)**: 53-59.
242. Yusseff, S. 2006. Entomología forense: los insectos en la escena del crimen. *Revista Luna Azul*. **23**: 42-49.

243.Zhang, Z., Yang, M.J., Pawliszyn, J. 1994. Solid-phase micro-extraction. *Analytical Chemistry*. **66(17)**: 844–853.

ANEXOS

Anexo 1. Registro fotográfico durante los 15 días de muestreo en campo.



Anexo 1.1. Día 1. Cerdo en estado en estado entre fresco y ligeramente hinchado.



Anexo 1.2. Día 2. Masa larvaria con gran actividad en el ojo izquierdo.



(a)



(b)

Anexo 1.3. Día 3(a y b). Cerdo en estado de descomposición activa (colicuativo).



Anexo 1.4. Día 4. Cerdo en estado de descomposición avanzada.



Anexo 1.5. Día 5. Cerdo en estado de esqueletización.



Anexo 1.6. Día 6. Cerdo en estado de esqueletización.



(a)



(b)

Anexo 1.7. Día 7.(a) Escasa actividad larvaria (b) presencia de puparios enterrados.



(a)



(b)



(c)

Anexo 1.8. Día 8. (a) Cerdo en estado de esqueletización. (b) Presencia de larvas de pequeño tamaño. (c) Pupas enterradas.



(a)



(b)

Anexo 1.9. Día 9. Cerdo con esqueletización parcial.



Anexo 1.10. Día 10. Cerdo en estado de esqueletización.



(a)



(b)

Anexo 1.11. Día 11 (a) Restos esqueletizados del cerdo. (b) Presencia de puparios.



(a)



(b)

Anexo 1.12. Día 12 (a) Restos esqueletizados del cerdo. (b) Mosca emergiendo del pupario.



(a)



(b)

Anexo 1.13. Día 13 (a) Cerdo parcialmente esqueletizado. (b) Presencia de coleópteros y pequeñas larvas.



(a)



(b)

Anexo 1.14. Día 14 (a) Restos esqueletizados del cerdo. (b) Presencia de gran cantidad de puparios.



(a)



(b)

Anexo 1.15. Día 15. (a) Presencia de larvas pequeñas en los restos del cadáver. (b) Estado de esqueletización parcial del cerdo.

Anexo 2. Matriz de coeficientes de la función discriminante para las especies de dípteros asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.)

Compuestos / Función	1	2	3	4	5
C23	5,58425E6	-1,29542	-1,76979	0,138339	-0,225337
HS2	-10619,7	0,00128153	0,00297093	-0,000791197	0,000248328
Desco 5	1,12359E7	3,88297	-0,645524	0,788284	0,260862
7-,11-dime-c21	1,37007E7	3,39614	-1,28504	0,794299	-1,18528
ramifi-C24	-3,16443E6	0,517852	0,958299	-0,284737	0,0578869
Desco 3	652107,	-0,275999	-0,288394	0,119648	0,00812425
C25	1,51499E7	-4,24826	-5,84289	2,97008	0,241444
Hs 1	6,10354E6	4,02109	-8,89303	-1,03553	-4,37981
Desco 4	4,69466E6	-1,63105	-1,88506	0,733176	0,0163248
C27	4,62948E7	-12,2079	-16,5072	5,83391	-0,29818
9-;11-;13-met-c27	1,19188E7	-2,89919	-3,93801	-0,597875	-0,112489
7-met-c27	7,02462E6	-2,20362	-2,89843	1,76059	0,4052
11-;13-met-c27	7,63989E6	-1,04332	2,7057	-0,335792	-1,29423
5-met-c27	1,99572E6	-0,958916	-0,770382	-0,79911	0,702277
11-,13-dimetC27	1,94886E6	-0,439902	-1,2782	0,471889	0,241072
3-met-c27	1,01419E7	-2,59808	-3,42538	-0,473232	0,0856966
desco 1	1,82572E6	-0,32663	-0,295371	1,06677	-0,578862
x-,x-dimet-c27	1,88479E6	-0,258279	-0,301623	0,124327	-0,485185
desco 2	1,59215E6	-0,384316	-1,1638	-2,56573	0,902434
Alqueno	4,82344E6	3,07153	11,2747	2,41443	4,18627
C28	3,34583E6	0,0479681	-2,07036	0,15386	-0,415345
c29:1 + 3-met-c28	2,48669E7	-6,53134	-8,68533	2,53732	-0,184401
Desco 6	6,24756E6	2,16127	-0,357231	0,440028	0,222742
C29	1,60729E7	-4,13609	-5,1073	0,120028	-0,230118
13-,15-dimet-c29 + desco	3,91104E6	-1,15267	-1,50502	1,11544	0,0512536
11-;13-met-c29	4,08975E6	-8,94122	3,28161	0,805771	1,19356
9-;11-;13-met-c28	2,00064E7	-5,32004	-7,36025	1,65024	0,243234
7-met-c29	2,24212E6	-0,560664	0,00195924	1,97922	-0,913382
2-,5-dimet-c28	8,06903E6	-2,12323	-2,31389	0,854442	-0,389688
4-metil-c29 + desco	9,71399E6	-2,54712	-3,71378	-0,00776475	0,335349
2-met-c30	2,71311E7	9,36689	-1,56593	1,89623	0,30198
c31:1 + x	7,87547E6	-5,28541	3,68623	0,831702	0,566776
c31:1 + 3-met-cx	9,78747E6	-2,75587	-3,67199	1,67203	0,166215
11-,15-dime-c30	3,24048E6	0,288878	-1,03821	0,195736	-0,496213
C31	7,32877E6	5,41762	-5,66316	-0,299127	-1,7647
11-;13-;15-met-c31	3,95896E6	-10,6428	6,02848	0,425467	-0,201584
11-,13-dimetC30	8,52677E6	-1,74824	-2,54818	0,0297688	-0,70095
11-,13-,15-trime-c31	1,93468E6	10,5252	-6,6616	-0,523781	-1,57212

Anexo 3. Matriz de presencia-ausencia de las especies de insectos asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.), editada para el Análisis de Seriación.

Especies/Días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Chrysomya albiceps</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0
<i>Chrysomya megacephalla</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chrysomya rufifacies</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hemilucilia segmentaria</i>	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hemilucilia</i> sp	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lucilia eximia</i>	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Lucilia</i> sp	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cochliomyia macellaria</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hemilucilia semidiaphana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Peckia (Patonella) intermutans</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cyrtoneurina</i> sp	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
<i>Euspilotus nigrita</i>	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Necrobia rufipes</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
<i>Dermestes maculatus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
<i>Omorgus suberosus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
<i>Onthophagus</i> sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Anotylus</i> sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0

Anexo 4. Matriz de abundancia de las especies de insectos asociados a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa* L.).

Orden	Familia	Especie	Días														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Diptera	Calliphoridae	<i>Chrysomya albiceps</i>	144	14	1339	62	50	12	1	6	16	27	83	3		35	
		<i>Chrysomya megacephala</i>			8		46										
		<i>Chrysomya rufifacies</i>			1												
		<i>Hemilucilia segmentaria</i>	236	8	14	8		18	1								
		<i>Hemilucilia</i> sp	11														
		<i>Lucilia eximia</i>	43	9	14			1	1					1			
		<i>Lucilia</i> sp	1														
		<i>Cochliomyia macellaria</i>			1												
		<i>Hemilucilia semidiaphana</i>														1	
	Sarcophagidae		<i>Peckia (Patonella) intermutans</i>	1	20												
Muscidae		<i>Cyrtoneurina</i> sp	1		1			26	44	94		2	1	2	77	24	12
Phoridae		<i>P.</i> sp															
Coleóptera	Histeridae	<i>Euspilotus nigrita</i>			3		1	2									
	Cleridae	<i>Necrobia rufipes</i>						5			16	8	12	26	6	47	
	Dermestidae	<i>Dermestes macullatus</i>						4			10	3	4	5	6	2	
	Trogidae	<i>Omorgus suberosus</i>					2				1		3		1		
	Scarabaeidae	<i>Onthophagus</i> sp									1						
	Staphylinidae	<i>Anotylus</i> sp											9	1	8		
	Chrysomelidae	<i>C.</i> sp1					1										
	Chrysomelidae	<i>C.</i> sp2						1									
	Curculionidae	<i>C.</i> sp													1		
	Elateridae	<i>E.</i> sp (larva)													1	1	
Hemiptera	Cicadidae	<i>C.</i> sp (Ninfa)												1			
Hymenoptera	Formicidae	<i>Paraponera</i> sp													1		
Sarcoptiforme	Acaridae	Ácaros											3				