

4

ESTIMACIÓN DEL TIEMPO DE DESARROLLO DE LAS LARVAS DE *Chrysomya megacephala* (Fabricius 1794) EN TRES TIPOS DE TEJIDOS DE CERDOS DOMESTICOS (*Sus scrofa*)

(Estimation of the development time of the larvae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius 1794) in three types of domestic pig tissues (*Sus scrofa*))

Rosa Estrada¹ y Percis A. Garcés²

¹ Universidad de Panamá, Programa Centroamericano de Maestría de Entomología.

² Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Departamento de Zoología. Email: perchysg@gmail.com

RESUMEN

Las moscas verde-azules (Diptera: Calliphoridae) comprende un grupo de importancia médica y forense, son las primeras en encontrar y colonizar un cuerpo humano, por ello nuestro interés por conocer cuál es el tiempo que demoran en alcanzar los diferentes estadios, huevos, larvas, pupa y adulto. Reconociendo el tiempo de desarrollo de los diferentes estados inmaduros se puede conocer el tiempo real de desarrollo para obtener mayor confiabilidad al momento de estimar el intervalo postmortem (IPM) y utilizarla como indicadora forense. A las larvas se le suministraron tres tipos de tejidos, para observar en cuál de ellos las mismas crecían más rápidamente. Los tres tipos de tejidos correspondían a carne de la cabeza, hígado y corazón. Los mismos sirvieron como sustrato alimentario a las larvas. Se obtuvo que en el corazón fue el tejido donde las larvas crecieron más rápidamente que en el hígado y en la carne, Por lo que, fue el que presentó el menor tiempo de desarrollo hasta los individuos adultos es decir, 96 a 104 horas o de 4.0 a 8.0 días.

PALABRAS CLAVES

Especie indicadora, Calliphoridae, desarrollo larval, intervalo postmortem.

ABSTRACT

Blow flies (Diptera: Calliphoridae) comprises a forensic and medical importance group of flies, been the first to find and colonized human corps. Our interest is found out the time needed to reach the different stages of its life cycle: eggs, larvae, pupa and adult. By recognizing the time of development of the different immature stages, we can know the real time of development, to obtain more reliability when estimating the post-mortem interval (IPM), and been used as

forensic indicator. The larvae were fed with three types of tissues, to observe in which one of them grew faster. The three types of tissues were meat of the head, liver and heart. These were served as food stratum for the larvae. Our results showed that the larvae grew faster in heart tissue, than in the liver and flesh, since the development to adult stages took less time, it means 96 to 194 hours or 4.0 to 8.0 days.

KEYWORD

Indicator species, Calliphoridae, Larval development, post-mortem interval.

INTRODUCCIÓN

Las moscas de la familia Calliphoridae son las primeras en arribar y colonizar los restos cadavéricos humanos, debido a esto, son consideradas de gran importancia forense para estimar el intervalo *postmortem* (IPM). Se estima que esta familia posee unas 1000 especies a nivel mundial, de las cuales cerca de 130 se encuentran en el Neotrópico y unas 27 para Mesoamérica (Vargas 2010). En Panamá, se han reportado 26 especies distribuidas en 11 géneros (Bermúdez 2007) dentro de estos el género *Chrysomya*, del cual se han registrado 4 especies, entre ellas *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) (Buitrago *et al.*, 2011). Los adultos de esta especie se alimentan de materia orgánica en descomposición, excrementos y cadáveres. Es una especie eusinántropica (Wells 1991; Buitrago *et al.*, 2011) es considerada de importancia forense en muchos lugares del mundo, por ser colonizadora primaria de cadáveres frescos (Buitrago *et al.*, 2011).

La estimación del IPM se basa en el análisis de la edad de las larvas encontradas sobre un cuerpo, una de las formas de estimar el IPM, se basa en el análisis de una especie conocida, tomando en cuenta el tamaño de las larvas más grandes y los registros de las condiciones ambientales (Byrd y Castner 2001). Una clara determinación del IPM desde la cría de los diferentes estadios proporcionan una mejor aproximación del estado de desarrollo de los insectos al momento de colectarlos (Byrd 2001).

Los modelos de desarrollo larval para la estimación del intervalo *postmortem*, son producidos por extrapolación a partir del análisis de las tasas de desarrollo de las larvas, generalmente criadas en un solo medio (artificial o natural), más comúnmente hígado de vaca, ovejas o cerdo (Byrd y Castner 2001; Ames y Turner 2003; Vélez y Wolff 2008). Los medios de cultivo para cría de larvas son importantes en las investigaciones forenses ya que el tipo de alimento de las larvas puede alterar las tasas de crecimiento de los insectos (Byrd y Castner 2001). Los estudios para determinar el crecimiento de las larvas usualmente emplean hígado como sustrato, sin embargo,

es posible que el tipo de tejido u órgano del que se alimenta la larva, altere el tiempo de desarrollo de las mismas (Clark *et al.*, 2006).

Algunos trabajos realizados con otras especies de interés forense como *Calliphora vicina* han mostrado que se desarrolla hasta 2 días más rápido, en pulmón, corazón, cerebro y riñón de cerdo que en el hígado (Kaneshrajah y Turner 2004). Clark *et al.* (2006) evaluaron el desarrollo de *Lucilia sericata* en pulmón, corazón e hígado de cerdo, demostrando que las larvas desarrolladas en corazón tuvieron 29 y 31 horas de ventajas con relación a las que se desarrollaron en el hígado. Estos estudios demuestran como el tiempo de desarrollo y el tamaño de las larvas varían con cada tejido, por lo que al encontrarlas en cadáveres, por su tamaño se pueden subestimar o sobrestimar el tiempo de muerte.

El presente trabajo tiene entre sus objetivos conocer el tiempo de desarrollo de los larvas de diferentes estadios de *Chrysomya megacephala* en tres tipos de tejido de cerdo (*Sus scrofa*); y determinar el tamaño de las larvas en cada estadio y el tiempo de emergencia del adulto.

METODOLOGÍA

Se utilizó como cebo vísceras de pescado en descomposición para capturar a las moscas, estas fueron expuestas durante una hora en el campus de la Universidad de Panamá. Los especímenes adultos se recolectaron con una red entomológica y posteriormente fueron depositados en una bolsa plástica transparente (Figura 1). Los especímenes adultos previamente recolectados se colocaron en frío (0°C) durante 1 minuto, lo que permitió la manipulación para la selección e identificación de la especie y el sexo de las moscas, bajo el microscopio estereoscópico.

Para la identificación se utilizaron las claves de (Vargas 2010; Amat *et al.*, 2008; Kosmann *et al.*, 2003; Dear, 1985). Se seleccionó un total de 63 especímenes: 42 hembras y 21 machos, estos especímenes fueron colocados en una jaula cubierta de "Tul", se les proporcionó una fuente de agua, agua con miel y un trozo de carne como alimento. Se empleó una metodología modificada de Sukontason y Piangjai (2008); Richards *et al.* (2009). Para que las hembras adultas contenidas en la jaula realizarán la oviposición, se suministró, un trozo de 30g de carne fresca de hígado, corazón y carne de la cabeza de cerdo, durante un periodo de 3 horas (Figura 2). Posteriormente, del corazón se extrajeron los huevos bajo el microscopio estereoscópico y fueron contabilizados y distribuirlos en los respectivos tratamientos. Se contabilizaron en total 675 huevos, los cuales fueron separados en grupos de 75 para ser distribuidos al azar en cada réplica.



Figura 1. Recolección de especímenes en el Campus de la Universidad de Panamá



Figura 2. Obtención de huevos y mantenimiento de colonia de *Chrysomya megacephala*.

Se utilizaron tres tipos de tejido de cerdo: hígado, corazón y carne de la cabeza. De cada tejido se pesaron 100g, los cuales fueron colocados en recipientes de “foam” de 12 oz. Seguidamente, se colocaron los grupos de 75 huevos de forma aleatoria en cada una de las réplicas de los tres tratamientos (Figuras 3 y 4), cada recipiente fue cubierto con un trozo de tela de “tul” sujeta con una banda de hule, para permitir el flujo de aire, así evitar la entrada de otros organismos.

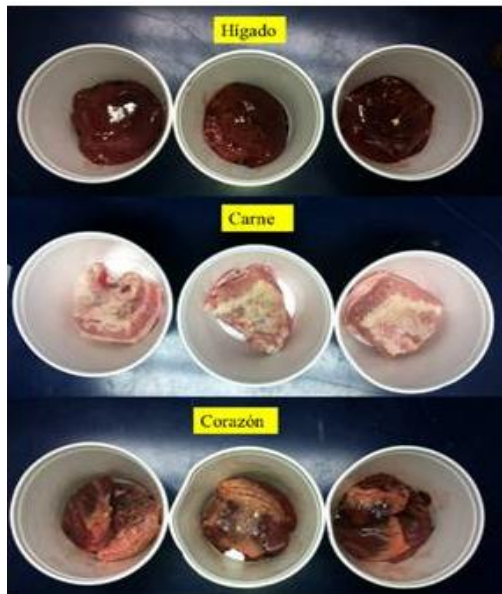


Figura 3. Diferentes tejidos de *Sus scrofa* utilizados como sustrato alimenticio para *C. megacephala*



Figura 4. Tratamientos cubiertos con malla conteniendo huevos de *C. megacephala*

Los tratamientos fueron expuestos a temperatura ambiente en una jaula de malla metálica con techo de lámina, ubicada en la terraza del edificio del Programa Centroamericano de Maestría en Entomología. Dicha jaula mantuvo los tratamientos protegidos del sol y la lluvia. Los datos climáticos temperatura y humedad relativa fueron registrados diariamente (Figura 5).



Figura 5. Registro de temperatura y humedad relativa en los tratamientos

Una vez colocados los tratamientos fueron observados por 20 horas, para observar si había eclosión de huevos. Luego de haber observado la presencia de larvas, se colectaron dos larvas de cada tratamiento, cada 4 horas. Las mismas fueron colocadas por separado en viales de vidrio, debidamente etiquetados, posteriormente los tratamientos fueron observados en periodos de cuatro horas, hasta el periodo de post alimentación, el proceso de recolección de larvas se repitió en cada observación (Figura 6).

Una vez iniciada la fase de post alimentación, las larvas fueron transferidas a recipientes de “foam” de 16 onzas conteniendo 2 cm de arena previamente esterilizada, estas fueron observadas en periodos de ocho horas, extrayéndose dos muestras de estas en cada observación. En el momento que se observó la presencia de pupas estas fueron observadas en periodos de 12 horas y no se realizaron más muestreos para no perturbar y prolongar el comienzo de la pupación de las demás larvas (Figura 7).



Figura 6. Recolección y preservación de las larvas de *C. megacephala*



Figura 7. Periodo de Post-alimentación y pupación

Para el conteo de adultos se esperó la emergencia de la mayor parte de la población para poder hacer el conteo de pupas que aún quedaban sin eclosionar. De cada tratamiento se recolectaron en viales de vidrio 15 adultos, los restantes fueron contabilizados y liberados dentro de una jaula de metal cubierta con tela de “Tul”. Los adultos recolectados se colocaron en frío para su posterior montaje (Figura 8).

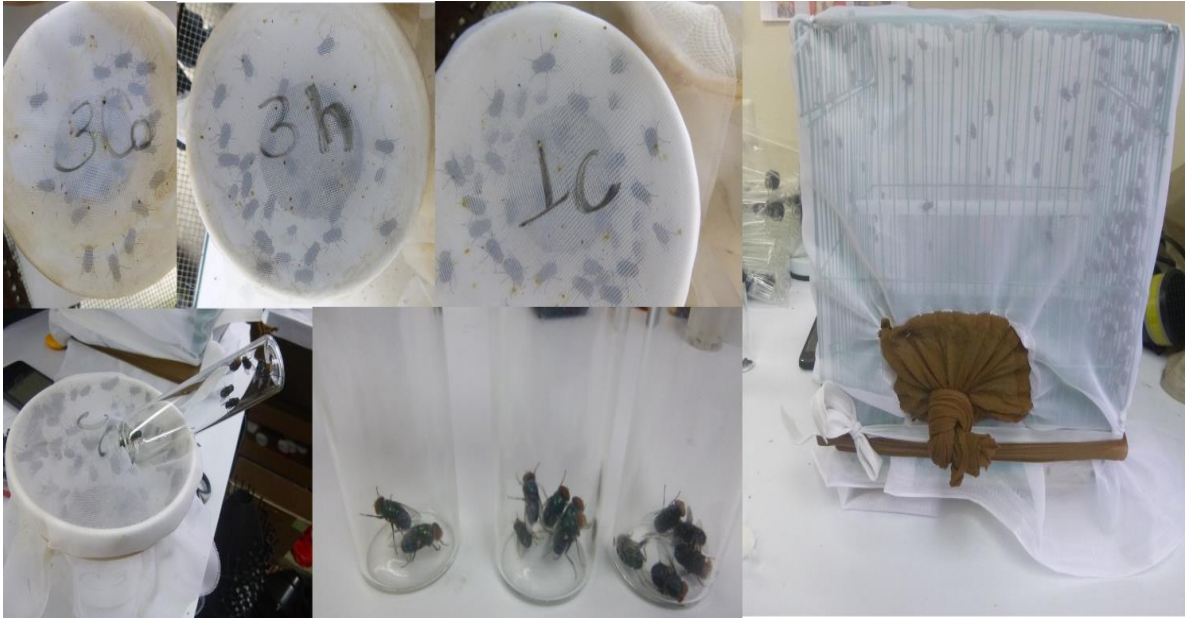


Figura 8. Emergencia y recolección de especímenes adultos de *Chrysomya megacephala* por tratamientos

Las larvas recolectadas fueron sacrificadas con agua caliente a 100°C, posteriormente, utilizando un vernier se midió la longitud de cada una y se registró el estadio en que se encontraba, para ellos se utilizó la descripción y clave de (Flores y Wolff 2009; Szpila 2010). Las larvas fueron preservadas en solución de Khale's durante 24 horas, para después ser transferidas a viales con alcohol al 70%. Adicionalmente, se realizaron placas de los 3 estadios con la finalidad de documentar las estructuras para identificación de cada instar. Los datos fueron organizados para ser analizados con el Software de Statistica 7.0. Se realizaron pruebas de normalidad y homocedasticidad, pero éstos no las cumplieron, por lo que se procedió a analizarlos bajo la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

RESULTADOS

Durante el estudio se recolectaron un total de 342 larvas, 18 pupas y 45 adultos. Por cada una de las réplicas se recolectaron 38 larvas, 2 pupas y 5 adultos, obteniendo un total de 114 larvas, 6 pupas y 15 adultos por Tratamiento. En el Cuadro 1, se detalla la cantidad de individuos recolectado por tratamiento.

Cuadro 1. Número de individuos de *Chrysomya megacephala* de cada estadio en tres tejido de cerdo

Estadio	Tratamiento		
	Corazón (Co)	Hígado (H)	Carne (C)
<i>Larva 1 (L1)</i>	6	10	6
<i>Larva 2 (L2)</i>	27	34	29
<i>Larva 3 (L3)</i>	81	70	79
Total de larvas	114	114	114
<i>Pupas</i>	6	6	6
<i>Adultos recolectados</i>	15	15	15
Total	121	121	121

El análisis de Kruskal-Wallis realizado a las réplicas de cada tipo de tejido, no se encontraron diferencias estadísticas significativas para el tiempo de desarrollo de cada estadio, longitud de las larvas y tiempo de emergencia ($P > 0.05$).

El Cuadro 2 resume el tiempo de desarrollo de cada estadio, obteniéndose que la emergencia de los adultos se obtuvo entre 206 y 208 horas después de haber colocados los huevos.

Cuadro 2. Tiempo promedio de desarrollo de estadios inmaduros de *Chrysomya megacephala* en los tres tipos de tejido de cerdo

	Corazón	Hígado	Carne
Huevo	20	20	20
L1	4	6.6	4
L2	22	26.7	21.3
L3	62	54.7	62.7
Subtotal	108	108	108
Pupa	98.8	102	100.7
Total de horas hasta la emergencia del adulto	206.8	210	208.7

En la evaluación estadística de los tratamientos en cuanto al tiempo del desarrollo se encontraron diferencias significativas solo en los estadios larvales ($P < 0.05$). Para el estadio larval I (L1) se obtuvo una $P = 0.0078$, en el tratamiento hígado se observa una mayor duración 2.6 horas con respecto a la carne y corazón.

En el análisis realizado para el tamaño de cada estadio, se observan diferencias mínimas entre los tamaños promedios obtenidos entre los tratamientos (Cuadro 3.) Se realizó un análisis para el tamaño de cada estadio larval. En los estadios larvales I y II no hubieron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$) obteniéndose los valores de $P = 0.1792$ (LI) y $P = 0.7801$ (LII) (Figura 9).

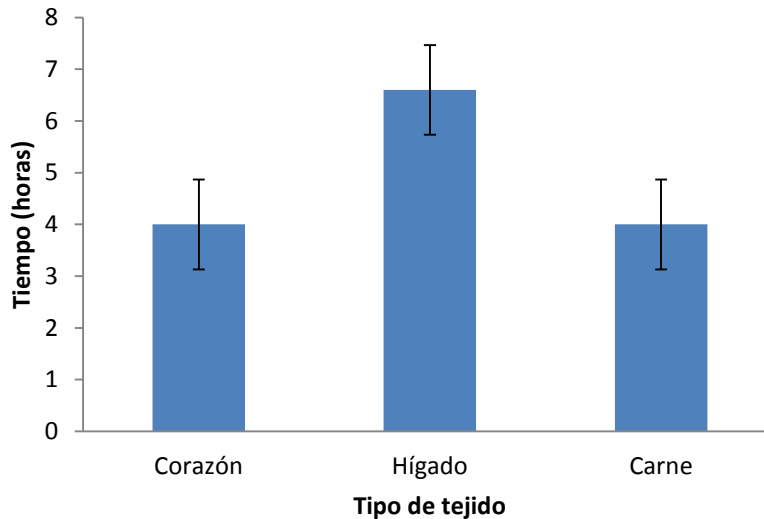


Figura 9. Tiempo de desarrollo de estadio larval LI de *Chrysomya megacephala* en los tres tipos de tejidos de cerdo

La prueba estadística aplicada comprobó que existían diferencias significativas entre los tamaños en los tratamientos (Cuadro 3.).

Cuadro 3. Longitud promedio de larvas LI de *Chrysomya megacephala* en los tres tipos de tejidos.

Tratamientos	Número de muestras	Tamaño promedio	Tamaño mínimo	Tamaño máximo
Corazón LI	6	3.17	3.0	3.5
Hígado LI	10	3.0	3.0	3.0
Carne LI	6	3.08	3.0	3.5

En el análisis realizado para el tamaño de las larvas LII, no se observan grandes diferencias entre los tamaños promedios obtenidos entre los tratamientos (Cuadro 4), con excepción de las colocadas en el corazón. En la LII se obtuvo una $P = 0.014$, en la cual el tratamiento con hígado fue similar con relación a la carne (Figura 10).

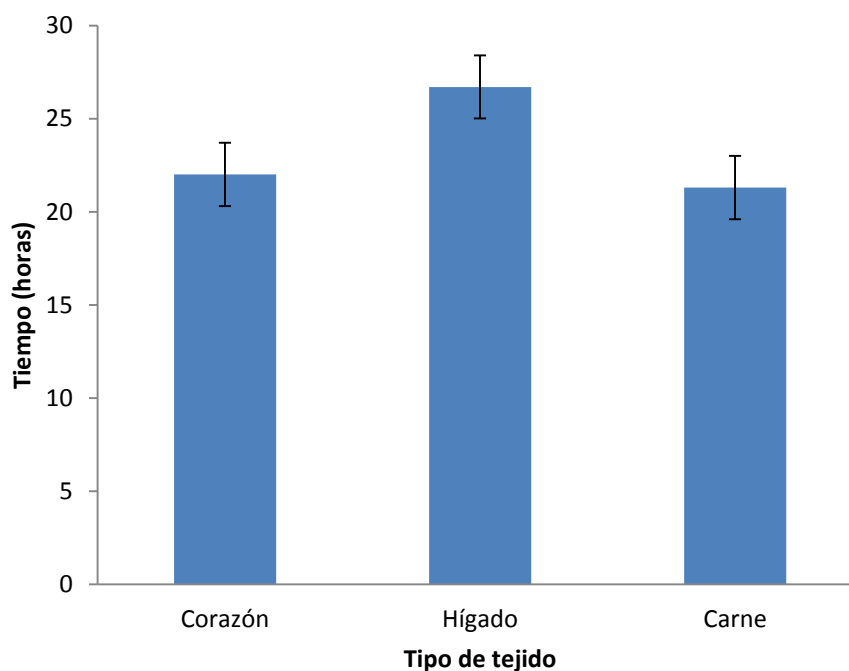


Figura 10. Tiempo de desarrollo de estadio larval LII de *Chrysomya megacephala* en los tres tipos de tejidos de cerdo

Cuadro 4. Longitud promedio de larvas de LII estadio de *Chrysomya megacephala* en los tres tipos de tejidos

Tratamientos	Número de muestras	Tamaño promedio	Tamaño mínimo	Tamaño máximo
Corazón LII	27	6.04	3.0	8.5
Hígado LII	34	5.84	3.0	8.0
Carne LII	29	6.09	3.5	8.0

En el análisis realizado para el tamaño de las larvas LIII, no se observan grandes diferencias entre los tamaños promedios obtenidos entre los tratamientos (Cuadro 5). Para el estadio larval LIII se obtuvieron diferencias significativas del tratamiento del corazón con respecto al de hígado y carne ($P=0.0008$) (Figura 11).

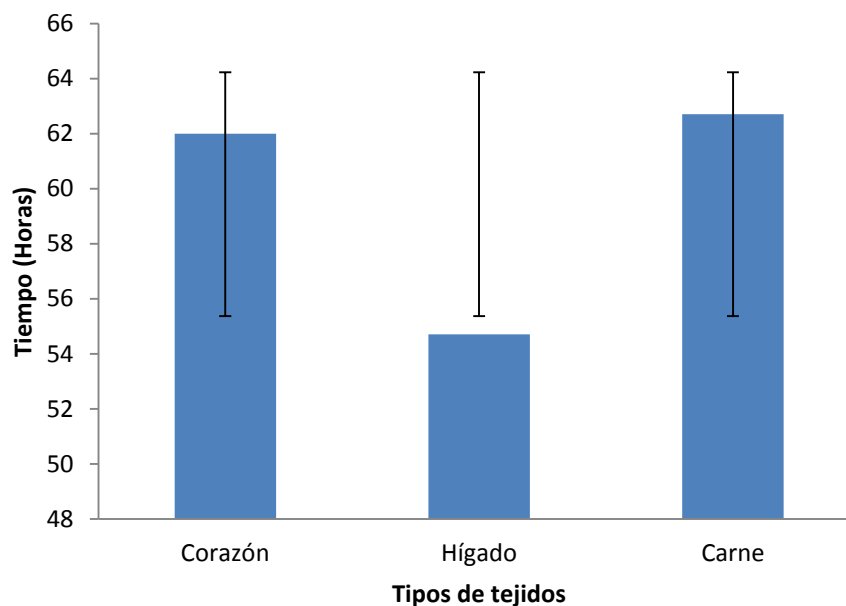


Figura 11. Tiempo de desarrollo de estadio larval LIII de *Chrysomya megacephala* en los tres tipos de tejidos de cerdo

Cuadro 5. Longitud promedio de larvas de 3^{er} estadio de *Chrysomya megacephala* en los tres tipos de tejidos

Tratamientos	Número de muestras	Tamaño promedio	Tamaño mínimo	Tamaño máximo
Corazón LIII	81	13.98	8.0	17.0
Hígado LIII	70	12.93	7.0	16.0
Carne LIII	79	13.09	8.0	16.5

Los resultados obtenidos en este experimento, se cotejaron con trabajos previos realizados con *C. megacephala*, encontrándose diferencias importantes en cuanto al tiempo de desarrollo tanto en horas así como en tiempo diario para los diversos estadios de la mosca (Cuadros 6 y 7), igualmente se compendió los promedios de temperaturas y humedad relativa registrados durante el estudio (Cuadro 8).

CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

Durante la primer observación realizada 20 horas después de haber colocados los huevos en los tratamientos, estos ya contenían larvas de primer estadio, en posteriores observaciones (4 horas después) solo en dos réplicas del tratamiento de hígado fue posible encontrar larvas de primer estadio, ya que en los tratamientos de carne y corazón se recolectaron larvas de segundo estadio.

Cuadro 6. Comparación de trabajos diferentes autores sobre los promedios de tiempo en horas, del desarrollo post-embrionario de *Chrysomya megacephala* (Fabricius). Modificado de Barros-Cordeiro y Pujol-Luz (2010).

Referencias	Temperatura (°C)	Estado	Tiempo de desarrollo en horas
Prins (1982)	26.0	Larva 1	21
		Larva 2	21
		Pre-pupa	60-70
		Pupa	140-148
Wells y Kurahashi (1994)	27.0	Eclosión	18
		1ª muda	30
		2ª muda	72
		Pupa	144
		Emergencia	234
Vélez y Wolf (2008)	23. 13	Larva 1	18.6
		Larva 2	45.04
		Larva 3	65.5
		Pre-pupa	107.26
		Pupa	236.5
		Emergencia	319
Barros-Cordeiro y Pujol-Luz (2010)	26.0	Larva 1	18
		Larva 2	18
		Larva 3	38
		Pre-pupa	24
		Pupa	96
		Emergencia	194
Presente estudio	27.0 - 31.9	Huevo	20
		Larva 1	4 - 6.6
		Larva 2	21.3 -26.7
		Larva 3	54.7 - 62.7
		Pupa	98.8 - 102
		Emergencia	96-104

La duración total del tiempo desarrollo de *Chrysomya megacephala* se da en un periodo de 204-212 horas (8.5 - 8.8 días), mostrando un rango promedio de 206.8-210 horas (8.2 – 8.7 días), difiriendo ligeramente para cada tratamiento (Cuadro 2), durante el desarrollo de todo el experimento se observó una mayor duración de cada estadio para las larvas criadas en hígado a excepción del estadio larval LIII en el que el tiempo fue menor en comparación con los tratamientos de corazón y carne.

De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestros experimentos el tiempo de desarrollo en el estado de huevo dura 20 horas, sin embargo el periodo podría haber presentado menos tiempo, ya que durante esa primera se encontraron larvas LI. Algunos autores han reportado periodos de duración variables para *Chrysomya megacephala* a diferentes temperaturas (aproximadamente 14 horas a 26 ° C (Prins, 1982), 18 horas a 24 ° C (Wells y Kurahashi, 1994) y 24 horas a 26° C (Gabre *et al.*, 2005). Los datos obtenidos en este estudio mostraron variación en comparación al tiempo de desarrollo propuesto por estudios previos (Cuadro 7 y 8).

Cuadro 7. Comparación de trabajos de diferentes autores sobre los promedios de tiempo en días, del desarrollo post-embionario de *Chrysomya megacephala*. Modificado de Barros-Cordeiro y Pujol-Luz (2010).

Referencia	Temperatura (°C)	Estado	Tiempo de desarrollo en días
Resultados de Estrada (2015)	27.0 - 31.9	Larval	3.7
		Pupa	4.1-4.2
		Emergencia	4-8
Barros-Cordeiro y Pujol-Luz (2010)	26.0	Larval	4.08
		Pupa	4.0
		Emergencia	8.08
Gabre <i>et al.</i> , (2005)	26	Larval	5.4
		Pupa	5.3
		Emergencia	11.7
Milward de Azevedo <i>et al.</i> , (1996)	24	Larval	5.05
		Pupa	5.7
		Emergencia	10.8
	30	Larval	4.0
		Pupa	3.95
		Emergencia	7.92

Cuadro 8. Datos Climáticos registrados durante el desarrollo las larvas de *Chrysomya megacepha*

Parámetros	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
Temperatura máxima	34.8°C	33.8°C	29°C	36.8°C	31.2°C	30°C	37.8°C	36.8°C	35.7°C
Temperatura mínima	27°C	25°C	25°C	26°C	27°C	25°C	26°C	27°C	26°C
Temperatura promedio	30.9°C	29.4°C	27°C	31.4°C	29.1°C	27.5	31.9°C	31.9°C	30.85°C
Humedad relativa	64%	67%	83%	61%	66%	75%	61%	56%	63%

Esto puede atribuirse a diferencias metodológicas y a que las condiciones que no siempre son controladas en el laboratorio, en este caso las larvas estuvieron expuestas a la fluctuación de los factores ambientales. Richards *et al.* (2008) concluyeron que los cambios entre los resultados para la misma especie son atribuibles a la relación con las condiciones, particularmente a la dieta proporcionada a los estadios inmaduros, además de la diferencia en las latitudes geográficas. Vélez y Wolff (2008) quienes estudiaron bajo condiciones parcialmente controladas el tiempo de desarrollo de varias especies de Calliphoridae incluyendo *Chrysomya megacephala*, encontraron que dichas variaciones en los resultados estaban relacionadas con el tipo de tejido y posiblemente a las condiciones climáticas y cambios geográficos.

Sukontason *et al.* (2008) observó que a una temperatura de 27-28 °C la fase de pupa comienza 96-108 horas después de la eclosión de las larvas, en este estudio se observan similitudes con relación a las temperaturas promedio registradas (27-31.9 °C), y con el comienzo de la fase de pupa a las 108 horas desde el estadio de huevo.

Se puede observar que los factores de temperatura y zona geográfica tienen un papel importante en el desarrollo de esta especie ya que los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de los resultados obtenidos por otros autores. Sin embargo, durante el presente estudio se observó la influencia de los tejidos sobre el tiempo de desarrollo de cada estadio, los tratamientos evaluados fueron expuestos simultáneamente a las mismas condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa, por lo que la influencia de estos factores sobre los tratamientos se asume que fueron similares. Las temperaturas y humedad relativa registradas fluctuaron grandemente en el tiempo que duro el estudio, un aspecto similar al que está expuesto un cadáver que encontramos al aire libre.

Los resultados del presente estudio se apoyan en las conclusiones obtenidas para otras especies, pero con objetivos similares, encontrándose similitudes con lo propuesto por Kaneshraja y Turner (2004) para *Calliphora vicina*, y con Clark *et al.* (2006) para *Lucilia sericata*, en cuanto a que el tiempo de crecimiento difiere entre los diferentes tipos de tejidos, siendo el hígado el tejido en el

que las larvas demoran más tiempo en desarrollarse, así como el crecimiento larval observándose larvas de mayor tamaño el tejido de corazón.

El tiempo de desarrollo para la larva LI presenta ligeras diferencias, esto puede deberse al corto periodo de observación del primer estadio ya que no pudo establecerse con certeza el tiempo preciso de la eclosión de las larvas. El tejido óptimo para el desarrollo de las larvas tanto en términos de tiempo como de crecimiento resulto ser el del corazón, ya que se pudo observar que en este tejido las larvas crecieron más rápidamente, incluso obteniéndose larvas LIII a las 24 horas después la eclosión de las larvas. En el corazón se obtuvieron larvas a las 28 horas, mientras que en hígado fue a las 32 horas mostrando 8 horas de diferencia con respecto al corazón.

Con los resultados obtenidos se puede concluir que el sustrato en el cual se crían las larvas parece tener cierta influencia en el tiempo de desarrollo de las mismas, es decir en el caso específico de *Chrysomya megacephala* (Fabricius). Es importante observar la duración del desarrollo de los ciclos de vida de las especies de importancia forense no sólo en función de la temperatura, sino como algunos autores han demostrado, hay que tomar en cuenta el alimento en el que se crían las larvas, así como la geografía donde se recolectan los organismos, factores intrínsecos que pueden interferir en el tiempo de desarrollo de las larvas, de esta forma se logrará realizar una mejor interpretación al momento en que se desee estimar el IPM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amat, E., M. Vélez y M. Wolff. (2008). Clave ilustrada para la identificación de los géneros y especies de los califóridos (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Caldasia* 30 (1): 231-244.

Ames, C. y B. Turner. (2003). Low temperature episodes in development of blowflies: implications for post-mortem interval estimation. *Medical Veterinary Entomology*. 17 (2): 178–186.

Barros-Cordeiro, K. B. y J. R. Pujol-Luz. (2010). Morfologia e duração do desenvolvimento pós-embriónico de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratorio. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 50 (47):709-717.

Bermúdez, S. E. (2007). Listado Preliminar de la familia Calliphoridae (Diptera) en Panamá. *Tecnociencia*, 9 (1): 101- 112.

Bermúdez, S. y J. Pachar. (2010). Artrópodos asociados a cadáveres humanos en Ciudad de Panamá, Panamá. *Revista Colombiana de Entomología*, 36 (1): 86-89.

- Buitrago, Y.; R. Miranda y S. E. Bermúdez. (2011). Calliphoridae (Insecta: Diptera) de Ciudad de Panamá, Panamá, con énfasis en la distribución actual del género *Chrysomyia* Robineau-Desvoidy 1830. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 49: 303–307.
- Byrd, J. H. y J. L. Casrner. (2001). *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, CRC Press, Boca Raton.
- Carvalho, L., P. Thyssen, A. Linhares A. y F. Polhanes. (2000). A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in South-eastern Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95 (1): 135-138.
- Clark, K., L. Evans y R. Wall. (2006). Growth rates of the blowfly, *Lucilia sericata*, on different body tissues. *Forensic Science International*, 156 (2-3): 145-149.
- Dear, J. P. (1985). A revision of the new world *Chrysomyini* (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Zoología*, 3 (3): 109-169.
- Flores, E. y M. Wolff. (2009). Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. *Neotropical Entomology* 38 (3): 418-429.
- Gabre, R. M., F. K. Adham y H. Chi. (2005). Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). *Acta Oecológica*, 27 (3): 179-183.
- Garcés, A. P., S. Bermúdez y G. Quintero. (2002). Determinación de la entomofauna asociada a carcasas de cerdos en el puerto de Vacamonte (Panamá), *Tecnociencia*. 6 (2): 59- 74.
- Kaneshraja, G. y B. Tuner. (2004). *Calliphora* vicina larvae grow at different rates on different body tissues. *International Journal of Legal Medicine*. 118 (4): 242–244.
- Kosmann, C., R. Pinto de Mello, E. S. Harterreiten-Souza, y J. R. Pujol-Luz. (2013). A List of Current Valid Blow Fly Names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with Key to the Brazilian Species. *EntomoBrasilis* 6 (1): 74-85.
- Prins, A.J. (1982). Morphological and Biological notes on six South African blow-Flies (Diptera, Calliphoridae) and their immature stages. *Annals South African Museum*, 90: 201-217.
- Richards, C. S., K. L. Crous y M. H. Villet. (2009). Models of development for blowfly sister species *Chrysomya chloropyga* and *Chrysomya putoria*. *Medical and veterinary entomology*, 23 (1): 56-61.



Sukontason, K., S. Piangjai, S. Siriwattananurungsee, y K. L. Sukontason. (2008). Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: application in forensic entomology. *Parasitology research*, 102 (6): 1207-1216.

Szpila, K. (2010). Key for the identification of third instars of European blowflies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance [pp. 43-56]. In: *Current concepts in forensic entomology* (Amendt J., C.P. Campobasso, M.L. Goff y M. Grassberger, Editores) Springer Netherlands.

Vargas, J. (2010). Calliphoridae [pp. 1297-1304]. In: *Manual of Central American Diptera*, Vol. 2. (B.V. Brown, A. Borkent, J.M. Cummings, D.M. Woods, N.E. Woodley, y M.A. Zumbado, Editores) Ontario. Canada.

Vélez, M. C. y M. Wolff. (2008). Rearing five species of Diptera (Calliphoridae) of forensic importance in Colombia in semicontrolled field conditions. *Papéis Avulsos de Zoologia* 48 (6):41-47.

Wells, J. D. (1991). *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) Has Reached the Continental United States: Review of Its Biology, Pest Status, and Spread around the World. *Journal of Medical Entomology* 28 (3): 472-473.

Wells, J. D. y H. Kurahashi. (1994). *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera:Calliphoridae) development: Rate, variation, and the implications for forensic entomology. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*, 45 (4):303-309.