

Universidad Nacional de Río Negro

Licenciatura en Criminología y Ciencias Forenses

Sede Alto Valle-Valle Medio



PATRÓN DE DISPERSIÓN DE LARVAS POSTALIMENTARIAS DE INSECTOS DEL ORDEN DIPTERA EN EL NOROESTE DE LA PATAGONIA:

Implicancias para la Investigación Criminal

Trabajo Final de Grado para aspirar al título de Licenciado en Criminología y Ciencias Forenses. Universidad Nacional de Río Negro.

Presentado por:

Julio César Lavezzo

Directora:

Dra. Ana Julia Pereira

Cipolletti, 2018

Agradecimientos

Este trabajo se llevó adelante con el financiamiento de una beca de Estímulo a la Vocación Científica del Consejo Interuniversitario Nacional (2016) y el PI (2015) 40-A-463 de la Universidad Nacional de Río Negro.

El mismo no hubiese sido posible sin la ayuda y el apoyo de todas estas personas:

- A mi directora de beca CIN, la Dra. Marien Béguelin, por haber confiado en mí durante mi etapa como estudiante, potenciando mis capacidades y despertando mi interés en la investigación científica. Por sus consejos, sus aportes y observaciones, el acompañamiento continuo y el tiempo dedicado.
- A mi directora del Trabajo Final de Grado y codirectora de beca CIN, la Dra. Ana Pereira, por sus consejos, aportes y observaciones, así como por el acompañamiento y el tiempo dedicado.
- Al Dr. Fernando Archuby por la asistencia en el análisis estadístico de los datos, sus revisiones y observaciones.
- A mis compañeros de carrera Adalma Tapia y Felipe Otero, por todos los momentos compartidos y por su buena predisposición para brindar ayuda.
- A mi familia por el apoyo y acompañamiento constante.

Resumen

La entomología forense estudia los insectos asociados al cadáver durante el proceso de descomposición. El aporte de la entomología a los análisis forenses es de suma importancia para determinar el intervalo post-mortem, la época del año del deceso, la presencia de tóxicos en el cadáver, y si hubo traslado del cuerpo. El orden Diptera contiene, entre otros insectos, a las moscas, que son las primeras especies en arribar a un cuerpo en descomposición. Sus larvas se alimentan del cadáver y luego se dispersan hacia lugares protegidos para empupar, proceso que se denomina dispersión post-alimentaria. En este fenómeno influyen variables bióticas y abióticas que pueden influir el comportamiento de las larvas (distancia de dispersión, profundidad de enterramiento) y en su tasa de desarrollo (tamaño, peso), lo que determina el sitio donde finalmente pasarán su fase como pupa. Comprender los factores que influyen en la dispersión de larvas permite predecir con mayor precisión el sitio donde éstas empupan, permitiendo estimar qué zonas cercanas al cadáver son las más adecuadas para la recolección de las pupas en diversas circunstancias.

En este trabajo se evaluó experimentalmente la distribución de pupas generada por la dispersión de larvas de especies de moscas de importancia forense, bajo diferentes condiciones, en la ciudad de Cipolletti. Para esto, se utilizaron cuatro cajas circulares divididas en 4 cuadrantes y tratadas con distintas variables. Las larvas se colocaron en el centro de cada caja permitiendo que se dispersen hasta empupar. Con el fin de evaluar la influencia de variables abióticas que afectan la dispersión, se realizaron 3 tratamientos: iluminación, temperatura e inclinación. Las diferencias en los patrones de ubicación de las pupas fueron evaluadas mediante pruebas de X^2 .

Las cajas de control realizadas arrojaron como resultado que la dispersión de los califóridos se produce de manera azarosa ($p= 0,0978$ y $p= 0,1763$). Con respecto a la inclinación, las larvas se dispersaron con menor frecuencia hacia la superficie elevada ($p= 0,007172$). Lo mismo sucedió con la variable temperatura, donde las larvas evitaron la fuente de calor ($p < 0,002695$). En cuanto a la iluminación, no se observó una preferencia significativa ($p < 0,410994$).

Tabla de contenidos

Lista de Figuras	iv
I. Introducción	1
II. Marco Teórico.....	3
Criminalística y Entomología Médico-legal	4
<i>Intervalo Post Mortem</i>	4
<i>Clasificaciones utilizadas para la determinación del IPM</i>	5
<i>Orden Diptera</i>	7
<i>Ciclo de vida</i>	9
Dispersión Post-Alimentaria (DPA).....	10
III. Antecedentes.....	14
Orígenes de la Entomología Forense	14
América del Sur.....	19
IV. Materiales y Métodos.....	23
V. Resultados.....	29
VI. Discusión	34
VII. Conclusión.....	37
VIII. Lista de Referencias.....	38

Lista de Figuras

<i>Figura 1.</i> Morfología externa de dípteros braquíceros.....	8
<i>Figura 2.</i> Ciclo de vida de dípteros braquíceros.	9
<i>Figura 3.</i> Trampa utilizada para capturar hembras y recolectar huevos.	23
<i>Figura 4.</i> Huevos de moscas colocados sobre la fuente de alimento (carne vacuna).	24
<i>Figura 5.</i> Esquema de la caja utilizada en el diseño experimental.....	24
<i>Figura 6.</i> Tratamiento de Iluminación	25
<i>Figura 7.</i> Tratamiento de Temperatura.	26
<i>Figura 8.</i> Tratamiento Inclinación.	26

<i>Figura 9.</i> Cajas de control A y B, Sin ningún tratamiento.....	27
<i>Figura 10.</i> Cantidad de pupas en cada cuadrante de la caja de Control A.....	29
<i>Figura 11.</i> Cantidad de pupas en cada cuadrante de la caja de Control B.....	30
<i>Figura 12.</i> Cantidad de pupas en cada cuadrante de la caja Temperatura.....	31
<i>Figura 13.</i> Cantidad de pupas en cada cuadrante de la caja Iluminación.....	32
<i>Figura 14.</i> Cantidad de pupas en cada cuadrante de la caja Inclinación.....	33

Lista de Tablas

Tabla 1. <i>Períodos en los que se agrupan las especies y su tiempo de duración.....</i>	7
Tabla 2. <i>Cantidad de pupas observadas y esperadas en cada cuadrante de la caja A del Control.....</i>	29
Tabla 3. <i>Cantidad de pupas observadas y esperadas en cada cuadrante de la caja B del Control.....</i>	30
Tabla 4. <i>Cantidad de pupas observadas y esperadas del tratamiento Temperatura.....</i>	31
Tabla 5. <i>Cantidad de pupas observadas y esperadas del tratamiento Iluminación.....</i>	32
Tabla 6. <i>Cantidad de pupas observadas y esperadas del tratamiento Inclinación.....</i>	33

I. Introducción

La entomología forense con fines médico-legales, se encarga de estudiar los artrópodos que arriban al cadáver para alimentarse de éste. Para ello, utiliza información sobre la sucesión ecológica de insectos en un cuerpo en descomposición y sus ciclos de vida con el fin de determinar el *intervalo post-mortem*¹ (IPM) (Gennard 2012). Los primeros insectos en colonizar un cadáver son las moscas, pertenecientes al orden de los dípteros. Éstas, depositan huevos sobre el cuerpo en descomposición y al cabo de un tiempo, dependiendo de las especies y las condiciones climáticas, emergen las larvas, que consumen los tejidos del cadáver. Luego de que las larvas completan su desarrollo, comienza un proceso de abandono del sustrato, conocido como *dispersión post-alimentaria* (DPA), en el cual buscan un sitio adecuado para la pupación. Durante la etapa de pupa, los insectos se mantienen inactivos hasta completar la metamorfosis y, finalmente, emerge el adulto. El fenómeno de la DPA se encuentra influenciado por diversas variables bióticas y abióticas. Dentro de estas últimas, las variables ambientales tienen un rol fundamental sobre la fisiología y el comportamiento de los insectos. Debido a la ectotermia², este grupo de animales dependen directamente de factores externos para mantener su temperatura corporal constante.

Con el fin de aportar información acerca del IPM, se han desarrollado varios trabajos de muestreo y experimentación acerca del comportamiento de las larvas post-alimentarias (Greenberg 1991; Godoy *et al.* 1996; Tessmer y Meek 1996; Kokarek 2001; Gomes *et al.* 2005; Reigada y Godoy 2005; Gomes y Von Zuben 2006; Arnott y Turner 2008; Vergara-Pineda *et al.* 2012). Para que las inferencias con respecto al IPM sean precisas, es necesario contar con información relacionada con el comportamiento de las distintas especies de artrópodos a niveles locales, ya que las variables ambientales, las especies presentes y sus interacciones ecológicas cambian con la locación. Es por ello que este trabajo se propone realizar una aproximación experimental al estudio de la DPA, a partir de la incubación artificial de huevos de moscas de importancia forense recolectados en la ciudad de Cipolletti, con el objetivo de analizar diferentes factores que podrían influir dicho proceso.

¹ Tiempo transcurrido entre que fallece una persona y el momento de su hallazgo (ver más abajo).

² Proceso por el cual un grupo de animales regulan su temperatura corporal a partir de la temperatura ambiental.

En ese sentido, el objetivo específico de este trabajo es:

- Analizar la dispersión de larvas post-alimentarias en relación con la temperatura, la iluminación y la inclinación del sustrato.

Dada la incapacidad de los insectos de controlar su temperatura corporal y depender directamente de factores ambientales, proponemos la hipótesis de que las larvas se dispersan de manera agregada, según variables abióticas, lo que genera un patrón de ubicación de pupas. A partir de esto, se predice que las larvas post-alimentarias se dirigen hacia sitios de mayor temperatura e iluminación y menor inclinación del suelo para empupar. Con los resultados obtenidos, se espera aportar información útil para las ciencias forenses que permita mejorar las estimaciones relacionadas con el IPM en casos de la región Patagonia Norte. Además, se espera que este trabajo sirva como impulso para la producción de investigaciones entomológicas en nuestra región.

II. Marco Teórico

La entomología es una ciencia que tiene por objeto el estudio de todos los seres vivos conocidos como insectos y que pertenecen a la clase *Insecta*. Su nombre proviene del griego *entomos* (insecto) y *logos* (ciencia), es decir, es el estudio científico de los insectos. Tiene sus raíces desde tiempos prehistóricos, principalmente desde la aparición de la agricultura (el estudio de plagas, la cría de abejas, etc.). El estudio científico tuvo su impulso con la invención del microscopio en el siglo XVI (Gullan y Cranston 2014). Durante el siglo XX, el mejoramiento de los equipos de laboratorio y de campo, las mediciones eléctricas y los diversos sistemas de archivo de datos, fue de gran ayuda para los crecientes estudios entomológicos (Herbert 1982).

La entomología puede dividirse en dos grandes ramas: la entomología general, que comprende el estudio del insecto como un individuo, su fisiología, etología y su relación con el ecosistema; y la entomología aplicada, que se dedica al estudio de los insectos de interés para el ser humano, ya sea, por los productos que proporcionan o por el impacto que ocasionan (Hogue y Hogue 1993). La entomología aplicada está conformada por:

- Entomología agrícola (económica): estudia el impacto que producen los insectos en los diferentes cultivos o plantas silvestres que el ser humano pueda explotar, con el fin de desarrollar medidas de prevención y control. También estudia los insectos que son beneficiosos (*e.g.* especies destructivas de las plagas, parásitos y predadores).
- Entomología médica: estudia aquellos insectos que atacan directa o indirectamente al ser humano y a sus animales domésticos transmitiéndoles enfermedades o causando trastornos y molestias.
- Entomología forense: se dedica al estudio de los artrópodos asociados a casos que son tratados en fueros judiciales. Esta aplicación, a su vez, puede dividirse en tres áreas: *entomología urbana* (*e.g.* plagas urbanas), *entomología de productos almacenados* (*e.g.* alimentos, muebles, ropa, libros, etc.), y *entomología médico-legal*. Las primeras dos están relacionadas mayormente con causas civiles, mientras que la última con causas penales.

Criminalística y Entomología Médico-legal

La criminalística es la disciplina que aplica los conocimientos, métodos y técnicas de la investigación de las ciencias naturales en el examen de los indicios relacionados con un presunto hecho delictuoso. Este examen permite determinar, en auxilio de los órganos encargados de administrar justicia, la existencia de un delito, reconstruirlo, o bien señalar y precisar la intervención de uno o varios sujetos en el mismo (Moreno 2006). El conjunto de disciplinas auxiliares que componen a la criminalística se denominan ciencias forenses. Dentro de éstas, una de las más relevantes y antiguas es la entomología médico-legal.

Esta disciplina es de gran ayuda para estimar la época del año en que ha ocurrido la muerte, el posible traslado del cuerpo e identificar sustancias tóxicas en el cadáver (entomotxicología) (Gupta y Setia 2004). Dentro del vasto abanico de aplicaciones, una de las más utilizadas es la estimación del IPM.

Intervalo Post Mortem

El tiempo transcurrido entre la muerte de un individuo y el hallazgo del cadáver se denomina intervalo post mortem. El estudio de evidencias tendientes a estimar el IPM, permite hacer inferencias sobre la data de muerte (Gonzalez Medina *et al.* 2011). Esto lo constituye en un interrogante clave en cualquier investigación forense que involucre un cadáver.

Las evidencias entomológicas son una herramienta muy poderosa para la determinación del IPM. Éstas proporcionan información de precisión sobre intervalos de diferentes magnitudes, que pueden ser períodos de horas, semanas o años, cuando las características morfológicas del cadáver ya no son utilizables por su alto grado de descomposición (Gennard 2012). Existen dos métodos para determinar el IPM, que se pueden utilizar en conjunto o por separado, dependiendo del tipo de restos encontrados. El primero se basa en la estimación de la edad de las larvas y su tasa de desarrollo. El segundo, utiliza la sucesión de insectos en la descomposición de un cadáver (Camacho 2005). En ambos casos, es fundamental establecer clasificaciones tanto de los estados de descomposición del cuerpo como de los diversos seres vivos que se alimentan del mismo.

Clasificaciones utilizadas para la determinación del IPM

Se han propuesto clasificaciones relacionadas tanto con la sucesión de insectos, como con las etapas de descomposición de los cuerpos, útiles para la aplicación de esta disciplina.

El sistema de Mégnin (1894) clasifica a los artrópodos en cuadrillas que interactúan con el cadáver en oleadas, las cuales tienen una relación directa con los distintos estados de descomposición. Como todo sustrato orgánico, un cadáver va cambiando a lo largo del tiempo, en parte por acción de los organismos que viven sobre él; así ofrece un medio favorable a distintos insectos en las diferentes etapas de la descomposición (Torrez *et al.* 2006). Mégnin consideró 8 cuadrillas:

- 1) Cadáver fresco.
- 2) Olor cadavérico.
- 3) Grasas rancias ("fermentación butírica").
- 4) Proteínas en descomposición ("fermentación caseica").
- 5) Fin de la anterior ("fermentación amoniaca").
- 6) Desecación del cadáver por ácaros.
- 7) Cuerpo momificado.
- 8) Desaparición de los restos de oleadas anteriores.

Por otro lado, el sistema de Leclercq (1978), se basa en los *gremios*³ de insectos que se alimentan sucesivamente del cadáver o que habitan en éste por determinados periodos de tiempo. En este sentido, si se considera al cadáver como un *nicho ecológico*⁴, los insectos que se alimentan de él pueden ser clasificados en:

- a) Necrófagos: se alimentan del cadáver. Las especies dominantes pertenecen al orden Diptera (Calliphoridae y Sarcophagidae), seguido de especies del orden Coleóptera.
- b) Necrófilos: se alimentan de los necrófagos (predadores y parásitos). Son la segunda categoría forense más importante, incluye esencialmente coleópteros (Staphylinidae y Silphidae), dípteros (Calliphoridae y Stratiomyidae), e himenópteros parásitos de larvas y

³ Conjuntos de especies con requerimientos ecológicos similares y por lo tanto ocupan el mismo nicho (Root 1967; López de Casenave y Marone 1996).

⁴ Posición relacional de una especie o población en un ecosistema.

puparios de Diptera. Algunas larvas de dípteros se convierten en depredadores en las últimas etapas de su desarrollo, por ejemplo, *Chrysomia* spp. (Calliphoridae).

- c) Omnívoros: comen tejidos muertos, insectos necrófagos o ambos. Especies tales como coleópteros, himenópteros, lepidópteros pueden alimentarse tanto de restos de descomposición como de artrópodos asociados. Las poblaciones grandes de estos insectos pueden retrasar la tasa de eliminación del cadáver por el agotamiento de poblaciones de especies necrófagas.
- d) Oportunistas: usan el cadáver como refugio, como una extensión de su hábitat y parte de su medio ambiente. Son, por ejemplo, los ácaros, arañas y lepidópteros. Estas especies pueden ocasionalmente convertirse en depredadores de especies necrófagas (Campobasso 2001).

Un sistema más moderno fue utilizado por Anderson y VanLaerhoven (1996) en sus trabajos de campo, empleando *Sus scrofa* (cerdo doméstico) como modelos experimentales. Estos autores, pudieron observar 5 estados de descomposición:

- 1) Etapa fresca (*fresh*), desde la muerte hasta que se hincha el abdomen
- 2) Etapa hinchada (*bloated*), hasta que se deshinchas por ruptura de la piel (corresponde a la etapa enfisematosa en medicina).
- 3) Etapa de descomposición (*decay*), comienzo del periodo reductivo de las partes blandas.
- 4) Etapa de descomposición avanzada (*advanced decay*), carne prácticamente consumida.
- 5) Etapa esquelética o seca (*dry*), sólo quedan huesos y pelo.

Además de estos sistemas, el desarrollo de la fauna cadavérica se puede clasificar según cuatro periodos, Sarcófago, Dermestérico, Silfiano y Acariano, los que agrupan distintos tipos de especies. Según Torrez *et al.* (2006), el periodo sarcófago es el que presenta mayor interés médico legal, por ser el más próximo a la muerte de un individuo (Tabla 1). En este periodo, los dípteros son los insectos con mayor presencia y agrupa a todas las especies de moscas.

Tabla 1. *Períodos en los que se agrupan las especies y su tiempo de duración.*

PERIODO	TAXONES	TIEMPO
Sarcofágico	Dípteros	3 meses
Dermesteriano	Coleópteros, Lepidópteros	3-4 meses
Silfiano	Dípteros, Coleópteros	4-8 meses
Acariano	Ácaros	6-12 meses

Nota. Recuperado de Torrez *et al.* (2006).

Orden Diptera

Agrupar a las especies con mayor importancia forense. Se trata de un orden de insectos que poseen sólo dos alas membranosas. Este orden incluye animales tan conocidos como las moscas (braquíceros⁵), mosquitos (nematóceros⁶), tígulas y los tábanos y muchos otros menos familiares. Se han descrito casi 160.000 especies (Pape *et al.* 2011).

Prácticamente, la totalidad de dípteros presentan reproducción de tipo sexual, donde machos y hembras deben encontrarse para copular. Tras la cópula, la hembra debe depositar los huevos en algún sitio donde estén protegidos de los depredadores y las condiciones climáticas adversas. El número de huevos por puesta es extremadamente variable según la especie, desde 6-8 huevos hasta varios miles. Una vez depositados los huevos, las larvas tardarán más o menos tiempo en eclosionar, dependiendo de la especie y de las condiciones ambientales, pero, por lo general, saldrán al cabo de unas pocas horas o días (Hjorth-Andersen 2015).

Las larvas viven, comúnmente, en hábitats diferentes a los de los adultos y tienden a ocultarse en el sustrato, ya sea para protegerse de los depredadores, de las inclemencias del tiempo o porque viven dentro de un huésped (*e.g.* las especies parasitoides⁷) o dentro de la propia comida (*e.g.* especies necrófagas⁸, coprófagas⁹).

En cuanto al aspecto, las larvas son mayoritariamente alargadas y se pueden agrupar en dos tipos básicos:

⁵ Suborden de dípteros de cuerpo grueso, alas anchas y con una reducción de la segmentación de las antenas.

⁶ Suborden de dípteros que se caracterizan por presentar largas antenas filiformes, multisegmentadas, frecuentemente con muchas sedas en los machos.

⁷ Insectos que durante su estado larvario se alimentan y desarrollan dentro o sobre otro animal invertebrado (llamado hospedero), al cual eventualmente matan.

⁸ Insectos que se alimentan de cadáveres o carroña.

⁹ Insectos que se alimentan de excrementos.

- a) Con aspecto de gusano con cabeza (cápsula cefálica), algunas especies pueden presentar además espinas para agarrarse, ventosas, falsas patas y otros apéndices (mosquitos).
- b) Con aspecto de gusanos, pero sin cabeza ni falsas patas (moscas).

Respecto a su distribución, los dípteros están en casi todas partes; se pueden encontrar en todos los hábitats terrestres y dulceacuícolas, y en todos los continentes. Latitudinalmente, se pueden encontrar desde el extremo norte de Groenlandia hasta las costas de la Antártida, donde son los únicos insectos de vida libre. Altitudinalmente, desde las mareas bajas hasta las nieves perpetuas¹⁰ a 6.200 m en el Everest (Hjorth-Andersen 2015). El único medio que no han podido conquistar es el marino, aunque se les puede encontrar en todos los tipos de costas (arenosas, rocosas, acantilados, etc.), así como en aguas salobres y salinas. Sin embargo, numerosas especies (*e.g.* Dolichopodidae) se desarrollan en las algas costeras, enganchadas en las rocas donde rompen las olas.

Las principales familias de dípteros con importancia forense son Calliphoridae (generalmente las primeras colonizadoras), Sarcophagidae y Muscidae, las cuales contienen diferentes especies de moscas (Battán Horenstein *et al.* 2007) (Figura 1).

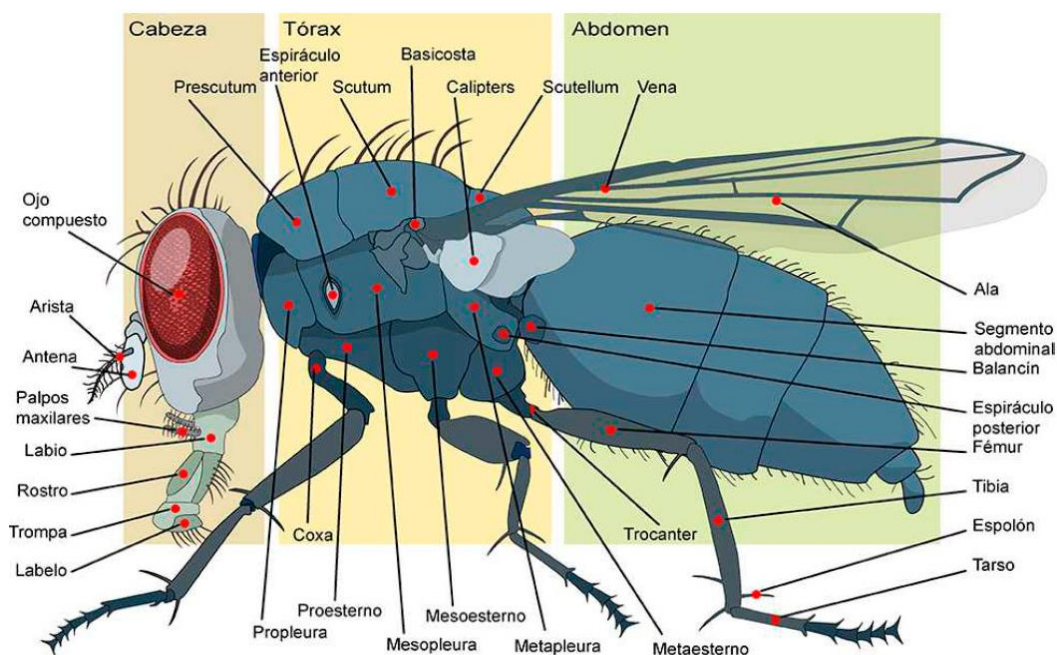


Figura 1. Morfología externa de dípteros braquíceros.

¹⁰ Zonas geográficas con nieve permanente. Se encuentran en las partes más altas del mundo, como en cordilleras y picos.

Imagen recuperada y traducida de www.theanimalfiles.com.

Ciclo de vida

Estas especies de moscas ponen huevos en las heridas o áreas con secreciones olorosas de los animales, para que las larvas se alimenten de los tejidos (Torrez *et al.* 2006). Éstas se desarrollan a través de un proceso de modificaciones fisiológicas y estructurales denominado metamorfosis.

Metamorfosis de Dípteros

En las moscas, la metamorfosis es completa¹¹ y consta de cuatro estadios bien definidos. El primer estadio es el huevo, seguido por un período larval consistente en tres estadios (I, II, III) de intensa actividad alimenticia, con posterior ingreso a un período de inmovilidad (pupa) y, por último, se convierte en adulto (Yusseff Vanegas 2006) (Figura 2). Por lo tanto, el aspecto que presentan como adulto es muy diferente al del larvario.



Figura 2. Ciclo de vida de dípteros braquíceros.

Imagen recuperada de <http://cunicultura.com/2015/03/como-controlar-las-moscas-en-las-granjas-de-conejos>

¹¹ Holometabolismo: tipo de desarrollo en el que se suceden las fases de embrión, larva, pupa e imago (adulto).

Dispersión Post-Alimentaria (DPA)

Una vez que la larva se alimenta hasta completar su ciclo gonotrófico¹², comienza un proceso de abandono del sustrato conocido como *dispersión post-alimentaria* (DPA), en el cual la larva busca un sitio adecuado para la pupación¹³. En el caso de no haber obtenido el peso suficiente para la pupación, la larva puede buscar nuevos sitios de alimentación. Esta dispersión expondrá a las larvas a una serie de factores, tanto bióticas (*i.e.* interacciones intra e interespecíficas) como abióticas, siendo la temperatura y el fotoperiodo los más importantes (Greenberg 1990; Gomes *et al.* 2002, 2005).

Las variables que influyen de manera determinante tanto en la tasa de desarrollo como en la DPA de los dípteros son:

Factores bióticos:

Fuente de alimento: la composición de la materia orgánica y la cantidad disponible, influirán tanto en la actividad de las larvas como en sus tasas de desarrollo.

Competencia entre las larvas de diferentes especies por alimento o un sitio para la pupación: la etapa larval es el principal período en que ocurre la limitación de recursos alimentarios y la competencia por estos recursos es generalmente del tipo de explotación (Reis *et al.* 1994), donde cada larva busca ingerir el máximo de alimento posible antes del completo agotamiento de los recursos (Ullyet 1950).

Presencia de parasitoides: insectos cuyas larvas se alimentan y desarrollan en el interior (endoparásitos) o en la superficie (ectoparásitos) del cuerpo de otros artrópodos.

Factores abióticos:

Agua: las precipitaciones pueden retrasar las fases de la descomposición cadavérica por el descenso de la temperatura ambiental o provocar desplazamientos de la masa larvaria

¹² Proceso de desarrollo de los huevos.

¹³ Fase de desarrollo en donde se forma una cubierta ovalada protectora de la que posteriormente emerge la mosca adulta.

debido a las corrientes de agua que se forman cuando las mismas son muy fuertes. Pero al mismo tiempo, con esta lluvia, el cadáver puede rehidratarse, permitiendo una posterior recolonización debida a las modificaciones de sus características físicas y químicas (Archer 2003).

Temperatura: los dípteros son insectos capaces de detectar pequeños cambios de temperatura de aproximadamente $\frac{1}{4}^{\circ}\text{C}$ (Reiter 1984). Al ser ectotermos, su capacidad de desarrollo depende directamente de la temperatura ambiental (Marchenko 2001; Abbott 1932). No solo su desarrollo, sino casi todos sus procesos fisiológicos son dependientes de esta variante climatológica (Ames 2003).

Luz: el fotoperiodo es un factor importante en la naturaleza, debido a que el mismo viene aparejado de cambios en la temperatura y humedad relativa, lo que finalmente afecta la actividad de los artrópodos ectotermos.

Humedad: los artrópodos no son capaces de mantener su grado de humedad interna constante, ya que varía en función de la temperatura y humedad externa, por lo que la falta o exceso de humedad afectan directamente su fisiología.

Compactación del suelo: influye en la profundidad de enterramiento, en la tasa de desarrollo y en la distribución espacial de las larvas (Cammack 2009).

Presencia de drogas: se conoce también cómo las drogas pueden cambiar el tiempo requerido para el desarrollo de las larvas, incrementándolo o disminuyéndolo, dependiendo de su naturaleza y de sus efectos sobre los tejidos larvarios (Goff *et al.* 1989, 1992; Introna *et al.* 2001).

Forma en que murió el individuo: determinará la mayor o menor accesibilidad de la entomofauna al cadáver (vestimenta del individuo, cantidad de heridas expuestas, etc.).

Topografía del área geográfica donde ocurrió la muerte: la complejidad de la dispersión se ve reforzada por la escala espacial en la que se produce, que puede variar de centímetros a cientos de kilómetros (Gaines y Bertness 1993; Gomes *et al.* 2006).

En ambientes exteriores, la ubicación y las diferentes alturas del terreno influyen directamente sobre la composición de especies de las comunidades de insectos necrófagos, debido a que se

trata de animales ectotermos. Esto requiere de ciertos mecanismos de comportamiento para aprovechar las fuentes de calor externas que les permitan mantener temperaturas corporales relativamente estables (Loarte 2015). Esta característica es de suma importancia para la entomología forense, ya que leves variaciones en la topografía del terreno y en la ubicación geográfica, producen la modificación de todo un conjunto de variables climáticas, que afectarán el comportamiento y, como consecuencia, la composición de insectos de importancia forense (Aballay *et al.* 2011).

Si bien se conoce la influencia de las variables antes mencionadas en la DPA, la forma en que actúan en cada ambiente es algo que resta por explorar. Evaluar la dispersión de las larvas postalimentarias es una tarea de gran relevancia, ya que permite describir el comportamiento larvario de diferentes especies bajo distintas circunstancias ambientales y ubicaciones geográficas (Oliva 2001).

En Argentina, como en la mayoría de los países de América del Sur, la entomología forense es una ciencia relativamente joven, ya que comenzó a desarrollarse a principios de la década del '90. La producción de investigaciones específicas sobre el fenómeno de dispersión de larvas es bastante escasa. Para Patagonia Norte se registra una única publicación de importancia forense, se trata del estudio realizado por Mariluis y Mulieri (2003) que abarca la distribución de las moscas Calliphoridae (Diptera) en la Argentina. Por lo tanto, conocer los distintos factores que influyen en la DPA de dípteros forenses bajo distintas circunstancias es una tarea que requiere ser desarrollada a fin de producir un conocimiento idóneo que pueda ser utilizado por los investigadores judiciales en la resolución de casos.

Con respecto a la toma de muestras entomológicas en una escena del hecho, existen protocolos de actuación (Smith 1986; Catts y Haskell 1991; Arnaldos *et al* 2006; Pasquerault *et al.* 2006; Amendt *et al.* 2007; Penela y Oliva 2016), los cuales hacen hincapié en la toma de datos en relación a: el hábitat general, las condiciones climáticas del momento, la localización del cuerpo y todo aquello que puede resultar de interés en relación con el escenario forense. Otro aporte interesante de estos trabajos es la recomendación para que las muestras entomológicas recogidas sean representativas de la composición cualitativa y cuantitativa de la fauna existente. Sin embargo, todavía se reconocen falencias en relación a la escasa e inadecuada observación de la escena forense por parte del personal encargado de la prospección del escenario, lo que deriva en

una falta de criterios necesarios para el reconocimiento de las diversas etapas de desarrollo de los insectos, problemas con las sustancias fijadoras y conservantes utilizadas, inconvenientes en la recogida y conservación de ejemplares vivos de larvas y huevos, en el tiempo de remisión de la muestra al laboratorio, en el etiquetado de las muestras, etc.

Sumado a esto, un factor que demoró la aceptación de la entomología forense como ciencia auxiliar de la Justicia es el desconocimiento de la diversidad de los insectos por parte de los médicos legistas, quienes, a menudo, han desestimado la posibilidad de sacar conclusiones a partir del comportamiento de los insectos cadavéricos, por el hecho de que no podían distinguir entre las diferentes especies. Esto llevó, también, a que se publicaran afirmaciones erróneas por asignar nombres de especies de manera aleatoria (Oliva 2007).

Por lo tanto, para que los magistrados puedan interpretar las muestras entomológicas de una manera convincente es necesario generar conocimiento a partir de la recolección y análisis de datos a través de ensayos experimentales. Esto permitirá fijar y aunar criterios de trabajo a nivel técnico dentro de la Argentina. Además, el relevamiento de datos de dípteros con importancia forense podrá utilizarse en el desarrollo de protocolos de actuación que eviten errores antes, durante y después del trabajo de campo, los cuales pueden entorpecer o ralentizar una investigación. Por otra parte, se considera crucial generar información para la comprensión de la DPA a nivel local.

III. Antecedentes

Orígenes de la Entomología Forense

El uso de insectos para la resolución de casos criminales se remonta al siglo XIII en China, donde el abogado e investigador Sung Tzu reportó un caso en el cual un asesino fue condenado debido a la información que brindaron las moscas (Tz'u 1924; 1981). También, existe evidencia de la actividad de los insectos sobre cadáveres descompuestos en obras artísticas realizadas por pintores, escultores y poetas del siglo XV en adelante (Benecke 2001).

Siglos XVIII y XIX

Durante las exhumaciones masivas en Francia y Alemania en los siglos XVIII y XIX, los doctores médico-legales observaron que los cuerpos enterrados son colonizados por artrópodos de muchas clases. En 1831, el médico francés Orfila observó un gran número de exhumaciones y registró la importancia de los gusanos en la descomposición de cadáveres (Orfila 1831; Nuorteva 1974).

El primer caso moderno de entomología forense se le puede adjudicar al médico francés Bergeret en 1833 (Gupta y Setia 2004), quien utilizó esta disciplina para detectar el *intervalo post-mortem* (IPM). El caso se relacionaba con pupas de moscas y larvas de polillas. Se encontró el cadáver de un niño en una casa y Bergeret utilizó sus conocimientos sobre una especie de mosca, *Musca carnaria*, para determinar el tiempo que el niño llevaba muerto. Específicamente, él sabía que la metamorfosis de esta especie duraba un año y que las hembras ponían huevos en verano con el cadáver todavía fresco (mes en el que se encontró el cadáver). Estos datos fueron utilizados para calcular que el cuerpo debía haber quedado allí al menos dos años atrás (Bergeret 1833).

En 1879, el presidente de la Sociedad Francesa de Medicina Forense, Brouardel describe el caso de un recién nacido que fue sometido a la autopsia el 13 de enero 1878 (Brouardel 1879). El cuerpo momificado estaba habitado por varios artrópodos, incluyendo larvas de mariposas y ácaros, lo que condujo a solicitar la asistencia de Perier, profesor del Museo de Historia Natural de París, y del veterinario del ejército Mégnin. Perier informó que el cuerpo probablemente se

secó antes de ser abandonado. La determinación de los ácaros fue dejada a Mégnin mientras que Perier determinó las larvas de mariposa como "*chenilles d'aglosses*", es decir, larvas de la familia Pyralidae. A partir del estado de conservación del cuerpo y de las larvas encontradas, Perier declaró que el bebé pudo haber nacido y muerto el verano anterior, es decir, alrededor de 6 a 7 meses antes de que el cadáver fuera autopsiado.

En 1881, el médico alemán Reinhard, informó el primer estudio sistemático en entomología forense (Porta 1929). Tratando con cuerpos exhumados de Sajonia, recogió principalmente moscas de Phoridae. También, describió escarabajos en fosas mayores de 15 años. El trabajo de Reinhard se utilizó como referencia durante mucho tiempo y, en 1928, una extensa cita de su artículo apareció en el trabajo del experto en mosca Phoridae, Schmitz (Schmitz 1928) y en otros artículos científicos (Karsch 1888).

Otro informe entomológico de exhumaciones, el de Franconia, fue expuesto por Hofmann en 1886. Hofmann encontró moscas de Phoridae y los identificó como *Conicera tibialis* Schmitz, hoy conocida como la "mosca del ataúd" (Hofmann 1886).

En 1886, Pierre Mégnin comenzó a desarrollar su teoría ecológica de las oleadas predecibles de insectos en cadáveres. Trabajó en esta disciplina por al menos un par de décadas y compiló sus descubrimientos en el libro titulado *La faune des Cadavres* en 1894. En éste, amplió su antigua teoría de cuatro oleadas de insectos para cadáveres expuestos al aire libre a ocho oleadas sucesivas. Para los cadáveres enterrados, informó de sólo dos oleadas. El libro describía las formas larvarias y adultas de varias familias y sus ilustraciones se enfocaban, principalmente, en la venación del ala, los espiráculos posteriores y la anatomía general de los insectos para la identificación. Mégnin también describe 19 informes de casos, incluyendo sus propios casos entre 1879 y 1888. Citó sus declaraciones originales hechas en el tribunal de justicia, así como las preguntas básicas que le hicieron como perito experto. Sumado a esto, describió las características morfológicas de varias clases de insectos que ayudaron en su identificación taxonómica. (Mégnin 1894).

Unos años más tarde, en 1889, dos médicos alemanes Klingelhoffner (Fraenkel 1933) y Maschka (Maschka 1881), y un patólogo forense polaco, Stefan von Horoskiewicz, reportaron el caso de un bebé muerto que tenía manchas en la cara, posiblemente, hechas por ácido sulfúrico. Klingelhoffner, concluyó que los patrones de abrasión tenían que haber sido causados por la

alimentación de cucarachas (Roth y Willis 1937). Horoskiewicz enfrentó un caso similar en 1899 y sus estudios determinaron que los daños producidos por la alimentación de las cucarachas se vuelven visibles cuando la piel se deshidrata. Siguiendo con esta línea, Maschka en Austria atendió dos casos de niños muertos que tenían lesiones causadas por hormigas (Benecke 2001).

Siglo XX

Eduard Ritter von Niezabitowski realizó experimentos en Polonia, desde mayo de 1899 a septiembre de 1900, usando fetos humanos abortados y cadáveres de animales (gatos, zorros, vacas, etc.). Su contribución a este campo fue la prueba experimental de que los cadáveres humanos comparten la misma fauna de insectos con cadáveres de animales, ya sean vertebrados o invertebrados (Niezabitowski 1902).

1920 - 1930

A partir de la década de 1920, finalmente, se publicaron listas de especies y monografías sobre insectos forenses importantes, centradas en la ecología, el metabolismo o la anatomía. El control de plagas y la "terapia de gusanos" fueron de interés creciente durante este período, y muchas contribuciones surgieron de estos campos, creando una fuente científica importante para la interpretación de evidencia de insectos forenses (Benecke 2001). En 1922, Meixner, profesor del Instituto de Medicina Jurídica de Viena e Innsbruck, informó sobre casos de cuerpos que se desintegraron rápidamente mientras se guardaban en el sótano del instituto (Meixner 1922). Esta rápida desintegración fue más dramática con los cadáveres juveniles. Aparte de las referencias a Orfila (Orfila 1831) y Mégnin (Mégnin 1887, 1896), Meixner no recopiló más datos.

Algunos años más tarde, Merkel, profesor del Instituto de Medicina Legal de Munich, amplió las observaciones de Meixner con informes de casos que demostraron que las circunstancias de la muerte podrían influir en el curso de la sucesión de insectos. En otro caso, Merkel encontró el cuerpo momificado de una persona que murió en su casa, sin que hubiera un solo gusano presente (Merkel 1925).

En Italia, Bianchini, director del Instituto de Medicina Legal de la Universidad de Bari, escribió una "contribución al estudio práctico y experimental de la fauna de cadáveres" en 1929 (Bianchini 1929). El informe de caso de Bianchini trata del cadáver de un niño de cuatro años que tenía lesiones secas de la piel en las orejas, los brazos, la zona abdominal y la parte superior

de los muslos. Los artrópodos recogidos del cuerpo incluían ácaros, "escorpiones muy pequeños", escarabajos pequeños y hormigas. Bianchini concluyó que las lesiones debieron haber sido causadas por las hormigas de la misma especie encontrada en el cadáver dentro de un período de alrededor 24 horas.

En 1933, Walcher, del Instituto de Medicina Legal de Múnich informó el hallazgo de gusanos entrando en el tejido esponjoso de los huesos largos para llegar a la médula ósea (circunstancias: suicidio, intervalo post mortem 100 días afuera). Puesto que el esqueleto estaba intacto, Walcher sugirió que los animales se arrastraban a través de los forámenes nutricios, pequeñas hendiduras en los huesos que permiten que los vasos sanguíneos y los nervios entren en los mismos (Walcher 1933).

Otro caso fue reportado por Holzer, médico legista del Instituto de Medicina Legal de Innsbruck, Austria. Este médico investigó el tipo de destrucción causada por las moscas caddis¹⁴ alimentándose de cadáveres sumergidos en agua dulce (Holzer 1939). En un caso real de abril de 1937, encontró que las moscas caddis habían destruido todas las capas de la piel de los muslos hasta el borde inferior de un par de pantalones cortos, así como partes más grandes de la piel facial. Holzer observó patrones inusuales de destrucción, que no se habían encontrado ni siquiera en los casos en que las moscas de caddis habían estado realmente presentes en cadáveres. Por lo tanto, recogió moscas caddis del agua en la que se había encontrado el cadáver y los puso en tres acuarios que contenían un feto abortado, una rata y un conejillo de indias, respectivamente. Al hacerlo, demostró que las moscas caddis eran la causa de las lesiones observadas en el niño (Benecke 2001).

1940 - 1960

Durante la década de 1940, sólo una nota de Bequaert (Forbes 1942) parece tratar el uso de insectos para determinar el intervalo post-mortem. En los años 50, Caspers del Instituto Zoológico y del Museo del Estado de Hamburgo introdujo el uso de las moscas de caddis como herramienta para la investigación forense (Caspers 1932).

1960 - 1980

¹⁴ Insecto perteneciente al orden Trichoptera, cuyas larvas y pupas son acuáticas.

Entre los años 60 y 80, la entomología forense fue desarrollada principalmente por el médico belga Leclercq (Leclercq 1969, 1978; Leclercq y Quinet 1949; Leclercq y Brahy 1990), y el profesor de biología Nuorteva (Nuorteva *et al.* 1967, 1974; Nuorteva 1977) con especial atención al estudio de casos. En Alemania, el desarrollo de la entomología forense estuvo a cargo de médicos con especialización en medicina forense Reiter y Wollenek (1982, 1983, 1985), Reiter y Hajek (1984). En los Estados Unidos varios trabajos fueron publicados en este periodo por Catts (1990), Catts y Goff (1992), Goff (1991, 1993), Goff y Odom (1987), Greenberg y Kunich (2002), Lord *et al.* (1986, 1992, 1994, 1998), y Lord y Burger (1983), entre otros.

Historia reciente

El Buró Americano de Entomólogos Forenses, *The American Board of Forensic Entomology*, fue creado en 1995. Unos años más tarde, en el 2001, Byrd publicó su libro *Forensic Entomology, The Utility of Arthropods in Legal Investigations* y una segunda edición del libro salió a la venta en 2009 (Byrd 2009).

Desde entonces, la investigación básica y la aplicación avanzada de la entomología forense en los EE. UU., Rusia, Canadá, Francia, Japón, Inglaterra, y más recientemente en la India y América del Sur han abierto el camino a la investigación experimental y de campo. En la actualidad, los investigadores de todo el mundo utilizan la entomología en investigaciones criminales, incluidos asesinatos y otros casos de alto perfil.

América del Sur

Numerosos estudios de entomología forense han sido realizados en Sur América. Los países con mayor desarrollo en relación a esta disciplina son Brasil, que tiene la mayor presencia establecida en el campo de la entomología forense (Oliveira-Costa 2003), seguido por Argentina y Colombia. Recientemente, otros países como Chile (Ortloff-Trautmann *et al.* 2013; Gomes *et al.* 2017), Bolivia (Castillo 2013; Castillo *et al.* 2017), Uruguay (Castro *et al.* 2016), Venezuela (Magaña *et al.* 2006; Núñez y Salazar 2014), Ecuador (Aguirre y Barragán 2015; Salazar y Donoso 2015) y Perú (Gines y Alcántara 2013) también han hecho importantes contribuciones a este campo.

Brasil

En este país, el marco inicial de la entomología forense está asociado al trabajo del médico legista Oscar Freire. En 1908 presentó a la Sociedad Médica de Bahía la primera colección de insectos necrófagos y los resultados de sus investigaciones, en gran parte obtenidas en estudios con cadáveres humanos y de pequeños animales. En el mismo año, Roquette-Pinto publicó un estudio de caso sobre la base de un cadáver humano (Roquete-Pinto 1908). Estos dos investigadores también lanzaron las bases de la Entomología Forense en los trópicos. Se siguieron a ellos, entre 1911 y 1941, los trabajos de Herman Lüderwaldt en 1911, que estudió los escarabajos de la colección del entonces Museo Paulista, actual Museo de Zoología de la Universidad de São Paulo, y publicó una lista de insectos necrófagos (Museo Paulista 1911).

Freire (1914) publicó *Algunas notas para el estudio de la fauna cadavérica de Bahía*, estudiando un gran número de dípteros, con buena contribución al estudio médico legal e hizo importantes críticas al método propuesto por Mégnin. En 1919, Belfort de Mattos, bajo la dirección de Oscar Freire, escribió un trabajo sobre los sarcófagos de San Pablo.

El conjunto de la obra de Oscar Freire sobre la *Fauna cadavérica brasileña* fue publicado póstumamente en 1923 en la Revista de Medicina (Freire 1923; Pessôa 1941). El rigor científico de las observaciones y críticas de Oscar Freire coincide con la visión actual de que las técnicas desarrolladas en otros países no pueden ser directamente aplicadas en Brasil, por las diferencias en la entomofauna y el clima.

El libro de Janyra Oliveira-Costa (2003) fue el primero en Brasil en compilar la información disponible en la literatura nacional e internacional, contribuyendo a uniformizar el lenguaje entre el investigador y el perito criminal. Siguiendo la misma línea, Miranda *et al.* (2006) publicaron un manual de recolección de muestras de insectos en lugares de crímenes. Aun así, fueron publicados en Brasil pocos estudios de casos reales, caracterizando esa interacción entre la academia y la policía. (Roberto Pujol Luz *et al.* 2008)

Brasil es el país con la mayor biodiversidad del mundo y eso se refleja también en la fauna asociada a cadáveres. Cada bioma tiene su fauna y condiciones locales propias, lo que exige el estudio de las entomofaunas regionales, principalmente dípteros y escarabajos y sus patrones de sucesión en cadáveres, antes de emitir conclusiones que involucren técnicas de entomología forense. Las estimaciones deben evaluarse de acuerdo con los estándares regionales y locales (Freire 1923). Es debido a esta biodiversidad que Brasil tiene un gran potencial para los estudios de entomología forense, ya que abarca un gran territorio con una amplia variación en la temperatura, la altitud, los patrones de precipitación y las densidades de población (Moretti y Godoy 2013).

Colombia

Aquí los primeros estudios de entomología forense fueron realizados por Wolff *et al.* (2001) y Pérez *et al.* (2005) en Medellín, en el noroeste del país. Ensayos con cadáveres de cerdos proporcionaron una lista completa de los artrópodos atraídos a cada una de las cinco etapas de desintegración (fresco, hinchado, descomposición activa, descomposición avanzada y restos secos). Las familias más abundantes fueron Calliphoridae (Diptera), Muscidae (Diptera), Fanniidae (Diptera) y Silphidae (Coleoptera). También se realizaron ensayos de sucesión de insectos a diferentes alturas sobre el nivel del mar (Martínez *et al.* 2007), para las cinco etapas de descomposición utilizadas por Wolff *et al.* (2001). Los autores reconocieron especies indicadoras para cada una de las etapas y proporcionaron una tabla de sucesión para los artrópodos necrófagos de la región.

Argentina

En nuestro país, la entomología aplicada a las ciencias forenses comenzó a implementarse hace poco más de dos décadas. En el año 1993, comenzó una colaboración interdisciplinaria entre el

equipo del Dr. Julio Ravioli y la Dra. en Ciencias Biológicas Adriana Oliva, del Museo Argentino de Ciencias Naturales. Al principio, las pericias se basaron en bibliografía, sobre todo en el manual de Smith (1986), pero poco a poco se fueron reuniendo datos locales (Oliva *et al.* 1995). En el año 1994 se creó el Laboratorio de Entomología Forense en el Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (Buenos Aires, Argentina). El XX Congreso internacional de Entomología (1996 - Florencia, Italia), permitió que cada uno de los grupos comunicara su trabajo al resto de la comunidad científica. Oliva (1997) presentó la primera lista de insectos de interés forense en la provincia de Buenos Aires y también proporcionó datos bionómicos (estudio de la relación de un organismo con su ambiente) para algunas especies. Centeno *et al.* (2002) estudiaron los patrones de arribo de artrópodos en cadáveres de cerdos a lo largo del año, también en la Provincia de Buenos Aires; compiló una lista de verificación de artrópodos relacionados con cadáveres; e investigó posibles patrones de sucesión de insectos. Desde entonces, se han desarrollado estudios sobre entomofauna cadavérica con experimentos de campo usando cerdo doméstico como modelo en diferentes localizaciones del país (Aballay 2008, 2012 en San Juan; Peñaloza y Oliva 2013 en La Rioja; Mariani *et al.* 2014 en Buenos Aires). En particular, para la región Patagónica, los estudios incipientes de Armani *et al.* (2015) han aportado información sobre artropodofauna cadavérica a partir de modelos experimentales en el noreste de la provincia del Chubut.

También se han realizado estudios de sucesión de entomofauna cadavérica en relación con las estaciones del año, bajo la condición de sol y sombra, en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Mendoza y Salta (Centeno *et al.* 2002; Battán Horenstein *et al.* 2010; Aballay 2012). Los resultados de estos trabajos tienen aplicación en las localidades estudiadas. Por otro lado, Penela y Oliva (2016), publicaron una *Guía, Protocolo, Formularios y Cadena de custodia para la recolección, fijación y conservación de muestras entomológicas para análisis en una investigación forense*. Recientemente, Aballay *et al.* (2017), realizaron un estudio sobre la asociación y estratificación de la entomofauna cadavérica a diferentes profundidades en el suelo como indicadores complementarios en largos intervalos post mortem.

Estos desarrollos incipientes en el país han aportado información que contribuye al conocimiento de la entomofauna forense en diferentes regiones. Como se mencionó previamente, es fundamental el desarrollo de investigaciones en distintos ambientes ya que la fauna colonizadora

del cadáver está sujeta a factores ambientales que, dentro del territorio argentino, varían ampliamente. Por lo tanto, a pesar de los esfuerzos de diferentes equipos de investigación nacionales, aún permanecen desconocidas las características de esta fauna en gran parte de los ambientes del país. En este sentido, este trabajo constituye un aporte al conocimiento de la entomofauna de interés forense, en una región donde la información sobre la entomofauna asociada a cadáveres es aún muy escasa, a través de modelos experimentales que otorguen mayor precisión a las interpretaciones forenses.

IV. Materiales y Métodos

La estrategia experimental para el estudio de la DPA en dípteros de importancia forense permite evaluar el efecto de una serie de factores que varían de manera controlada sobre la o las variables de interés. Esta aproximación posibilita la generación de modelos estadístico, que, a su vez, pueden ser utilizados para explicar y predecir el comportamiento larval en condiciones naturales.

Con el fin de evaluar la distribución de pupas, se realizaron ensayos con larvas en fase dispersiva. Para esto, se recolectaron adultos de especies pertenecientes al Orden Diptera de interés forense, en la ciudad de Cipolletti, provincia de Rio Negro, Argentina (38° S 68° O). La recolección de muestras se realizó durante el periodo de septiembre del 2017 y febrero del 2018, utilizando trampas con vísceras de pollo como cebo para atraer a las hembras de moscas adultas. Una vez que éstas pusieron huevos, los mismos se recolectaron y se mantuvieron con alimento (200 g de carne vacuna) a iguales condiciones de temperatura y humedad (Figura 3 y 4). De esta forma, se aseguró que no hubiera diferencias en el crecimiento de las larvas postalimentarias que se utilizaron para los ensayos.

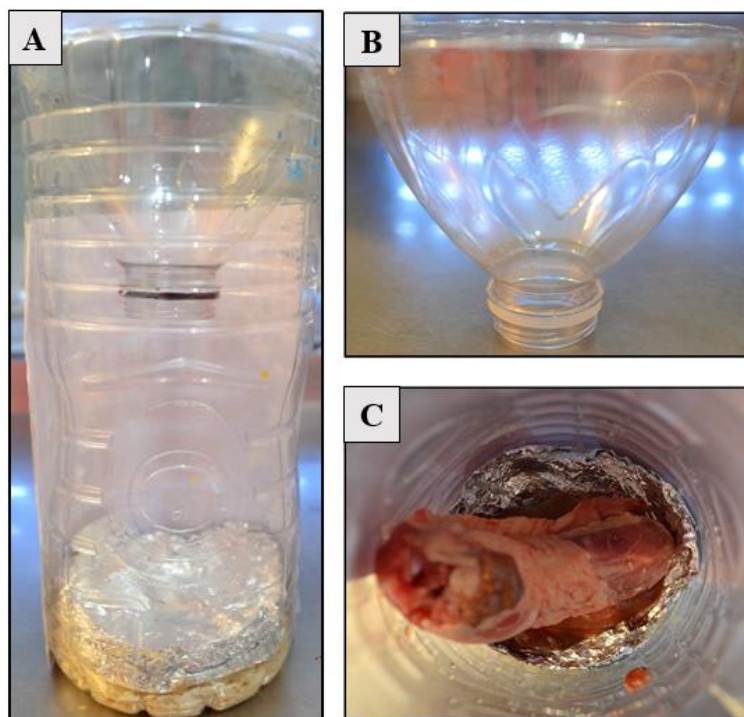


Figura 3. Trampa utilizada para capturar hembras y recolectar huevos. A: trampa armada con el pico de la botella formando un embudo; B: pico recortado de la botella y C: cebo colocado dentro de la botella.

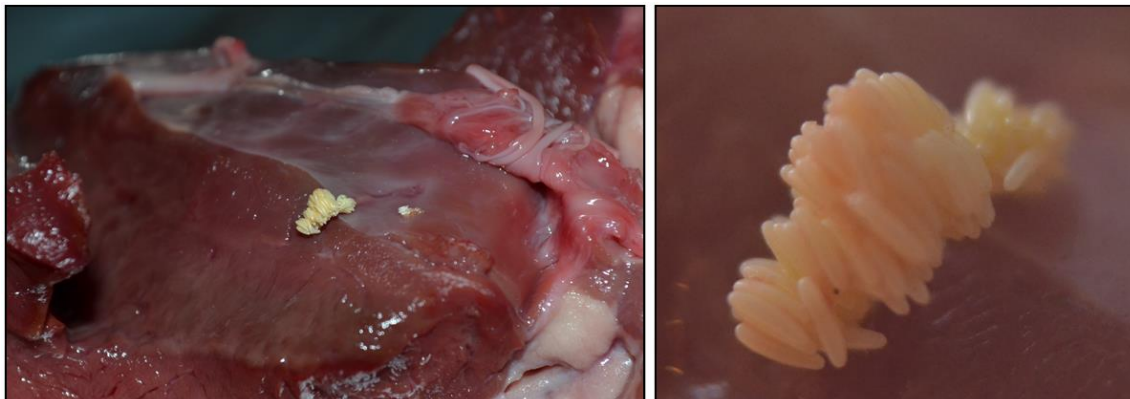


Figura 4. Huevos de moscas colocados sobre la fuente de alimento (carne vacuna).

Una vez que las larvas eclosionaron y maduraron hasta la etapa dispersiva, se colocaron los individuos en el centro de una caja circular rellena con tierra, donde se les permitió dispersarse libremente, siguiendo el procedimiento descrito por Gomes y Von Zuben (2007). La disposición de una caja circular utilizada por Gomes *et al.* (2002), proporciona una simulación más cercana de las condiciones naturales a las que se enfrentan las larvas al abandonar su sustrato de alimentación en busca de un sitio para la pupación (Ullyett 1950).

La caja utilizada para realizar cada uno de los ensayos tenía un diámetro de 50 cm y estaba dividida en cuatro cuadrantes (Q1, Q2, Q3, Q4). Para fabricar la base de la caja se utilizó *poliestireno expandido* (telgopor), los laterales y las divisiones internas se realizaron utilizando láminas de acetato. Finalmente, las cajas se rellenaron utilizando *compost* natural sin químicos agregados, para evitar que variables desconocidas alteren los tratamientos (Figura 5).

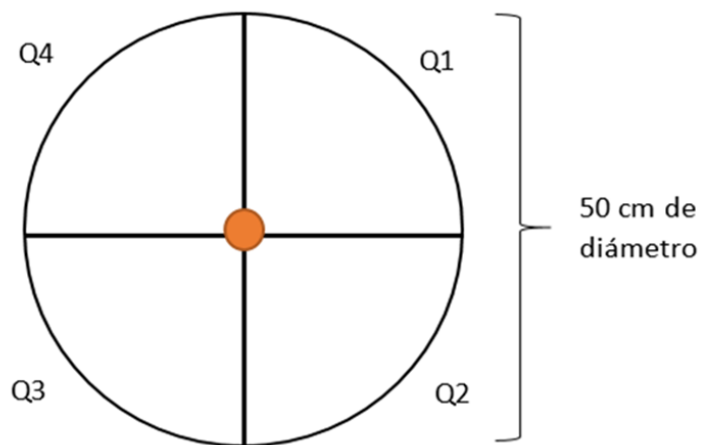


Figura 5. Esquema de la caja utilizada en el diseño experimental. Se observa la división en cuadrantes. En el centro se colocaron las larvas para que se dispersen. Q= cuadrante.

Con el fin de evaluar el efecto de variables ambientales en la dispersión de larvas, se realizaron cinco cajas en total; tres cajas con distintos tratamientos y dos de control (A y B), las mismas se detallan a continuación:

- **Iluminación:** se iluminó sólo el cuadrante 1 (Q1), quedando los demás cuadrantes con oscuridad total. Para ello se utilizó un foco LED de luz blanca, con el fin de que el mismo iluminara el cuadrante de interés sin producir un aumento de la temperatura. Los cuadrantes restantes se cubrieron totalmente impidiendo el paso de la luz (Figura 6).



Figura 6. Caja con el tratamiento de iluminación sobre el cuadrante 1.

- **Temperatura:** se aumentó en 5°C la temperatura del Q1. Aquí se utilizó una lámpara con termostato. La misma, fue cubierta con papel aluminio para evitar que la caja fuera influenciada por la variable iluminación. La temperatura registrada el día de la experimentación fue de 25°C, por lo que la temperatura de corte establecida para el termostato fue de 30°C (Figura 7).

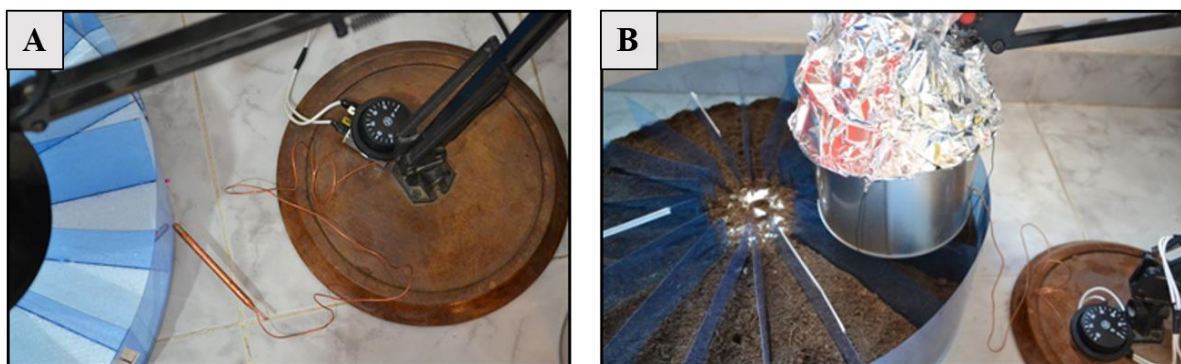


Figura 7. Tratamiento de temperatura. Se observa A) lámpara con termostato y B) lámpara recubierta con papel aluminio para evitar el paso de la luz y colocada sobre Q1.

- Inclinación: se inclinó en 20° el cuadrante 1 (Q1). Para esta variable se seccionó un cuadrante de la caja. Luego se le aplicó una inclinación de 20° con respecto a los demás cuadrantes (Figura 8).

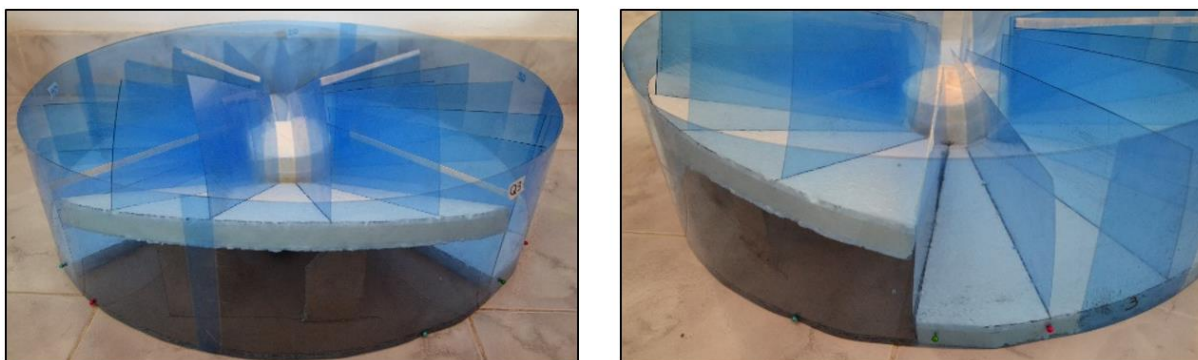


Figura 8. Tratamiento Inclinación. Se observa el cuadrante 1 con 20° de inclinación respecto de los demás cuadrantes.

- Control: la caja en condiciones de luminosidad, temperatura e inclinación no modificadas (Figura 9).

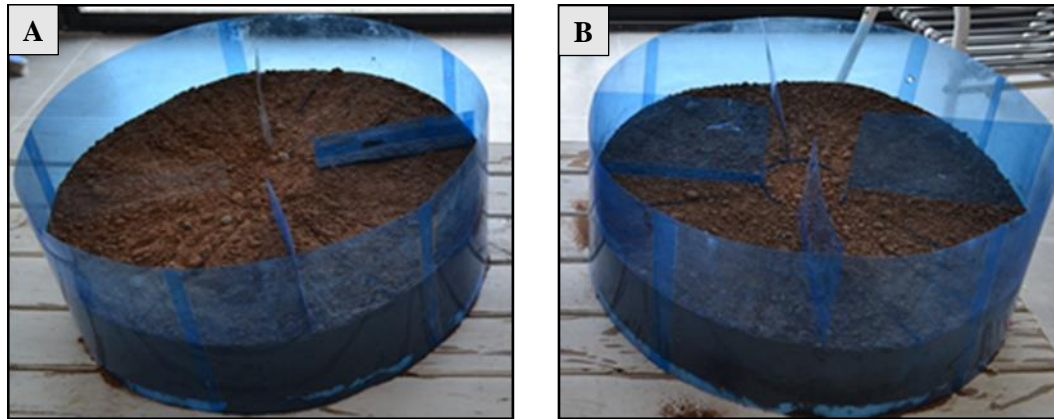


Figura 9. Cajas de control A y B, Sin ningún tratamiento.

Después de una semana de colocadas las larvas (tiempo suficiente para que empupen) se buscaron pupas en cada uno de los cuatro cuadrantes, siendo la variable respuesta **la fracción de la caja donde se encontró cada una.**

En cuanto al diseño experimental, algunos trabajos publicados sobre dispersión de larvas sugieren la utilización de cajas con forma de canales (Greenberg 1991; Reigada y Godoy 2005). Por otra parte, Gomes *et al.* (2002, 2003) describieron aspectos generales (peso, distancia recorrida, profundidad de enterramiento) de la dispersión de las larvas utilizando una caja de forma circular, confirmando los resultados obtenidos en los estudios previos. A diferencia de la dispersión restringida a dos direcciones permitidas por un canal, una caja circular permite la dispersión radial desde un sustrato de alimentación central. Una ventaja adicional es que, aunque el tamaño de la caja puede influir en las profundidades y distancias recorridas por las larvas, no tiene ningún efecto sobre los patrones de dispersión larval. En experimentos adicionales se utilizaron vermiculita y aserrín para evaluar la influencia de la compacidad y densidad del sustrato sobre la dispersión larval (Gomes *et al.* 2003). Sin embargo, debido a la aridez característica de la zona de muestreo, se decidió utilizar un sustrato que mantenga mejor la humedad y evitar la desecación de las larvas.

Análisis de los datos

La diferencia en el patrón de ubicación de las pupas entre los cuadrantes, en cada uno de los tratamientos, fue analizada mediante una prueba de bondad de ajuste χ^2 de Pearson (Plackett 1983) con el programa *Statistica* (STATISTICA Versión 10, 2011). Se asumió como hipótesis

nula que los datos siguen una distribución homogénea, es decir, que las pupas se encuentran por igual en todos los cuadrantes.

V. Resultados

En total se obtuvieron 1.290 datos. A continuación, se detallan los resultados de los experimentos, separados por tipo de tratamiento, a saber, *Control* (sin tratamiento), *Temperatura*, *Iluminación* e *Inclinación*.

Control

Se recolectaron 243 pupas en la caja A y 527 en la caja B, distribuidas en los cuadrantes del siguiente modo: en A: Q1, 71; en Q2, 70; en Q3, 50; en Q4, 52. En B: Q1, 131; en Q2, 127; en Q3, 117; en Q4, 152 (Tabla 2 y 3). Los resultados no arrojaron diferencias significativas entre la observada y la esperada si la dispersión fuera al azar en los cuadrantes de cada caja, tanto en la Caja A como en la Caja B (Figura 10 y 11; $p= 0,0978$ y $p= 0,1763$, respectivamente).

Tabla 2. Cantidad de pupas observadas y esperadas en cada cuadrante de la caja A del Control.

Q	Observada	Esperada	O – E	(O-E)**2/E
1	71	60,75	10,25	1,72942387
2	70	60,75	9,25	1,40843621
3	50	60,75	-10,75	1,90226337
4	52	60,75	-8,75	1,26028807
Sum	243	243	0	6,30041152

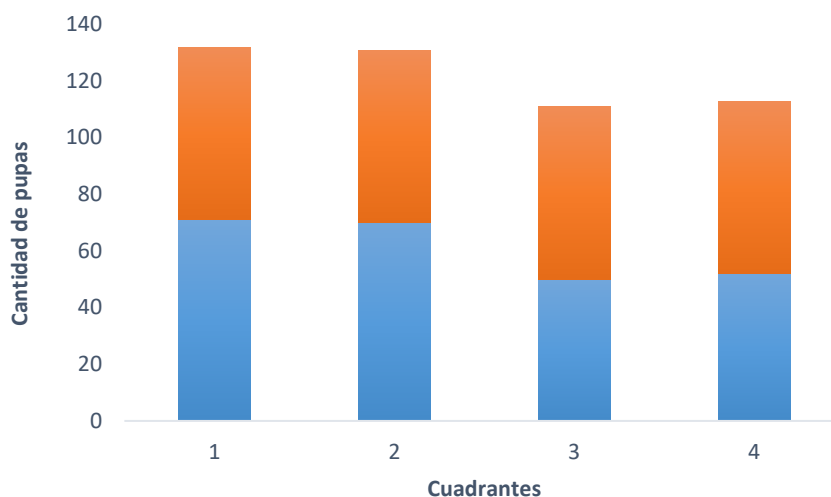


Figura 10. Cantidad de pupas en cada cuadrante de la caja A. En azul se observan las frecuencias observadas y en naranja las esperadas.

Tabla 3. Cantidad de pupas observadas y esperadas en cada cuadrante de la caja B del Control.

Q	Observada	Esperada	O – E	(O-E)**2/E
1	131	131,75	-0,7500	0,004269
2	127	131,75	-4,7500	0,171252
3	117	131,75	-14,7500	1,651328
4	152	131,75	20,2500	3,112429
Sum	527	527	0,0000	4,939279

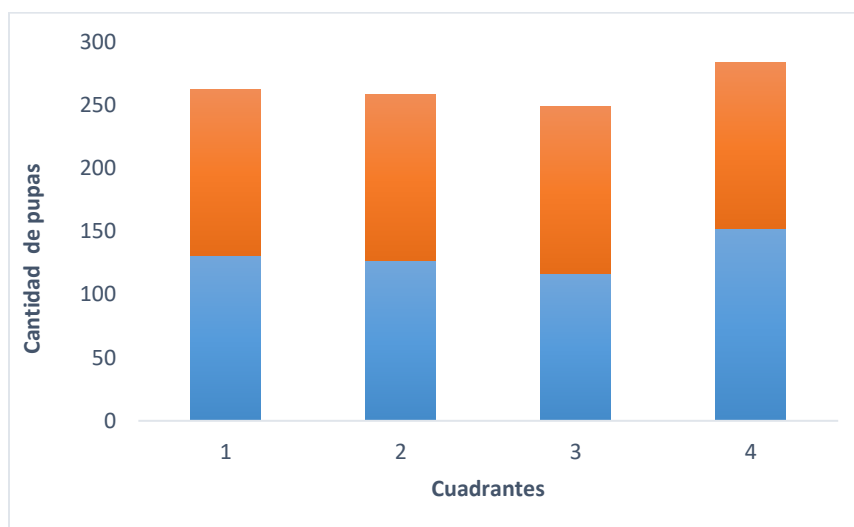


Figura 11. Cantidad de pupas en cada cuadrante de la Caja B. En azul se observan las frecuencias observadas y en naranja las esperadas.

Temperatura

Se recolectaron 81 pupas, distribuidas en los cuadrantes del siguiente modo: en Q1, 11; en Q2, 31; en Q3, 26; en Q4, 13 (Tabla 4). Se hallaron diferencias significativas entre las frecuencias observadas y las esperadas. De la Figura 12 se desprende que las larvas eligieron los cuadrantes 2 y 3 y evitaron los cuadrantes 1 y 4 (Figura 12; $p < 0,002695$).

Tabla 4. Cantidad de pupas observadas y esperadas del tratamiento Temperatura.

Q	Observada	Esperada	O - E	(O-E)**2/E
1	11	20,25	-9,25000	4,22531
2	31	20,25	10,75000	5,70679
3	26	20,25	5,75000	1,63272
4	13	20,25	-7,25000	2,59568
Sum	81	81	0,00000	14,16049

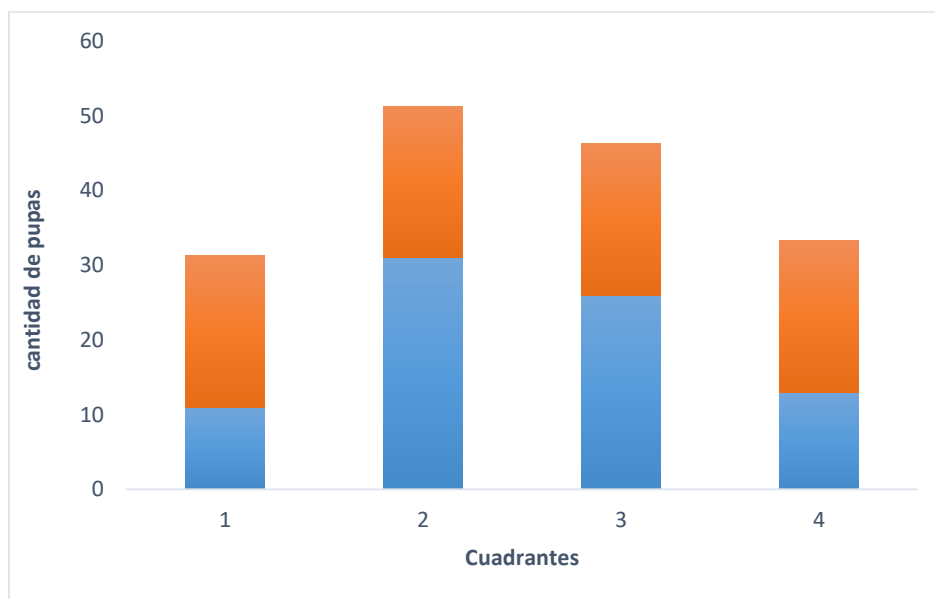


Figura 12. Cantidad de pupas en cada cuadrante de la Caja. El tratamiento se aplicó sobre el cuadrante 1. En azul se observan las frecuencias observadas y en naranja las esperadas.

Iluminación

En total, se recolectaron 65 pupas, distribuidas en los cuadrantes del siguiente modo: en Q1, 15; en Q2, 13; en Q3, 15; en Q4, 22 (Tabla 5). Los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas entre la distribución de pupas de los cuadrantes (Figura 13; $p < 0,410994$).

Tabla 5. Cantidad de pupas observadas y esperadas del tratamiento Iluminación.

Q	Observada	Esperada	O - E	(O-E)**2/E
1	15	16,25	-1,2500	0,096154
2	13	16,25	-3,2500	0,650000
3	15	16,25	-1,2500	0,096154
4	22	16,25	5,7500	2,034615
Sum	65	65	0,0000	2,876923

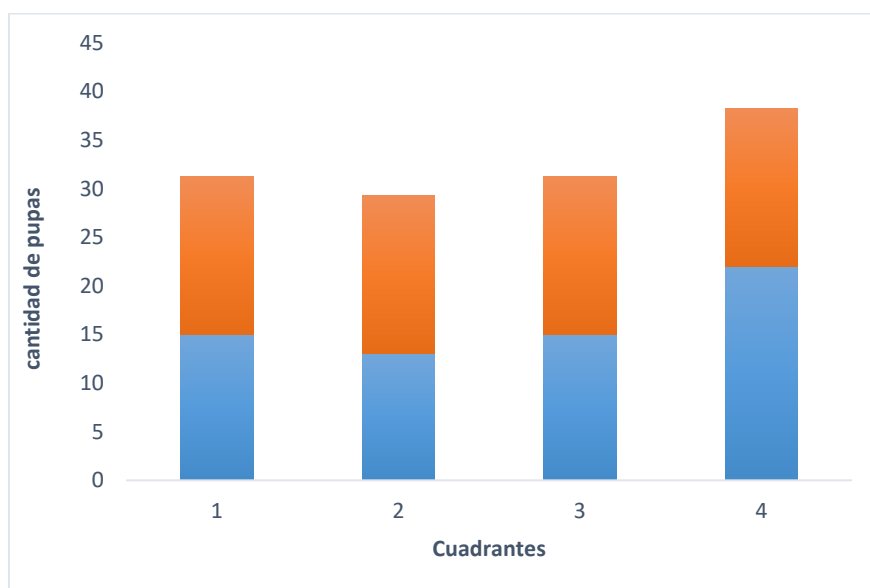


Figura 13. Cantidad de pupas en cada cuadrante de la Caja. El tratamiento se aplicó sobre el cuadrante 1. En azul se observan las frecuencias observadas y en naranja las esperadas.

Inclinación

Se recolectaron 367 pupas, distribuidas en los cuadrantes del siguiente modo: en Q1, 63; en Q2, 103; en Q3, 101; en Q4, 100 (Tabla 6). Los resultados muestran diferencias significativas entre la cantidad de pupas observadas en Q1 con respecto a los demás cuadrantes (Figura 14; $p = 0,007172$).

Tabla 6. Cantidad de pupas observadas y esperadas del tratamiento Inclinación.

Q	Observada	Esperada	O - E	(O-E)**2/E
1	63	91,75	-28,750	9,00886
2	103	91,75	11,250	1,37943
3	101	91,75	9,250	0,93256
4	100	91,75	8,250	0,74183
Sum	367	367	0,000	12,06267

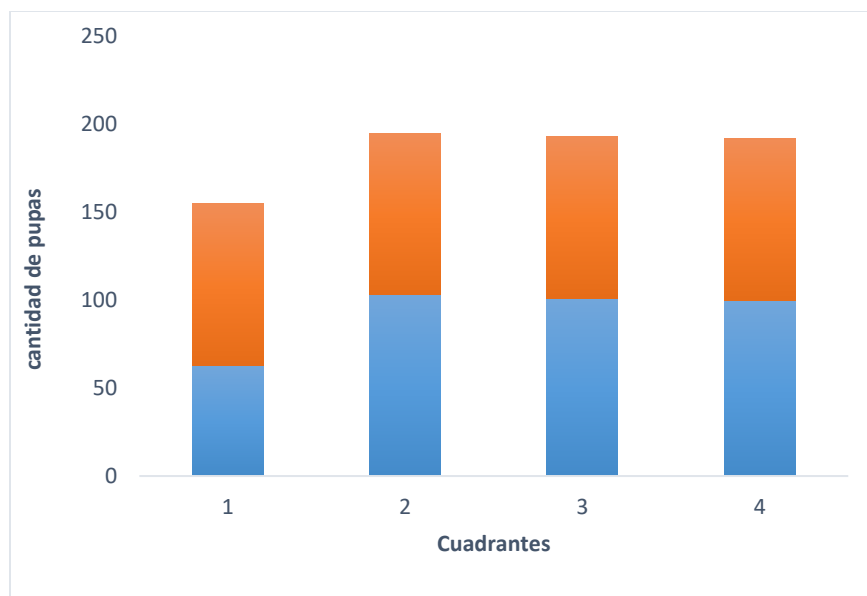


Figura 14. Cantidad de pupas en cada cuadrante de la Caja. El tratamiento se aplicó sobre el cuadrante 1. En azul se observan las frecuencias observadas y en naranja las esperadas.

VI. Discusión

En base a los resultados obtenidos para las dos cajas de *Control*, se pudo determinar que, sin aplicar tratamiento, las larvas se dispersaron de manera azarosa. Es decir, no se encontró una direccionalidad marcada de la DPA en relación a variables que no pudieron controlarse como la interacción entre larvas, orientación en función a los puntos cardinales, entre otras. Estudios previos realizados en condiciones controladas describieron una DPA con alto grado de agregación, pero utilizando cajas con forma de canales (Greenberg 1991, Andrade *et al.* 2002). Se debe tener en cuenta que este diseño experimental limita la dirección de la dispersión larval. Por otra parte, en ambientes exteriores, la dispersión de larvas puede estar afectada por múltiples variables. Tessmer y Meek (1996) encontraron que las larvas presentan una dispersión direccionada, en condiciones no controladas, según la época del año y que éstas no necesariamente se dispersan hacia todos los puntos cardinales. Si bien nuestros resultados sugieren lo contrario, éstos fueron obtenidos controlando variables en el interior. Es necesario realizar más estudios sobre este aspecto para determinar una posible relación entre la dirección de dispersión y los distintos puntos cardinales, bajo condiciones exteriores, y en diferentes épocas del año, ya que, en la práctica pericial, la recolección de larvas se realiza tanto en condiciones internas como externas.

Con respecto al tratamiento *temperatura*, los resultados indican una preferencia por aquellos cuadrantes con menor temperatura. Esta distribución podría ser consecuencia de un comportamiento de evitación por parte de las larvas para prevenir una posible deshidratación, debido a que la temperatura de corte establecida para la lámpara en el ensayo fue de 30°C. Siguiendo esta línea, Martin *et al.* (2014) realizaron un análisis de la influencia de la temperatura en *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) bajo condiciones controladas. Los autores determinaron que a partir de los 30°C el desarrollo se va ralentizando y las larvas no terminan su desarrollo, muriéndose a varias semanas de iniciar la migración y deshidratándose por el calor antes de alcanzar la fase de pupa. Es por ello por lo que estos autores proponen fijar el umbral máximo de desarrollo entre los 30 y 35°C.

Debido a la ectotermia de los dípteros, la temperatura es una variable determinante en la DPA, como también en la distancia y la profundidad de enterramiento de las larvas (Gomes *et al.*,

2005, 2006). Gomes *et al.* (2002, 2003) demostraron algunos aspectos generales de la dispersión de larvas de *Chrysomya megacephala* y *Chrysomya albiceps*. Sus resultados sugieren que las larvas con la masa corporal más pequeña tienden a moverse a mayores distancias después de que se termina el alimento. Estos autores proponen que este comportamiento se debe a la búsqueda de nuevas fuentes de alimentos o de un sitio adecuado para la pupación. Así mismo, Grassberger y Reiter (2003) encontraron que a bajas temperaturas la tasa metabólica puede reducirse marcadamente lo que podría resultar en un mayor peso corporal y una tendencia a enterrarse más profundamente para alejarse de aquellos climas más fríos. De esta forma, nos referimos a una variable que inevitablemente intervendrá en diversos casos forenses, ya sea en entornos cerrados, semiabiertos o abiertos.

En cuanto al tratamiento *iluminación*, los resultados no indican una preferencia marcada de las larvas por zonas más o menos iluminadas. El comportamiento dispersivo de las larvas, en este caso, pareciera no verse afectado ante un estímulo de luz artificial en condiciones controladas. Kocarek (2001) investigó la dispersión de larvas postalimentarias de *Calliphora vomitoria* y *Lucilia caesar*, en condiciones naturales y encontró que éstas se dispersaban exclusivamente por la noche, minimizando así las interacciones con depredadores diurnos y crepusculares como insectos parasitoides, aves insectívoras, mamíferos. Conocer la influencia de esta variable, puede ser útil al momento de la recolección de evidencia en zonas cercanas a un cadáver que posean diferentes grados de iluminación (*e.g.* en lugares cerrados con un ciclo de luz-oscuridad de 0:24 h o en lugares totalmente iluminados con un ciclo luz-oscuridad de 24:0 h).

Por su parte, los resultados del tratamiento *inclinación* sugieren que las larvas evitaron el cuadrante con mayor pendiente. Esto podría interpretarse como una manera de evitar un gasto energético mayor por parte de las larvas, lo cual sería un beneficio al momento de producirse el proceso de pupación. Dado este resultado, esta línea de evidencia puede profundizarse a futuro mediante la repetición de este ensayo, utilizando distintos grados de inclinación con el fin de abarcar un mayor número de situaciones que sean posibles de acontecer en la práctica real. La información respecto a la influencia de la inclinación en el proceso de DPA es escasa. En un caso forense la posición de un cadáver estará determinada tanto por la morfología del terreno como por las características particulares del hecho delictivo. Diferentes tipos de inclinación en el terreno influyen de manera determinante tanto en la colonización de los diferentes dípteros como

en la DPA de las larvas. Por lo que se trata de una variable de suma importancia al momento de desarrollar protocolos de actuación.

En cuanto al diseño experimental, como se mostró, la caja con forma circular permite una DPA menos limitada direccionalmente. En el caso de que pretenda analizar distintas variables, deberá tenerse en cuenta que las cajas experimentales deben diseñarse de tal manera que la variable tratada solo influya en la zona de interés. Es decir, si se aplica el tratamiento sobre Q1 debemos evitar que los demás cuadrantes sean influenciados por la variable seleccionada. En este estudio, sólo en la caja tratada con temperatura pudo haberse producido una influencia de la variable más allá de Q1. Por lo tanto, sugerimos que futuros estudios que empleen este diseño experimental para estudiar el efecto de la temperatura, procuren utilizar un aislante térmico. Por otro lado, en este trabajo se utilizó como objeto de estudio una muestra representativa de la comunidad de dípteros, sin discriminar por especie. Esto permite que los resultados sean un fiel reflejo de la diversidad real de entomofauna que es encontrada en una escena del hecho, teniendo en cuenta variables no estudiadas como la interacción entre especies. Además, el personal encargado de levantar indicios entomológicos durante la inspección ocular, lo hará de forma tal de obtener muestras que integren al conjunto de las especies presentes. De todas formas, con el fin de responder preguntas sobre mecanismos comportamentales y fisiológicos, es necesario realizar experimentos que consideren los efectos sobre las especies.

VII. Conclusión

Este trabajo contribuye al conocimiento de la DPA de dípteros en la zona de Cipolletti. Se trata de la primera aproximación entomológica experimental en la región, cuyos resultados son promisorios por lo que se constituyen en un impulso para el desarrollo de futuros estudios en la Patagonia asociados a este fenómeno.

Los ensayos experimentales detallados en este estudio son fácilmente modificables y replicables de acuerdo con las variables que se quieran analizar. Esta característica abre el abanico de posibilidades a futuros trabajos entomológicos, ya que invita a pensar en nuevas variables de análisis, como también en modificaciones en cuanto al diseño de las cajas.

El acopio de información sobre el proceso de DPA será de gran ayuda en el desarrollo de protocolos de actuación. Los mismos deberán tener en cuenta la mayor cantidad de variables que pueden intervenir en un hecho delictuoso. Además, conocer los patrones de dispersión en función de determinadas variables permitirá a los investigadores judiciales disminuir los tiempos de búsqueda y estimar de manera más precisa las zonas o sectores aledaños a un cadáver donde se pueden encontrar la mayor cantidad de larvas postalimentarias o pupas. De esta manera, es posible determinar un IPM más preciso, que nos acerque más a la data de la muerte. Este intervalo puede ser subestimado si sólo se levantan larvas sobre el cuerpo o si no se encuentran pupas o larvas dispersivas por falta de tiempo o por buscar en sitios incorrectos.

Actualmente, los protocolos oficiales para el manejo de la evidencia física son escasos. En el caso de la entomología forense son insuficientes, al menos desde la práctica, es así que surge la necesidad de aunar criterios de trabajo a nivel técnico, tanto en Argentina como en el resto de los países. El primer paso para lograr este objetivo es la acumulación de datos respecto a los artrópodos de importancia forense en cada zona donde se quiera aplicar esta disciplina y, en especial, este trabajo realiza un gran aporte para el desarrollo de la entomología forense en la provincia de Río Negro.

VIII. Lista de Referencias

- Aballay, F. H., Murúa, A. F., Acosta, J. C., y Centeno, N. (2008). Primer registro de artropodofauna cadavérica en sustratos humanos y animales en San Juan, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 67(3-4), 157-163.
- Aballay, F. H., Domínguez, M. C., y Campón, F. F. (2012). Adult Fanniidae associated to pig carcasses during the winter season in a semiarid environment: Initial examination of their potential as complementary PMI indicators. *Forensic Science International*, 219(1), 284-e1.
- Aballay, F. H., Jofré, F. N., y Centeno, N. D. (2017). Asociación y estratificación de la entomofauna cadavérica a diferentes profundidades en el suelo como indicadores complementarios en largos intervalos post mortem. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales nueva serie*, 19(2), 225-234.
- Abbott, C. E. (1932). The effect of temperature and relative humidity upon the olfactory responses of blowflies. *Psyche*, 39(4), 145-149.
- Aguirre, S., y Barragán, Á. (2015). Datos preliminares de la entomofauna cadavérica en la provincia de Pichincha, Ecuador. *Revista ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 1, 65-70.
- Ames, C., y Turner, B. (2003). Low temperature episodes in development of blowflies: implications for postmortem interval estimation. *Medical and veterinary entomology*, 17(2), 178-186.
- Amendt, J., Campobasso, C. P., Gaudry, E., Reiter, C., LeBlanc, H. N., y Hall, M. J. (2007). Best practice in forensic entomology—standards and guidelines. *International journal of legal medicine*, 121(2), 90-104.
- Anderson, G. S., y VanLaerhoven, S. L. (1996). Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Science*, 41(4), 617-625.
- Andrade, J. B. D., Rocha, F. A., Rodrigues, P., Rosa, G. S., Faria, L. D. B., Von Zuben, C. J., Rossi M. N., y Godoy, W. A. C. (2002). Larval dispersal and predation in experimental populations of *Chrysomya albiceps* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(8), 1137-1140.
- Archer, M. S. (2003). Annual variation in arrival and departure times of carrion insects at carcasses: implications for succession studies in forensic entomology. *Australian Journal of Zoology*, 51(6), 569-576.
- Armani, A. P., Centeno, N. D., y Dahinten, S. L. (2015). Primer estudio de artropodofauna cadavérica sobre modelos experimentales porcinos en el noreste de la provincia del Chubut, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 74(3-4), 123-132.
- Arnaldos, M. I., Romera, E., García, M. D., y Luna, A. (2001). Protocolo para la recogida, conservación y remisión de muestras entomológicas en casos forenses. *Cuadernos de Medicina Forense*, 25, 65-73.
- Arnaldos, M. I., Luna, A. U. R. E. L. I. O., Presa, J. J., López-Gallego, E., y García, M. D. (2006). Entomología forense en España: Hacia una buena práctica profesional. *Ciencia forense*, 8, 17-38.
- Arnott, S., y Turner, B. (2008). Post-feeding larval behaviour in the blowfly, *Calliphora vicina*: effects on post-mortem interval estimates. *Forensic science international*, 177(2-3), 162-167.

- Belfort, D. M. (1919). As sarcófagas de S. Paulo.
- Benecke, M. (2001). A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International*, 120(1), 2-14.
- Bergeret, M. (1855). Infanticide, momification naturelle du cadavre. *Ann Hyg Publique Med Leg*, 4, 442-452.
- Bergeret M. (1833) Infanticide. Momification naturelle du cadavre. Découverte du cadavre d'un enfant nouveau-né dans une cheminée où il s'était momifié. Détermination de l'époque de la naissance par la présence de nymphes et de larves d'insectes dans le cadavre, et par l'étude de leurs métamorphoses, *Ann Hyg Publique Med Leg*, 4, 442-452.
- Bianchini, G. (1929). Contributo pratico e sperimentale allo studio della fauna cadaverica. *Atti Accad Fisiocrit Siena*, 4(serie 10), 97-106.
- Brouardel, P. (1879). De la détermination de l'époque de la naissance et de la mort d'un nouveau-née, faite à l'aide de la présence des acares et des chenilles d'aglosses dans cadavre momifié. *Ann. Hyg. Pub. Med. Leg*, 2, 153-158.
- Byrd, J. H., y Castner, J. L. (2009). *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. 2nd ed. CRC press; 47-48.
- Camacho C. G. (2005). Sucesión de la entomofauna cadavérica y ciclo vital de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) como primera especie colonizadora, utilizando cerdo blanco (*Sus scrofa*) en Bogotá. *Revista Colombiana de Entomología*, 31(2), 189-197.
- Cammack, J. A. (2009). Effects of parasitism and soil compaction on pupation behavior of the green bottle fly *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) (Doctoral dissertation, Clemson University).
- Campobasso, C. P., Di Vella, G., e Introna, F. (2001). Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic science international*, 120(1), 18-27.
- Caspers, H. (1932). Ein Köcherfliegen Gehäuse im Dienste der Kriminalistik (A caddis-fly casing in the service of criminalistics), *Arch. Hydrobiol.* 46, 123–127.
- Castillo, P. (2013). Caracterización de la entomofauna asociada a cadáveres de cerdo (*Sus scrofa*) fallecidos por lesiones producidas por arma blanca, en el municipio de Pucarani de la provincia de Los Andes del departamento de La Paz. Universidad de San Andrés. Facultad de medicina, enfermería, nutrición y tecnología médica. Tesis de Grado. La Paz, Bolivia. 99 p.
- Castillo, P., Sanabria, C., y Monroy, F. (2017). Insectos de importancia forense en cadáveres de cerdo (*sus scrofa*) en la paz Bolivia. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34(1), 26-34.
- Castro, M., Remedios-De León, M., y Morelli, E. (2016). Inventario de Calliphoridae (Diptera) en cadáveres de cerdo blanco *Sus scrofa* Linnæus, 1758 (Artiodactyla: Suidae), en un ambiente de bosque en Uruguay. *Entomología Mexicana*, 3: 689–694.
- Catts, E. P., y Haskell, N. H. (1990). *Entomology and Death: A Procedural guide*. Joyce's Print Shop, Inc. USA; 182 p. Clemson, South Carolina.
- Catts, E. P., y Goff, M. L. (1992). Forensic entomology in criminal investigations. *Annual review of entomology*, 37(1), 253-272.
- Centeno, N., Maldonado, M., y Oliva, A. (2002). Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). *Forensic Science International*, 126(1), 63-70.
- Forbes, G. (1942). The brown house moth as an agent in the destruction of mummified human remains, *The Police J. (Lond.)* 13, 141–148.

- Fraenkel, G. (1933). Observations and experiments on the Blow-fly (*Calliphora erythrocephala*) during the first day after emergence, Proc. Zool. Soc. (Lond.) 103, 893–904.
- Freire, O. (1914). Algumas notas para o estudo da fauna cadavérica da Bahia. Gazeta Médica da Bahia, 46(3), 110-125.
- Freire, O. (1923). Fauna cadavérica brasileira. Revista de Medicina, 3(4), 15-40.
- Gaines, S. D., y Bertness, M. (1993). The dynamics of juvenile dispersal: why field ecologists must integrate. Ecology, 74(8), 2430-2435.
- Gennard, D. (2012). Forensic Entomology. An Introduction, Second Edition. John Wiley & Sons 1, 266 p., Oxford.
- Gines, E., y Alcántara, M. (2013). Entomofauna de interés Forense Asociada a Restos Cadavéricos de Cerdos (*Sus scrofa* L.), Expuestos en Condiciones de Campo y su Utilidad en la Estimación del Intervalo Postmortem. Lambayeque–Perú, Noviembre 2012–Abril 2013 (Doctoral dissertation, Tesis de pregrado). Universidad Nacional “Pedro Ruiz Gallo” de Lambayeque, Perú).
- Godoy, W. A. C., Zuben, C. J., y Reis, S. F. (1996). Larval dispersal in *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): ecological implications of aggregation behaviour. Journal of Applied Entomology, 120(1-5), 423-426.
- Goff, M. L., y Odom, C. B. (1987). Forensic Entomology in the Hawaiian Islands: Three Case Studies. The American journal of forensic medicine and pathology, 8(1), 45-50.
- Goff, M. L., Omori, A. I., y Goodbrod, J. R. (1989). Effect of cocaine in tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). Journal of Medical Entomology, 26(2), 91-93.
- Goff, M. L. (1991). Comparison of insect species associated with decomposing remains recovered inside dwellings and outdoors on the island of Oahu, Hawaii. Journal of forensic Science, 36(3), 748-753.
- Goff, M. L., Brown, W. A., y Omori, A. I. (1992). Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on the estimations of postmortem intervals. Journal of Forensic Science, 37(3), 867-872.
- Goff, M. L. (1993). Estimation of postmortem interval using arthropod development and successional patterns. Forensic Science Review, 5, 81-81.
- Gomes, L., y Von Zuben, C. J. (2006). Forensic entomology and main challenges in Brazil. Neotropical Entomology, 35(1), 001.
- Gomes, L., Von Zuben, C. J., y Govone, J. S. (2002). Comportamento da dispersão larval radial pós-alimentar em moscas-varejeiras do gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae): busca por novas fontes de alimento. Entomologia y Vectores, 9(1), 115-132.
- Gomes, L., Sanches, M. R., y Von Zuben, C. J. (2005). Dispersal and burial behavior in larvae of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). Journal of insect behavior, 18(2), 281-292.
- Gomes, L., Godoy, W. A. C., & Von Zuben, C. J. (2006). A review of postfeeding larval dispersal in blowflies: implications for forensic entomology. Naturwissenschaften, 93(5), 207.

- Gomes, R. F., Soto, S. E. H., Garrido, J. I. F., y Jiménez, L. E. P. (2017). Análisis entomológico forense para la estimación del intervalo post mortem, en la VIII región de Chile: Un abordaje preliminar.
- Grassberger, M., Friedrich, E., y Reiter, C. (2003). The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *International Journal of Legal Medicine*, 117(2), 75-81.
- Greenberg, B. (1990). Behavior of postfeeding larvae of some Calliphoridae and a muscid (Diptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 83(6), 1210-1214.
- Greenberg, B., y Kunich, J. C. (2002). *Entomology and the law: flies as forensic indicators*. Cambridge University Press.
- Gullan, P. J., y Cranston, P. S. (2014). *The insects: an outline of entomology*. John Wiley & Sons, 563 p., Oxford.
- Gupta, A., y Setia, P. (2004). Forensic entomology—past, present and future. *Forensic Entomology. Special Issue Anil Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 50-53.
- Herbert, R. (1982). *Introducción a la entomología general y aplicada*. Quinta Edición. Omega, Barcelona, p. 535.
- Hogue, C. L., y Hogue, J. (1993). *Latin American insects and entomology*. University of California Press.
- Hjorth-Andersen, C. T. M. (2015). Orden Diptera. *Revista IDE@ - SEA*, n° 63 (30-06-2015): 1–22.
- Hofmann, O. (1886). Observations de larves de diptères sur des cadavres exhumés (Observations on Diptera larvae on exhumated corpses), *CR Séances Soc. Ent. Belg*, 74, 131-132.
- Horenstein, M. B., Arnaldos, M. I., Rosso, B., y García, M. D. (2005). Estudio preliminar de la comunidad sarcosaprófaga en Córdoba (Argentina): aplicación a la entomología forense. *In Anales de Biología* 27, 191-201.
- Horenstein, M. B., Linhares, A. X., Rosso, B., y García, D. (2007). Species composition and seasonal succession of saprophagous calliphorids in a rural area of Córdoba: Argentina. *Biological research*, 40 (2), 163-171.
- Horenstein, M. B., Linhares, A. X., Rosso, B., y García, D. (2010). Decomposition and dipteran succession in pig carrion in central Argentina: ecological aspects and their importance in forensic science. *Medical and veterinary entomology*, 24(1), 16-25.
- Introna, F., Campobasso, C. P., y Goff, M. L. (2001). Entomotoxicology. *Forensic Science International*, 120(1), 42-47.
- Karsch, F. (1888). Ueber Leichenwürmer (On corpse worms). *Naturwiss. Wochenschr*, 3, 88-90.
- Kocarek, P. E. T. R. (2001). Diurnal patterns of postfeeding larval dispersal in carrion blowflies (Diptera: Calliphoridae). *European Journal of Entomology*, 98(1), 117-120.
- Leclercq, M., y Quinet, L. (1949). Quelques cas d'application de l'entomologie a la determination de l'époque de mort (Several cases concerning the application of entomology on determination of postmortem interval). *Ann. Med. Leg*, 29, 324-326.
- Leclercq, M. (1969). *Entomological parasitology. The relations between entomology and the medical sciences*. Entomological parasitology. The relations between entomology and the medical sciences.
- Leclercq, M. (1978). *Entomologie et médecine légale. Datation de la mort* (No. 614.1 L459e). París, FR: Masson.

- Leclercq, M., y Brahy, G. (1990). Entomologie et médecine légale: origines, evolution, actualisation. *Revue Médicale de Liège*, 45, 348-357.
- Loarte, C. M. (2015). Problemas a resolver en la estimación de la data de la muerte mediante evidencias entomológicas. *Ciencia Forense*, 12, 11-28.
- López de Casenave, J., y Marone, L. (1996). Efecto de la riqueza y la equitatividad sobre los valores de diversidad en ensambles de aves. *Ecología (España)*, 10, 437-445.
- Lord, W. D. y Burger, J. F. (1983). Collection and preservation of forensically important entomological materials. *Journal of Forensic Science*, 28(4), 936-944.
- Lord, W. D. y Stevenson, J. R. (1986). Directory of forensic entomologists. Def. Pest Mgmt. Info. Anal. Center (eds), Washington: Walter Reed Army Medical Center.
- Lord, W. D., Adkins, T. R., y Catts, E. P. (1992). The use of *Synthesiomyia nudesita* (Van Der Wulp) (Diptera: Muscidae) and *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) to estimate the time of death of a body buried under a house. *Journal of Agricultural Entomology*, 9(4), 227-235.
- Lord, W. D., Goff, M. L., Adkins, T. R., y Haskell, N. H. (1994). The black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) as a potential measure of human postmortem interval: observations and case histories. *Journal of Forensic Science*, 39(1), 215-222.
- Lord, W. D., DiZinno, J. A., Wilson, M. R., Budowle, B., Taplin, D., y Meinking, T. L. (1998). Isolation, amplification, and sequencing of human mitochondrial DNA obtained from human crab louse, *Pthirus pubis* (L.), blood meals. *Journal of Forensic Science*, 43(5), 1097-1100.
- Magaña, C., Andara, C., Contreras, M. J., Coronado, A., Guerrero, E., Hernández, D., y Liria, J. (2006). Estudio preliminar de la fauna de insectos asociada a cadáveres en Maracay, Venezuela. *Entomotrópica. Sociedad Venezolana de Entomología*. Vol. 20(1): 53-59.
- Marchenko, M. I. (2001). Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. *Forensic Science International*, 120(1), 89-109.
- Mariani, R., García-Mancuso, R., Varela, G. L., e Inda, A. M. (2014). Entomofauna of a buried body: study of the exhumation of a human cadaver in Buenos Aires, Argentina. *Forensic science international*, 237, 19-26.
- Mariluis, J. C., y Mulieri, P. R. (2003). La distribución de las Calliphoridae en la Argentina (Diptera). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 62(1-2), 85-97.
- Martín, B. D., Rodríguez, A. L., y Bordas, M. I. S. (2014). Primeros resultados sobre desarrollo de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) bajo condiciones controladas de temperatura. *Ciencia Forense*, 241, 260.
- Martinez, E., Duque, P., y Wolff, M. (2007). Succession pattern of carrion-feeding insects in Paramo, Colombia. *Forensic Science International*, 166(2), 182-189.
- Maschka (1881). Angeblicher Tod eines Kindes infolge von Verletzungen. Natürliche Todesart. Entstehung der Verletzung nach dem Tod durch Ameisenbisse (Alleged death of a child due to injuries. Natural cause of death. Injury patterns caused by ant bites), *Vjschr. Ger. Med. N.F.* 34, 193– 197.
- Mégnin, P. (1887). La faune des tombeaux, in: M. Brown-Sequard (Ed.), *C. R. Heb. Seances Acad. Sci.* 103, 948–931.
- Mégnin, P. (1894). La faune des cadavres: Application de l'entomologie a la médecine légale (Vol. 101). Masson y Gauthier-Villars.
- Mégnin, P. (1896). Note sur une collection d' insectes des cadavres intéressants a` connaître au point de vue médico-légal, offerte au Muséum, *Bull. Mus. Hist. Nat.* 10, 187– 190.

- Meixner, K. (1922). Leichenzerstörung durch Fliegenmaden (Destruction of corpses caused by blow fly maggots), *Z. Medizinalbeamte*, 35, 407-413.
- Merkel, H. (1925). Die Bedeutung der Art der Tötung für die Leichenzerstörung durch Madenfrass. *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, 5(1), 39-44.
- Moreno, R. (2006). La criminalística: Concepto, objeto, método y fin. Manual de introducción a la criminalística. Décimo primera edición. Porrúa. Av. República Argentina y Justo Sierra. Ciudad de México. 22-23.
- Moreno, R. (2006). Reflexiones en torno a las semejanzas y diferencias entre la Criminología y la Criminalística. Manual de introducción a la criminalística. Décimo primera edición. Porrúa. Av. República Argentina y Justo Sierra. Ciudad de México. 345-352.
- Museu Paulista. (1911). *Revista do Museu Paulista* (Vol. 8). Museu Paulista.
- Niezabitowski, E. (1902). Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Leichenfauna, *Vjschr. Ger. Med. Oeffentl. Sanitätswesen* BAND (1), 44-30.
- Núñez Rodríguez, J., y Liria Salazar, J. (2014). Sucesión de la entomofauna cadavérica a partir de un biomodelo con vísceras de res. *Salus*, 18(2).
- Nuorteva, P., Isokoski, M., y Laiho, K. (1967). Studies on the possibilities of using blowflies (Diptera) as medicolegal indicators in Finland. I. Report of four indoor cases from the city of Helsinki. *Suomen Hyonteistieteellinen Aikakauskirja*, 33(4)
- Nuorteva, P., Schuman, H., Isokoski, M., y Laiho, K. K. (1974). Studies on the possibilities of using blowflies (Diptera: Calliphoridae) as medicolegal indicators in Finland. In *Annales Zoologici Fennici* (Vol. 40, pp. 70-74).
- Oliva, A., Ravioli, J., Trezza, F., y Navarri, C. (1995). Entomología forense. *Pren. méd. argent*, 82, 229-234.
- Oliva, A. (1997). Insectos de interés forense de Buenos Aires (Argentina): Primera lista ilustrada y datos bionómicos. Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales.
- Oliva, A. (2001). Insects of forensic significance in Argentina. *Forensic Science International* 120 (1-2): 145-154.
- Oliva, A. (2007). Frecuencia y distribución temporal de moscas cadavéricas (Diptera) en la ciudad de Buenos Aires. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales nueva serie*, 9(1), 5-14.
- Orfila, M. J. B., y Lesueur, O. (1831). *Traité des exhumations juridiques: et considérations sur les changemens physiques que les cadavres éprouvent en se pourrissant dans la terre, dans l'eau, dans les fosses d'aisance et dans le fumier* (Vol. 1). , Paris, Béchét Jeune, pp. 331-333 (in French).
- Orfila, M. J. B., Lesueur, O., y Güntz, E. W. (1835). *Handbuch zum Gebrauche bei gerichtlichen Ausgrabungen und Aufhebungen menschlicher Leichname jeden Alters in freier Luft, aus dem Wasser, den Abtrittsgruben und Düngerstätten...* Aus dem Franz. mit Zusätzen und Noten (Vol. 2). Barth.
- Ortloff-Trautmann, A., Jara-Peñailillo, A., Albornoz-Muñoz, S., Silva-Riveros, R., Riquelme-Gatica, M. P., y Peña-Rehbein, P. (2013). Primer reporte en Chile de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) en evidencia entomológica forense. *Archivos de medicina veterinaria*, 45(1), 83-89.
- Pape, T., Blagoderov, V., Mostovski, M. B., y Zhang, Z. Q. (2011). Order Diptera Linnaeus, 1758. Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Zootaxa*, 3148(237), 222-229.

- Pasquerault, T., Vincent, B., Dourel, L., Chauvet, B., y Gaudry, E. (2006). Los muestreos entomológicos: de la escena del crimen a la peritación. *Ciencia Forense*, 8, 39-55.
- Penela, S., y Oliva, A. (2016). Guía, Protocolo, Formularios y Cadena de custodia para la Recolección, Fijación y Conservación de Muestras Entomológicas para Análisis en una Investigación Forense. *Skopein: La justicia en manos de la Ciencia*, (11), 3.
- Peñaloza, O. A., y Oliva, A. (2013). - Insectos asociados con la descomposición de osamentas de cerdo doméstico (*Sus scrofa* L.) en un ambiente árido de La Rioja – Argentina. *Revista Electrónica Iberoamericana de Educación en Ciencias y Tecnología*. 4(1). 121-129.
- Perez, S., Duque, P., y Wolff, M. (2005). Successional behavior and occurrence matrix of carrion-associated arthropods in the urban area of Medellín, Colombia. *Journal of Forensic Science*, 50(2), JFS2004046-7.
- Pessôa, S. B. (1941). Coleópteros necrófagos de interêsse médico-legal; ensáio monográfico sôbre a família Scarabaeidae de S. Paulo e regiões visinhas (Vol. 2). Imprensa oficial do Estado.
- Plackett, R. L. (1983). Karl Pearson and the chi-squared test. *International Statistical Review/Revue Internationale de Statistique*, 59-72.
- Porta, C.F. (1929) Contributo allo studio dei fenomeni cadaverici. L' azione della microfauna cadaverica terrestre nella decom- posizione de cadavere, *Arch. Antrop. Crim. Psichiatr. Med. Leg.* 39. 1–33.
- Reis, S. D., Stangenhans, G., Godoy, W. A. C., Von Zuben, C. J., y Ribeiro, O. B. (1994). Variação em caracteres bionômicos em função da densidade larval em *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 38(1), 33-34.
- Reiter, C., y Wollenek, G. (1982). Bemerkungen zur Morphologie forensisch bedeutsamer Fliegenmaden. *International Journal of Legal Medicine*, 89(3), 197-206.
- Reiter, C., y Wollenek, G. (1983). Zur Artbestimmung der Maden forensisch bedeutsamer Schmeißfliegen. *International Journal of Legal Medicine*, 90(4), 309-316.
- Reiter, C., y Hajek, P. (1984). Zum altersabhängigen Wandel der Darmtraktfüllung bei Schmeißfliegenmaden—eine Untersuchungsmethode im Rahmen der forensischen Todeszeitbestimmung. *International Journal of Legal Medicine*, 92(1), 39-45.
- Reiter, C. (1984). Zum wachstumsverhalten der maden der blauen schmeißfliege *Calliphora vicina*. *International Journal of Legal Medicine*, 91(4), 295-308.
- Reiter, C., y Wollenek, G. (1985). Verwitterungsbeständigkeit und forensischer Informationsgehalt leerer Fliegenpuppenhülsen. *Archiv für Kriminologie*, 175, 47-55.
- Root, R. B. (1967). The niche exploitation pattern of the blue-gray gnatcatcher. *Ecological monographs*, 37(4), 317-350.
- Roquette-Pinto, E. (1908). Nota sobre a fauna cadavérica do Rio de Janeiro. *A Tribuna Médica*, 21(1-11), 413-417.
- Roth, L.M. y Willis, E.R. (1937). Cockroach Bites, in: *The Medical and Veterinary Importance of Cockroaches*, *Smithon Miscellaneous Collection*, Vol. 134, No. 10, Chapter IX, pp. 30–34.
- Salazar, F., y Donoso, D. (2015). Catálogo de insectos con valor forense en el Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 36, 49-59.
- Schmitz, S.J. (1928). Phoriden in doodkisten (Phorid flies in coffins), *Natuurhist. Maandblad* 17, 130–133.

- StatSoft, I. STATISTICA for Windows Operating System (Version 10.0). 2011. Tulsa (OH): StatSoft.
- Tessmer, J. W., y Meek, C. L. (1996). Dispersal and distribution of Calliphoridae (Diptera) immatures from animal carcasses in southern Louisiana. *Journal of Medical Entomology*, 33(4), 665-669.
- Torrez, J., Zimman, S., Rinaldi, C., y Cohen, R. (2006). Entomología forense. *Revista del Hospital JM Ramos Mejía (Edición electrónica)*, 11(1), 22.
- Tz'u, S. (1924). The Hsi YuÈan Lu or Instructions to Coroners (Version from 1843, compiled by TÀung Lien). *Proc. R. Soc. Med*, 17, 59-107.
- Tz'u, S. (1981). The washing away of wrongs. (Original title: Hsi Yüan chi lu), Book 2. Center of Chinese Studies. The University of Michigan. Ann Arbor, (Chapter 5), (Translated by Brian E. McKnight).
- Ulyett, G. C. (1950). Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 234(610), 77-174.
- Vergara-Pineda, S., De León-Múzquiz, H., García-Martínez, O., Cantú-Sifuentes, M., Landeros-Flores, J., y Tomberlin, J. K. (2012). Dispersión espacial de larvas de *Lucilia sericata* y *Calliphora coloradensis* (Diptera: Calliphoridae) en etapa de postalimentación. *Revista Colombiana de Entomología*, 38(1), 97.
- Walcher, K. (1933). Eindringen von Maden in die Spongiosa der großen Röhrenknochen. *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, 20(1), 469-471.
- Wolff, M., Uribe, A., Ortiz, A., y Duque, P. (2001). A preliminary study of forensic entomology in Medellín, Colombia. *Forensic Science International*, 120(1), 53-59.
- Yusseff Vanegas, S. Z. (2006). Entomología forense: los insectos en la escena del crimen. *Revista Luna Azul*, 23, pp. 42-49.