

## DESCRIPCIÓN Y DESARROLLO DE *Calliphora latifrons* (Hough, 1899) (Diptera: CALLIPHORIDAE), EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Manuel Nava-Hernández, Mirya Alejandra Salguero-Guzmán, Humberto A. Molina-Chávez✉ y María S. Ortega-López

Laboratorio de Entomología Forense, Coordinación General de Servicios Periciales, Fiscalía General de Justicia de la Ciudad de México. Av. Coyoacán 1635, Colonia Del Valle, C. P. 03100, Ciudad de México.

✉ Autor de correspondencia: hamolina2503@gmail.com

**RESUMEN.** Se describe el desarrollo de *Calliphora latifrons* (Hough, 1899) (Diptera: Calliphoridae) en condiciones de laboratorio, díptero de importancia forense asociado al proceso de degradación cadavérica, obteniéndose los tiempos en horas de preoviposición, fase larval, pupa hasta la aparición de adultos. Se determinó el ciclo biológico con un rango de tiempo de 419.9 a 454.0 horas y se hace una descripción morfológica de las distintas etapas embrionaria, larval, pupa y adulta. Los datos obtenidos son de utilidad en la Entomología y otras Ciencias Forenses, y en diversas áreas de investigación básica.

**Palabras Clave:** *Calliphora latifrons*, Entomología Forense, ciclo biológico, intervalo postmortem.

### Description and development of *Calliphora latifrons* (Hough, 1899) (Diptera: Calliphoridae), in laboratory conditions.

**ABSTRACT.** The development of *Calliphora latifrons* (Hough, 1899) (Diptera: Calliphoridae) performed under laboratory conditions is described; a diptera of forensic importance associated with the process of cadaveric degradation, obtaining the times in hours of preoviposition, larval phase, pupa until the appearance of adults. It was determined the biological cycle with a time range of 419.9 to 454.0 hours and it does a morphological description of the different embryonic, larval, pupal and adult stages. The data obtained is useful in Entomology and other Forensic Sciences, and in various areas of basic research.

**Keywords:** *Calliphora latifrons*, Forensic Entomology, forensic indicators, postmortem interval.

### INTRODUCCIÓN

Los dípteros son un grupo de insectos que cumplen diversas funciones, destacando su papel como polinizadores, depredadores, parasitoides, con hábitos fitófagos, hematófagos y recicladores de materia orgánica, (Ibáñez *et al.*, 2017, Yeates *et al.*, 2007), De ellos, la familia Calliphoridae ha sido estudiada ampliamente debido a las implicaciones sanitarias y médico legales de algunas de sus especies (Pape *et al.*, 2004, Byrd y Castner, 2001), son organismos que principalmente son descomponedores, sarcosaprófagos y/o coprófagos; tienen importancia médica y sanitaria, toda vez que los adultos actúan como agentes de dispersión mecánica de patógenos procedentes de fuentes de infección hacia productos de consumo humano y las larvas generan miasis en mamíferos (Amat, 2009); por otro lado, se sabe que ésta familia tiene la capacidad de colonizar cadáveres frescos en minutos, usándolos como recurso para el desarrollo de sus estadios inmaduros (Amat, 2009 y López, 2011), una de estas especies, *Calliphora latifrons* (Hough, 1899), ha sido reportada dentro de esta categoría, la cual se distribuye ampliamente en Norte América hacia el Norte y Oeste, sin embargo, ocasionalmente se ubica en el Este (Whitworth, 2006), preferentemente se le localiza durante los meses fríos, lo que concuerda con Ames y Turner (2003) que indican que especies del Género *Calliphora* presentan umbrales mínimos de desarrollo de 3°C. En México *C. latifrons*,

ha sido asociada a la degradación de materia orgánica animal, ya que la fase de larva se comporta como necrófago, durante las primeras etapas de la degradación cadavérica de humanos, preferentemente en la fase de enfisema, en la Ciudad de México (Molina *et al.*, 2011), así mismo se ha asociado durante la descomposición avanzada y restos secos de cadáveres de *Sus scrofa* en el Estado de México y en Hidalgo (Flores *et al.* 2008, 2009 y 2013).

Por lo que desde la perspectiva de la Entomología Forense resulta relevante el estudio del ciclo de vida para tomarla en cuenta como referente durante el análisis forense del Intervalo Postmortem (IPM), en cuerpos humanos, y en el presente trabajo se muestran datos obtenidos a partir del desarrollo de *C. latifrons* sin manipulación de variables ambientales, cuyos resultados servirán de apoyo en la investigación forense aplicable en la estimación del tiempo de muerte en humanos en la Ciudad de México.

## MATERIALES Y MÉTODO

La obtención de organismos y el desarrollo del ciclo de vida de *C. latifrons* se efectuaron en las instalaciones del Laboratorio de Entomología Forense de la Coordinación General de Servicios Periciales de la Fiscalía General de Justicia de la Ciudad de México, ubicado en la Alcaldía Benito Juárez, localizada a los 19° 21' 57.82" N y 99° 10' 23.09" O a 2260 msnm, durante el periodo de otoño e invierno del 2018, procediendo de la siguiente manera:

La captura de organismos, se realizó mediante trampas aéreas de polietileno transparente de aproximadamente 12 x 15 x 12cm, cebadas con 200g de carne (codillo de cerdo) *Sus scrofa* L., que se colocaron a una altura aproximada de 3m al exterior de una zona de oficinas durante cinco días a la intemperie, posteriormente se trasladaron a un bioterio y se colocaron en dos gabinetes designados como 1 y 2 donde se permitió el desarrollo de los organismos hasta la etapa adulta, registrando la emergencia diferencial de cada una de las especies recolectadas. Una vez que se obtuvieron los adultos, éstos se identificaron taxonómicamente empleando claves específicas para la familia Calliphoridae, (Whitworth, 2006 y Jones *et al.*, 2019), y se separaron a los individuos de la especie *C. latifrons*, agrupándolos en proporciones de 4-6 hembras y un macho, en el interior de gabinetes de apareamiento y reproducción, con medidas de 50 x 50 x 35 cm, elaborados con material sintético (unicel), recubiertas con tela tipo organza donde se les proporcionó alimento consistente en una mezcla de albúmina y azúcar ad libitum, así como agua. Transcurridos cinco días, en el interior de dichos gabinetes, se colocaron fragmentos de 100 g de carne de cerdo para facilitar la oviposición, los cuales se retiraron cada 24 horas para colocarlos en cámaras de crianza de 11.5 x 7.5 cm con tapa recambiable y ventilación, para así poder registrar el desarrollo de las distintas fases inmaduras y la emergencia de imagos. Se establecieron dos criterios de observación en los lotes, el primero consistió en permitir el desarrollo de las fases inmaduras hasta completar la etapa adulta sin sacrificio de organismos, denominado genéricamente como lote testigo de crecimiento. El otro lote consistió en el sacrificio, sin reemplazo, de organismos inmaduros hasta su etapa adulta, denominado genéricamente como lote manipulado durante el desarrollo, es pertinente aclarar que fueron cinco repeticiones (cámaras de crianza) que permitieron dar seguimiento al desarrollo de la especie mediante observación directa sin manipulación de los organismos.

Con el fin de observar el desarrollo y el crecimiento de las diferentes fases metamórficas, se destinaron cinco repeticiones para registrar las longitudes totales y diámetro de los huevos y pupas, así como la longitud total de los diferentes estadios larvales, para ello se empleó un vernier y micrómetro acoplado al microscopio estereoscópico. La manipulación de la fase embrionaria se practicó con pinceles, cajas de Petri y agujas de disección; para la fase larval, a partir de la eclosión, cada

dos horas se sacrificaron cinco larvas mediante choque térmico, exponiéndolas en agua caliente e inmediatamente se incluyeron en una solución de etanol al 70 %, se tomaron medidas de longitud total y se regresaron a la solución alcohólica para su preservación. Una vez establecida la etapa de instar III, las mediciones de los ejemplares se llevaron a cabo cada 6 horas hasta que se presentó el fenómeno de emigración, tomando éste como un criterio del término de la fase larval y el inicio de la etapa de pre-pupa. Se consideró la etapa de pupa como aquella en donde se presentó inmovilidad total de la especie y durante la cual, se tomaron medidas considerando la longitud total y el diámetro, y se llevó un registro de las variaciones de la coloración, tomando muestras aleatorias cada 24 horas a las cuales se les practicaron disecciones con el fin de observar los cambios metamórficos para determinar la diferenciación hacia el estado adulto.

Finalmente se registró el momento de la emergencia del imago y los organismos adultos se trasladaron a gabinetes de apareamiento y reproducción ya descritos, donde se les proporcionó la mezcla de albúmina con azúcar y agua ad libitum, hasta observar la muerte del último de los organismos. Durante todo el tiempo de desarrollo de los dípteros se tomaron datos de temperatura y humedad relativa con ayuda de un higrotermómetro digital.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ciclo biológico de *C. latifrons* se inició con la observación directa de los ejemplares durante la fase de captura, registrando tiempos de emergencia de 470 a 520 horas (19.5 a 21.6 días) contados a partir del momento de la colocación de las trampas hasta la emergencia de los adultos que fueron considerados como organismos “parentales” y se emplearon para la fase de desarrollo en bioterio, ver cuadro 1.

En el Cuadro 2 se muestran rangos de tiempo de desarrollo en horas. Los valores de temperatura promedio de 23.1 °C, con oscilaciones térmicas máximas de 27 °C y mínimas de 18 °C; en cuanto a la humedad relativa se encontró en el promedio de 24.5 % con valor máximo de 37 % y mínimo de 15 %. Para la fase de preoviposición se determinaron promedios 234.55 horas y de 21.75 para la fase de incubación embrionaria, con medidas de 1.5 mm de longitud total y 0.48 mm de diámetro  $\pm 0.12$  para ambas medidas del huevo (Figura 2-A).

**Cuadro 1.** Tiempo en horas del cambio metabólico de dípteros parentales de *C latifrons*.

Fase	Gabinete 1	Gabinete 2
Tiempo de captura en horas o en min	120	120
Larva – Pupa	100 a 110	146 a 152
Pupa-Adulto	275 a 295	260 a 272

**Cuadro 2.** Comparación del tiempo de desarrollo de *C. latifrons* en horas, ocurrido en organismos criados en laboratorio, denominados como “Lote Manipulado” y “Lote Testigo”.

Lote	Preoviposición	Huevo	Larva	Pupa	Adulto	Total
Manipulado	234.5 $\pm$ 6.3	21.7 $\pm$ 1.42	185.5 $\pm$ 3.17	212.7 $\pm$ 5.53	143.3 $\pm$ 4.11	547.5
Testigo	225.9 $\pm$ 4.9	22.6 $\pm$ 1.70	215.2 $\pm$ 3.72	216.2 $\pm$ 3.50	169.3 $\pm$ 3.61	848.3

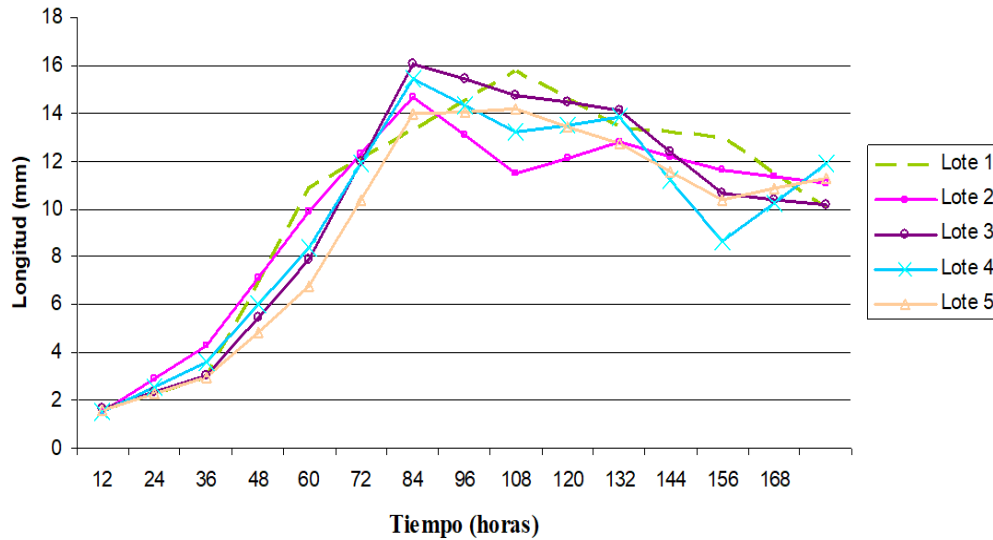
Para el caso de la fase larval, se obtuvieron curvas de crecimiento de cinco repeticiones (Figura 1), y se observó que el instar I, se estableció durante un tiempo promedio de  $18.75 \pm 1.10$  horas y morfológicamente fue posible observar organismos de  $1.77 \pm 0.47$  al inicio de la etapa y alcanzar  $4.19 \pm 0.97$  mm de longitud total. Se logra ver el cefaloesqueleto (esqueleto cefalofaríngeo) en diferenciación; los espiráculos protorácicos o anteriores apenas son distinguibles, los espiráculos caudales o posteriores presentan una slit (abertura espiracular o branquias) bien conformada y otra de menor tamaño apenas perceptible; la etapa de instar II se estableció en el rango de 24 a 48 horas después de la eclosión, fueron ejemplares de  $4.89 \pm 0.89$  mm al inicio hasta alcanzar  $7.46 \pm 1.07$  mm de longitud total cuando se presentó la ecdisis, en éstos los artejos del cefaloesqueleto se distinguieron con mayor diferenciación, con ganchos y presencia del esclerito oral, los espiráculos anteriores con nueve lóbulos (dígitos o branquias) y los espiráculos posteriores diferenciados presentando dos slits que se observan bien definidas; en tanto que para instar III, al inicio de ésta se registraron ejemplares de  $8.25 \pm 1.49$  mm finalizando con organismos que llegan en promedio a  $15.18 \pm 1.82$  mm de longitud total, el cefaloesqueleto se encuentra bien desarrollado diferenciándose el esclerito oral entre ambos dientes (mandíbulas o ganchos), el brazo dorsal de mayor longitud que el ventral; espiráculos anteriores con nueve lóbulos, los espiráculos posteriores con peritrema completo y presencia de botón, tres slits rectos dispuestos en forma paralela y dirigidas hacia el botón (figura 2B), el inicio de esta etapa se presenta a partir de las  $48.5 \pm .97$  horas, sin embargo se consolida hacia las  $67.2 \pm 1.09$  horas posteriores a la eclosión de la fase embrionaria, cuando se establece el 90 % de la población, ésta fase permaneció hasta un tiempo promedio de  $118.94 \pm 2.50$  horas, tomando como el final de la misma el inicio de comportamiento de migración. Para la fase de prepupa o postalimentación se estimaron tiempos de  $82.7 \pm 5.52$  horas.

Después del tiempo de crecimiento larval y de prepupa, se registró el tiempo de duración de la fase de pupa el cual fue cercano a 210 h para ambos lotes (Figura 2C), y se determinaron longitud total y diámetro, obteniendo en promedio de  $7.64 \pm 0.45$  mm y diámetro de  $3.25 \text{ mm} \pm 0.27$  respectivamente, en una muestra de 74 pupas ( $n = 74$ ) medidas al momento de observar que ambos lotes se encontraron en dicha fase (cinco días posteriores al inicio de ésta fase).

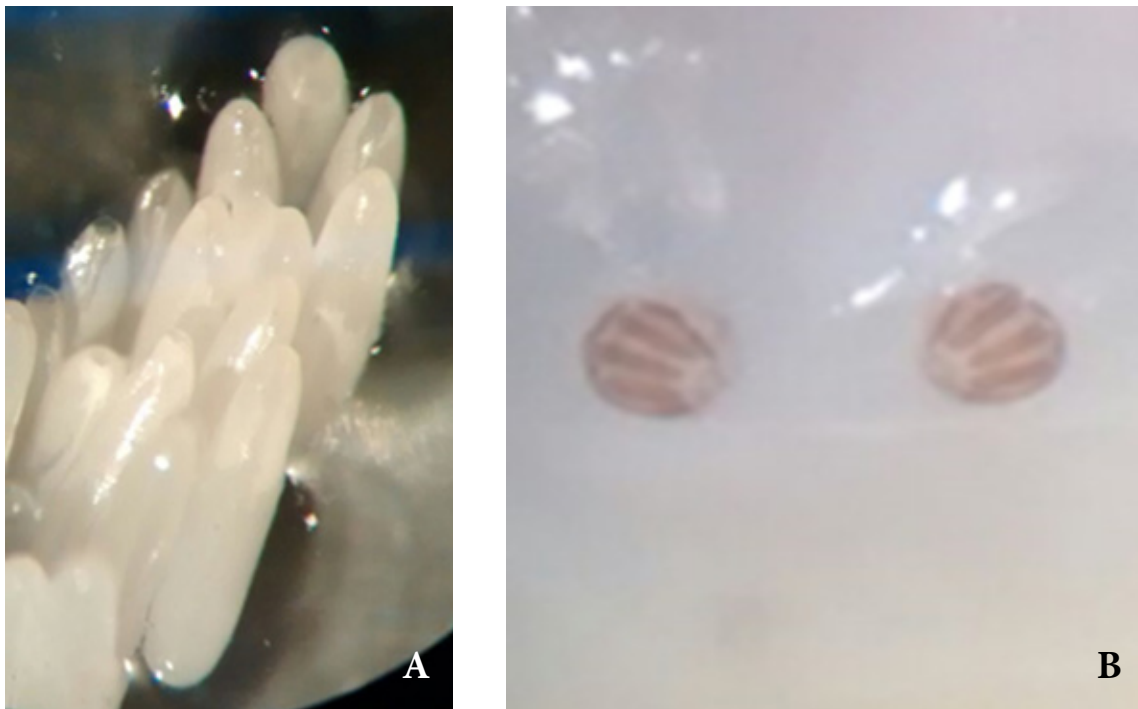
Finalmente se determinó el tiempo de emergencia de adultos desde la puesta de huevos sobre el sustrato, obteniendo tiempos de  $419.9 \pm 5.91$  horas ( $17.5 \pm 0.24$  días) para los organismos del lote manipulado y de 454 (18.9 días) en los organismos del lote testigo. A partir del momento de la emergencia de los adultos se dio seguimiento a las colonias que se obtuvieron con el fin de establecer la sobrevivencia, tomando el momento en el que no se observó actividad del último de los individuos de la población, como el punto final del ciclo de vida, determinándose marcadas diferencias en ambos lotes, registrando 143.3 horas promedio para el grupo sometido a manipulación y 169.3 horas promedio para el lote testigo (Cuadro 2). La medida de longitud total de los adultos (Figura 2D) promedió 9.1 mm ( $\pm 0.22$ ), con coloración azul metálico en el abdomen y el tórax de aspecto opaco, con características diacríticas tales como cerdas o setas supravibrisales relativamente cortas y robustas que ascienden desde las vibrisas hasta un punto medio de la cresta facial a casi a la mitad de la distancia a la base de la antena; el espiráculo anterior con setas de color anaranjado Jones *et al* (2019); el calípter es en tono café oscuro con el borde de color blanco (Whitworth, 2006).

Los datos del tiempo de desarrollo de huevo a adulto de 419.9 horas (17.5 días) y 454 horas (18.9 días) coincidieron con datos previos de tiempos de emergencia de adultos en donde se estimaron rangos de 17-19 días para los meses de Enero-Marzo y de 18-20 días en los meses de Octubre-Diciembre (Molina, 2009). Sin embargo discrepan de los datos obtenidos por Villeda *et al.* 2015 en donde el tiempo de desarrollo de huevo a pupa de 312 horas (13 días). Es de mencionar que

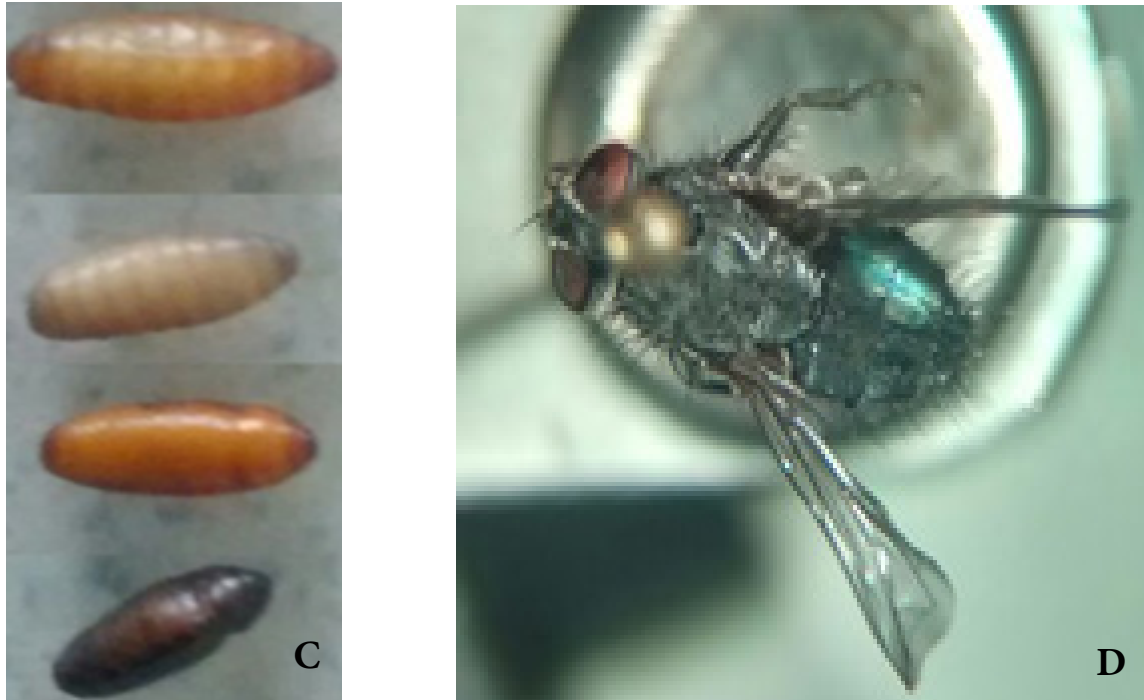
las condiciones de desarrollo con exposición a intemperie y de un conjunto habitacional generan conductas y situaciones de desarrollo distintas dado los hábitos sinantrópicos que pueda presentar la especie.



**Figura 1.** Curvas de crecimiento en horas mostrando longitud total de larvas de *C. latifrons* (cinco repeticiones) del Lote de organismos manipulados.



**Figura 2 (Parte 1).** Imágenes de las diferentes fases metamórficas de *C. latifrons*. **A)** Huevos observados con el microscopio estereoscópico; **B)** Espiráculos posteriores, con peritrema completo esclerizado y aberturas (slits) rectas...



**Figura 2 (Parte 2).** Imágenes de las diferentes fases metamórficas de *C. latifrons*. **A)** Huevos observados con el microscopio estereoscópico; **B)** Espiráculos posteriores, con peritrema completo esclerotizado y aberturas (slits) rectas; **C)** Secuencia de cambios que se presentan en el tegumento durante la fase de prepupa y al final del periodo de pupa y **D)** adulto.

## CONCLUSIONES

Fue posible llevar a cabo distintas observaciones del díptero *C. latifrons* en la Ciudad de México, tales como el ciclo biológico en un rango de 419.9 a 454.0 horas (17.5 a 18.9 días), desde la fase de huevo a la emergencia de adultos sin control de variables, junto con tiempo de maduración sexual o bien llamado tiempo de preoviposición y el periodo de tiempo en que una mosca adulta puede vivir en condiciones de laboratorio, en este punto se obtuvieron variaciones en donde las especies parentales sobrevivieron 384 horas, para la primera generación sobreviven 144 horas y para la segunda generación de 24 horas pudiendo deducir que el cautiverio es un factor que influye en la esperanza de vida de la especie en estudio, que genera la posibilidad de profundizar en el análisis de este fenómeno, para mayor conocimiento de la biología de la especie en condiciones de cautiverio.

Se establecieron datos de descripción morfológica de las etapas metamórficas de la especie que son de utilidad en los procesos de identificación taxonómica, que junto con los tiempos de desarrollo, serán de utilidad cuando éstos dípteros se asocien a cadáveres humanos en condiciones de depósito al interior de domicilios, en donde se presentan oscilaciones ambientales sin control de variables.

## LITERATURA CITADA

- Amat, E. 2009. Contribución al conocimiento de las Chrysomyinae y Toxotarsinae (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80(3): 693- 708. <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2009.003.166>
- Ames, C. and B. Turner, 2003. Low temperature episodes in development of blowflies:

- implications for postmortem interval estimation. *Medical and Veterinary Entomology*, 17(2):178-186. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2003.00421.x>
- Byrd, J. H. and Castner J. L. 2001. Forensic entomology. *The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. CRC Press. Boca Raton, E.E.U.U., 418 Pp.
- Flores-Pérez, L. R., H. Sánchez-Arroyo, S. Ibáñez-Bernal y M. D. García-García. 2008. Insectos sarcosaprófagos asociados a la descomposición cadavérica de *Sus scrofa*. En Texcoco, México. *Entomología mexicana*, 7: 764-768
- Flores-Pérez y Leonardo R. 2009. *Sucesión de entomofauna cadavérica utilizando como biomodelo cerdo blanco, Sus scrofa L.* Tesis de Doctorado. Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México. 93 Pp.
- Flores-Pérez, L. R., F. M. Pérez-Villegas y S. G. Guiza-Rodríguez. 2013. Aportaciones a la biología de insectos sarcosaprófagos asociados a la descomposición cadavérica. *Entomología mexicana*, 12 (2):Pp. 1737-1742. Recuperado de <http://www.entomologia.socmexent.org/volumen.html>
- Ibáñez-Bernal, S. 2017. Actualización del Catálogo de Autoridades Taxonómicas de los Dípteros (Diptera: Insecta) de México. Instituto de Ecología AC. Red Ambiente y Sustentabilidad. Informe final-SNIB-CONABIO proyecto JE006. Ciudad de México. <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfJE006.pdf>
- Jones, N.; T. Whitworth y S. A. Marshall. 2019. Blow flies of North America: Keys to the subfamilies and genera of Calliphoridae, and to the species of the subfamilies Calliphorinae, Luciliinae and Chrysomyinae. *Canadian Journal of Arthropod Identification* N°. 39. 191 pp. Recuperado de [http://biologicalsurvey.ca/ejournal/jwm\\_39/jwm\\_39.pdf](http://biologicalsurvey.ca/ejournal/jwm_39/jwm_39.pdf)
- Llorente-Bousquets, J. y S. Ocegueda. 2008. Estado del conocimiento de la biota. *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México, pp. 283-322
- López, C., M. L. 2011. *Moscas califóridas* (Diptera: Calliphoridae) de interés forense asociadas a ambientes urbanos de Bogotá. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Programa de biología. Bogotá. <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8870/1/tesis809.pdf>
- Molina-Chávez., H. A. 2009 Conformación del laboratorio de Entomología Forense en la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México 55 pp.
- Molina-Chávez H. A., M. Nava H., J. Luy Q., B. Miranda G., S. Gutierrez R. y N. Galindo M. 2011. Distribución de dípteros asociados con las fases de degradación cadavérica de humanos en el Distrito Federal, México. *Entomología Mexicana*, 12 (2): 1749-1755. Recuperado de <http://www.socmexent.org/entomologia/revista/2012/SSEF/1749-1755.pdf>
- Pape, T., M. Wolff y E. Amat. 2004. Los califóridos, éstridos, rinofóridos y sarcófagidos (Diptera: Calliphoridae, Oestridae, Rhinophoridae, Sarcophagidae) de Colombia. *Biota Colombiana*. 5(2):201-208. Recuperado de <http://revistas.humboldt.org.co/index.php/biota/article/view/145/144>
- Villeda, C., M. del P.; L.J. Jacinto S.; H. Barrera E.; A. Lara V.; D. Guedea F. y S. Flores M. 2015. Ciclo de vida de *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) y *Calliphora latifrons* (Hough, 1899) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE). *Entomología Mexicana*, 2: 126-131. Recuperado de <http://www.entomologia.socmexent.org/volumen.html>
- Whitworth T. 2006. Claves para Géneros y especies de moscas califóridas (Diptera: Calliphoridae) de América al norte de México. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*; 108(3):689-725. Recuperado de <https://www.blowflies.net/images/Publications/keys-spanish.pdf>

Yeates, D.K., B.M. Wiegmann, G.W. Courtney, R. Meier, C. Lambkin and T. Pape. 2007. Phylogeny and systematics of Diptera: Two decades of progress and prospects. *Zootaxa*, 1668: 565–590. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.27>